



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة الشهيد حمدة لخضر الوادي

Université d'Echahid Hamma Lakdhar- EL OUED-

كلية العلوم الطبيعية والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

**Etude phytochimique et biologique des extraits de
Olea europaea L., variété 'Sufi' et de formulation
silver-nanoparticules**

Présenté Par :

M^{elle} : CHERAITI Chaima

M^r : DEGACHI Abderrazak

Devant le jury:

Président :

Président
Examineur
Promoteur

Dr .CHOUIKH Atef
Dr . MAHALAOU Zineb
Dr . TLILI Mohammed Laid

Université d'El Oued.
Université d'El Oued.
Université d'El Oued.

Année universitaire: 2024/2025

Remerciement

Louange à Dieu par la grâce duquel les bonnes choses s'accomplissent et les espérances se réalisent.

J'adresse mes sincères remerciements et ma profonde gratitude au Professeur **Tili Mohammed Laid**, encadrant de ce travail, pour les efforts déployés, ses orientations scientifiques précieuses et ses remarques constructives qui ont grandement contribué au développement de ce mémoire depuis ses débuts jusqu'à sa forme finale.

Je tiens également à exprimer toute ma reconnaissance au Dr **Salah Eddine Laouini** pour son soutien constant et son enrichissement scientifique qui ont eu un impact considérable sur la réussite des expériences et l'élaboration de ce travail.

Je remercie aussi chaleureusement M. **Hichem Chekima** pour son aide généreuse et son esprit de collaboration.

Mes remerciements vont également à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire, notamment **le personnel administratif de l'incubateur universitaire** et de l'université, ainsi que l'équipe technique.

Je n'oublie pas mes collègues étudiants, qui ont été pour moi une source continue de motivation et de soutien.

Je tiens enfin à exprimer ma gratitude à toutes celles et ceux qui m'ont soutenue par un mot aimable, un conseil utile ou un encouragement sincère. À vous tous, mes salutations les plus respectueuses et ma reconnaissance la plus sincère.

Dédicace

À ma mère, lumière de ma vie, source de tendresse et de prières exaucées. Tu m'as appris que le véritable amour donne sans attendre.

À mon père, mon pilier silencieux, qui a semé en moi la stabilité et dans mon esprit le rêve. Je suis fière de marcher sur le chemin de tes sacrifices « **Laid** »

À mes sœurs, **Rahaf** et **Oum Yaacoub**, qui ont partagé mes joies et mes chutes.

À **Ludjain** et **Yaacoub**, les enfants de la famille, vos sourires sont des éclats de bonheur pur dans mes journées.

À une âme qui m'a soutenue en silence, crue en moi dans le doute, et offert l'équilibre au milieu du chaos... À toi, qui ressembles à l'avenir que j'espère, ma profonde gratitude. Mon **compagnon de vie**.

À mes professeurs, notamment Madame **Thouraya Kacemi**, merci d'avoir éveillé ma soif de savoir.

À mes frères, **Zakareya** et **Salim**, soutien indéfectible et rempart contre les vents de la vie.

À mon amie unique, **Largote Ikram**, preuve que la véritable amitié réside dans la sincérité du cœur.

Enfin, à mes grands-parents disparus, dont la mémoire continue de veiller sur moi.

À vous tous, je dédie ce travail, humble fruit d'un chemin traversé avec votre amour et votre foi.

Chaima

Dédicace

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ ﴿ وَقَلِّ إِعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ عَمَلَكُمْ وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ ﴾ (105)

Louange à Dieu qui m'a accordé la réussite, et je n'aurais pu y parvenir sans Sa grâce – Exaltée soit Sa grandeur et magnifiée Sa majesté.

Cela étant dit :

Je dédie le fruit de mes efforts aux plus sublimes manifestations du don de soi, à ceux que nul ne saurait égaler en ce monde, à ceux envers qui Dieu nous a enjoint la piété filiale : ma mère et mon père. À ma compagne de route, l'amie de tous les instants, dans les joies comme dans les peines.

À ceux dont la présence a empli ma vie de bénédictions et dont les rires merveilleux ont illuminé mes jours : mes enfants, **Zaynab, Dalia, Ktr Al-Nada** , et **Muhammad**.

À ceux qui se réjouissent de nos succès et s'attristent de nos échecs : mon frère et mes sœurs.

À ceux qui ont porté la plus noble des missions dans la vie et nous ont pavé le chemin du savoir et de la connaissance : nos éminents professeurs.

ADEERAZAK

Résumé

Résumé

Les feuilles d'olivier (*Olea europaea* L., variété 'Sufi') constituent une source riche en composés bioactifs, notamment les polyphénols et les alcaloïdes, qui présentent un potentiel thérapeutique prometteur. Cette étude vise à explorer et à améliorer l'activité biologique de ces extraits végétaux par leur combinaison avec des nanoparticules d'argent (AgNPs), en utilisant une approche de synthèse verte. Les composés phénoliques et alcaloïdiques ont été extraits des feuilles, suivis par la synthèse de nanoparticules d'argent seules ou dopées avec les extraits AgNPs-Ole (AgNPs-Phé et AgNPs-Alc). Ces formulations ont été caractérisées par DRX, FTIR et UV-Vis.

Les résultats montrent que les formulations hybrides ont considérablement amélioré les activités biologiques par rapport aux extraits bruts ou aux AgNPs seules. Concernant l'activité anticholinestérasique, les AgNPs-Ole (les AgNPs biosynthétisées à partir d'extraits de feuilles d'*Olea europaea*) ont présenté la plus forte inhibition de l'AChE ($95,2 \pm 0,1$ %, $IC_{50} = 19,1 \pm 1,2$ µg/mL) et de la BChE ($94,3 \pm 0,6$ %, $IC_{50} = 21,3 \pm 0,4$ µg/mL), suivies des extraits alcaloïdiques. En ce qui concerne l'inhibition de la DPP-4, la formulation AgNPs-Ole a également montré la meilleure performance ($85,2 \pm 1,1$ %, $IC_{50} = 27,5 \pm 2,4$ µg/mL). L'activité antioxydante, évaluée par les tests DPPH et FRAP, a montré une réduction du pouvoir antioxydant dans le test DPPH après nanocapsulation, tandis que le test FRAP a révélé une amélioration de la capacité de réduction, en particulier pour l'extrait polyphénolique dopé. Concernant l'activité antibiofilm, les AgNPs-Ole ont démontré une inhibition remarquable contre *Staphylococcus aureus* ($91,3 \pm 0,3$ %), *Pseudomonas aeruginosa* ($89,6 \pm 0,4$ %) et *Escherichia coli* ($88,1 \pm 0,2$ %), surpassant les extraits bruts et les autres formulations. Enfin, l'étude de toxicité aiguë menée chez des rats a révélé que les formulations testées sont bien tolérées, sans mortalité ni signes cliniques de toxicité aux doses administrées.

Ces résultats confirment le potentiel prometteur de la combinaison des extraits de feuilles d'olivier avec les nanoparticules d'argent comme stratégie innovante pour la prévention de la maladie d'Alzheimer, l'atténuation des troubles liés au vieillissement et les infections microbiennes.

Mots-clés :

Olea europaea L, polyphénols, alcaloïdes, nanoparticules d'argent, inhibition enzymatique, toxicité aiguë.

Résumé

Abstract

Olive leaves (*Olea europaea* L., 'Sufi' variety) constitute a rich source of bioactive compounds, notably polyphenols and alkaloids, which exhibit promising therapeutic potential. This study aims to explore and enhance the biological activity of these plant extracts through their combination with silver nanoparticles (AgNPs), using a green synthesis approach. Phenolic and alkaloid compounds were extracted from the leaves, followed by the synthesis of silver nanoparticles alone or doped with the extracts (AgNPs-Phe and AgNPs-Alc). These formulations were characterized by XRD, FTIR, and UV-Vis spectroscopy.

The results show that the hybrid formulations significantly improved biological activities compared to the crude extracts or AgNPs alone. Regarding anticholinesterase activity, the AgNPs-Ole formulation exhibited the highest inhibition of AChE ($95.2 \pm 0.1\%$, $IC_{50} = 19.1 \pm 1.2 \mu\text{g/mL}$) and BChE ($94.3 \pm 0.6\%$, $IC_{50} = 21.3 \pm 0.4 \mu\text{g/mL}$), followed by the alkaloid extracts. Concerning DPP-4 inhibition, the AgNPs-Ole formulation also showed the best performance ($85.2 \pm 1.1\%$, $IC_{50} = 27.5 \pm 2.4 \mu\text{g/mL}$). The antioxidant activity, assessed by DPPH and FRAP assays, showed a reduction in antioxidant capacity in the DPPH test after nanoencapsulation, whereas the FRAP test revealed an enhanced reducing ability, particularly for the doped polyphenolic extract. Regarding antibiofilm activity, AgNPs-Ole demonstrated remarkable inhibition against *Staphylococcus aureus* ($91.3 \pm 0.3\%$), *Pseudomonas aeruginosa* ($89.6 \pm 0.4\%$), and *Escherichia coli* ($88.1 \pm 0.2\%$), outperforming the crude extracts and other formulations. Finally, acute toxicity studies conducted in mice revealed that the tested formulations were well tolerated, with no mortality or clinical signs of toxicity at the administered doses.

These results confirm the promising potential of combining olive leaf extracts with silver nanoparticles as an innovative strategy for the prevention of Alzheimer's disease, the mitigation of age-related disorders, and microbial infections.

Keywords:

Olea europaea L, polyphenols, alkaloids, silver nanoparticles, enzyme inhibition, acute toxicity.

تشكل أوراق الزيتون (*Olea europaea* L.) ، صنف "صوفي" ("مصدرًا غنيًا بالمركبات النشطة حيويًا، لا سيما البوليفينولات والقلويدات، التي تمتلك إمكانات علاجية واعدة. تهدف هذه الدراسة إلى استكشاف وتحسين النشاط البيولوجي لهذه المستخلصات النباتية من خلال دمجها مع جسيمات نانوية من الفضة (AgNPs) باستخدام طريقة التخليق الخضراء. تم استخراج المركبات الفينولية والقلويدية من الأوراق، تلا ذلك تحضير جسيمات الفضة النانوية وحدها أو الممزوجة بالمستخلصات (AgNPs-Phé و AgNPs-AIc) وتمت دراسة هذه التركيبات باستخدام تقنيات حيود الأشعة السينية (DRX) ، التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء (FTIR) ، والامتصاص الطيفي فوق البنفسجي والمرئي (UV-Vis).

أظهرت النتائج أن التركيبات الهجينة حسّنت بشكل كبير الأنشطة البيولوجية مقارنة بالمستخلصات الخام أو جسيمات الفضة النانوية بمفردها. فيما يخص النشاط المضاد لإنزيمات الكولينستراز ، قدمت تركيبة AgNPs-Ole أعلى تثبيط لإنزيم الأستيل كولينستراز (AChE) بنسبة $95.2 \pm 0.1 \pm 1.2$ ($IC_{50} = 19.1$) %ميكروغرام/مل (وإنزيم بوتيريل كولينستراز (BChE) بنسبة $94.3 \pm 0.6 \pm 0.4$ ($IC_{50} = 21.3$) %ميكروغرام/مل) ، تلتها المستخلصات القلويدية. وبالنسبة لتثبيط إنزيم DPP-4 ، أظهرت تركيبة AgNPs-Ole أفضل أداء أيضًا (85.2 ± 1.1) % ، $IC_{50} = 27.5 \pm 2.4$ ميكروغرام/مل. (أما النشاط المضاد للأوكسدة، الذي قُيم باستخدام اختبار DPPH واختبار FRAP ، فقد أظهر انخفاضًا في القدرة المضادة للأوكسدة في اختبار DPPH بعد التغليف النانوي، في حين أظهر اختبار FRAP تحسّنًا في القدرة الاختزالية، خاصة مع المستخلص الفينولي الممزوج. فيما يتعلق بالنشاط المضاد لتكوين الأغشية الحيوية (antibiofilm) ، أظهرت تركيبة AgNPs-Ole تثبيطًا ملحوظًا ضد كل من *Escherichia coli* ($91.3 \pm 0.3\%$) ، *Staphylococcus aureus* ($89.6 \pm 0.4\%$) ، و *Pseudomonas aeruginosa* ($88.1 \pm 0.2\%$) ، متفوقة على المستخلصات الخام والتركيبات الأخرى. أخيرًا، أظهرت دراسة السمية الحادة التي أجريت على الفئران أن التركيبات المختبرة متحملة جيدًا، دون تسجيل أي وفيات أو علامات سريرية على السمية عند الجرعات المعطاة.

تؤكد هذه النتائج الإمكانات الواعدة لدمج مستخلصات أوراق الزيتون مع جسيمات الفضة النانوية كاستراتيجية مبتكرة للوقاية من مرض الزهايمر والتخفيف من أمراض الشيخوخة والعدوى الميكروبية.

الكلمات المفتاحية :

أوراق الزيتون، البوليفينولات، القلويدات، جسيمات الفضة النانوية، تثبيط الإنزيمات، السمية الحادة.

Sommaire	
<i>Remerciements</i>	
<i>Dédicace</i>	
Résumé	
Sommaire	
Liste des Figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
<i>Partie 01 : Synthèse Bibliographique</i>	
<i>Chapitre 01:</i>	
<i>L'Olivier (Olea europaea L.)</i>	
<i>1. Définition Botanique et Origine de l'Olivier</i>	4
<i>2. Importance Économique de l'Olivier</i>	4
<i>3. Importance Culturelle, Paysagère et Historique</i>	5
4 Composition Chimique des Feuilles d'Olivier	5
5. Composition Chimique du Fruit et de l'Huile d'Olive	7
6. Composés Phénoliques du Fruit et de l'Huile	8
7 Définition des Alcaloïdes	8
8 Classification des Alcaloïdes	8
9 Propriétés Physiques des Alcaloïdes	9
10. Effets Pharmacologiques des Alcaloïdes	9
11 Définition des Phénols	9
12. Importance et Fonctions Biologiques	10
13. Propriétés Générales	10
14. Exemples et Classification des Phénols	10
15. Voies de Biosynthèse	11
16 Activités Biologiques des Feuilles d'Olivier	11
17. Activité Antioxydante	11
18. Activité Anti-inflammatoire	11
19. Activité Antimicrobienne et Antivirale	12
20. Activité Antihypertensive (Effet sur la Pression Artérielle)	13
21. Activité Anticancéreuse	13
22. Activité Antidiabétique	13
23. Activité Neuroprotectrice et Pertinence pour la Maladie d'Alzheimer	13
<i>Chapitre 02 :</i>	
<i>Nanotechnologie</i>	
1. Nanotechnologie	16
2. Applications des nanotechnologies	16
3. Propriétés distinctives des nanoparticules	18

4. Évolution des technologies de manipulation du monde des nanoparticules	18
5. Les matériaux nanométriques	19
6. Nanocorps	19
7. Nanoparticules	19

Liste des Figures	
Figure01: Structures chimiques de certains composés sécoiridoïdes isolés du fruit de l'olivier."	7
Figure02 : Chemical structures of two phenolic alcohol compounds isolated from olive fruit (modified from Hashmi et al.	8
Figure03: Chemical structures of some of the sterol compounds isolated from olive fruit	9
Figure 04: Localisation géographique du site de prélèvement des feuilles d'olivier à la ferme des Redhaouine	24
Figure05: XRD	37
Figure06.: FTIR	38
Figure07.: L'analyse par spectroscopie UV-Vis	39
Figure08 : Activité antioxydante des composés testés évaluée par le test DPPH	39
Figure09 : Capacité réductrice des composés testés évaluée par le test FRAP	40
Figure10 :Antibiofilm activity against Pseudomonas aeruginosa	46
Figure11 :Antibiofilm activity against Escherichia coli	46
Figure12 : Inhibition de l'enzyme DPP-4 par différents extraits et nanoparticules d'argent	48

Liste des abréviations

AChE : Acétylcholinestérase

AgNPs : Nanoparticules d'Argent

AgNPs-Alc : Nanoparticules d'Argent synthétisées à partir de l'extrait alcaloïdique

AgNPs-Ole : Nanoparticules d'Argent biosynthétisées à partir d'extraits de feuilles d'*Olea europaea*

AgNPs-Phé : Nanoparticules d'Argent synthétisées à partir de l'extrait polyphénolique

ATCC : American Type Culture Collection

A β : Peptide Bêta-Amyloïde

BChE : Butyrylcholinestérase

DPP-4 : Dipeptidyl Peptidase-4

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (radical)

DRX : Diffraction des Rayons X (parfois XRD en anglais)

FRAP : Pouvoir Antioxydant par Réduction du Fer Ferrique (Ferric Reducing Antioxidant Power)

FTIR : Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier

IC50 : Concentration Inhibitrice médiane (concentration qui inhibe 50% de l'activité)

LSPR : Résonance Plasmonique de Surface Localisée

MA : Maladie d'Alzheimer

OLE : Extrait de Feuille d'Olivier (Olive Leaf Extract)

UV-Vis : Spectroscopie Ultraviolet-Visible



Introduction

Introduction

Le monde contemporain connaît une recrudescence notable de maladies complexes, notamment celles liées au stress oxydatif, aux déséquilibres enzymatiques et aux infections microbiennes résistantes. Bien que les traitements pharmaceutiques actuels offrent des solutions thérapeutiques, ils s'accompagnent souvent d'effets secondaires notables, parfois graves, en plus de leur coût élevé et de leur accessibilité limitée (**Newman & Cragg, 2020**). Dans ce contexte, l'exploration des plantes médicinales à travers la recherche et le développement a ouvert de nouvelles perspectives prometteuses pour la mise en place de stratégies préventives et curatives innovantes (**Atanasov et al., 2015**).

Les plantes médicinales représentent une source riche en biomolécules à potentiel thérapeutique, surpassant par leur diversité et leur innocuité d'autres sources telles que les organismes marins ou les champignons (**Petrovska, 2012**). Elles renferment un large éventail de composés non toxiques, particulièrement intéressants pour le développement de médicaments ciblant divers mécanismes biologiques. À cet égard, l'olivier (*Olea europaea L.*), et en particulier ses feuilles, se distingue comme une source prometteuse de composés bioactifs (**Benavente-García et al., 2000 ; Cicerale et al., 2012**).

Les feuilles d'olivier, souvent négligées en tant que sous-produit agricole, sont riches en composés phénoliques tels que l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol, ainsi qu'en divers alcaloïdes (**Zribi et al., 2021**). De nombreuses études ont mis en évidence leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes (**Nassan et al., 2023 ; Yahfoufi et al., 2018**). Leur capacité à lutter contre le stress oxydatif – facteur central dans le développement de maladies neurodégénératives (telles que la maladie d'Alzheimer), métaboliques (comme le diabète) et même cancéreuses – suscite un grand intérêt scientifique (**Valls-Pedret 2015**).

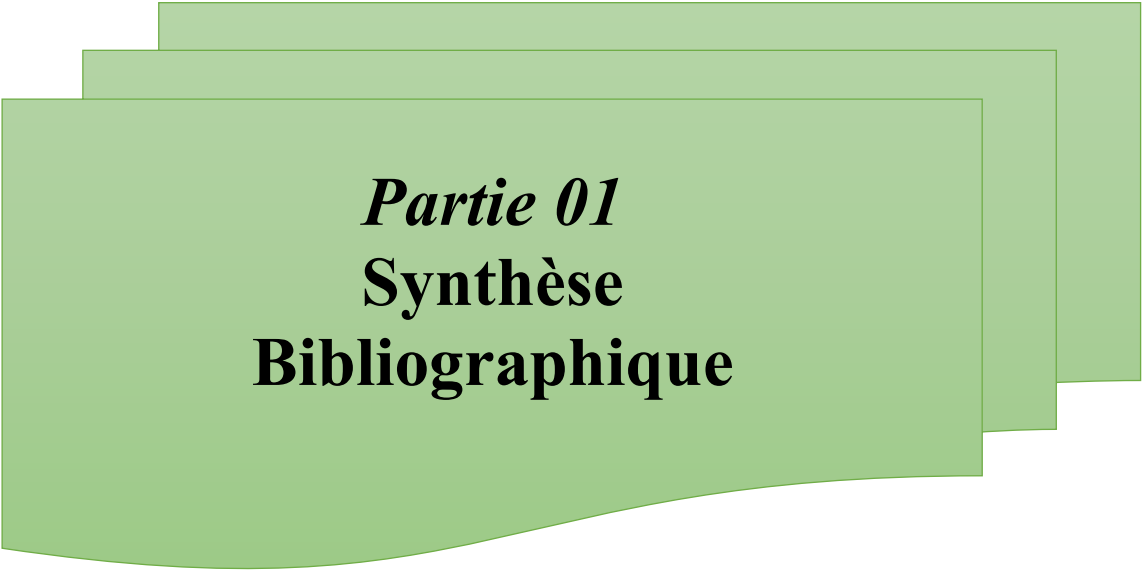
Cependant, l'amélioration de l'efficacité de ces extraits naturels et l'optimisation de leurs propriétés pharmacocinétiques constituent un défi majeur. C'est ici que la nanotechnologie, notamment les nanoparticules d'argent (*AgNPs*), joue un rôle révolutionnaire (**Iravani et al., 2014 ; Ahmed et al., 2016**). L'utilisation des extraits végétaux comme agents réducteurs dans la synthèse dite « verte » des nanoparticules d'argent, ou leur incorporation dans ces dernières, permet de concevoir des formulations hybrides plus efficaces, plus stables et biologiquement plus actives (**Barabadi et al., 2019 ; Murei et al., 2023**).

Dans ce cadre, la présente étude vise à extraire et caractériser les composés phénoliques et alcaloïdiques issus des feuilles d'olivier (var. *Sufi*), à préparer des nanoparticules d'argent fonctionnalisées avec ces extraits, puis à évaluer leur potentiel biologique. Plus précisément, nous étudierons l'activité antioxydante, la capacité d'inhibition d'enzymes clés telles que l'acétylcholinestérase (*AChE*), la butyrylcholinestérase (*BChE*), et la dipeptidyl-peptidase-4

Introduction

(DPP-4), ainsi que l'activité antibiofilm contre des souches bactériennes pathogènes, sans oublier une évaluation préliminaire de la toxicité aiguë de ces formulations.

Nous espérons que les résultats de cette recherche contribueront au développement d'approches thérapeutiques plus efficaces et plus sûres, en tirant parti de la synergie entre les ressources naturelles et les avancées de la nanotechnologie



Partie 01
Synthèse
Bibliographique

Chapitre 01:
L'Olivier (*Olea europaea* L.)

L'olivier (*Olea europaea L.*) est une espèce arboricole d'une grande signification historique, économique et culturelle, particulièrement dans le bassin méditerranéen. Cette section vise à définir l'espèce, retracer son origine et souligner son importance multidimensionnelle en se basant sur les données scientifiques issues des documents analysés.

1. Définition Botanique et Origine de l'Olivier

a. Taxonomie et Morphologie : L'olivier (*Olea europaea L.*) est un arbre fruitier ligneux appartenant à la famille des Oléacées, originaire de la région méditerranéenne (**Borjan et al., 2020**). Il se caractérise par un feuillage persistant, avec des feuilles coriaces, de forme lancéolée et de couleur vert-argenté (**Romero-Márquez et al., 2023**). Le fruit, l'olive, est une drupe (**Borjan et al., 2020**).

b. Origine et Domestication : Les études archéologiques et génétiques suggèrent que l'olivier cultivé a été domestiqué à partir de son ancêtre sauvage, l'oléastre (*Olea europaea ssp. europaea var. sylvestris*), il y a environ 6000 ans. Ce processus aurait eu lieu au Moyen-Orient, dans une aire géographique située entre la Turquie et la Syrie actuelles (**Messina & Modica, 2022**).

c. Indicateur Climatique : L'olivier est largement reconnu comme l'un des meilleurs indicateurs biologiques du climat méditerranéen (**Messina & Modica, 2022**).

2. Importance Économique de l'Olivier

a. Poids Socio-économique : Le secteur oléicole (relatif à la culture de l'olivier et à la production d'huile d'olive) possède une importance socio-économique considérable. L'industrie oléicole est fondamentale pour l'économie des pays méditerranéens, constituant une source de richesse et un pilier de leur agriculture. Elle représente une ressource économique stratégique pour l'agriculture de ces régions (**Messina & Modica, 2022**).

b. Produits Principaux : Les produits dérivés de l'olivier les plus importants économiquement sont l'huile d'olive, notamment l'huile d'olive vierge, et les olives de table (**Borjan et al., 2020**).

c. Production et Diffusion Mondiale : La culture de l'olivier s'étend sur cinquante-huit pays répartis sur les cinq continents. La consommation de ses produits touche 179 pays, témoignant de sa portée globale (**Messina & Modica, 2022**). L'Union Européenne domine la production mondiale, avec l'Espagne, la Grèce, l'Italie et le Portugal assurant près de 99 % de la production communautaire (**Romero-Márquez et al., 2023**).

d. Sous-produits et Déchets : Le cycle de production oléicole génère d'importantes quantités de sous-produits et de déchets, incluant les feuilles issues de la taille ou de la récolte (**Romero-Márquez et al., 2023**) et les résidus de l'extraction de l'huile (grignons, margines). Les feuilles elles-mêmes sont considérées comme un déchet industriel et agricole notable (**Borjan et al., 2020**).

e. Défis Phytosanitaires : La production oléicole est confrontée à diverses maladies qui peuvent sévèrement impacter le rendement des arbres (Ilias et al., 2017).

3. Importance Culturelle, Paysagère et Historique

a. Symbole Civilisationnel : L'olivier est un arbre emblématique, intrinsèquement lié à l'émergence et au développement de certaines des plus anciennes civilisations du bassin méditerranéen.

b. Héritage Historique : Son histoire est étroitement mêlée à celle des peuples méditerranéens qui ont appris, au fil des millénaires, à cultiver l'arbre et à valoriser son produit phare, l'huile d'olive.

c. Élément Structurant du Paysage : L'olivieraie constitue une composante fondamentale et historique des paysages méditerranéens, modelant de vastes territoires notamment en Italie, en Espagne et en Grèce.

d. Marqueur Identitaire et Traditionnel : La présence de l'olivier et des oliveraies est un marqueur fort de l'identité méditerranéenne. L'industrie oléicole est également porteuse de traditions ancestrales dans ces régions (Messina & Modica, 2022).

e. Usages Traditionnels : Au-delà de ses produits alimentaires, l'olivier a connu divers usages traditionnels. Ses feuilles, par exemple, étaient employées par les civilisations antiques pour leurs vertus médicinales (remède contre la fièvre) et même dans les rituels de momification en Égypte ancienne. L'extrait de feuille d'olivier est traditionnellement utilisé comme supplément phytothérapeutique (Borjan et al., 2020).

4 Composition Chimique des Feuilles d'Olivier (*Olea europaea L. folium*)

Les feuilles d'olivier, souvent considérées comme un sous-produit de l'oléiculture, constituent une source riche et sous-exploitée de composés bioactifs (Espeso et al., 2021 ; Selim et al., 2022). Leur composition peut être catégorisée comme suit :

a. Macromolécules Structurales (Fraction Lignocellulosique) Cette fraction est principalement constituée de Cellulose (environ 5.7 % du poids sec), d'Hémicellulose (environ 3.8 %) et de Lignine (environ 39.6 %) (Espeso et al., 2021).

b. Extrait de Feuille d'Olivier (OLE - Olive Leaf Extract) C'est la fraction contenant la majorité des composés bioactifs d'intérêt.

❖ **Sécoiridoïdes :** Composés caractéristiques du genre *Olea*, avec l'oleuropéine comme constituant majeur. Le ligstroside et le secoxyloganine sont également notables (Figure 01) (Zhang et al., 2022).

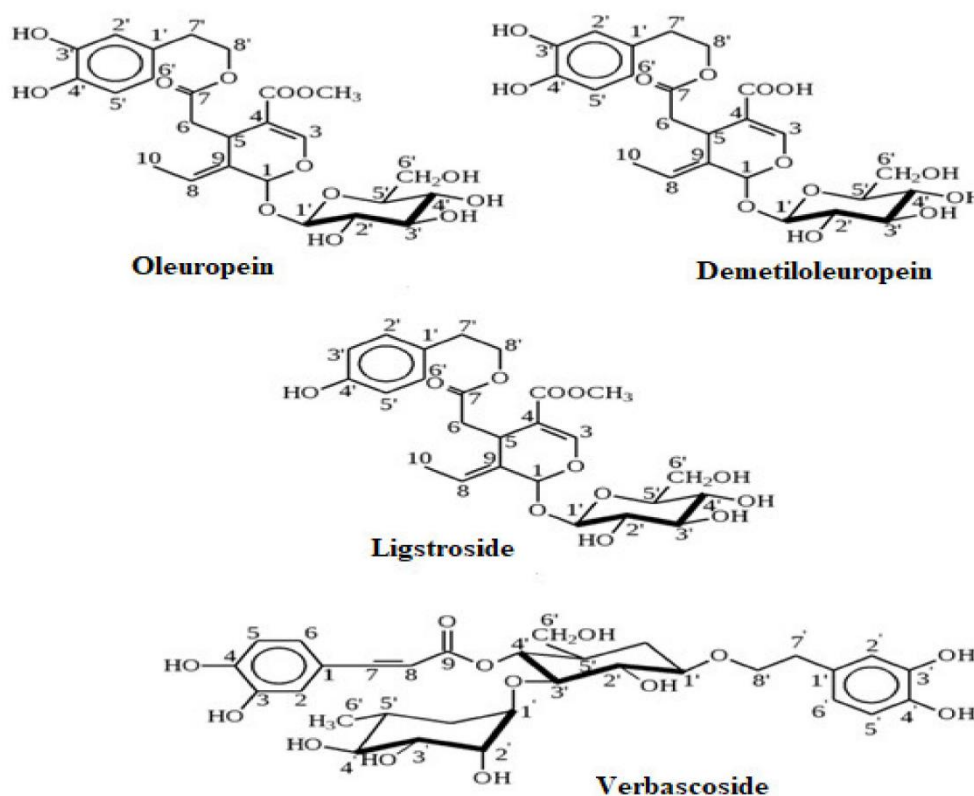


Figure 01: Structures chimiques de certains composés sécoiridoïdes isolés du fruit de l'olivier."

❖ **Flavonoïdes** : Classe très diverse comprenant des flavones (Lutéoline et dérivés glycosylés, Apigénine et dérivés glycosylés, Diosmétine et dérivés, Chrysoériol), des flavonols (Rutine, Quercétine et dérivés, Kaempférol et dérivés) et des flavanones (Ériodictyol, Taxifoline et dérivés, Hispiduline). Ils représentent une part importante des composés phénoliques totaux (**Figure 02**) (Zhang et al., 2022).

❖ **Phénols Simples et Phényléthanoïdes** : Principalement l'hydroxytyrosol et le tyrosol, ainsi que des formes glycosylées (hydroxytyrosol-4-O-glucoside).

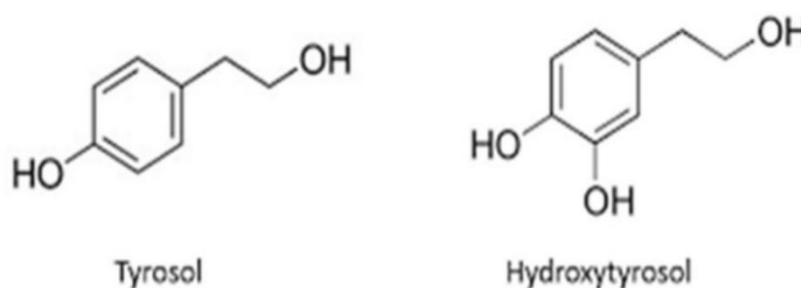


Figure 02: Chemical structures of two phenolic alcohol compounds isolated from olive fruit (modified from Hashmi et al.

❖ **Acides Phénoliques** : Incluent des acides hydroxybenzoïques (acide gallique) et hydroxycinnamiques (acide caféique, acide coumarique, acide férulique, acide vanillique, verbascoside, acide chlorogénique, plantamajoside) (Zhang et al., 2022).

❖ **Coumarines** : Esculine et Coumarine ont été identifiées.

❖ **Acides Triterpéniques** : Présents en quantités significatives, incluant les acides asiatique, oléanonique, maslinique, corosolique, ursolique et oléanolique.

(Zhang et al., 2022 p. 5, 6-7)

❖ **Éléments Minéraux** : Divers macro et microéléments sont présents (Al, B, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, S, Zn).

❖ **Chlorophylles** : Pigments responsables de la couleur verte et de la photosynthèse (Tunç et al., 2024)

❖ **Vitamine E (Tocophérols)** : L' α -tocophérol est l'isomère prédominant (Ferreira et al., 2022).

5. Composition Chimique du Fruit et de l'Huile d'Olive

Le fruit de l'olivier est la source de l'huile d'olive et des olives de table.

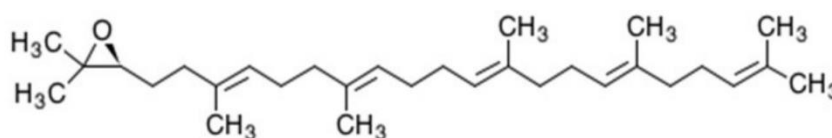
a. Composition Générale du Fruit Frais Composition approximative : Eau (~50 %), Huile (~22 %), Cellulose (~5.8 %), Glucides (~19.1 %), Protéines (~1.6 %), Composés phénoliques (~1 %), Matières inorganiques (~1.5 %), ainsi que pigments, pectines, vitamines et acides organiques (Selim et al., 2022).

b. Fraction Lipidique (Huile d'Olive) Constitue la majeure partie de la valeur économique du fruit.

❖ **Acides Gras** : Les AGMI dominant (70–80%), principalement l'**acide oléique (C18:1)**. Les AGS (acide palmitique, acide stéarique) et AGPI (acide linoléique, acide linoléique) sont également présents (Ozturk et al., 2021).

❖ **Fraction Insaponifiable** : Riche en composés bioactifs :

Hydrocarbures : Le Squalène est prédominant (Figure 03).



Squalen

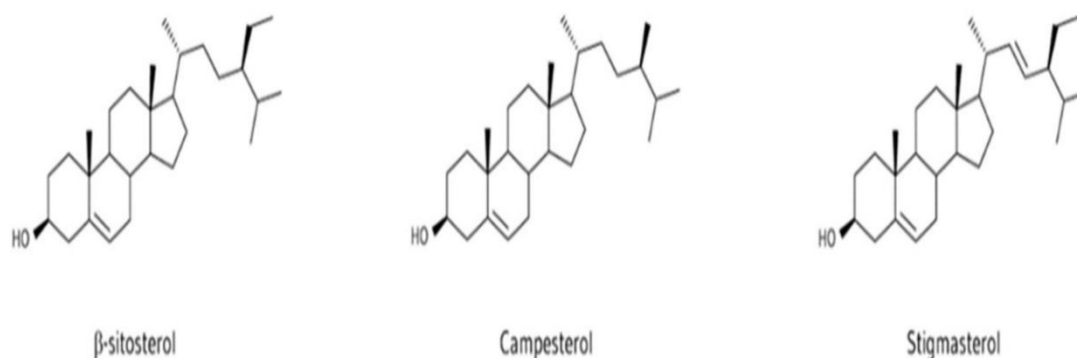


Figure 03: Chemical structures of some of the sterol and squalene compounds isolated from olive fruit (Hashmi et al. 2022)

Tocophérols (Vitamine E) : L' α -tocophérol est l'isomère principal (Ozturk et al., 2021).

6. Composés Phénoliques du Fruit et de l'Huile Influencent les propriétés organoleptiques et la stabilité. Incluent des phénols simples (Hydroxytyrosol, Tyrosol), des sécoiridoïdes (Oleuropéine, Ligstroside, Nuzhénide), des acides phénoliques et des flavonoïdes

a. Composés Volatils Responsables de l'arôme, identifiés par GC-MS (alcools, esters, hydrocarbures, etc.) (Ahmad et al., 2023).

b. Éléments Minéraux du Fruit Contient principalement phosphore, potassium, magnésium et fer (Ozturk et al., 2021).

7 Définition des Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un large groupe de produits naturels. Ce sont des bases organiques azotées ayant une structure chimique complexe. Sur le plan médical, ils sont connus pour leurs nombreuses activités biologiques. Ils se trouvent principalement dans les plantes, et moins fréquemment chez les animaux et les micro-organismes (Cordell, 1981).

8 Classification des Alcaloïdes

a) Alcaloïdes vrais : Contiennent un atome d'azote dans un cycle hétérocyclique, dérivent d'acides aminés, généralement toxiques et à activité physiologique marquée, distribution limitée dans les plantes.

b) Protoalcaloïdes : Dérivent d'acides aminés, l'azote n'est pas dans un cycle hétérocyclique. Exemple : Éphédrine.

c) Pseudoalcaloïdes : Ne dérivent pas d'acides aminés. Exemple : Alcaloïdes stéroïdiens (solanidine), alcaloïdes puriques.

Ils peuvent aussi être classés selon leur noyau chimique (purine, pyridine, isoquinoléine, indole, tropane, quinoléine, etc.) (Othman et al., 2019)

9 Propriétés Physiques des Alcaloïdes

- a) État physique : Principalement solides cristallins, certains amorphes ou liquides (nicotine, coniine, hyoscine, pilocarpine).
- b) Couleur : Généralement incolores, exceptions : berberine (jaune), colchicine (jaune), canadine (orange), bétanine (rouge).
- c) Solubilité : Forme libre peu soluble dans l'eau, soluble dans solvants organiques ; les sels sont solubles dans l'eau, moins dans les solvants organiques
- d) Activité optique : Beaucoup sont optiquement actifs. La forme lévogyre est souvent plus active que la dextrogyre (ex. éphédrine).
- e) Stabilité : Thermosensibles, certains volatils (caféine), plus stables sous forme de sels secs (Othman et al., 2019).

10. Effets Pharmacologiques des Alcaloïdes

- Analgésiques : ex. morphine, codéine.
- Stimulants du SNC : ex. caféine, strychnine.
- Mydriatiques : ex. atropine.
- Antihypertenseurs : ex. réserpine.
- Myorelaxants : ex. papavérine, atropine.
- Antiparasitaires : ex. quinine.
- Antispasmodiques : ex. papavérine.
- Action sur le SNA : Stimulants (éphédrine), inhibiteurs (ergotamine), parasymphomimétiques (pilocarpine), parasympholytiques (atropine).
- Anesthésiques locaux : ex. cocaïne (Cordell, 1981).

11 Définition des Phénols

Les composés phénoliques constituent le deuxième groupe majeur de métabolites secondaires produits par les plantes, après les alcaloïdes. Ils sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique portant un ou plusieurs groupes hydroxyle (-OH). Ces substances sont largement répandues dans le règne végétal, depuis les bryophytes et les fougères jusqu'aux plantes à fleurs, ainsi que chez certains micro-organismes. On les appelle également composés aromatiques ou cycliques fermés en raison de leur structure et, pour certains, de leur odeur caractéristique. (Dai & Mumper, 2010)

Dans le cadre de ce travail, nous nous intéressons particulièrement aux phénols extraits des feuilles d'olivier (*Olea europaea*), connus pour leur richesse en composés bioactifs aux propriétés antioxydantes et neuroprotectrices.

12. Importance et Fonctions Biologiques

Les phénols remplissent de nombreuses fonctions essentielles dans les plantes :

- Protection contre les stress abiotiques comme les rayons UV et le stress oxydatif.
- Défense contre les agents pathogènes (bactéries, champignons, virus) et les herbivores.
- Attraction des pollinisateurs par la coloration des fleurs et des fruits (ex. : anthocyanes).
- Activité antioxydante : ils neutralisent les radicaux libres, protégeant les cellules végétales (et animales lors de leur ingestion).
- Régulation de la croissance et de la germination, comme la coumarine impliquée dans la dormance des graines.
- Fonction structurale : certains, comme la lignine, renforcent les parois cellulaires végétales.

D'un point de vue nutritionnel et médical, les phénols issus des aliments végétaux (notamment des feuilles d'olivier) sont largement étudiés pour leurs effets bénéfiques : antioxydants, anti-inflammatoires, anticancéreux, antimicrobiens et neuroprotecteurs. Dans ce travail, leur rôle potentiel dans la prévention des maladies neurodégénératives, telles que la maladie d'Alzheimer, est mis en lumière (Castejón et al., 2022).

13. Propriétés Générales

Les phénols simples présentent une solubilité partielle dans l'eau. Leur solubilité dans les solvants organiques est généralement faible, mais elle peut augmenter en milieu acide du fait de la non-ionisation des groupes hydroxyle ou carboxyle.

Dans les cellules végétales, les composés phénoliques sont majoritairement présents sous forme liée à des sucres, formant des glycosides. Cette association améliore leur solubilité hydrique et facilite leur transport et leur stockage. Ils peuvent aussi se lier à des acides gras (Dai & Mumper, 2010)

14. Exemples et Classification des Phénols

Les phénols peuvent être classés selon leur structure chimique :

- Phénols simples : Un noyau benzénique avec un ou plusieurs -OH.

Exemples : *hydroquinone*, *arbutine*, *hydroxytyrosol* (phénol majeur dans les feuilles d'olivier).

- Acides phénoliques : Ils possèdent aussi un groupe carboxyle (-COOH).

Exemples : acide caféique, acide férulique, acide gallique.

- Dérivés de l'acide cinnamique : composés phénoliques importants.

Exemples : acide caféique, acide férulique.

- Flavonoïdes : Grande famille de phénols à squelette C6-C3-C6.

Exemples : flavones, flavonols, anthocyanes.

- Anthocyanes : Pigments rouges, violets et bleus des fleurs/fruits.

- Coumarines : Ex. : coumarine, aux propriétés anticoagulantes et neuroactives.
- Stilbènes : Ex. : *resvératrol*, antioxydant présent dans le raisin.
- Lignanes et lignine : Polymères structuraux protecteurs (**Castejón et al., 2022**)

15. Voies de Biosynthèse

Les composés phénoliques sont principalement produits via deux voies biosynthétiques chez les plantes :

- Voie de l'acide shikimique : fournit des acides aminés aromatiques (tyrosine, phénylalanine), précurseurs de nombreux phénols.
- Voie de l'acétate-malonate : impliquée dans la formation de cycles aromatiques spécifiques comme ceux des flavonoïdes (**Dai & Mumper, 2010**).

Les phénols sont des métabolites secondaires essentiels chez les plantes, leur conférant des propriétés de défense, de protection, de communication et de régulation. Dans le contexte de la santé humaine, leur rôle antioxydant et neuroprotecteur attire un intérêt croissant. Dans cette étude, les composés phénoliques extraits des feuilles d'olivier sont explorés en tant qu'agents actifs potentiels pour la prévention de la maladie d'Alzheimer et d'autres troubles liés au vieillissement (**Castejón et al., 2022**).

16 Activités Biologiques des Feuilles d'Olivier

Les feuilles d'olivier (*Olea europaea* L.) sont reconnues depuis longtemps pour leurs multiples propriétés bénéfiques pour la santé, attribuées à leur riche composition en composés phytochimiques, notamment les phénols. Ces activités biologiques variées en font une source précieuse pour des applications nutraceutiques et médicinales.

17. Activité Antioxydante

Les extraits de feuilles d'olivier présentent une activité antioxydante significative. Cette capacité est principalement due à la présence de composés phénoliques tels que l'oleuropéine, l'hydroxytyrosol, la rutine et le verbacoside. Ces composés peuvent neutraliser les radicaux libres et protéger les cellules contre le stress oxydatif, un facteur impliqué dans de nombreuses maladies chroniques. Des études ont montré que la capacité antioxydante varie en fonction du cultivar d'olivier, des conditions environnementales et des méthodes d'extraction. Par exemple, certains cultivars croates et italiens ont montré une activité antioxydante particulièrement élevée (**Šimat et al., 2022**).

18. Activité Anti-inflammatoire

Les feuilles d'olivier possèdent également des propriétés anti-inflammatoires. Des composés comme l'oleuropéine et ses dérivés, le verbacoside et la lutéoline-7-O-glucoside ont démontré leur capacité à réduire l'inflammation, notamment en inhibant l'enzyme cyclooxygénase-2 (COX-2).

La COX-2 est une enzyme inductible impliquée dans la production de prostaglandines, des médiateurs clés de l'inflammation. Bien que l'activité anti-inflammatoire des extraits de feuilles d'olivier soit remarquable, des études ont montré qu'il n'y avait pas nécessairement d'effet significatif lié à l'origine géographique spécifique des feuilles pour cette activité particulière (Alowaiesh et al., 2023)

19. Activité Antimicrobienne et Antivirale

Les extraits de feuilles d'olivier ont montré une activité antimicrobienne contre diverses bactéries et champignons pathogènes. Des composés comme l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol sont connus pour leurs effets inhibiteurs. De plus, des nanoparticules d'argent biosynthétisées à l'aide d'extraits de feuilles d'olivier (OLAgNPs) ont démontré une activité antimicrobienne et antifongique puissante contre des souches multirésistantes (MDR). Des études ont également rapporté une activité antivirale, par exemple contre le virus de l'hépatite B et le virus de l'herpès simplex (Laouini et al., 2020)

20. Activité Antihypertensive (Effet sur la Pression Artérielle)

L'utilisation traditionnelle des feuilles d'olivier pour la gestion de l'hypertension est soutenue par des études scientifiques. Des composés phénoliques présents dans les feuilles d'olivier peuvent contribuer à la réduction de la pression artérielle. Les mécanismes d'action peuvent inclure l'inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA), la vasodilatation et des effets diurétiques. Des études cliniques ont montré que la consommation régulière d'extraits de feuilles d'olivier pouvait entraîner une baisse significative de la pression artérielle systolique et diastolique. (Verma et al., 2021 ; Umaru et al., 2022)

21. Activité Anticancéreuse

Les extraits de feuilles d'olivier et les nanoparticules d'argent biosynthétisées à partir de ceux-ci ont montré une activité anticancéreuse prometteuse in vitro contre diverses lignées cellulaires cancéreuses (par exemple, MCF-7 pour le cancer du sein, HeLa pour le cancer du col de l'utérus, et HT-29 pour le cancer du côlon). Les mécanismes peuvent inclure l'induction de l'apoptose (mort cellulaire programmée) et l'inhibition de la prolifération cellulaire. L'hydroxytyrosol, en particulier, est un composé étudié pour son potentiel anticancéreux (Alowaiesh et al., 2023 ; Liu et al., 2021).

22. Activité Antidiabétique

Les feuilles d'olivier ont démontré un potentiel antidiabétique significatif, attribué à la richesse de leurs composés phénoliques tels que l'oleuropéine, l'hydroxytyrosol et la lutéoline. Ces composés peuvent agir par divers mécanismes, notamment l'amélioration de la sensibilité à l'insuline, la réduction de l'absorption du glucose intestinal, ainsi que l'inhibition d'enzymes clés impliquées

dans le métabolisme glucidique, telles que l' α -glucosidase et la dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4). Des études *in vivo* ont montré que l'administration d'extraits de feuilles d'olivier peut abaisser la glycémie à jeun, améliorer le profil lipidique et réduire les marqueurs de stress oxydatif chez des modèles animaux diabétiques. Ainsi, ces extraits représentent une option prometteuse pour le développement de compléments alimentaires destinés à la gestion du diabète de type 2 (Al-Azzawie & Alhamdani, 2006)

23. Activité Neuroprotectrice et Pertinence pour la Maladie d'Alzheimer

L'activité neuroprotectrice des feuilles d'olivier est d'un intérêt particulier, notamment dans le contexte de maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer (MA). La MA est caractérisée par un déclin cognitif progressif, une perte de mémoire, et des altérations neuropathologiques incluant les plaques amyloïdes (dépôts de peptide bêta-amyloïde, A β) et les enchevêtrements neurofibrillaires (dus à l'hyperphosphorylation de la protéine tau). Plusieurs mécanismes par lesquels les composés des feuilles d'olivier pourraient exercer des effets neuroprotecteurs ont été proposés :

- **Inhibition de l'Acétylcholinestérase (AChE) :** L'hypothèse cholinergique de la MA suggère qu'une altération des neurones contenant de l'acétylcholine favorise le déclin cognitif. L'AChE est une enzyme qui dégrade l'acétylcholine. L'inhibition de l'AChE augmente la disponibilité de l'acétylcholine, ce qui peut améliorer la fonction cognitive. Des études ont montré que les extraits de feuilles d'olivier, en particulier ceux provenant d'Espagne et d'Italie, présentent une activité inhibitrice significative de l'AChE. Des composés comme l'ester méthylique de l'oléoside, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine semblent être impliqués dans cette activité (Romero-Márquez et al., 2023)
- **Lutte contre le Stress Oxydatif et l'Inflammation :** Le stress oxydatif et la neuroinflammation jouent un rôle crucial dans la pathogenèse de la MA. Les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des feuilles d'olivier (mentionnées ci-dessus) peuvent donc contribuer à la neuroprotection en réduisant les dommages neuronaux (Chhimpa et al., 2023)
- **Effets sur la Pathologie A β et Tau :** Des recherches ont indiqué que des extraits d'olivier riches en hydroxytyrosol peuvent prévenir l'agrégation de la protéine A β et réduire la protéotoxicité tau *in vivo* (sur des modèles animaux comme *C. elegans*). Le citrate, dont la synthèse est liée au métabolisme énergétique mitochondrial souvent altéré dans la MA, a également été étudié pour son rôle potentiel dans l'inhibition de l'agrégation A β . Une faible activité de la citrate synthase mitochondriale, observée dans la MA, pourrait contribuer à la pathogenèse en réduisant l'énergie cellulaire et la production d'acétylcholine (Chhimpa et al., 2023)

- **Diagnostic et Thérapie** : La MA reste une maladie complexe sans traitement curatif. Les approches thérapeutiques actuelles se concentrent sur le contrôle des symptômes, notamment avec des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. La recherche se poursuit pour identifier de nouveaux biomarqueurs et des thérapies capables de prévenir la progression de la pathologie, y compris des médicaments ciblant la pathologie A β , l'hyperphosphorylation de la protéine tau, et la gestion des facteurs de risque (**García-Morales et al., 2021**).

Les feuilles d'olivier représentent une source prometteuse de composés bioactifs avec un large éventail d'activités biologiques, y compris un potentiel neuroprotecteur pertinent pour la prévention ou le traitement adjuvant de la maladie d'Alzheimer. La recherche continue d'explorer les mécanismes précis et l'efficacité clinique de ces composés.

A green trapezoidal shape with a white border, positioned in the center of the page. It contains the chapter title.

Chapitre 02 :
Nanotechnologie

Les chercheurs en nanotechnologie travaillent quotidiennement sur des particules mesurant un milliardième de mètre. À cette fin, Ils utilisent des instruments extrêmement spécialisés, tels que le microscope à effet tunnel, qui grâce à une pointe métallique ultra-fine, permet de manipuler des fragments nanométriques à proximité de la surface et de "voir" les atomes présents sur celle-ci. La nanoscience concerne l'étude des phénomènes observés à l'échelle de quelques nanomètres, dont les propriétés spécifiques découlent précisément de cette échelle nanométrique. En général, la "nanoscience" désigne l'étude des phénomènes et la manipulation des matériaux à l'échelle atomique, moléculaire et supramoléculaire, où les propriétés diffèrent considérablement de celles observées à des échelles plus grandes (Amandine, 2012).

1. Nanotechnologie

Le terme « nanotechnologie » est un concept général qui englobe des applications dans de nombreux domaines scientifiques. Il désigne principalement la recherche portant sur les principes et les propriétés observables à l'échelle nanométrique. L'objectif des nanotechnologies est de produire des objets ou des matériaux dont la taille est inférieure à 100 nanomètres. Cela implique l'ensemble des processus de conception, de fabrication et d'application de structures, dispositifs et systèmes, en contrôlant leur forme et leur taille à l'échelle nanométrique.

Les nanotechnologies relèvent de la recherche appliquée et présentent un grand potentiel dans des domaines d'application variés (Amandine, 2012).

2. Applications des nanotechnologies

Dans le domaine de la mécanique industrielle, les chercheurs ont obtenu des résultats remarquables en matière de contrôle de l'usure, de la corrosion et de l'érosion mécano-chimique (Hawk, 2008), ainsi que dans la réduction du frottement mécanique. Cela permettra de se passer des matériaux de lubrification et de graissage, contribuant ainsi à prolonger la durée de vie des machines et à accroître leur efficacité.

Dans l'industrie automobile, de nouvelles méthodes et matériaux nanométriques, ont été utilisés pour la peinture, l'enrobage et l'isolation, ce qui a permis d'alléger le poids des véhicules et d'augmenter leur résistance. Cela contribue également à réduire leur consommation de carburant. De nombreuses recherches sont en cours dans le développement et la fabrication de pneus intelligents capables de s'adapter automatiquement aux conditions climatiques, à la nature du sol et à d'autres facteurs externes.

En matière de stockage de l'information, des chercheurs allemands ont réussi à stocker des données dans quelques atomes seulement et à les lire. Si les progrès se poursuivent dans ce sens, il deviendra possible de stocker toute la littérature mondiale produite sur une puce de la taille d'un timbre-poste. Par ailleurs, des scientifiques allemands ont également découvert une nouvelle

méthode utilisant les nanotechnologies pour préserver les manuscrits anciens et les protéger de la détérioration et des effets des facteurs environnementaux.

La nanotechnologie est largement utilisée dans les domaines médical et scientifique. Les applications médicales de cette technologie (Hawk, 2008), comptent parmi les plus prometteuses. À titre d'exemple, de nombreux outils issus de la nanotechnologie sont utilisés dans le domaine médical, tels que:

- Les microscopes électroniques avancés, comme le microscope électronique à balayage.
- Les équipements utilisés pour le développement des cellules, des bactéries, des virus et des structures moléculaires.
- Les nanoparticules de carbone, qui peuvent être façonnées pour produire des matériaux cent fois plus résistants que l'acier tout en étant six fois plus légers. Elles offrent également une meilleure conductivité que le cuivre, et peuvent être utilisées en toute sécurité dans certaines applications médicales, telles que les systèmes de délivrance de médicaments. Les nanotubes et les fullerènes en sont des exemples notables.
- Les dispositifs microscopiques intégrant des systèmes électromécaniques miniaturisés, utilisés dans les interventions chirurgicales ou comme dispositifs de régulation du rythme cardiaque.
- La microfluidique (microfluidics), utilisée pour les tests d'AND.
- Les puces à ADN (microarrays), servant à détecter de faibles quantités de bactéries pathogènes. (NICNAS, 2006)

3. Propriétés distinctives des nanoparticules

Les nanoparticules se distinguent par de nombreuses propriétés physiques, chimiques et mécaniques qui les différencient des particules et matériaux de plus grande taille, c'est-à-dire ceux dont les dimensions dépassent 100 nanomètres. Ces matériaux plus grands sont qualifiés de matériaux en phase massive (bulk materials), c'est-à-dire des matériaux ayant des dimensions classiques supérieures à 100 nm. Lorsqu'un matériau est réduit à l'échelle nanométrique (dimensions inférieures à 100 nm), Il manifeste des propriétés complètement différentes de celles qu'il présente à l'état massif. Ce changement de comportement a conduit à qualifier les nanoparticules de miracle scientifique moderne.

On peut ainsi imaginer qu'une substance que nous connaissons bien peut se comporter de manière totalement nouvelle à l'échelle nanométrique : par exemple, des matériaux isolants peuvent devenir conducteurs, tandis que des conducteurs peuvent se comporter comme des isolants. Ce phénomène ouvre la voie à une multitude de comportements et de propriétés étonnantes.

Parmi les propriétés remarquables des nanoparticules on peut citer leur capacité à changer de couleur selon leur taille et leur forme. Ce phénomène est observable notamment avec des éléments

tels que l'or et l'argent. En plus de leurs couleurs dorée et argentée bien connues, les solutions contenant des nanoparticules d'or, par exemple, peuvent changer de couleur en fonction de la taille des particules. Une solution colloïdale d'or prend soudainement une couleur orange lorsque la taille de ses nanoparticules est inférieure à 100 nanomètres. Elle devient verte lorsque la taille des nanoparticules d'or, de forme sphérique (sphères-nano), est inférieure à 50 nanomètres. En ce qui concerne la solution d'argent, elle change brusquement de couleur pour devenir rouge lorsque la taille de ses nanoparticules, de forme prismatique (prismes-nano), est inférieure à 100 nanomètres. Par ailleurs, une solution contenant des nanoparticules d'argent sphériques voit sa couleur varier en fonction de la taille des particules : elle devient jaune clair lorsque celles-ci mesurent moins de 120 nanomètres, bleu clair à moins de 80 nanomètres, et bleu foncé lorsque leur taille est inférieure à 40 nanomètres. (**Holister *et al.*, 2003**),

Parmi les propriétés inhabituelles des nanoparticules figure également la dureté. En effet, la dureté des nanoparticules d'un matériau donné dépasse de plusieurs centaines de fois celle du même matériau à l'état massif. À titre d'exemple, il a été démontré expérimentalement que la dureté des nanoparticules sphériques de silicium (sphères de nano-silicium), dont la taille varie entre 40 et 100 nanomètres, est des centaines de fois supérieure à celle du silicium massif. Ces nanoparticules possèdent une dureté qui les classe parmi les matériaux les plus durs sur Terre, se situant entre celle du rubis et du diamant.

Une autre propriété remarquable est la transparence. Les nanoparticules dont les dimensions sont inférieures aux longueurs d'onde de la lumière ne réfléchissent ni ne réfractent celle-ci, ce qui leur confère une transparence élevée. Cela permet de les utiliser dans de nombreuses applications sans altérer la couleur ou l'apparence du produit, comme c'est le cas avec les films d'emballage transparents (**Holister *et al.*, 2003**).

4. Évolution des technologies de manipulation du monde des nanoparticules :

Il y a quatre décennies, la nanotechnologie et ses applications n'étaient qu'une philosophie et des hypothèses théoriques. Ce n'est que durant les vingt dernières années qu'elle est passée de la philosophie à la réalité pratique grâce aux appareils et technologies modernes qui ont rendu scientifiquement possible l'interaction avec le monde des atomes et des nanoparticules.

Le monde des nanos n'est pas simplement un monde minuscule, mais un monde d'une petitesse particulière, surpassée uniquement par celui des atomes et des molécules flottant librement dans l'espace. Ainsi, les structures nanométriques c'est-à-dire les particules que l'homme tente de fabriquer et de structurer par le biais de la nanotechnologie ne sont pas seulement les plus petites structures réalisables, mais les plus petites que l'homme puisse physiquement concevoir. En tout cas, ce n'est que depuis deux décennies que les chercheurs ont pu interagir efficacement avec le

monde nanométrique, grâce à l'avancée significative des technologies de microscopie de précision. Cela inclut les microscopes à effet tunnel (STM), les microscopes à force atomique (AFM), ainsi que les microscopes électroniques, notamment les microscopes électroniques à balayage (SEM) et les microscopes électroniques en transmission (TEM). Tous ces appareils sont qualifiés de techniques nanotechnologiques (Nano-Techniques) ou d'outils nanotechnologiques (Nano-Tools) (NanoVic, 2008).

5. Les matériaux nanométriques :

Un matériau nanométrique est une substance possédant des propriétés particulières en raison de sa structure nanométrique. Cette structure est généralement dérivée de la nanotechnologie (**Kendouli, 2012**).

6. Nanocorps

Le terme « nanocorps » ne possède pas de définition unique. Pour certains, il s'agit d'un objet dont toutes les dimensions spatiales sont de l'ordre du nanomètre (c'est-à-dire comprises entre 1 et 100 nanomètres). Pour d'autres, c'est un objet dont au moins une des dimensions (longueur, diamètre, ou épaisseur) se situe dans cet intervalle (**Kendouli, 2012**).

7. Nanoparticules

Les nanoparticules sont des entités nanométriques dont les trois dimensions varient entre 1 et 2 nanomètres. Dans cette définition, la forme importe peu ; seule la contrainte dimensionnelle doit être respectée. Ainsi, on peut rencontrer des nanoparticules de formes sphérique, rectangulaire ou même angulaire dans le cas de structures cristallines. Certaines techniques de synthèse, comme les torches à plasma, permettent parfois d'obtenir des objets de taille nanométrique sous forme amorphe. On peut également citer les fullerènes, qui représentent une forme cristalline particulière (**Amandine, 2012**).

a. Classification des nanoparticules :

Les critères de classification sont variés : selon leurs dimensions et leurs formes ou selon leurs origines (naturelles et/ou anthropiques).

b. Classification des nanoparticules selon leurs dimensions :

❖ **Nanoparticules zéro dimension (0D)** : Matériaux dispersés, aléatoires ou organisés, tels que les cristaux colloïdaux utilisés en optique ou les fluides magnétiques. **Nanoparticules**

❖ **unidimensionnelles (1D)** : Matériaux sous forme de nanofils ou de nanotubes.

❖ **Nanoparticules bidimensionnelles (2D)** : Matériaux en forme de couches minces, comme dans le cas des dépôts de sédiments ou des revêtements épais obtenus par projection plasma ou par des moyens électrochimiques.

❖ **Nanoparticules tridimensionnelles (3D)** : Matériaux sous forme compacte, tels que les céramiques ou les structures métalliques nanométriques (**Gaffet, 2006**).

c. Classification des nanoparticules selon leur origine

❖ **Nanoparticules naturelles et/ou d'origine anthropique:**

Une grande quantité de nanoparticules présentes dans l'environnement sont d'origine naturelle, bien que leur proportion soit inférieure à celle des émissions potentielles de nanoparticules manufacturées, généralement désignées sous le nom de nanoparticules. Ces dernières proviennent d'incendies de forêts, d'éruptions volcaniques, de la foudre, etc. Elles font partie intégrante de l'environnement depuis la formation de la planète. Les nanoparticules atmosphériques correspondent en général aux aérosols, avec un spectre étendu de tailles de particules, allant au-delà de celui des nanoparticules, qui représentent la partie inférieure de ce spectre (**Huertas, et al., 1996 ; Angelucci, et al., 2010**).

Les nanoparticules d'origine anthropique se divisent en deux grandes catégories : les nanoparticules accidentelles et les nanoparticules manufacturées (ou « ingénierées »).

Les nanoparticules accidentelles sont hétérogènes en termes de taille et de forme. Elles sont produites par la combustion de combustibles fossiles (essence, diesel, charbon, propane), l'exploitation minière à grande échelle, ainsi que les brûlis de forêts à des fins agricoles.

Les nanoparticules conçues de manière ingénierique sont des particules spécialement élaborées avec des tailles, des formes et des compositions précisément contrôlées (**Kittelson, 1998**). Elles peuvent même comporter plusieurs couches (par exemple, des nanoparticules d'or recouvertes de nanoparticules de silice mésoporeuses chargées de médicaments et encapsulées).

❖ **b-Les nanoparticules manufacturées:**

On parle de matériaux nanotechnologiques manufacturés lorsqu'ils sont intentionnellement produits et introduits dans l'environnement par l'activité humaine. Ces matériaux correspondent généralement, au départ, à des particules présentant un spectre monodisperse, c'est-à-dire centré autour d'une dimension unique, avec une faible dispersion (**Buffet, 2012**).

Il convient également de prendre en compte que les nanoparticules conçues peuvent représenter un cas particulier, car elles peuvent être conçues pour posséder des propriétés de surface spécifiques et une chimie (de surface) qui ne sont pas susceptibles d'exister dans les particules naturelles. Par conséquent, elles peuvent avoir des propriétés physico-chimiques ou toxiques nouvelles ou améliorées par rapport aux nanoparticules naturelles (**Richard, 2008**).



Conclusion

Conclusion

Cette étude visait à explorer le potentiel thérapeutique des extraits de feuilles d'olivier (variété 'Sufi'), riches en polyphénols et en alcaloïdes, et à évaluer l'effet de leur association avec des nanoparticules d'argent (AgNPs) sur l'amélioration de leur efficacité biologique. Les résultats obtenus ont clairement démontré que la stratégie de "greffage" nanotechnologique des extraits végétaux représente une approche prometteuse pour optimiser leurs propriétés pharmacologiques.

Les analyses physico-chimiques ont confirmé le succès de la synthèse des nanoparticules d'argent et leur fonctionnalisation avec les extraits phénoliques et alcaloïdiques. Parmi les résultats les plus marquants de cette étude, on note :

- Renforcement de l'activité inhibitrice enzymatique : Les formulations nanohybrides (Phénolique/Ag et Alcaloïde/Ag) ont montré une efficacité significativement supérieure dans l'inhibition des enzymes acétylcholinestérase (AChE), butyrylcholinestérase (BChE) et dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4), comparativement aux extraits bruts ou aux nanoparticules seules. Ces résultats suggèrent un potentiel d'utilisation de ces formulations comme agents adjuvants dans la gestion de maladies telles que l'Alzheimer et le diabète.
- Effet variable sur l'activité antioxydante : L'encapsulation nanométrique a eu un impact contrasté sur l'activité antioxydante ; une diminution de l'efficacité a été observée dans le test DPPH, tandis qu'une amélioration du pouvoir réducteur du fer (FRAP) a été notée avec l'extrait phénolique encapsulé. Cela souligne l'importance d'utiliser plusieurs méthodes pour évaluer l'activité antioxydante et mieux comprendre les mécanismes d'interaction complexes.
- Forte efficacité antibiofilm : Les formulations nanométriques, en particulier celles dérivées des extraits alcaloïdiques, ont démontré une inhibition marquée de la formation de biofilms chez des souches bactériennes à Gram positif et négatif, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour le développement d'agents antimicrobiens capables de lutter contre les infections résistantes.
- Innocuité préliminaire des formulations nanométriques : L'étude de toxicité aiguë n'a révélé aucun signe évident de toxicité aux doses testées chez les rats, indiquant une sécurité initiale prometteuse de ces formulations et soutenant leur développement en tant que produits thérapeutiques potentiels.

De manière générale, les résultats de cette étude soutiennent fortement l'hypothèse selon laquelle l'association d'extraits naturels à la nanotechnologie peut conduire au développement d'agents thérapeutiques innovants à efficacité améliorée. La synergie potentielle entre les composés bioactifs des feuilles d'olivier et les propriétés uniques des nanoparticules d'argent offre une base solide pour des recherches et des développements futurs.

Recommandations futures :

Conclusion

Sur la base de ces résultats, nous recommandons :

- De mener des études approfondies pour identifier les composés actifs principaux responsables des effets biologiques observés dans les extraits phénoliques et alcaloïdiques.
- D'optimiser les méthodes de préparation et de caractérisation des formulations nanométriques afin d'assurer leur stabilité et un meilleur contrôle de la libération des principes actifs.
- D'élargir les études de toxicité pour inclure des évaluations subaiguës et chroniques, en vue d'évaluer la sécurité à long terme de ces formulations.
- De réaliser des études *in vivo* supplémentaires sur des modèles animaux des maladies ciblées (telles que l'Alzheimer, le diabète et les infections bactériennes), pour évaluer l'efficacité thérapeutique des formulations prometteuses.
- D'explorer les mécanismes d'action précis par lesquels les nanoparticules d'argent améliorent l'efficacité des extraits végétaux au niveau cellulaire et moléculaire.

En conclusion, cette étude constitue une contribution précieuse dans le domaine de la valorisation des ressources naturelles et de l'application des nanotechnologies pour le développement de solutions thérapeutiques innovantes. Nous espérons que ses résultats serviront de point de départ pour des recherches futures visant à traduire ces découvertes en applications pratiques au service de la santé humaine.

A light green trapezoidal shape with a thin dark green border, centered on the page. The word 'Références' is written in bold black text inside this shape.

Références

Références

- 1) Ademosun, A. O., Bello, F., & Oboh, G. (2016). Antioxidant and cholinesterase inhibitory properties of essential oils from lemon grass, lavender and peppermint in vitro. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 11(4), 437–443. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2016.07.002>
- 2) Ahamed, M., AlSalhi, M. S., & Siddiqui, M. K. J. (2010). Silver nanoparticle applications and human health. *Clinica Chimica Acta*, 411(23–24), 1841–1848. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2010.08.016>
- 3) Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2016). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. *Journal of Advanced Research**, 7(1), 17–28. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.02.007>
- 4) Ahmed, S., Saifullah, Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities: A review. *International Journal of Nanomedicine*, 11, 3729–3755.
- 5) Angelucci, G., Bedin, K., Tirlor, W., & Donega, M. (2010). Ultra-fine particles in emissions of a municipal solid waste incinerator and wood. Paper presented at the Third International Symposium on Energy from Biomass and Waste, Venice, Italy.
- 6) Atanasov, A. G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E.-M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., ... & Stuppner, H. (2015). Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology Advances*, 33(8), 1582–1614.
- 7) Athamna, F., & Benouchenne, D. (2017). Anti-obesity effect of olive leaves powder. [Master's thesis, University of Brothers Mentouri Constantine 1].
- 8) Barabadi, H., Mojab, F., Vahidi, H., Marashi, B., & Talank, N. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts: A mechanistic review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 1–14.
- 9) Barapatre, A., Meena, A. S., & Jha, H. (2016). FTIR analysis and antioxidant activity of phenolic compounds of some Indian medicinal plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, 36(1), 48–54.
- 10) Bayanati, M., & Alizadeh, M. (2024). Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: A systematic review of structure-activity relationship studies. *Current Diabetes Reviews*, 20(1), 1–15. <https://doi.org/10.2174/1573399819666230810110935>
- 11) Benavente-García, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuño, A., & Del Río, J. A. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*, 68(4), 457–462.

Références

- 12) Benhalima, A., Zermane, A., & Ladjel, S. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using olive leaf extract and evaluation of their antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 20(12), 7598–7606.
- 13) Borjan, D., Leitgeb, M., Knez, Ž., & Knez Hrnčič, M. K. (2020). Microbiological and antioxidant activity of phenolic compounds in olive leaf extract. *Molecules*, 25*(24), 5946. <https://doi.org/10.3390/molecules25245946>
- 14) Bouaziz, M., Chamkha, M., & Sayadi, S. (2010). Comparative study on phenolic content and antioxidant activity of two varieties of olive leaves from Tunisia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58(24), 13551–13556.
- 15) Buffet, P. E. (2012). Evaluation du risque environnemental des NP métalliques: biodisponibilité et risque potentiel pour deux espèces clés des écosystèmes estuariens [Thèse de doctorat, Université de Nantes].
- 16) Chung, Y. C., Park, M. J., & Chung, H. Y. (2001). Cholinesterase inhibitory activity of lignans from *Sambucus williamsii*. *Archives of Pharmacal Research*, 24(6), 554–557.
- 17) Cicerale, S., Lucas, L. J., & Keast, R. S. (2012). Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 129–135.
- 18) CLSI. (2012). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard (9th ed.)*. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- 19) Cordell, G.A. (2008). *Introduction to Alkaloids: A Biogenetic Approach*. Wiley.
- 20) Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
- 21) Djordjevic, V. B., Veselinovic, I. M., & Ilic, I. R. (2020). In vitro anticholinesterase and antioxidant properties of polyphenolic extracts from various medicinal plants. *Plants*, 9(9), 1167. <https://doi.org/10.3390/plants9091167>
- 22) Djurišić, A. B., Leung, Y. H., Ng, A. M. C., Xu, X. Y., Lee, P. K. H., Degger, N., & Wu, R. S. S. (2013). Toxicity of metal oxide nanoparticles: mechanisms, characterization, and avoiding experimental artefacts. *Small*, 9(9–10), 1573–1591. <https://doi.org/10.1002/sml.201201429>
- 23) El, S. N., & Karakaya, S. (2009). Olive tree (*Olea europaea*) leaves: Potential beneficial effects on human health. *Nutrition Reviews*, 67*(11), 632–638. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00248.x>

Références

- 24) Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(
- 25) Espeso, J., Isaza, A., Lee, J. Y., Sørensen, P. M., Jurado, P., Avena-Bustillos, R. d. J., Olaizola, M., & Arboleya, J. C. (2021). Olive leaf waste management. **Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5*, 660582. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.660582>
- 26) Feizi, H., Moghaddam, M. S., & Jafari, M. (2021). Silver nanoparticle biosynthesis using **Olea europaea** leaf extract and evaluation of antibacterial properties. **Applied Nanoscience**, 11, 2233–2243.
- 27) Ferreira, D. M., de Oliveira, N. M., Chéu, M. H., Meireles, D., Lopes, L., Oliveira, M. B., & Machado, J. (2023). Updated organic composition and potential therapeutic properties of different varieties of olive leaves from *Olea europaea*. **Plants*, 12*(3), 688. <https://doi.org/10.3390/plants12030688>
- 28) Gaffet, E. (2006). Les Nanomatériaux: effet sur la santé de l’homme et sur l’environnement. AFSSET.
- 29) Goulas, V. (n.d.). Phytochemistry of olive-leaf extracts and medicinal properties. In V. Preedy & R. Watson (Eds.), **Olives and olive oil in health and disease prevention** (pp. 10–27). Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS).
- 30) Hawk. (2008). Understanding Nano. <http://www.understandingnano.com/index.html>
- 31) Hollister, P., et al. (2003). Nanoparticles: Technology white paper no. 3. Cientifica.eu. <http://cientifica.eu/>
- 32) Huertas, M. L., Marty, A. M., Fontan, J., & Blanc, D. (1969). Measurement of the mobility and the diffusion coefficient of ultrafine radioactive particles in the air. *Journal of the Atmospheric Sciences*, 26(2), 274–280.
- 33) Ibrahim, H. M. M. (2015). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana peel extract and their antimicrobial activity against representative microorganisms. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 8(3), 265–275. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2015.01.007>
- 34) Ilias, F., Medjdoub, K., & Gaouar, N. (2017). Phenolics compounds of olive and olive leaves identified in the resistance to Prays oleae (Bernard). **Plant Archives*, 17*(2), 1761–1764.
- 35) Ingkaninan, K., Temkitthawon, P., Chuenchom, K., Yuyaem, T., & Thongnoi, W. (2003). Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. *Journal of Ethnopharmacology*, 89(2–3), 261–264.

Références

- 36) Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V., & Zolfaghari, B. (2014). Synthesis of silver nanoparticles: Chemical, physical and biological methods. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 9(6), 385–406.
- 37) Jan, H., Khan, A., & Usman, Z. (2021). Plant-mediated green synthesis of ZnO nanoparticles for biomedical applications. **Materials Science in Semiconductor Processing**, 123, 105594.
- 38) Jukic, M., Politeo, O., Maksimovic, M., Milos, M., & Milos, M. (2007). In vitro acetylcholinesterase inhibitory properties of thymol, carvacrol and their derivatives. *Phytotherapy Research: PTR*, 21(3), 259–261.
- 39) Kendouli, S. (2012). Préparation et fonctionnalisation de quelques nanostructures sous forme de nanofibres [Thèse de doctorat, Université Mentouri de Constantine].
- 40) Kim, Y., Lee, J. H., Lee, D. Y., & Jeong, T. S. (2023). Discovery of novel DPP-IV inhibitors from medicinal plants for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Phytomedicine*, 121, 154885. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.154885>
- 41) Kittelson, D. B. (1998). Engines and nanoparticles: A review. *Journal of Aerosol Science*, 29, 575–588.
- 42) Kora, A. J. (2020). Silver nanoparticles as a potent anti-biofilm agent against biofilm producing multidrug-resistant clinical isolates. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(7), 1650–1656. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.03.013>
- 43) Kumar, M., Wijerathna, N., Anany, H., & Friedman, M. (2017). Antimicrobial and antibiofilm activities of silver nanoparticles against clinical isolates of Staphylococcus aureus and Escherichia coli. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 1095–1105.
- 44) Lara, H. H., Ayala-Nuñez, N. V., Ixtapan-Turrent, L., & Rodriguez Padilla, C. (2010). Mode of antiviral action of silver nanoparticles against HIV-1. *Journal of Nanobiotechnology*, 8, 1. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-8-1>
- 45) Merritt, J. H., Kadouri, D. E., & O'Toole, G. A. (2005). Growing and analyzing static biofilms. *Current Protocols in Microbiology*, 1(1B), 1B.1.1–1B.1.17. <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc01b01s00>
- 46) Messina, G., & Modica, G. (2022). Twenty years of remote sensing applications targeting landscape analysis and environmental issues in olive growing: A review. **Remote Sensing*, 14*(21), 5430. <https://doi.org/10.3390/rs14215430>
- 47) Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, 26(2), 211–219.

Références

- 48) Mortelmans, K., & Zeiger, E. (2000). The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 455(1–2), 29–60.
- 49) Motulsky, H. (2014). *Intuitive Biostatistics: A Nonmathematical Guide to Statistical Thinking* (3rd ed.). Oxford University Press.
- 50) Mukherjee, P. K., Kumar, V., Mal, M., & Houghton, P. J. (2007). Acetylcholinesterase inhibitors from plants. *Phytomedicine*, 14(4), 289–300. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2007.02.002>
- 51) Murei, A., Mbuthia, C., Gachumi, M., & Omwenga, E. (2023). Biogenic silver nanoparticles and their application in medicine and agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(2), 678–691.
- 52) Naczk, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1-2), 95–111.
- 53) NanoVic. (2008). History of Nanotechnology. <http://www.nanovic.com.au/>
- 54) Nassan, M. A., Elsharkawy, A. Z., & Said, M. A. (2023). Olive Leaf Extract and Alzheimer's Disease: Mechanisms of Neuroprotection. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 15, 1203042.
- 55) National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme. (2006). Nanomaterials sheet. <http://www.nicnas.gov.au>
- 56) Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 1981 to 2019. *Journal of Natural Products*, 83(3), 770–803.
- 57) Northwestern University. (2005). Discovernano. <https://www.discovernano.northwestern.edu>
- 58) OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). (2001). *OECD Guideline for Testing of Chemicals No. 423: Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method*. OECD Publishing.
- 59) Orhan, I., Kartal, M., Naz, Q., Ejaz, A., Yilmaz, G., Kan, Y., & Choudhary, M. I. (2007). Antioxidant and anticholinesterase evaluation of selected Turkish Salvia species. *Food Chemistry*, 103(4), 1247–1254.
- 60) O'Toole, G. A. (2011). Microtiter dish biofilm formation assay. *Journal of Visualized Experiments*, (47), e2437. <https://doi.org/10.3791/2437>
- 61) Ozturk, M., Altay, V., Gönenç, T. M., Unal, B. T., Efe, R., Akçiçek, E., & Bukhari, A. (2021). An overview of olive cultivation in Turkey: Botanical features, eco-physiology and phytochemical aspects. *Agronomy*, 11*(2), 295. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020295>

Références

- 62) Peeters, E., Nelis, H. J., & Coenye, T. (2008). Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. *Journal of Microbiological Methods*, 72(2), 157–165. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.11.010>
- 63) Pérez-Gálvez, R., Berraquero-García, C., Ospina-Quiroga, J. L., Espejo-Carpio, F. J., Alméjida, M. C., Guadix, A., García-Moreno, P. J., & Guadix, E. M. (2024). Influence of in vitro digestion on Dipeptidyl Peptidase-IV (DPP-IV) inhibitory activity of plant-protein hydrolysates obtained from agro-industrial by-products. *Foods*, 13(17), 2691. <https://doi.org/10.3390/foods13172691>
- 64) Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Reviews*, 6(11), 1–5.
- 65) Prabhu, S., & Poulouse, E. K. (2012). Silver nanoparticles: Mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. **International Nano Letters**, 2, 32.
- 66) Pulido, R., Bravo, L., & Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48(8), 3396–3402. <https://doi.org/10.1021/jf9913458>
- 67) Rai, M., Yadav, A., & Gade, A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, 27(1), 76–83. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.002>
- 68) Raza, M. A., Kanwal, Z., Rauf, A., Sabri, A. N., Riaz, S., & Naseem, S. (2016). Size- and shape-dependent antibacterial studies of silver nanoparticles synthesized by wet chemical routes. **Nanomaterials**, 6(4), 74.
- 69) Rhee, I. K., van de Meent, M., Ingkaninan, K., & Verpoorte, R. (2001). Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. *Journal of Chromatography A*, 915(1–2), 217–223.
- 70) Richard, D. H. (2008). The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicology*, 17, 287–314.
- 71) Romero-Márquez, J. M., Navarro-Hortal, M. D., Forbes-Hernández, T. Y., Varela-López, A., Puentes, J. G., Sánchez-González, C., Sumalla-Cano, S., Battino, M., García-Ruiz, R., Sánchez, S., & Quiles, J. L. (2024). Effect of olive leaf phytochemicals on the anti-acetylcholinesterase, anti-cyclooxygenase-2 and ferric reducing antioxidant capacity. **Food Chemistry*, 444*, 138516. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138516>
- 72) Rufino-Palomares, E. E., Pérez-Jiménez, A., García-Salguero, L., Mokhtari, K., Reyes-Zurita, F. J., Peragón-Sánchez, J., & Lupiáñez, J. A. (2022). Nutraceutical role of polyphenols and triterpenes present in the extracts of fruits and leaves of *Olea europaea* as antioxidants, anti-

Références

infectives and anticancer agents on healthy growth. **Molecules*, 27*(7), 2341. <https://doi.org/10.3390/molecules27072341>

73) Song, J. Y., & Kim, B. S. (2009). Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, 32(1), 79–84.

74) Stepanović, S., Vuković, D., Dakić, I., Savić, B., & Švabić-Vlahović, M. (2000). A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods*, 40(2), 175–179. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(00\)00122-6](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(00)00122-6)

75) Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Di Bonaventura, G., Djukić, S., Ćirković, I., & Ruzicka, F. (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*, 115(8), 891–899. https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x

76) Tunç, Y., Yaman, M., Keçe, Y. M., Yilmaz, K. U., Yildiz, E., & Güneş, A. (2024). Characterization of olive (*Olea europaea* L.) cultivars; colour properties, biochemical contents, antioxidant activity and nutrient contents. **Genetic Resources and Crop Evolution**. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s10722-024-01991-8>

77) Turner, P. V. (2011). Acute and subacute toxicity testing. In W. M. Haschek, C. G. Rousseaux, & M. A. Wallig (Eds.), *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology* (3rd ed., pp. 111–130). Academic Press.

78) Valls-Pedret, C., Lamuela-Raventós, R. M., Medina-Remón, A., Quintana, M., Corella, D., Pintó, X., ... & Ros, E. (2015). Polyphenol-rich foods in the Mediterranean diet are associated with better cognitive function. *The Journal of Nutrition*, 145(10), 2295–2302.

79) Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2), 163–175. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.521>

80) Yahfoufi, N., Alsadi, N., Jambi, M., & Matar, C. (2018). The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. *Nutrition*, 146(8), 1066S–1080S.

81) Zhang, C., Zhang, J., Xin, X., Zhu, S., Niu, E., Wu, Q., Li, T., & Liu, D. (2022). Changes in phytochemical profiles and biological activity of olive leaves treated by two drying methods. **Frontiers in Nutrition*, 9*, 854680. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.854680>

82) Zhang, J., Zhu, Y. D., Li, C. Q., Fan, Y. M., Huo, H., Sun, C. G., Zhou, J., Sun, L., Qian, X. K., & Zou, L. W. (2024). A sensitive fluorescence assay of serum dipeptidyl peptidase IV activity to predict the suitability of its inhibitors in patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 249, 116382. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2024.116382>

Références

83) Zribi, A., Mezni, M., Jallouli, S., Hajlaoui, H., Boussaid, M., & Sebei, H. (2021). Phytochemical profile and biological activities of olive leaves extracts from different Tunisian cultivars. *Industrial Crops and Products*,