



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة

**Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire**  
قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجية الخلوية و الجزيئية

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**  
**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Filière : Sciences Biologiques**  
**Spécialité : Biochimie/Nutrition Moléculaire et Santé**

Intitulé :

**Caractérisation chimique et activités biologiques**  
**(*in vitro* et *in vivo*) de l'extrait méthanolique**  
**de *Juniperus phoenicea.l***

Présenté et soutenu par : *Telaidji Ahmed Noureddine*

Le : 21/06/2018

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** *Madi Aicha*

(MCB - UFM Constantine).

**Rapporteur :** *Maameri Zineb / Habibatni*

(MCA - UFM Constantine).

**Examinatrices :** *Mosbah Asma*  
*Halmi Sihem*

(MCA - UFM Constantine).

(MCB - UFM Constantine).

**Année universitaire**  
**2017 - 2018**

## ***Remerciements***

Au terme de ce travail, je tiens à adresser mes vifs et sincères remerciements à toutes les personnes qui m'ont apporté leur aide et leur soutien, en particulier :

Madame ***Maameri / Habibatni .Z*** , Maître de conférences classe A à l'université de Constantine , Je lui témoigne ma profonde reconnaissance, pour ses conseils scientifiques et le soutien qu'elle a accordé à mon travail. Je la remercie pour sa gentillesse, sa disponibilité, sa patience pendant des intenses et rationnelles discussions qui m'ont permis de réaliser ce travail dans de bonnes conditions. Pour tout cela et aussi pour son aide, sa confiance et son soutien moral, je la remercie vivement.

Je tiens aussi à remercier Mme ***Madi Aicha*** Maître de conférences classe B à l'université de Constantine de l'intérêt qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de présider le jury. Qu'elle soit assurée de mon profond respect et de ma sincère reconnaissance.

Mes remerciements sincères et respectueux vont également à Mme ***Mosbah Asma*** Maître de conférences classe A et Mme ***Halmi Sihem*** Maître de conférences classe B à l'université de Constantine , qui m'ont fait l'honneur d'examiner ce travail. Recevez mesdames mon profond respect et ma profonde considération.

A Mr ***Habibatni Sofiane*** Maître de conférences classe A à l'université de Abbes Lagrou , Khenchela

A Mr ***Bensuici Chaouki***, Chef de laboratoire de Biochimie et Microbiologie du CRBT et ***Chouh Amina*** Doctorante en biochimie nutrition et ingénieure d'états de soutien de la recherche et tout les ingénieurs de laboratoire au niveau du CRBT

Enfin, j'adresse mes remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce présent travail.

## Dédicaces :

*A celle qui est sacrifiée pour mon éducation, qui est ma source de tendresse de don et de confiance et qui fait tout pour ma réussite ma **chère mère : Yamina** que dieu la garde .*

*A ma sœur **Farah***

*A mes frères :*

***Anis Tedj eddine ,***

***Fadhel mouhamed taha***

***et Moubarek Bahaa eddine***

*À toute ma famille paternelle **Telaidji** et maternelle **Melit**.*

*A toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## ***Liste des tableaux***

<b>Tableau 1:</b> Teneur en Oligo-elements et minéraux des Parties aériennes de J.Phoenicea.L ....	7
<b>Tableau 2:</b> Teneur composés phénoliques des Parties aériennes de J.Phoenicea.L.....	7
<b>Tableau 3:</b> Activité antibacterienne de Juniperus phoenicea.L.....	8
<b>Tableau 4:</b> Activité antifongique de Juniperus. Phoenicea.L.....	8
<b>Tableau 5 :</b> Activités biologiques des composés phénoliques d'après. ....	10
<b>Tableau 6 :</b> Les principales espèces réactives de l'oxygène .....	13
<b>Tableau 7 :</b> Différentes maladies liées au stress oxydatif .....	14
<b>Tableau 8 :</b> Mode d'action des principales classes d'agents antidiabétiques. ....	23
<b>Tableau 9 :</b> Principes actifs hypoglycémians isolés de quelques plantes médicinales. ....	25
<b>Tableau 10 :</b> Concentrations de l'échantillon.....	35
<b>Tableau 11 :</b> Fonction normale de produit utilisée dans le calcul de la SPF. ....	40
<b>Tableau 12 :</b> Résultats du criblage phytochimique des feuilles de la plante Juniperus phoenicea L .....	43
<b>Tableau 13:</b> Taux de polyphénols totaux, des flavonoïdes contenus dans l'extrait methanolique des feuilles de Juniperus Phoenicea.L.....	47
<b>Tableau 14 :</b> Activité antiradicalaire au DPPH et Pourcentage d'inhibition .....	50
<b>Tableau 15 :</b> Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre .....	52
<b>Tableau 16:</b> Valeurs du Test FRAP en $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ d'échantillon.....	54
<b>Tableau 17 :</b> Valeurs du facteur de protection solaire (FPS) de l'extrait methanolique: .....	56
<b>Tableau 18 :</b> Catégories de protection affichées sur les produits solaires en fonction des facteurs de protection mesurés, selon la Recommandation de la Commission Européenne 2006.....	56
<b>Tableau 19 :</b> Pourcentage des rayons UVB bloqués .....	57
<b>Tableau 20:</b> Evolution de la glycémie chez les rats traités durant 3 heures.....	58
<b>Tableau 21:</b> Evolution de la glycémie chez les rats normo-glycémiques durant 3 heures .....	59

## Listes des figures

<b>Figure 1:</b> Classification détaillée de l'ordre des Cupressales.....	4
<b>Figure 2 :</b> Aspect général (A ) Feuilles et fruits du genévrier de Phénicie ( B ).....	5
<b>Figure 3 :</b> Carte chorologique pour la distribution de <i>Juniperus Phoenicea.L</i> .....	6
<b>Figure 4 :</b> Définition du Stress Oxydant.....	11
<b>Figure 5 :</b> Origine des différents radicaux oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués sen biologie.....	12
<b>Figure 6 :</b> Structure chimique de la vitamine C.....	16
<b>Figure 7 :</b> Structure chimique des vitamines E.....	17
<b>Figure 8 :</b> Nombre estimé de personnes atteintes de diabète au niveau mondial et par région en 2017 et 2045 .....	18
<b>Figure 9 :</b> Production et action de l'insuline .....	19
<b>Figure 10 :</b> Protocole d'étude expérimentale .....	26
<b>Figure 11 :</b> Extrait methanolique des feuilles de <i>Juniperus Phoenicea.L</i> .....	27
<b>Figure 12 :</b> Rats Wistar utilisés .....	27
<b>Figure 13 :</b> Présentation schématique de l'appareil de Soxhlet.....	28
<b>Figure 14:</b> Procédure de dosage des polyphénols totaux .....	32
<b>Figure 15:</b> Gamme d'étalon de la Quercetine .....	34
<b>Figure 16 :</b> Représentation schématique de la dilution en série .....	35
<b>Figure 17 :</b> Mécanisme réactionnel d'un antioxydant avec Le DPPH* .....	36
<b>Figure 18 :</b> Procédure de test DPPH.....	36
<b>Figure 19:</b> Procédure de teste de Pouvoir réducteur (FRAP).....	37
<b>Figure 20 :</b> Réduction du complexe chromogène de $Cu^{+2}$ -Nc.....	38
<b>Figure 21:</b> Teste Cuprac .....	38
<b>Figure 22 :</b> Injection des rats par voie intra-péritonéale.....	41
<b>Figure 23:</b> Prélèvement du sang a partir de la queue de rat et mesure de la glycémie a l'aide de glucomètre .....	41
<b>Figure 24 :</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols .....	46
<b>Figure 25:</b> Courbe d'étalonnage de la Quercetine pour le dosage des flavonoïdes .....	47
<b>Figure 26 :</b> Comparaison des teneurs des poly-phénols et des flavonoïdes .....	48
<b>Figure 27:</b> Courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait methanolique des feuilles de <i>Juniperus phoenicea .L</i> .....	50
<b>Figure 28:</b> Valeurs des IC50 exprimés en $\mu g / ml$ des échantillons étudié .....	51
<b>Figure 29:</b> Courbe d'absorbance en fonction de la concentration de l'extrait methanolique..	52
<b>Figure 30 :</b> Détermination d'IC 50 (la concentration a l'absorbance 0,5) .....	53
<b>Figure 31:</b> Courbe d'absorbance en fonction de la concentration pouvoir réducteur. ....	54
<b>Figure 32:</b> Valeurs des EC50 exprimés en $\mu g / ml$ des échantillons étudiés.....	55

## ***Liste des abréviations***

% : Pourcentage

Abs : absorbance

ADN Acide Désoxyribonucléique

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

BHA : Butylhydroxyanisole

BHT : Butylhydroxytoluène

Cu<sup>2+</sup>: Ion cuivre

CUPRAC : Cupric Réducing Antioxidant Capacity.

D1T : Le diabète de type 1

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyle

DT2 : Diabète de type 2

E.AG Equivalent d'acide gallique

EC50 : Concentration Efficace à 50%

EOA : Espèces oxygénées activées.

EQ Equivalent de quercétine

ERO : Espèce réactive de l'oxygène

EtOH : Ethanol

Fe<sup>2+</sup> : Ions ferreux

Fe<sup>3+</sup> : Ions ferriques

FeCl<sub>3</sub> : Chlorure de fer

FID : Fédération international de diabète.

FPS : Facteur de protection solaire

FRAP Ferric Reducing Ability of Plasma

FRAP: ferric reducing antioxydant power

H<sub>2</sub>O : Eau

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Le peroxyde d'hydrogène

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

HCl : Acide chlorhydrique

HLA : Human leukocyte antigen

IC<sub>50</sub> : Concentration provoquant 50 % d'inhibition

MeOH : Méthanol.

mg : milligramme

ml : milli litre

nm : Nanomètre

PI : Pourcentage d'inhibition

ppm: Partie par million

SOD : Superoxyde dismutase.

UV : Ultraviolet

µg : Microgramme

µg EAG : microgrammes d'équivalents d'acide gallique

µL : micro litre

# Table des matières

Remerciements.....	I
Dédicaces.....	II
Liste des tableaux .....	III
Liste des figures.....	IV
Liste des abréviations.....	V
Introduction générale.....	1

## Partie I : Etude bibliographique

I. Chapitre 1 : La Plante : <i>Juniperus phoenicea.L</i> .....	3
I.1 Famille des Cupressacées .....	3
I.2 Le genre <i>Juniperus</i> .....	3
I.3 Le genévrier de Phénicie ( <i>Juniperus phoenicea L.</i> ): .....	3
I.4 Noms vernaculaires : .....	4
I.5 Taxonomie : .....	5
I.6 Distribution géographique : .....	5
I.7 Composition chimique et activités biologiques.....	6
I.7.1 Composition chimique : .....	6
I.7.2 Activités biologiques .....	8
I.8 Utilisation traditionnelle .....	9
I.9 Activités biologiques des composés phénoliques.....	10
II. Chapitre 2 :Stress Oxydant .....	11
II.1 Introduction .....	11
II.2 Le stress Oxydant .....	11
II.2.1 Définition .....	11
II.2.2 L'origine du stress oxydatif : .....	12
II.2.3 Les dérivés actifs de l'oxygène.....	12
II.2.4 Les cibles des dérivés actifs de l'oxygène :.....	13
II.2.5 Les maladies liées au stress oxydant:.....	14
II.2.6 Les systèmes de défenses antioxydants:.....	15
1) Les antioxydants enzymatiques : .....	15



a)	La superoxyde dismutase (SOD).....	15
b)	Les catalases .....	15
c)	Les glutathion peroxydases .....	16
d)	La thiorédoxine (TRX).....	16
e)	Le glutathion S- transférase (GST) : .....	16
2)	Système de défenses antioxydants non enzymatiques :.....	16
a)	La vitamine C :.....	16
b)	Vitamine E.....	17
c)	Oligoéléments.....	17
d)	Les polyphénols.....	17
III.	Chapitre 3 : Le Diabète sucré :.....	18
III.1	Définition.....	18
III.2	La glycémie et sa régulation :.....	19
III.3	Classification du Diabète :.....	20
III.3.1	Diabète type 1 : .....	20
III.3.1.1	Facteurs génétiques et environnementaux : .....	20
III.3.1.2	Traitement du DT1 :.....	21
1)	Traitement insulinique .....	21
2)	Traitement non insulinique .....	21
III.3.2	Diabète type 2 : .....	21
III.3.2.1	Facteurs génétiques et environnementaux : .....	22
III.3.2.2	Traitements du DT2 :.....	22
III.4	Diabète et Phytothérapie :.....	24
III.4.1	Principes actifs isolés des plantes antidiabétiques : .....	24
IV.	Matériel et méthodes .....	26
IV.1	Matériel.....	26
IV.1.1	Matériel biologique .....	26
IV.1.1.1	Matériel végétal .....	26
IV.1.1.2	Matériel animal .....	27
IV.1.2	Matériel non biologique .....	28
IV.2	Méthodes .....	28
IV.2.1	Extraction par soxhlet de <i>Juniperus Phoenicea L</i> .....	28
IV.2.2	Criblage phytochimique.....	29

IV.2.3	Dosage colorimétrique (spectrophotométrique).....	31
IV.2.3.1	- Dosage des poly-phénols totaux :.....	31
IV.2.3.2	- Dosage des flavonoïdes :.....	33
IV.2.4	Evaluation de l'activité Antioxydante.....	34
IV.2.4.1	Méthode du DPPH :.....	35
IV.2.4.2	Pouvoir réducteur (FRAP).....	37
IV.2.4.3	Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC).....	38
IV.2.5	(SPF)Sun protection factor (In vitro SPF and UVA Protection Factor (UVA-PF) assessment) Anti-solaires.....	39
IV.3	Evaluation de l'activité Antihyperglycemiante et Hypoglycemiante.....	40
IV.3.1	Évaluation d'effet antihyperglycémiant d'extrait .....	40
IV.3.2	Etude de l'activité hypoglycémiante .....	42
IV.4	Analyses statistiques.....	42
V.	Résultats et discussion .....	43
V.1	Le criblage phyto-chimique :.....	43
V.2	Teneur en composés phénoliques .....	46
V.3	Activité Antioxydante.....	49
V.3.1	Dosage de l'activité antiradicalaire par le test DPPH .....	49
V.3.2	Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC).....	52
V.3.3	Méthode de réduction de fer (FRAP: Ferric reducing antioxidant power) .....	53
V.4	Activité photoprotectrice antisolaire .....	56
V.5	Activité Antihyperglycemiante et hypoglycemiante .....	58
V.5.1	Activité Antihyperglycemiante .....	58
V.5.2	Activité Hypoglycémiante.....	59
VI.	Conclusion générale et perspectives .....	61
VII.	Références Bibliographiques	
VIII.	Résumé	
IX.	Annexes	

# *Introduction Générale*

## ***Introduction Générale***

Depuis l'antiquité, et certainement bien avant, les plantes ont servi de pharmacothèque naturelle et pragmatique pour l'Homme. Personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissent, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. En effet, il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir ou tout au moins soulager un état pathologique ou des troubles organiques (Schauenberg et Paris., 2006) .

Elles constituent un patrimoine précieux et un véritable trésor pour l'humanité, et sont très demandées dans le monde et plus particulièrement dans les pays en voie de développement ( Salhi et Fadli ., 2006 ) .

En Algérie, les essences forestières naturelles sont localisées dans les régions septentrionales et se raréfient au fur et à mesure qu'on se déplace vers les zones désertiques. Parmi le cortège floristique dont dispose ce pays, on trouve les cupressacées (thuya, cyprès, genévrier) qui constituent aujourd'hui des essences forestières dites de protection et d'ornement. Néanmoins, il est certain que le recours au genévrier en médecine populaire se pratique depuis fort longtemps et l'usage de cette plante connaît un nouvel essor avec l'aromathérapie (Chevallier., 1997).

De même il s'est avéré, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés à leurs métabolites secondaires, qui sont largement utilisés en thérapeutique comme agents préventifs anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiseptiques, diurétiques et antioxydants qui défendent contre le stress oxydatif (Ouelbani et *al.*, 2016).

L'objectif de ce présent travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des substances naturelles à travers l'étude de l'extrait méthanolique des feuilles de *Juniperus phoenicea.L* de la famille des cupressacées de la région d'Ain mimoun, dans la wilaya de Khenchela .

Pour ce faire, nous avons envisagé d'organiser ce travail comme suit :

- La première partie, composée de deux chapitres, se veut une synthèse bibliographique sur la plante *Juniperus phoenicea.L* puis les activités biologiques
- La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisées dans nos travaux de la caractérisation phytochimique, ( Criblage et Dosage des polyphénols et flavonoïdes ) et les activités biologiques de l'espèce étudiée. ( Activités antioxydantes , Photoprotectrice , anti hyperglycémiantes et hypoglycémiantes )

- La troisième partie comprend les résultats obtenus, leurs discussion et leurs comparaison avec des études antérieurs réalisée sur des plantes du même Genre.

*Partie I : Etude  
bibliographique*

Chapitre 1 :  
La Plante *Juniperus*  
*phoenicea*.L

# I. Chapitre 1 : La Plante : *Juniperus phoenicea*.L

## I.1 Famille des Cupressacées

La famille des Cupressaceae comprend deux sous-familles, se divisant chacune en trois tribus, les Cupressoideae et les Callitroideae qui sont essentiellement et respectivement des hémisphères nord et sud (Haluk & Roussel, 2000). Elle comporte environ trente genres (Farjon, 2001) ; les plus importants sont *Cupressus* L., *Juniperus* L. et *Callitris* Vent. (Schulz et al., 2005). ( Figure 1 )

## I.2 Le genre *Juniperus*

Le genre *Juniperus*. L., de la tribu des Junipereae (Koch), sous-famille des Cupressoideae, comprend environ 75 espèces (Adams, 2014a). Il représente le genre le plus diversifié de la famille des Cupressaceae (Debazac, 1991). Il a la répartition la plus large, par rapport aux autres genres de conifères, mais sa répartition est limitée dans l'hémisphère Nord, seulement en Afrique où certaines espèces traversent l'équateur (Mao et al., 2010 ; Farjon & Filer, 2013).

Le genre *Juniperus* L. est bien représenté en Algérie (Maire, 1952 ; Quézel & Santa, 1962). On compte cinq espèces de ce genre, parmi lesquelles deux d'entre elles sont très rares (*J. thurifera* L. et *J. sabina* L.), une rare (*J. communis* L.) et les deux dernières, dans un état de dégradation intense, localisées dans les régions semi-arides et arides (*J. oxycedrus* L. et *J. phoenicea* L.).

## I.3 Le genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea* L.):

Généralement connu sous le genévrier de Phénicie , Arbuste ou petit arbre à rameaux épais couverts de feuilles vert foncé, squamiformes, fortement appliquées sur les rameaux, généralement en 4 rangs, longues et larges de 1 mm environ, marquées d'un sillon glanduleux sur le dos. Fruit globuleux, de 6-15 mm, terminal sur les rameaux, rouge à maturité (Polunin et Huxley, 1967) .( Figure :2) .C'est une espèce variable, caractérisée par une grande différenciation morphologiques et biochimiques , qui a permis de distinguer trois sous-espèces : *J. phoenicea* subsp *phoenicea* , *J. phoenicea* subsp *eu-mediterranea* et *J. phoenicea* var. *turbinata* . (Greuter et al., 1984, Amaral 1986, Lebreton et Rivera 1989).



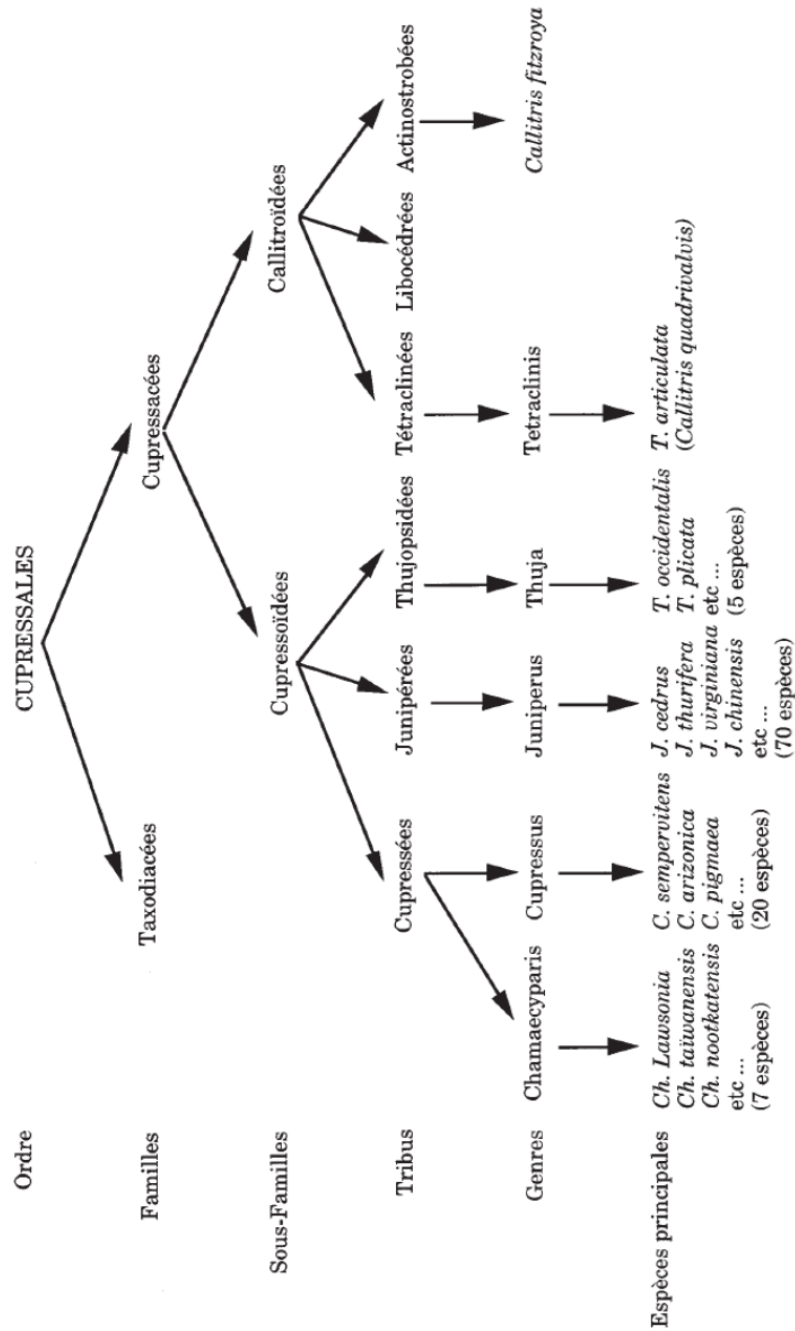
**I.4 Noms vernaculaires :**

En Arabe : Arar عرار (Quezel et Santa, 1962).

En Français: Genévrier rouge, Genévrier de Phénicie.

En Anglais: Phoenician Cedar, Berry Bearing Cedar.

En Kabyle : taqa (tawirt plus rarement ) ( Quezel et Gast ,1998)



**Figure 1:** Classification détaillée de l'ordre des Cupressales ( Haluk & Roussel , 2000)



Pavel Buršík. 2006



**Figure 2** :Aspect général ( A ) Feuilles et fruits du genévrier de Phénicie ( B )

### I.5 Taxonomie :

Classification selon (Haluk et Roussel., 2000).

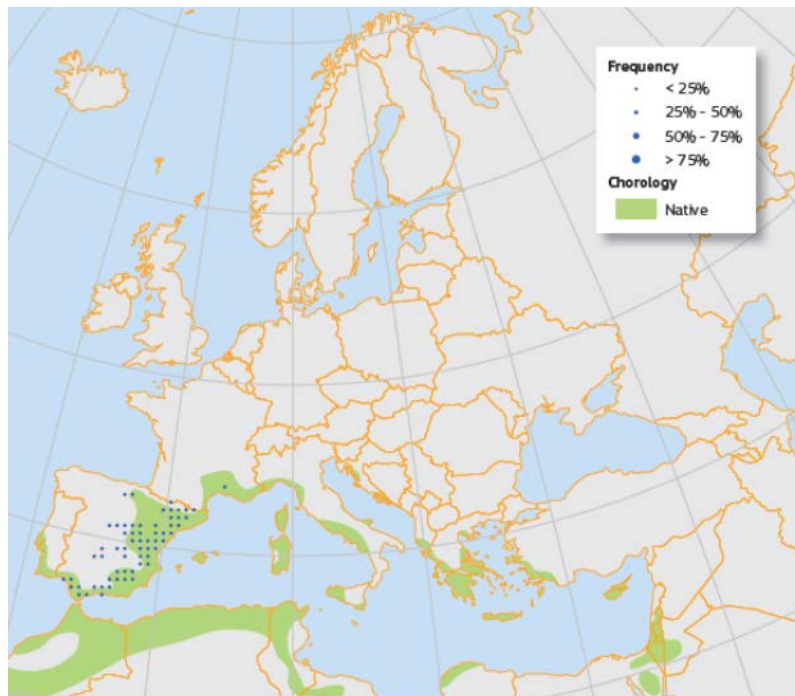
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Gymnospermes.
Classe	Coniferopsides.
Sous classe	Coniferiidae
Ordre	Cupressales
Famille	Cupressacée
Sous famille	Cupressoidées
Genre	<i>Juniperus</i> .
Espèce	<i>Phoenicea</i> L.

### I.6 Distribution géographique :

*Juniperus phoenicea*.L est une espèce qui se trouve dans les différentes régions du monde, mais il est plus fréquent dans la partie Ouest des régions méditerranéennes au Sud de l'Europe (également dans l'Est de Portugal jusqu'en Turquie) (Adams et *al.*, 1996), Ouest d'Asie (notamment dans les montagnes de l'Ouest de l'Arabie Saoudite) (El-Sawi et Motawe ,2008).

En Afrique du Nord, il pousse en Algérie, au Maroc, en Tunisie ainsi que en l'Egypte (Maatooq et *al.*, 1998 ; Derwich et *al.*, 2010). ( Figure 3 )

En Algérie cette espèce occupe les dunes maritimes en Oranie, les montagnes les plus sèches où il constitue des matorrals dans les Aurès et l'Atlas saharien. Par ailleurs, (Boudy 1955) , a estimé la superficie occupée par *Juniperus phoenicea* et *Juniperus oxycedrus* à 290 000 ha ; alors que dans un inventaire plus au moins récent , la superficie de ces deux espèces n'est que de 17 504 ha (Harfouche et *al.*, 2005), ce qui confirme les propos de certains auteurs affirmant que certaines espèces de cette essence sont dans un stade ultime de dégradation .



**Figure 3** : Carte chorologique pour la distribution de *Juniperus Phoenicea.L*

(Adams et *al.*, 2013, Jalas et *al.*,1973 , Mazur et *al.*, 2010)

## I.7 Composition chimique et activités biologiques

### I.7.1 Composition chimique :

Les investigations chimiques réalisées sur *J.Phoenicea* dans différentes régions de part et d'autre du bassin méditerranéen, telles que l'Espagne , le Portugal et la Grèce (Adams et *al.*, 1996 ; Cavaleiro et *al.*, 2000), la Corse (Rezzi et *al.*, 2001), la Tunisie ( Bouzouita et *al.*, 2008 ;

Nasri et *al.*, 2011 ; Medini et *al.*,2006), l'Égypte (Afifi et *al.*, 1992 ; El-sawi et *al.*, 2007) et l'Arabie saoudite (Dawidar et *al.*, 1991) La Libye (Hamad MAH & Aisha MRA , 2017) l'Algérie (Menaceur et *al.*, 2013 ; Dane et *al.*, 2015 ) . ont indiqué que le constituant majeur dans ses huiles est le :  $\alpha$ -pinène, qui présente plusieurs activités biologiques : il est antibactérien, anti-inflammatoire, antiviral, expectorant, sédatif, herbicide, insectifuge, et aromatisant (Duke, 1998). Suivi des monoterpènes oxygénés tels que,  $\alpha$ -terpinyl acétate,  $\delta$ -3-carène, myrcène,  $\alpha$ -phellandrène et  $\beta$ -phellandrène

Des études phytochimiques ont montré que l'espèce contient également, des acides gras , et des Minéraux (Nasri et *al.*, 2010) , de la résine, des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des stérols et triterpènes (Medini et *al.*, 2013; Alzand et *al.*, 2014; El-Sawi et *al.*, 2014) et des glucides, notamment, trois phenylpropanes glycosides (juniperosides, rosarin et skimmin) et deux dérivés furanones glucosides (psydrin et phoenicéine) (Aboul-Ela et *al.*, 2005)

**Tableau 1:** Teneur en Oligo-elements et minéraux des Parties aériennes de *J.Phoenicea.L* ( Nedjimi et *al.*, 2015 )

Elements							
	Ca (%)	Co (mg/g)	Cr (mg/g)	Fe (mg/g)	K (%)	Na (mg/g)	Zn (mg/g)
<b>Valeurs</b>	1.60	0.17	1.13	430	0.67	52.13	15.6

**Tableau 2:** Teneur composés phénoliques des Parties aériennes de *J.Phoenicea.L* ( Dane et *al.*, 2015 )

Composés phénoliques	Pourcentage %
Catechin	41.97
Myricetin-hexose	11.11
Myricetin-rhamnoside	1.23
Quercetin-3-o-rhamnoside	45.67

## I.7.2 Activités biologiques

D'après les tests d'Aboul-Ela et al.,(2005) les résultats ont montré un effet anti hépatotoxique des extraits aqueux des baies de *Juniperus phoenicea*.L testés sur des rats. L'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* a manifesté aussi un effet anti-appétant intéressant contre un insecte des denrées stockées *Tribolium confusum* . ( Bouzouita et al., 2008 )

### - Activité antibactérienne

Diverses études ont été menées sur le pouvoir antibactérien de *Juniperus phoenicea*.L

**Tableau 3:** Activité antibactérienne de *Juniperus phoenicea*.L

Régions	Souches utilisées	Zones d'inhibition	Références
<b>Maroc</b>	<i>Escherichia coli</i>	8,30	<i>Amalich et al</i> 2015
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	18	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15.50	
<b>Libye</b>	<i>Bacillus subtilis</i>	11	<i>Aljaiyash et al</i> 2014
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12	

### - Activité antifongique

**Tableau 4:** Activité antifongique de *Juniperus. Phoenicea*.L

Régions	Souches utilisées	Zones d'inhibition	Références
<b>Algérie</b>	<i>Fusarium culmorum</i>	20.53	<i>Dane et al</i> 2015
	<i>Fusarium graminearum</i>	6.19	
	<i>Aspergillus flavus</i>	40.6	<i>Mazari et al</i> 2010
	<i>Fusarium oxysporum</i>	47.1	
	<i>Rhizopus stolonifer</i>	0	

Des études plus récentes ont indiqué que cette plante a un potentiel antihyperglycémique ( El sawi et al.,2015 ) et un potentiel anticancéreux due à la cytotoxicité de ses composants ( Hajjar et al.,2017 ; Al Groshi et al.,2018)

## I.8 Utilisation traditionnelle

Les plantes médicinales ont été utilisées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines, car ils contiennent des composants chimiques de valeur thérapeutique (Nostro et *al.*, 2000). Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS) 2008, plus de 80% de la population mondiale dépend de la médecine traditionnelle pour leurs besoins de santé primaires (Pierangeli et *al.*, 2009)

Le *Juniperus phoenicea L.* Occupe une place primordiale dans la pharmacopée traditionnelle du Nord de l'Afrique (Lahsissene et *al.*, 2009, Benkhniq et *al.*, 2014, Benlamdini et *al.*, 2014), la première utilisation enregistrée de cette plante était en Egypte vers 1500 Avant JC (Al Groshi et *al.*, 2018).

Dans la médecine populaire algérienne. Ses feuilles sont utilisées sous forme de décoction pour traiter le diabète, la diarrhée et les rhumatismes. Le mélange de feuilles et de baies de cette plante est utilisé comme agent hypoglycémique oral, alors que les feuilles sont utilisées contre les maladies broncho-pulmonaires (Achak et *al.*, 2008; Dob, Dahmane, & Chelghoum, 2008).

Les cônes, les rameaux, mais surtout les jeunes pousses préparées en infusion ont des effets diurétiques, stomachiques et digestifs (Bellakhder, 1997 ; Barrero et *al.*, 2004), alors que les fruits séchés et réduits en poudre peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès (Uphof, 1968 ; Hagar, 1979 ; Le Floch, 1983 ; Qnais et *al.*, 2005).

## I.9 Activités biologiques des composés phénoliques

Selon les chercheurs, l'effet protecteur des fruits et légumes vis-à-vis des maladies de civilisation (maladies cardiovasculaires, diabète...) serait d'ailleurs lié à la présence de très nombreux polyphénols, vitamines et acides phénoliques, présents dans ces aliments (Edeas, 2006).

**Tableau 5** : Activités biologiques des composés phénoliques d'après (Frankel et *al.*, 1995).

<b>Polyphénols</b>	<b>Activités</b>	<b>Auteurs</b>
<b>Acides phénols (cinnamique et benzoïque)</b>	Antibactériens Antifongiques Antioxydants	Didry et <i>al.</i> , 1982 Ravn et <i>al.</i> , 1984 Hayase et Kato, 1984
<b>Coumarines</b>	Vasoprotectrices et antioedémateuses	Mabry et Ulubelen, 1980
<b>Flavonoïdes</b>	Antitumorales Anticarcinogènes Anti- inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydants	Stavric ., 1992 Das et <i>al.</i> , 1994 Bidet et <i>al.</i> , 1987 Bruneton, 1993  Aruoma et <i>al.</i> ,1995
<b>Anthocyanes</b>	Protection des veines et Capillaires	Bruneton, 1993
<b>Proanthocyanidines</b>	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydants Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires	Masquelier et <i>al.</i> ,1979 Bahorun et <i>al.</i> , 1996 DE Oliveir et <i>al.</i> 1972 DEOliveir <i>etal.</i> 1972 Brownlee et <i>al.</i> , 1992
<b>Tanins galliques et catéchiques</b>	Antioxydants	Okuda et <i>al.</i> , 1983 Okamura et <i>al.</i> , 1993

*Chapitre 2 :*  
*Stress Oxydant*



## II. Chapitre 2 : Stress Oxydant

### II.1 Introduction

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires (C. Sanchez-Moreno, 2002; Marc *et al.*, 2004 ; Huang *et al.*, 2005 )

### II.2 Le stress Oxydant

#### II.2.1 Définition

Le stress oxydant se définira donc comme un déséquilibre de la balance entre la formation des espèces réactives de l'oxygène à caractère pro-oxydant et les antioxydants qui régulent leur production, en faveur des premières (Halliwell et Aruoma, 1993 ; Azzi *et al.*, 2004; Soares, 2005; Valavanidis *et al.*, 2006 ; França *et al.*, 2007)



**Figure 4** : Définition du Stress Oxydant (Morena *et al.*, 2002)

Un état de stress oxydant existe lorsqu'au moins une des trois conditions suivantes est présente selon :

- Excès des espèces réactives d' $O_2$ ,  $N_2$  ou  $Cl_2$  ;
- Défenses insuffisantes (endogènes et exogènes )
- Mécanismes de réparation insuffisants (Favier, 2003)

## II.2.2 L'origine du stress oxydatif :

On peut résumer l'origine du stress oxydant par multiples éléments :

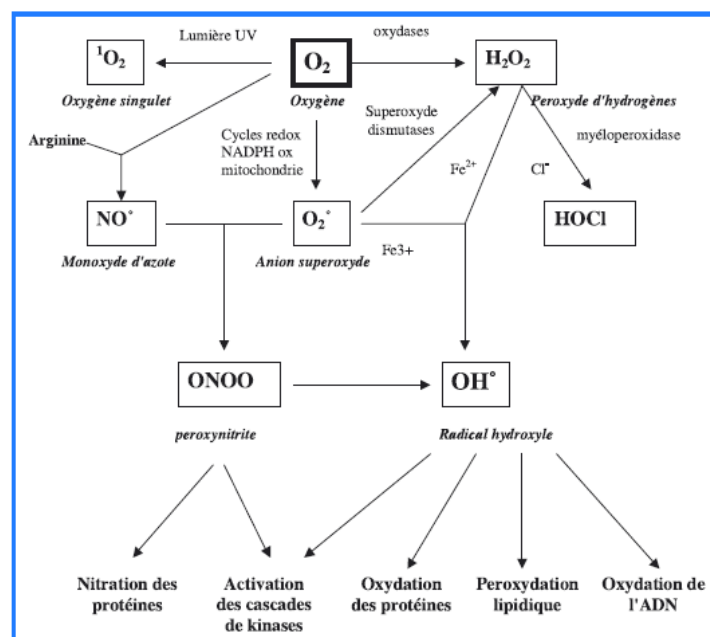
- Intoxications aux métaux lourds (mercure, plomb, cadmium)
- Irradiations (UV, rayons X...)
- Phénomènes d'ischémies/reperfusion (thromboses, exercice)
- Carences nutritionnelles (vitamines, oligo-éléments)
- Anomalies génétiques (mauvais codage pour une protéine) (Pincemail et *al.*, 2003).

## II.2.3 Les dérivés actifs de l'oxygène

Un radical libre se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécule qui possède un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe. ( Dean , 1997 ) Cette caractéristique lui confère une réactivité importante: les radicaux libres réagissent avec des molécules plus stables pour capter ou céder leurs électrons, créant ainsi de nouveaux radicaux en initiant des réactions en cascade (Januel, 2003 ; Baril, 2007).

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des radicaux libres issus de l'oxygène moléculaire, elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie (Valko et *al.*, 2007).

Les ERO sont majoritairement produits au sein de 2 sites cellulaires : d'une part la mitochondrie et d'autre part la membrane plasmique ( Kehrler JP, 1993 )



**Figure 5 :** Origine des différents radicaux oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

**Tableau 6** : Les principales espèces réactives de l'oxygène : (Ceretta, 2012)

Espèces réactives	Réaction de formation	Propriétés
<b>L'Anion Superoxyde</b> ( $O_2^{\cdot-}$ )	Formé par la réduction mono électrique de l'oxygène : adition d'un seul électron $O_2 + 1e^- \rightleftharpoons O_2^{\cdot-}$	C'est le radical le moins réactif mais le précurseur des autres ERO (KoechlinRamonatxo.C,2006)
<b>Le Peroxyde d'Hydrogène (<math>H_2O_2</math>)</b>	Produit à partir de l'anion superoxyde, réaction catalysé Par la superoxydedismutase (Raccah.D.2004) $O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} \xrightarrow{SOD, 2H^+} H_2O_2 + O_2$	La majeure partie de la toxicité de leauroxygénée provient de sa capacité à générer le radical hydroxyle ( $OH^\bullet$ ) (Gardès-Albert M,2003).
<b>Le Radical Hydroxyle</b> ( $OH^\bullet$ )	Formé par la réaction de Fenton à partir d' $H_2O_2$ en présence de métaux de transition : l'ion ferreux réagit avec le peroxyde d'hydrogène (Goudbale.J et al,1997) $H_2O_2 + Fe$	Le radical hydroxyle ( $OH^\bullet$ ) est le radical le plus avide d'électron et le plus dangereux pour l'organisme (Gardès-Albert M,2003)
<b>Le monoxyde d'azote</b> (NO)	Le NO est formé à partir de l'un des deux atomes d'azote terminal du groupement d'une part, et de l'oxygène moléculaire ( $O_2$ ) d'autre part En présence de cofacteur : NADH, $H^+$ réaction catalysé par les NO synthase (NoS) (sabry.srt <i>al</i> ,1996).	Le NO est un radical libre qui est surtout réputé pour ses propriétés physiologiques (agit sur le tonus vasculaire) (Barouki. R, 2006)
<b>Le peroxynitrite</b> ( $ONOO^\bullet$ )	En l'absence d'une quantité Suffisante de cofacteurs ou de substrat (arginine) ,les NOS produisent de l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) plutôt que du $NO^\bullet$ L' $O_2^{\cdot-}$ produit lie le $NO^\bullet$ pour former du peroxynitrite (Massion.P et al,2002)	Très réactif et sana doute responsable d'un stress oxydant, il engendre des oxydation irréversibles et des nitration diverses (surtouts des résidus tyrosines ) (Massion.P et <i>al</i> ,2002)

#### II.2.4 Les cibles des dérivés actifs de l'oxygène :

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides) (Favier., 2003) . -

**L'oxydation des acides nucléiques** susceptibles d'entraîner des modifications des bases azotées, des fragmentations de l'ADN, des ruptures de brins ou à des pontages entre des bases altérant ainsi l'expression génétique (Cooke et *al.*, 2003) -

**La peroxydation des lipides** surtout des acides gras polyinsaturés (AGPI) qui sont facilement oxydables, aboutissant à la désorganisation complète de la membrane cellulaire, altérant de ce fait ses fonctions d'échanges, de barrières et d'informations (Koechlin-Ramonatxo., 2006).

**-L'oxydation des protéines**, Il s'ensuit une fragmentation de la protéine, une oxydation des chaînes latérales des acides aminés ou une formation de liaisons croisées entre deux protéines. Les fonctions de multiples enzymes, de récepteurs et de protéines de transport cellulaire peuvent ainsi être modifiées.

**L'oxydation des glucides**, générant ainsi des intermédiaires réactifs. Les dommages se propagent via l'attaque des radicaux libres formés sur d'autres molécules. C'est toute la machinerie cellulaire qui peut être affectée (Davies.,2003).

### II.2.5 Les maladies liées au stress oxydant:

En effet, le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution.

**Tableau 7** : Différentes maladies liées au stress oxydatif

<i>Pathologies</i>	<i>Références</i>
Diabète	(Krippeit <i>et al.</i> ,1994 ;delattre <i>et al.</i> , 1999 Defraigne ,2005 )
Les maladies cardiovasculaires	(Bonfont-Rousselot <i>et al.</i> , 2002 ; Madamanchi <i>et al.</i> , 2005)
Cancer	(Pincemail <i>et al.</i> , 1999 , Lesgards <i>et al.</i> , 2002)
Lésions de réperfusion post-ischémique	(Zweier et Talukder, 2006)
Maladies auto-immunes	(Halliwell et Guetteridge, 1999)
Arthrite rhumatoïde	(Ahsan <i>et al.</i> ,2003)
Maladies inflammatoires	(Densiov et Afanas'ev, 2005)
Athérosclérose	(Harrison <i>et al.</i> , 2003)
Maladies d'Alzheimer, de parkinson	(Jenner et Olanow,1996 ; Giasson <i>et al.</i> , 2000 ; Lesgards <i>et al.</i> , 2002 ; Zafrilla <i>et al.</i> , 2007).
Emphysème	(Lehucher <i>et al.</i> , 2001)

## II.2.6 Les systèmes de défenses antioxydants:

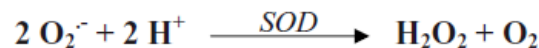
La production excessive ou incontrôlée d'espèces oxydantes induit une perturbation du statut redox pouvant induire de sérieuses altérations des structures cellulaires. Il est donc absolument nécessaire que cette production d'EROs soit contrôlée. Pour cela, les cellules disposent de systèmes de défenses antioxydants classées en antioxydants enzymatiques ou non-enzymatiques. Les composés antioxydants sont définis comme « toutes substances qui, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat » (Halliwell.,1990).

### 1) Les antioxydants enzymatiques :

Les systèmes antioxydants enzymatiques sont largement représentés par les protéines cellulaires dont la principale fonction est de maintenir un environnement réduit à l'intérieur de la cellule (Halliwell, 1999) en plus de maintenir les niveaux d'antioxydants extracellulaires

#### a) La superoxyde dismutase (SOD)

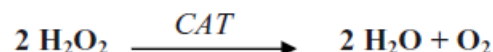
Les superoxydes dismutases ou SOD (EC1.15.1.1) sont des enzymes ubiquitaires catalysant la dismutation des anions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et oxygène moléculaire selon la réaction suivante:



Ces enzymes accélèrent la vitesse de cette réaction spontanée rendant très rapides la disparition du superoxyde mais en générant le peroxyde d'hydrogène. Celui-ci est un composé oxydant mais peut être ultérieurement catabolisé par la catalase et les glutathions peroxydases. (Serrano et Klann, 2004 ; Hwang et Kim, 2007)

#### b) Les catalases

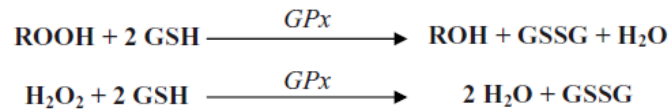
La catalase ou CAT (EC 1.11.1.6) est une protéine hémunique qui catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire (Serrano et Klann, 2004) selon la réaction suivante:



La catalase se trouve dans les hématies et dans les peroxysomes de nombreux tissus et cellules. Cette compartimentation l'empêche d'être un accepteur pour l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formé dans le cytosol et les mitochondries (Januel, 2003).

**c) Les glutathion peroxydases**

Les glutathion peroxydases présentes dans la plupart des tissus de mammifères, catalysent la réduction par le glutathion du peroxyde d'hydrogène et de divers hydroperoxydes lipidiques produits (Reichheld et *al.*, 2005 ; Schrader et *al.*, 2006). Les réactions mises en jeu sont les suivantes:



**d) La thiorédoxine (TRX)**

Cet enzyme a une structure proche de celle de la glutathion réductase. Il consomme aussi du NADPH dans son fonctionnement. Il joue un rôle protecteur contre une grande variété de stress oxydants grâce à ses propriétés de capture des radicaux libres. Des données biochimiques montrent que les thiorédoxines réduisent des protéines clefs pour le développement, la division cellulaire ou la réponse au stress oxydant (Reichheld et *al.*, 2005).

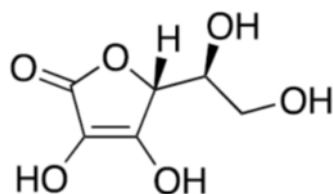
**e) Le glutathion S- transférase (GST) :**

La GST est une famille de enzyme multifactorielles présentes chez tous les organismes (Renuka B et *al.*,2003) . La GST est un système très important dans la protection de la cellule contre les ERO par sa capacité de conjuguer le glutathion avec les composés électrophiles et la réaction des peroxyde (Zhihua et *al.*,2004).

**2) Système de défenses antioxydants non enzymatiques :**

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et nécessitent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant, nous retrouvons les oligoéléments, les vitamines E et C et les polyphénols (Kanoun, 2011).

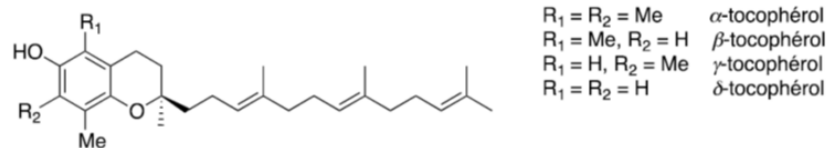
**a) La vitamine C :**



**Figure 6 :** Structure chimique de la vitamine C

La vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase). Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (Chen et *al.*, 2000).

#### b) Vitamine E



**Figure 7** : Structure chimique des vitamines E

Il est admis que les radicaux tocophéryles sont régénérés par l'acide ascorbique et que sans cette synergie, les tocophérols sont inactifs (Carr et *al.*, 2000). Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire, l' $\alpha$ -tocophérol ( $\alpha$ TocH), connu comme inhibiteur de la propagation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical  $\text{RO}_2$ , et constitue par ce biais le seul antioxydant liposoluble assurant cette protection (Khalil, 2002).

#### c) Oligoéléments

Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Ces oligoéléments jouent le rôle de cofacteur pour maintenir l'activité catalytique des enzymes anti-oxydantes (Garait, 2006).

#### d) Les polyphénols

Les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation, les plus importants sont les flavonoïdes (Médart., 2009). Ils sont naturellement capables de piéger l'oxygène singulet  $^1\text{O}_2$  et le radical anion superoxyde  $\text{O}_2^{\bullet-}$  en le dismutant en  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Chen et *al.*, 2003). Selon (Achat, 2013) Les composés phénoliques exercent une activité antioxydante via plusieurs mécanismes:

- Le piégeage direct des ERO
- L'inhibition des enzymes génératrices d'ERO
- La chélation des ions de métaux de transitions, responsables de la production des ERO
- L'induction de la biosynthèse d'enzymes antioxydantes

## *Chapitre 3 : Le diabète Sucré*



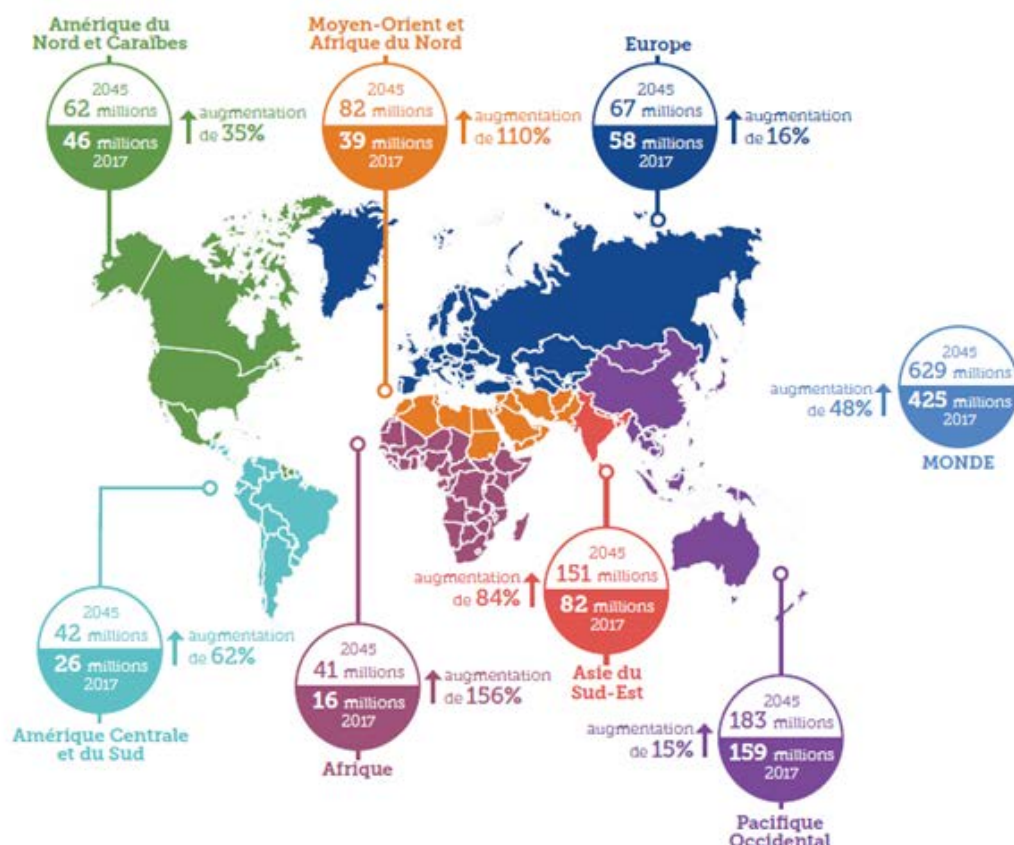
### III. Chapitre 3 : Le Diabète sucré :

#### III.1 Définition

Le diabète sucré, ou plus simplement le diabète, est une maladie chronique qui se développe lorsque le taux de glucose dans le sang augmente parce que l'organisme ne parvient pas à produire suffisamment d'insuline ou à l'utiliser de manière efficace. (DeFronzo et *al* 2015 )

L'insuline est une hormone essentielle produite dans le pancréas. Elle assure le transport du glucose depuis la circulation sanguine vers les cellules de l'organisme, ou il est converti en énergie. Le manque d'insuline ou l'incapacité des cellules à y répondre se traduit par des niveaux élevés de glucose dans le sang (hyperglycémie), qui caractérisent le diabète (FID 2017)

D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), et la Fédération internationale du diabète le nombre de personnes atteintes de diabète est de 425 millions en 2017 et pourrait atteindre 629 millions en 2045 (Figure 8 ).

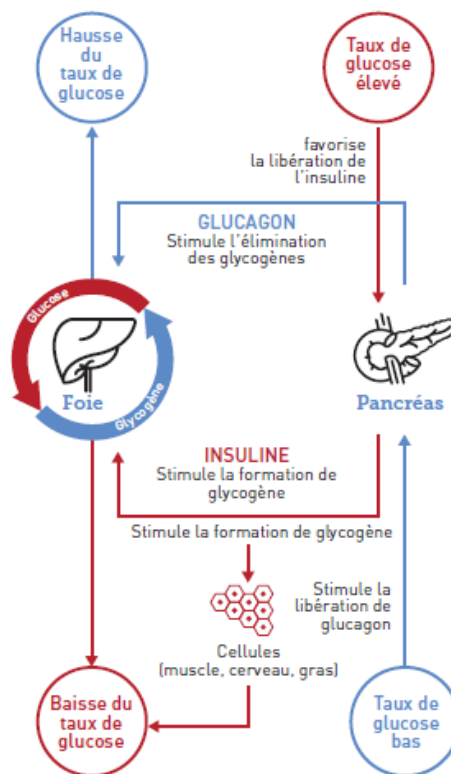


**Figure 8 :** Nombre estimé de personnes atteintes de diabète au niveau mondial et par région en 2017 et 2045 (Atlas du diabète de la Fédération Internationale du Diabète 2017)

L'hyperglycémie chronique résultant de ces troubles métaboliques peut engendrer de nombreuses complications au niveau cardiaque, vasculaire, oculaire, rénal et nerveux. Sont considérées diabétiques des personnes présentant une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/L, une glycémie supérieure à 2 g/L deux heures après un test de tolérance au glucose ou à n'importe quel moment de la journée, ou une hémoglobine glyquée (HbA1c) supérieure à 6,5 % (American Diabetes Association, 2015).

### III.2 La glycémie et sa régulation :

Le maintien de la glycémie autour des valeurs normales est assuré par plusieurs substances. L'insuline, hormone hypoglycémisante principale sécrétée par les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas, joue un rôle crucial en inhibant la production de glucose par le foie, en stimulant sa captation par les tissus périphériques (muscle squelettique et tissu adipeux), et en augmentant son stockage sous forme de glycogène (Saltiel 1996). Le glucagon ainsi que d'autres hormones régulatrices (catécholamines, cortisol et l'hormone de croissance) agissent pour maintenir la glycémie normale durant les phases de jeûne. L'homéostasie de glucose résulte donc d'un équilibre entre son absorption au niveau de l'intestin, sa production par le foie et son utilisation par les tissus périphériques (Beardsall, Diderholm et *al.*, 2008).



**Figure 9** : Production et action de l'insuline (Atlas Du Diabète De La FID 2017 )

### III.3 Classification du Diabète :

Différentes formes de diabète *sucré* ont été répertoriées en fonction de leur étiologie. Les formes les plus répandues sont :

- Le diabète de type 1 (5-10% des cas de diabète sucré) .( Patterson et *al.*, 2005)
- Le diabète de type 2 (90-95% des cas de diabète sucré) .( Wild et *al.*, 2000 )
- Le diabète gestationnel (7% des femmes enceintes) se caractérise par une intolérance au glucose due a la production d'hormones placentaires. Après la gestation, le diabète disparaît . (Buchanan et *al.*, 2012 )
- Le diabète LADA (2-10% des cas de diabète sucré) (Naik et *al.*,2003)

#### III.3.1 Diabète type 1 :

Le diabète de type 1 (DT1) est dû à une destruction auto-immune des cellules insulino-sécrétrices du pancréas (cellules bêta). L'hyperglycémie par carence insulinique apparaît lorsqu'il ne reste plus qu'environ 10 % des cellules bêta fonctionnelles. Le processus auto-immun responsable d'une "insulite" pancréatique se déroule sur une période de plusieurs mois à plusieurs années. Cette réaction auto-immune survient sur un terrain de susceptibilité génétique à la suite de facteurs déclenchant ( Kukko et *al.*,2003 ; Knip et *al.*,2005)

Ce type de diabète apparaît le plus souvent durant l'enfance (diabète juvénile) ou chez les personnes de moins de 35 ans. Il concerne environ 10 % des diabétiques (Akerblom et *al.*, 2002).

##### III.3.1.1 Facteurs génétiques et environnementaux :

Les facteurs de risques génétiques principaux sont les haplotypes HLA de classe II HLA-DR3-DQ2 et HLA-DR4-DQ8 (Nerup et *al.*, 1974). La susceptibilité génétique ne peut à elle seule expliquer l'incidence du DT1, aussi des facteurs environnementaux jouent également un rôle important dans son processus de développement.

Ces facteurs environnementaux incluent notamment , les infections virales (Coppieters et , al 2012 ) ainsi que certaines habitudes alimentaires ( Knip et *al.*,2012 )

Différentes études ont indiqué aussi qu'un défaut en vitamine D chez l'enfant augmente les risques de développer le T1D (Hyponen et *al.*,2001 ; Zipitis et *al.*,2008 ) .

### III.3.1.2 Traitement du DT1 :

#### 1) Traitement insulinique

Le traitement du diabète de type 1 est encore aujourd'hui un traitement palliatif de remplacement hormonal pour la vie entière. ( insulinothérapie )

#### 2) Traitement non insulinique

Accompagnement et soutien psychologique comme pour toute maladie chronique. Alimentation variée et sans interdits. Les horaires et les apports glucidiques seront réguliers pour les patients ne pratiquant pas l'« insulinothérapie fonctionnelle » (notion d'équivalence, d'index glycémique, de collations même si celles-ci sont moins de mise avec les analogues rapides).

- Pour les autres, ils adapteront leur dose d'insuline rapide à la quantité de glucides qu'ils comptent ingérer.
- Exercice physique (plutôt en aérobie) à recommander en prenant en compte le risque d'hypoglycémie parfois différée de plusieurs heures pour les doses d'insuline et les prises alimentaires .
- Un bilan clinique est nécessaire quand il s'agit d'une reprise d'activité après une longue période d'arrêt.

( Jacques Young , 2016 )

### III.3.2 Diabète type 2 :

Le diabète de Type 2 est la forme la plus courante de la maladie et représente environ 90 % de tous les cas . ( Davis et *al* 2010 ; shah et *al* , 2015 ).

Le diabète de type 2 est la conséquence d'une insulino-résistance et d'un endommagement progressif des cellules  $\beta$  pancréatiques. La progression de cette pathologie a été définie en 5 phases (Weir, 2004). Durant la première phase, l'insulino-résistance est compensée par une augmentation de la sécrétion d'insuline, qui résulte d'une augmentation de la quantité de cellules  $\beta$  pancréatiques et de l'activité de ces cellules (Prentki, 2006). Lors de la deuxième phase, dite d'adaptation, les cellules  $\beta$  ne sont plus capables de compenser l'insulino-résistance et une hyperglycémie apparaît. La troisième phase est la phase de décompensation : l'insulino-

résistance est alors trop importante et l'hyperglycémie provoque une glucotoxicité qui empêche la sécrétion normale d'insuline par les cellules  $\beta$ , ce qui augmente la glucotoxicité. Lors de la 4ème phase, la faible sécrétion d'insuline encore présente permet de limiter l'acidocétose due à l'accumulation de corps cétoniques. La dernière étape correspond à une décompensation sévère : la diminution de la production d'insuline est telle que l'acidocétose ne peut être contenue. Le sujet devient alors dépendant d'un apport exogène d'insuline. Les mécanismes de diminution de la masse de cellules  $\beta$  ont été étudiés. Chez le sujet diabétique de type 2, on observe une perte de masse et de volume d'environ 50 % par rapport aux sujets sains. Il semblerait que cette diminution soit due à une augmentation de l'apoptose des cellules. La glucotoxicité liée à l'hyperglycémie chronique est responsable de nombreuses complications microcirculatoires (néphropathies, rétinopathies, neuropathies). (Butler, 2003).

### III.3.2.1 Facteurs génétiques et environnementaux :

Les causes du diabète de Type 2 ne sont pas totalement comprises, mais il existe un lien étroit avec le surpoids et l'obésité, de même qu'avec l'augmentation de l'âge, l'ethnicité et les antécédents familiaux. Parmi les principaux facteurs de risque modifiables, citons une adiposité excessive (obésité), une mauvaise alimentation/nutrition, le sédentarisme, le pré-diabète ou l'intolérance au glucose, le tabagisme et des antécédents de diabète gestationnel avec exposition du fœtus à une glycémie élevée pendant la grossesse. (Atlas du diabète de la FID - 8ème Édition)

Il existe des facteurs de risque génétiques dans l'apparition du DT2. Les gènes associés à une susceptibilité de développer la maladie sont pour la plupart impliqués dans l'activité et le métabolisme des cellules  $\beta$ . Des polymorphismes nucléotidiques de divers gènes ont été rapportés et reliés au risque de développement du DT2 (Diabetes Genetics Initiative of Broad Institute of Harvard and MIT, Lund University, and Novartis Institutes of BioMedical Research et al., 2007).

### III.3.2.2 Traitements du DT2 :

La pierre angulaire du traitement du diabète de Type 2 doit être l'adoption d'un style de vie sain, notamment par une alimentation saine, une augmentation de l'activité physique, l'arrêt du tabac et le maintien d'un poids corporel normal. Lorsque les modifications du style de vie ne permettent pas de contrôler le taux de glycémie, des médicaments oraux sont généralement

prescrits pour traiter l'hyperglycémie, la metformine étant le traitement initial le plus utilisé au monde. Si le traitement avec un médicament antidiabétique unique se révèle inadéquat, plusieurs options thérapeutiques combinées sont désormais disponibles, notamment: sulphonylurees, thiazolidinediones, inhibiteurs de DPP-4, inhibiteurs de la SGLT2, agonistes du GLP-1 et acarbose. Lorsque les hypo-glycémiantes oraux sont incapables de contrôler l'hyperglycémie en fonction des objectifs recommandés, des injections d'insuline peuvent être prescrites. Outre le contrôle de la hausse du taux de glycémie, il est essentiel de gérer la tension artérielle et de dépister régulièrement (au moins une fois par an) . ( FID 2017 )

**Tableau 8** : Mode d'action des principales classes d'agents antidiabétiques (Chi et al., 2017).

Médicament	Mode d'action
<b>Metformine</b>	Diminue la production hépatique de glucose Augmente l'utilisation périphérique du glucose
<b>Sulfamide hypoglycémiant</b>	Augmente la sécrétion d'insuline
<b>Thiazolidinedione</b>	Augmente la sensibilité à l'insuline
<b>Agoniste du récepteur au GLP-1</b>	Diminue la production de glucagon Augmente la sécrétion d'insuline
<b>Inhibiteur de DPP-4</b>	Diminue la production de glucagon Augmente la sécrétion d'insuline Augmente la demi-vie des incrétines
<b>Inhibiteur de SGLT2</b>	Diminue la réabsorption rénale du glucose Augmente la glycosurie
<b>Inhibiteurs des alphasglucosidases Acarbose/Miglitol</b>	Ralentit l'absorption et la digestion des carbohydrates
<b>Agonistes dopaminergiques</b>	Augmente la sensibilité à l'insuline

### III.4 Diabète et Phytothérapie :

Il existe plus de 200 000 métabolites secondaires, dont plus de 200 présentent une activité hypoglycémiant ( Marles et Farnsworth, 1995 ; Lamba et *al.*, 2000 ; Sanjay, 2002).

Ainsi un certains nombres de groupes, tels que des alcaloïdes, des saponines, des flavonoïdes, des glycosides, des polysaccharides, des peptidoglycanes, acides aminés et d'autres obtenus à partir de diverses sources végétales, semblent avoir des effets, d'une importance ( tableau ), dans le traitement du diabète (Mukherjee et al., 2006 ; Soumyanath, 2006).

L'activité antidiabétique des plantes peut dépendre de plusieurs mécanismes ( Edwin et *al.*, 2008 ) :

- Réduction de la résistance à l'insuline
- Stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules bêta ou/et inhibition du processus de dégradation de l'insuline
- Apport de quelques éléments nécessaires comme le Calcium, le Zinc, le Magnésium, le Manganèse et le Cuivre pour les cellules bêta
- Régénération ou/et réparation des cellules pancréatiques bêta
- Effet protecteur de la destruction des cellules bêta
- Augmentation du volume et du nombre de cellules dans les îlots de Langerhans
- Inhibition de la réabsorption rénale du glucose
- Inhibition de  $\beta$ -galactosidase, de  $\alpha$ -glucosidase et de  $\alpha$ -amylase
- Prévention du stress oxydatif, qui peut être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules bêta remarqué dans le diabète.
- Stimulation de la glycogénèse et de la glycolyse hépatique.
- Prévention de la conversion de l'amidon en glucose.
- Diminution des activités du cortisol.

#### III.4.1 Principes actifs isolés des plantes antidiabétiques :

Les principaux phytoconstituants actifs isolés de plantes antidiabétiques sont généralement des métabolites secondaires, représentés essentiellement par les polyphénols, les alcaloïdes, les saponines, les coumarines et les terpénoïdes.

**Tableau 9** : Principes actifs hypoglycémiant isolés de quelques plantes médicinales (Benariba, 2003).

Nature	Principe actif	Plante	Action thérapeutique
Alcaloïdes	Leurosine, vindoline vindolinine, catharanthis	<i>Catharanthus roseus</i>	100 mg/kg présente un effet hypoglycémiant [Famsworth et Segelman, 1971].
	Trigonelline	<i>Trigonella foenum graecum</i>	Effet hypoglycémiant chez rats normaux et diabétiques [Ajabnoor et Tilimsani, 1988].
	Castranospermine	<i>Castranospermine australe</i>	Diminution de l'hyperglycémie provoquée par le glucose et le saccharose [Marles et Norman, 1994].
	Diphenylamine	<i>Allium cepa L.</i>	100mg/kg réduisent l'hyperglycémie induite par le glucose chez le lapin [Krawya et al., 1984].
Flavonoïdes	Bengalénoside	<i>Ficus benglensis</i>	Réduction légère de la glycémie de rongeurs normaux et diabétiques [Brahmachari et Augusti, 1964].
	Catéchines	<i>Thea sinensis</i>	Activité anti-oxydante 4 fois supérieure à celle de la vitamine E et C [Robin et Roucky, 2001].
Glycosides	B-sisterol Dglycoside, stigmoline glucose	<i>Monardica charantia</i>	Provoque une réduction de l'hyperglycémie chez les patients DNID [Cliford et al., 1989].
	Neomyrtilline	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Diminution de l'hyperglycémie postprandiale chez les diabétiques [Cliford et al., 1989].
Saponosides	Ginsenosides	<i>Panax gensis</i>	Stimulation des îlots de Langerhans et de la glyco-génèse hépatique [Waki et al., 1982].
Composés sulfonyles	Allylpropyl Disulfure	<i>Allium cepa</i>	1g/kg diminue le glucose sanguine de 7 à 18% pendant 1 à 2h [Augusti, 1974 ; Augusti et Benaim, 1975].
	Diallyl disulfideoxyde	<i>Allium sativum</i>	
Acides aminés	Hypoglycine A, Hypoglycine B	<i>Beighia sapida</i>	
	4-hydroxyisoleucine	<i>Trigonella foenum graecum</i>	100µg/l à 1mMol/l stimule la sécrétion d'insuline des îlots de Langerhans isolés [Sauvaire et al., 1998].
Ions organiques	Chrome, Manganèse, Sels de magnésium	<i>Atriplex halimus</i>	Potentialisation de l'effet de l'insuline sur l'utilisation du glucose par les cellules adipeuses de l'épididyme de rats La complexe protéine tyrosine kinase associé au récepteur de l'insuline est dépendante du manganèse [Olivier et Zahnd, 1979].
	Aconitan A, B, C, D	<i>Aconitum charmichaelis</i>	Active la phosphofructokinase et le glycogène synthétase hépatique [Kinno et al., 1985].
Polysaccharides et Glycanes	Galactomanane	<i>Cerotonia siliqua</i>	Diminution de l'absorption intestinale du glucose [Raghuran et al., 1994].



# Partie II expérimentale

# *Matériel et méthodes*

Ce travail a pour objectif la réalisation d'une étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante in vitro et hypoglycémiant et antihyperglycémiant de l'extrait méthanolique des feuilles de *Juniperus Phoenicea.L*

Le présent travail est effectué au niveau du laboratoire de Biochimie. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université des Frères Mentouri, Constantine, et Centre de Recherche en Biotechnologie *CRBt* .Algérie.

Les expériences rapportées dans ce mémoire sont réalisées comme suit :

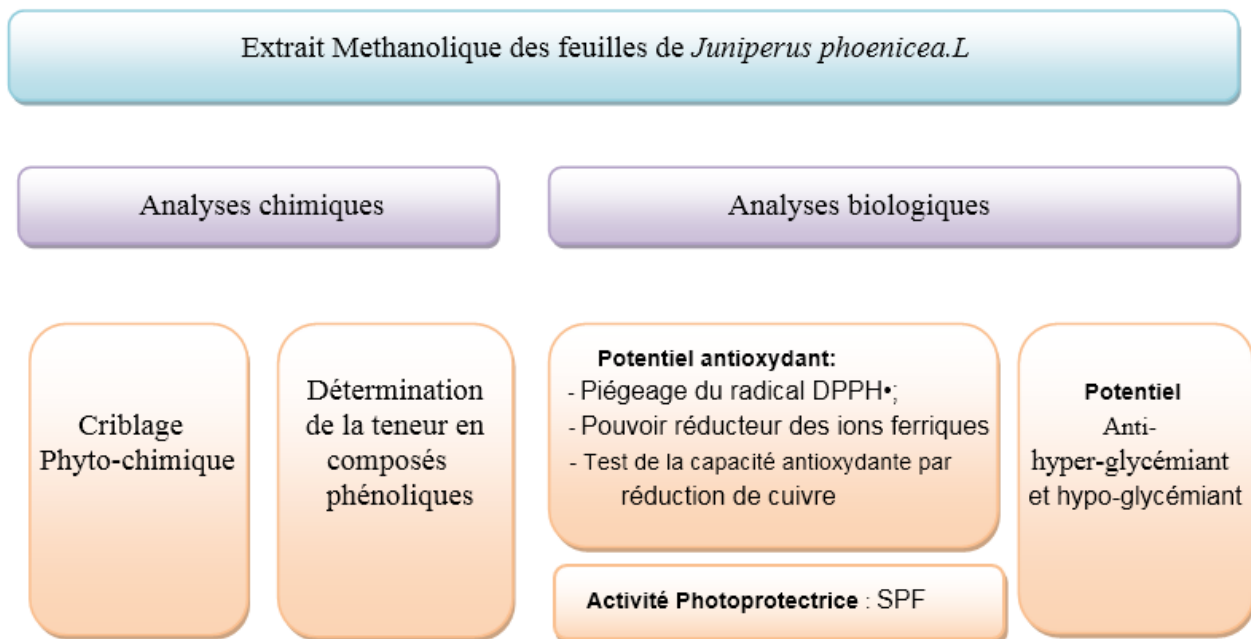


Figure 10 : Protocole d'étude expérimentale

## IV. Matériel et méthodes

### IV.1 Matériel

#### IV.1.1 Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans notre étude se divise en :

##### IV.1.1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de *Juniperus Phoenicea.L* qui ont été récoltées de la commune de Ain mimou , Wilaya de Khanchela . les feuilles sont réduits en poudre après le séchage ensuite une procédure d'extraction par la méthode de Soxhlet a été réalisée au niveau de laboratoire de Biochimie. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie . Université Abbes Lagrour Khenchela par Dr . Habibatni S , notre étude sera basé sur l'extrait méthanolique .



**Figure 11** : Extrait methanolique des feuilles de *Juniperus Phoenicea.L*

#### IV.1.1.2 Matériel animal

L'étude a été réalisée sur un model animal constitué 15 rats Wistar de sexe mâle et femelle ayant un poids compris entre 200 g et 340 g L'élevage des animaux ainsi que les différents testes ont été réalisés au sein de l'animalerie de département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie Université des frères Mentouri (Constantine ). Les rats sont logés dans des cages standard, à température ambiante avec une alimentation modérée et libre accès à l'eau.



**Figure 12** : Rats *Wistar* utilisés

### IV.1.2 Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé dans notre étude est composé de verreries, d'appareillage et de réactifs qui sont résumés dans l'annexe 1

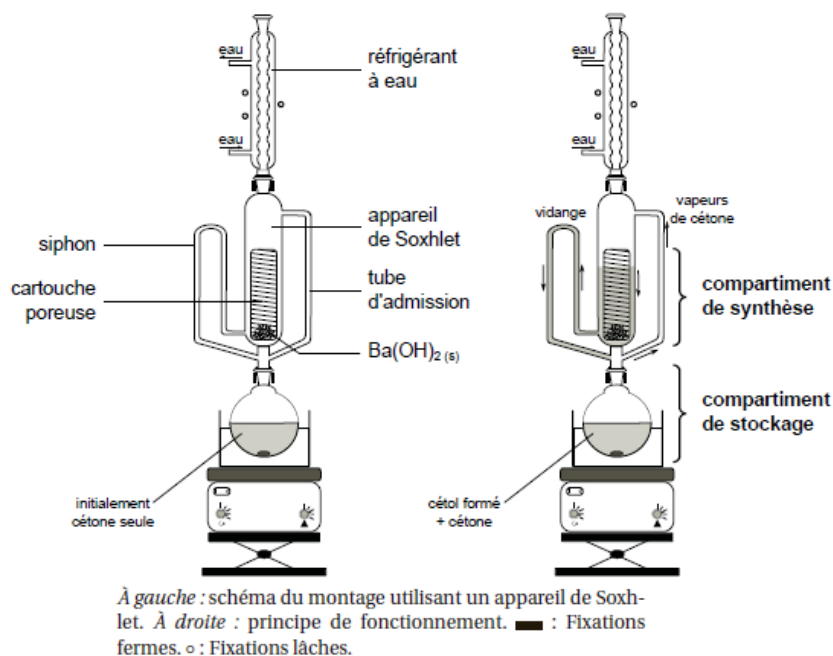
## IV.2 Méthodes

### IV.2.1 Extraction par soxhlet de *Juniperus Phoenicea L*

En 1879, le chimiste allemand Franz Ritter Von Soxhlet invente l'appareil portant son nom. Il lui a permis d'être pionnier dans le dosage des lipides contenus dans les aliments

L'appareil de Soxhlet, utilisé sous catalyse basique hétérogène, permet de déplacer l'équilibre dans le sens direct en isolant le compartiment de synthèse du cétyl de son compartiment de stockage. ( Bernard et *al.* ,2012)

- **Principe de la technique** L'appareil de Soxhlet est une pièce de verrerie s'insérant dans le montage de la figure ci-dessous :
- 



**Figure 13** : Présentation schématique de l'appareil de Soxhlet ( Bernard et *al.*, 2012)

Le Soxhlet est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant. Au fil des cycles, le solvant s'enrichit en substances extraites jusqu'à épuisement de l'échantillon en substances d'intérêt. (Luque de Castro and L.E. Garcia-Ayuso 1998 ; Grigonis, 2007).

#### **IV.2.2 Criblage phytochimique**

Le criblage phytochimique est une analyse qualitative basée sur des réactions de précipitations et / ou de colorations. Ces dernières permettent de définir la présence ou non de métabolites secondaires .

- **Les alcaloïdes**

Test fondé sur la capacité qu'ont les alcaloïdes à se combiner avec les métaux lourds Test de Mayer : L'extrait méthanolique est repris dans quelques ml d'HCl 50 %. La formation d'un précipité jaune, après ajout de quelques gouttes du réactif de Mayer, témoigne de la présence d'alcaloïdes (Dohou et *al.*, 2003).

- **Les tanins**

1,g de matériel végétal sec sont placés dans 10 ml de MeOH 80 %. Après 15 minutes d'agitation, les extraits sont filtrés et mis dans des tubes secs. L'ajout de FeCl<sub>3</sub> à 1 % permet de détecter la présence ou non des tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (Dohou et *al.*, 2003).

- **Les Tanins vrais**

Un aliquote d'extrait repris dans 2ml d'eau distillée, ajouter quelques gouttes d' HCl concentré le tout est chauffé au bain marie bouillant, la formation d'un précipité rouge indique un test positif (Yves-Alain et *al.*, 2007).

- **Les Quinones libres**

Un gramme de matériel végétal sec est broyé et placé dans un tube sec avec 15 à 30 ml d'éther de pétrole. Après agitation et un repos de 24 h, les extraits sont filtrés et concentrés au rotavapor. La présence de quinones libres est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH 1/10, lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet (Dohou et al., 2003).

- **Les Flavonoïdes**

Dix gouttes d'acide chlorhydrique concentré et quelques milligrammes de tournures de magnésium sont ajoutés à 0.5 ml de l'extrait. La coloration rose-rouge ou jaune, après trois minutes d'incubation à température ambiante, indique la présence des flavonoïdes (Hadduchi Fet *al.*, 2014).

- **Les saponines: Indice de mousse**

Leur présence est déterminée quantitativement par le test de la mousse, dans des conditions déterminées, l'extrait repris dans 5ml d'eau distillée, puis introduit dans un tube à essai est agité vigoureusement, la formation d'une mousse (hauteur supérieur de 1cm) stable persistant pendant 15 min, indique la présence de saponines (YvesAlain et *al.*, 2007)

- **Flavonoïdes (Cyanidine) :**

L'extrait méthanolique dissout dans 1ml HCl et quelques copeaux de magnésium, l'apparition d'une coloration allant de l'orangé au rouge pourpre indique une réaction positive (Najaa et *al.*, 2011).

- **Sucres réducteurs :**

Les sucres réducteurs ont été mis en évidence dans les extraits par le réactif de Fehling. 5 ml d'extrait brut sont additionnés 5 ml de liqueur de Fehling. La formation d'un précipité rouge brique après 2-3 min de chauffage au bain-marie à 70°C indique une réaction positive (Yves-Alain et *al.*, 2007).

- **Test des phénols**

2 ml de l'extrait méthanolique ont été mélangés avec 2 ml de l'éthanol à 96%.L'ajout de quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  permet l'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée qui indique la présence de phénols (Najjaa. N et *al*, 2011).

- **Test des flavonoïdes glycosides**

1ml d'hydroxyde de potassium KOH à 1% est ajouté à 2ml de l'extrait dilué dans le méthanol. L'apparition d'une coloration jaune indique la présence des flavonoïdes glycosides (Iqbal Hussain et *al*, 2011).

- **Test des Stérois**

Les stérois et les polyterpènes ont été recherchés par la réaction de Liebermann. Le résidu est dissout dans 1 ml d'anhydride acétique ; nous avons ajouté 0,5 ml d'acide sulfurique concentré au triturât. L'apparition, à l'interphase, d'un anneau violet, virant au bleu puis au vert, a indiqué une réaction positive (koffi et *al.*, 2009).

#### IV.2.3 Dosage colorimétrique (spectrophotométrique)

##### IV.2.3.1 - Dosage des poly-phénols totaux :

**Principe de la réaction :** La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin Ciocalteu ( FCR) (Singleton et Rossi, 1965) selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par (Muller et *al.*,2010).

Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ ), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène ( $\text{W}_8\text{O}_{23}$ ) et de molybdène ( $\text{Mo}_8\text{O}_{23}$ ). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

#### Mode opératoire

##### 1- Préparation de Carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )à 7,5%

7,5 gramme de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ et sontdissouts dans 100 ml d'eau distillé.



## 2- Préparation de l'extrait de plante

Une masse de 1 mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de l'eau distillée (ou Méthanol)

### 1- Préparation de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10fois

1ml de la solution FCR concentré (2M) est complété à 10ml avec l'eau distillée (9ml).

#### Procédure :

20  $\mu$ l d'extrait de plante + 100 $\mu$ l de FCR dilué(1 :10) + 75  $\mu$ l de carbonate de sodium(7,5%) + mettre le mélange à l'obscurité pendant 2h + lecture à 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

Le blanc de la réaction ne contient pas de polyphénols.

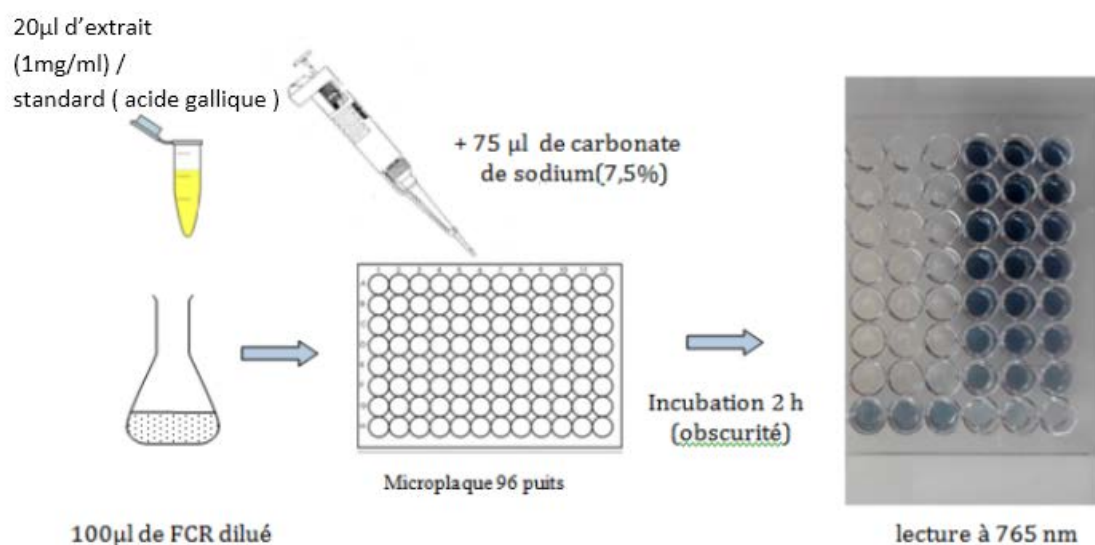
#### Gamme d'étalonnage :

Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique :

On prend 0,5 mg de l'acide gallique et on le dissout dans 5 ml de Méthanol pour obtenir la solution S<sub>1</sub> (0,2mg/ml).

20 $\mu$ l de chaque dilution sont transférés dans une microplaque + 100 $\mu$ l FCR (1 :10)+ 75 $\mu$ l de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5%)+ incubation 2h + lecture à 765nm.

(Singleton and Rossi 1965; Muller et *al.* 2010).



**Figure 14:** Procédure de dosage des polyphénols totaux

#### IV.2.3.2 - Dosage des flavonoïdes :

**Principe de la réaction :** Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre  $Al^{+3}$  et les flavonoïdes. La méthode de **Topçu et al.,(2007)** est utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque 96 puits.

#### Préparation des solutions:

Pour 1 M Potassium acétate ( $CH_3COOK$ ) on dissout 9.80 gramme de ( $CH_3COOK$ ) dans 100 ml d'eau distillé pour obtenir la solution  $S_1$

Pour 10% nitrate d'aluminium ( $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ ) on pèse 10g de ce produit dans 100ml d'eau distillée.

#### Préparation de l'extrait de plante :

Une masse de 1 milligramme d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol pour obtenir la solution ( $S_2$ ).

#### Procédure :

##### A- Pour l'extrait :

$50\mu l (S_2)(\text{extrait}) + 130 \mu l (MeOH) + 10 \mu l (S_1)(CH_3COOK) + 10 \mu l (Al(NO_3)_2 \cdot 9H_2O) +$  attendre 40 mn + lecture à 415 nm. Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol ( $50\mu l$  extrait +  $150\mu l$  méthanol).

##### B- Pour l'étalon :

#### Préparation de la gamme d'étalon de la Quercetin :

On prend 1 mg de la Quercetin et on le dissout dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution  $0,2mg/ml S_m$ .

$50 \mu l$  de chaque dilution sont transférés dans une microplaque 96 puits +  $130 \mu l (MeOH) + 10 \mu l (S_1)(CH_3COOK) + 10 \mu l (Al(NO_3)_2 \cdot 9H_2O) +$  attendre 40 mn + lecture à 415 nm



**Figure 15:** Gamme d'étalon de la Quercetine

#### **IV.2.4 Evaluation de l'activité Antioxydante**

Il existe plusieurs méthodes pour déterminer l'activité antioxydante. Dans cette étude, les propriétés antioxydantes de l'extrait méthanolique de *Juniperus phoenicea*.L a été testé par trois méthodes : piégeage du radical libre DPPH,, méthode CUPRAC, methode de Pouvoir réducteur FRAP

##### **Préparation des échantillons**

Les concentrations préparées sont utilisées pour toutes les méthodes La concentration des solutions mères de chaque échantillon est exprimée en ppm.

La partie par million (le ppm) est la fraction valant  $10^{-6}$ , c'est-à-dire un millionième

Une quantité de 4 milligrammes ou 1 mg de l'extrait méthanolique ont été dissoutes dans 1 ml du méthanol (Solution mère de 4000 ppm, ou 1000 ppm ) respectivement avec 7 concentrations différentes (une serie de dilution de  $\frac{1}{2}$  ) de l'échantillon en ordre décroissant comme suit :

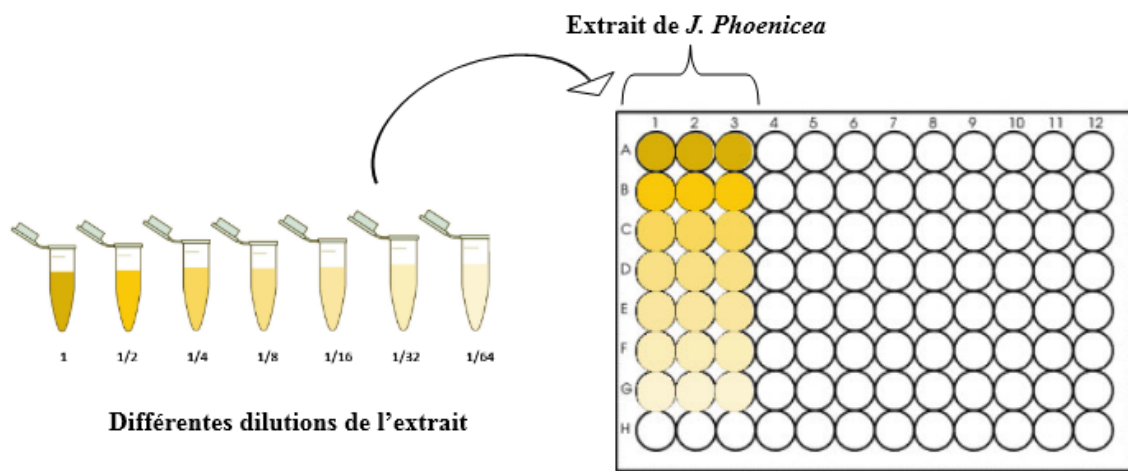
**Tableau 10** : Concentrations de l'échantillon

**Pour 4 mg :**

	<b>SM</b> <b>4000 ppm =4 mg/ml</b>	<b>1/2</b>	<b>1/4</b>	<b>1/8</b>	<b>1/16</b>	<b>1/32</b>	<b>1/64</b>
<b>Concentration</b> <b>µg/ml</b>	800	400	200	100	50	25	12.5

**pour 1 mg**

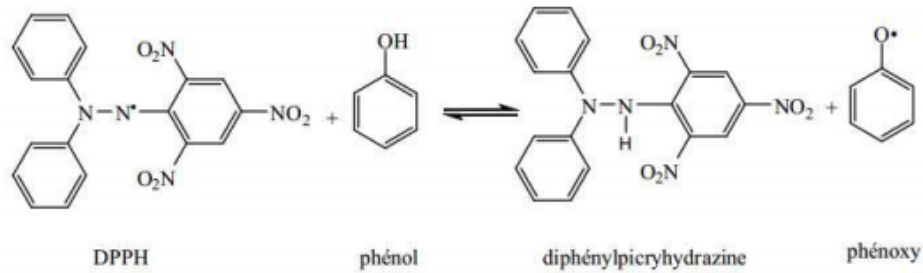
	<b>SM</b> <b>1 mg/mL = 1000</b> <b>ppm</b>	<b>1/2</b>	<b>1/4</b>	<b>1/8</b>	<b>1/16</b>	<b>1/32</b>	<b>1/64</b>
<b>Concentration</b> <b>µg/ml</b>	200	100	50	25	12.5	6.25	3.125



**Figure 16** : Représentation schématique de la dilution en série

**IV.2.4.1 Méthode du DPPH :**

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha, \alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques ( Blois ,1958 )



**Figure 17** : Mécanisme réactionnel d'un antioxydant avec Le DPPH\* (Molyneux, 2004 )

## Protocole

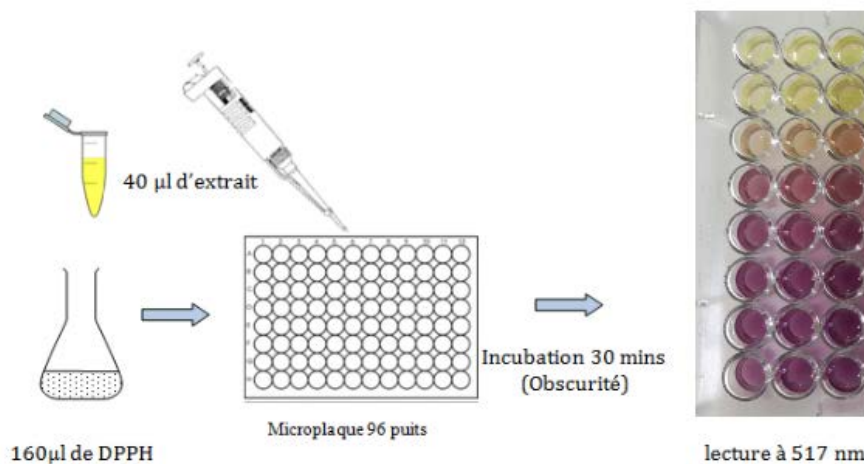
Cette activité est déterminée selon la méthode de Blois (1958)

Un volume de 40  $\mu\text{L}$  de différentes concentrations de chaque échantillon ainsi que l'antioxydant standard (BHT), est déposé en triplicata sur une microplaque à 96 puits, en ajoutant sur chaque puits un volume de 160  $\mu\text{L}$  d'une solution méthanolique de DPPH (0,4mM). Le contrôle négatif est préparé en parallèle, en mélangeant 40  $\mu\text{L}$  du méthanol avec 160  $\mu\text{L}$  d'une solution méthanolique de DPPH, à la même concentration utilisée. Après incubation à température ambiante à l'obscurité pendant 30 min, la microplaque est insérée dans le spectrophotomètre pour mesurer l'absorption à 517nm. La capacité à piéger le radical DPPH a été calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition \%} = \frac{A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Extrait}}}{A_{\text{Contrôle}}} \times 100$$

$A_{\text{Contrôle}}$  est l'absorbance de la réaction ne contenant que les réactifs.

$A_{\text{Extrait}}$  est l'absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'extrait



**Figure 18** : Procédure de test DPPH

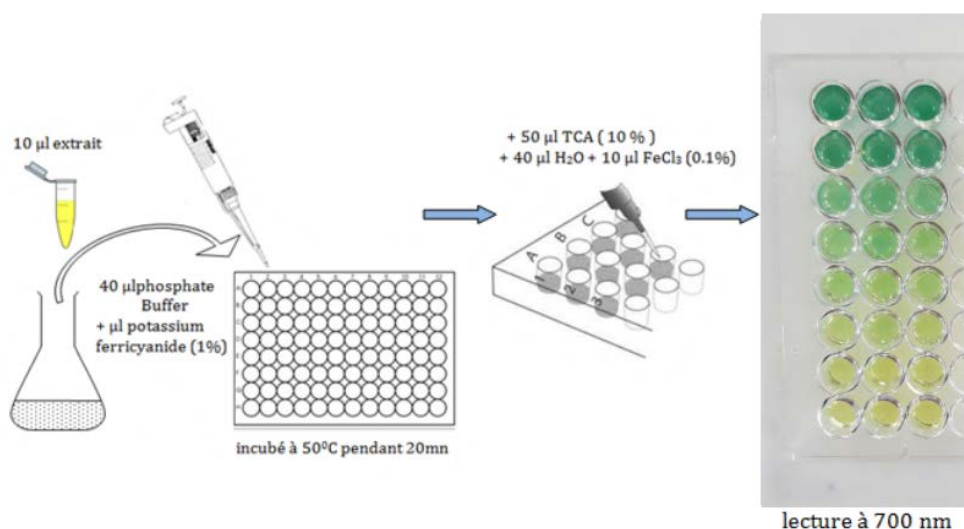
#### IV.2.4.2 Pouvoir réducteur (FRAP)

Cette méthode est basée sur l'aptitude d'un antioxydant donné à réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ). La réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique à la couleur bleu-vert du fer ferreux. L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm (Karagözler et al., 2008).

Cette activité est déterminée selon la méthode de Oyaizu (1986).

#### Protocole

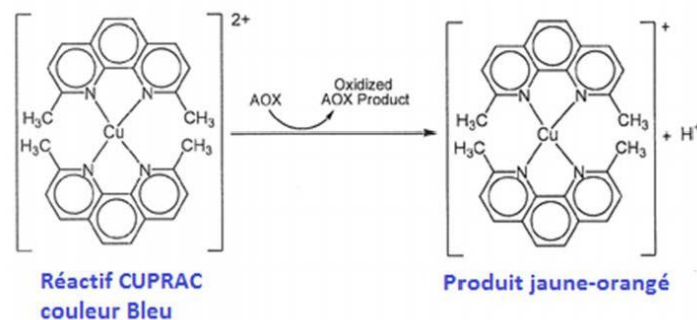
Un volume de 10  $\mu\text{L}$  de différentes concentrations de chaque échantillon est déposé en triplicata sur une microplaque à 96 puits, en ajoutant sur chaque puits un volume de 40  $\mu\text{L}$  phosphate buffer (pH 6.6)+ 50  $\mu\text{L}$  potassium ferricyanide (1%)  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  (1 g de  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  dans 100 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ) . Après incubation à 50° pendant 20 minutes . Un volume de 50  $\mu\text{L}$  tri-chloroaceticacid (TCA) (10%)(1 g de TCA dans 10 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ) et 40  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}$  et 10  $\mu\text{L}$  ferricchloride  $\text{FeCl}_3$  (0.1%)(0,1 g de  $\text{FeCl}_3$  dans 100 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ) sont rajoutés , ensuite la microplaque est insérée dans le spectrophotomètre pour mesurer l'absorption à 700 nm :



**Figure 19:** Procédure de teste de Pouvoir réducteur (FRAP)

#### IV.2.4.3 Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

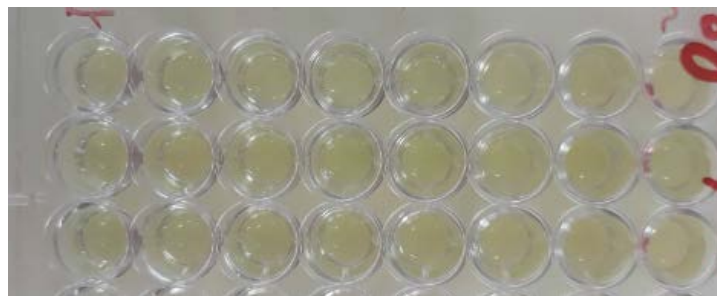
C'est une méthode développée par Apak et al en 2004. Le Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre CUPRAC (cuivrique Réduire Antioxydant Capacity) est une méthode de mesure du potentiel antioxydant utilisée pour une grande variété de polyphénols, y compris les acides phénoliques, les acides hydroxy cinnamiques, flavonoïdes, les caroténoïdes, les anthocyanines, ainsi que pour des thiols et les antioxydants synthétiques, les vitamines C et E (Özyürek et al., 2011). (Figure20 ).



**Figure 20** : Réduction du complexe chromogène de Cu+2-Nc

#### Protocole

La réduction du cuivre a été déterminée par la méthode CUPRAC décrite par (Apak et al., 2004).une solution est préparée avec le mélange des volumes de : 50 µl Cu (II) (10 mM), 50 µl neocuprine (7,5 mM), et 60 µl de solution tampon NH<sub>4</sub>Ac (1 M, pH = 7,0). Différentes concentrations d'extrait ont été ajoutées au mélange initial afin de rendre le volume final de 200 µl. Les microplaques de 96 puits ont été mises à l'abri de la lumière, et après 1 h, l'absorbance est mesurée à 450 nm. La capacité de réduction des extraits a été comparée à celles de du BHA. Les résultats ont été calculés à titre de A0.5 (µg / ml) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.



**Figure 21**: Teste Cuprac

#### IV.2.5 (SPF)Sun protection factor

##### (In vitro SPF and UVA Protection Factor (UVA-PF) assessment) Anti-solaires

Le Facteur de Protection Solaire (FPS) , également dénommé l'indice de protection (IP) d'une crème solaire ou encore Sun Protection Factor (SPF), est une mesure de l'efficacité des photoprotecteurs vis-à-vis des effets à courts termes des rayonnements UV.

Ce chiffre indique le taux de protection anti-UVB conférée par le produit. Celui-ci est mesuré en laboratoire et déterminé par des tests standardisés.

Cet indice représente la protection effective de la peau contre l'érythème solaire tel que :

**FPS = dose capable de provoquer un érythème sur la peau protégée/dose capable de provoquer un érythème sur la peau non protégée**

L'érythème solaire est une inflammation de la peau provoquée notamment par les UVB ; et peu par les UVA. L'érythème solaire constitue la première lésion visible aiguë des rayonnements UV.

Ce facteur prend donc en considération principalement l'action des UVB

L'activité Sun protection factor (SPF) est déterminée par la méthode de Mansur et al. (1986).

#### Procédure

2 mg de l'extrait sont dissouts dans 1 ml d'éthanol (EtOH)

#### Mesure spectrophotométrique et détermination du SPF

L'absorbance est mesurée dans l'intervalle de 290 à 320 nm chaque 5 nm (UV-B), et la valeur du SPF est calculée par l'application de l'équation mathématique de Mansur (1986)

$$\text{SPF}_{\text{spectrophotometric}} = \text{CF} \times \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \times \text{I}(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

EE: erythemal effect spectrum

I : solar intensity spectrum

Abs: absorbance of sunscreen product

CF: correction factor (= 10)

Les valeurs de : EE X I sont des constantes déterminées par Sayre et autres (tableau11).



**Tableau 11** : Fonction normale de produit utilisée dans le calcul de la SPF ((Mansur et al., 1986).

Longueur d'onde $\lambda$ (nm)	EE ( $\lambda$ )x I( $\lambda$ ) (Normes)
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0837
320	0,0180
Total	1

### IV.3 Evaluation de l'activité Antihyperglycemiante et Hypoglycemiante

Le but de cette étude était d'évaluer l'activité hypoglycémiante et antidiabétique de l'extrait methanolique des feuilles de *Juniperus Phoenicea*.L . selon la méthode de ( OruamboI et al .,2010)

#### IV.3.1 Évaluation d'effet antihyperglycémiant d'extrait

**Principe** : Consiste à provoquer une hyperglycémie temporaire chez les animaux non diabétiques et ensuite vérifier l'effet des produits en étude sur l'hyperglycémie.

#### Répartition des rats

Les 15 rats sont mis à jeun pendant 16 heures avant les expériences et ils ont été réparties en 5 lots selon l'homogénéité de leurs poids , 3 rats chacun . ils ont été marqué par des traits au niveau de la queue . ensuite ils ont été ensuite injectés par voie intra-péritonéale comme suit :

**Groupe ( A )** : contrôle négatif injection de 0.5 ml glucose

**Groupe ( B )** : contrôle positif 0.5ml a50% solution glucose +0.5 ml Glucophage (100mg/kg)

**Groupe ( C )** : 0.5 ml solution Glucose + 0.5 extrait a la dose de ( 250 mg/ kg )

**Groupe ( D )** : 0.5 ml Glucose + 0.5 extrait a la dose de ( 500 mg / kg )

**Groupe ( E )** : 0.5 ml Glucose + 0.5 extrait a la dose de ( 1000 mg / kg )



**Figure 22** : Injection des rats par voie intra-péritonéale

### Prélèvement du sang

Une goutte de sang prélevée à partir de l'extrémité caudale des rats , déposée sur une bandelette réactive du glucomètre Accu-Chek ,afin de mesurer la glycémie ( figure ). Les teneurs en glucose sont exprimées en g/l.



**Figure 23**: Prélèvement du sang a partir de la queue de rat et mesure de la glycémie a l'aide de glucomètre

La glycémie est d'abord déterminée juste avant les traitements ; c'est la glycémie initiale (t<sub>0</sub>). Et a 30 minutes, 1 ; 2 et 3 heures ( après traitement )

### **IV.3.2 Etude de l'activité hypoglycémiant**

Le pouvoir hypoglycémiant ou l'activité hypoglycémiant est la capacité de certaines substances ou molécules à diminuer la glycémie après leur administration. L'insuline sécrétée par la cellule bêta des ilots de Langerhans du pancréas est la seule hormone hypoglycémiant naturelle ; dans notre cas on va déterminer le pouvoir hypoglycémiant de l'extrait méthanolique des feuilles de *Juniperus Phoenicea*.L

#### **Mode opératoire**

Après avoir soumis 12 rats a un jeun préalable de 16 h , Nous avons mesuré la glycémie de base et ensuite administré les extraits à nos rats ( Lots : B,C,D) à raison de 0.5 ml de solutions d'extrait, contenant la dose appropriée pour chaque rats .

**Groupe ( A )** : contrôle négatif injection de 0.5 ml d'eau physiologique

**Groupe ( B )** : Injection de 0.5 ml d'extrait a la dose de ( 250 mg / kg )

**Groupe ( C )** : Injection de 0.5 ml d'extrait a la dose de ( 500 mg / kg )

**Groupe ( D )** : Injection 0.5 ml d'extrait a la dose de ( 1000 mg / kg )

Les glycémies ont été mesurées après 30 minutes, 1 ; 2 et 3 heures. Elles ont été comparées à la glycémie de base.

### **IV.4 Analyses statistiques**

Les résultats de tous les tests sont exprimés en moyennes  $\pm$  SD d'analyses en trois essais. Les valeurs de CI50 sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)], les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification sont faites par "students t-test" et le test ANOVA univarié. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05.

# *Résultats et discussion*

## V. Résultats et discussion




### V.1 Le criblage phyto-chimique :

L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique de l'extrait méthanolique des feuilles de la plante *Juniperus phoenicea* L. a permis de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques représentés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 12** : Résultats du criblage phytochimique des feuilles de la plante *Juniperus phoenicea* L

#### Le composé chimique

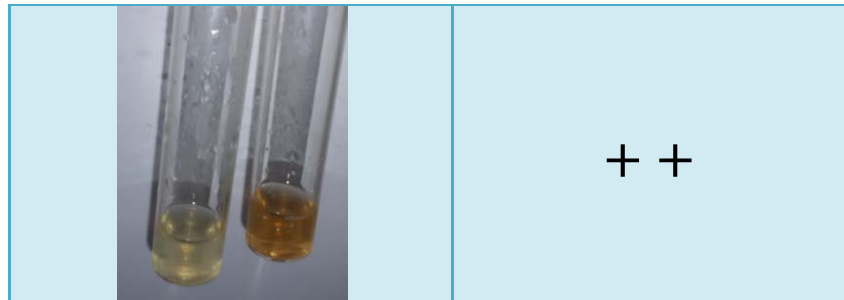
- Stérols

Résultat par rapport au témoin (Photos)	Présence/Absence dans l'extrait
	-
	+ + +
	-

- Les tanins (catechiques)

- Les Tanins vrais

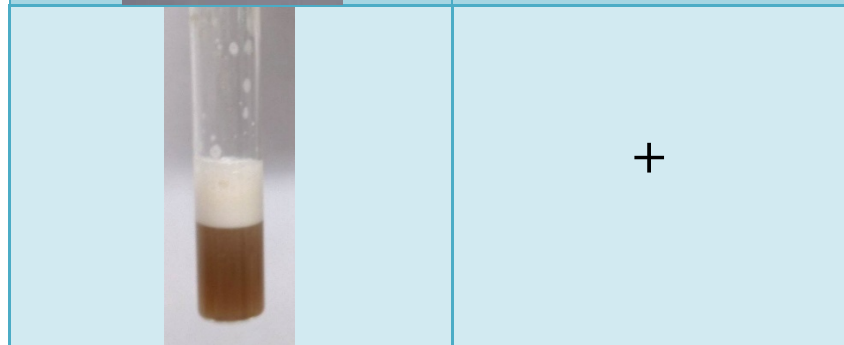
- Les Quinones libres



- Les Alcaloïdes



- Les saponines



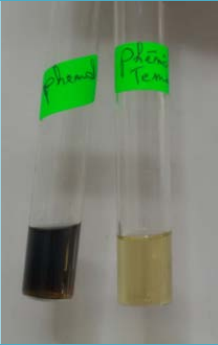

- Flavonoïdes (Cyanidine)



- Sucres réducteurs



- **Phénols**

	<p style="text-align: center;">+ + +</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>flavonoïdes glycosides</b></li> </ul> 	<p style="text-align: center;">+ + +</p>

(+) : Présents ; (++) : abondants ; (+++) : très abondants ; (-) : absents.

Les résultats du criblage phytochimique de *Juniperus phoenicea* mentionnés dans le **tableau**, indiquent la présence de divers composés avec une grande abondance pour la plupart. Il s'agit notamment, des phénols , des flavonoïdes , des composés réducteurs , les tanins . D'autres constituants incluant et les stérols , les tanins vrais sont absents.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par les travaux de (Medini et *al.*,2013) qui ont signalé la présence des tanins, flavonoïdes dans l'extrait méthanolique des feuilles de *J. phoenicea* , (Fadel et *al.*,2016 ) ont signalés la présence des saponines et des Alcaloïdes tandis que ( Aljayash et *al.*,2014 ; Amalich el *al.*,2016 ) ont signalés leurs absence .

D'autre part, la recherche des stérols révélée négative au cours de notre analyse, a été au contraire, positive selon l'étude de ( Makhloufi et *al.* , 2014 ;Amalich et *al* 2016)

Il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la bibliographie a cause de différence du solvant de l'extraction par soxhlet ,

La nature des principes chimiques mis en évidence par le criblage phytochimique laisse prévoir des activités pharmacologiques intéressantes de la plante étudiée .

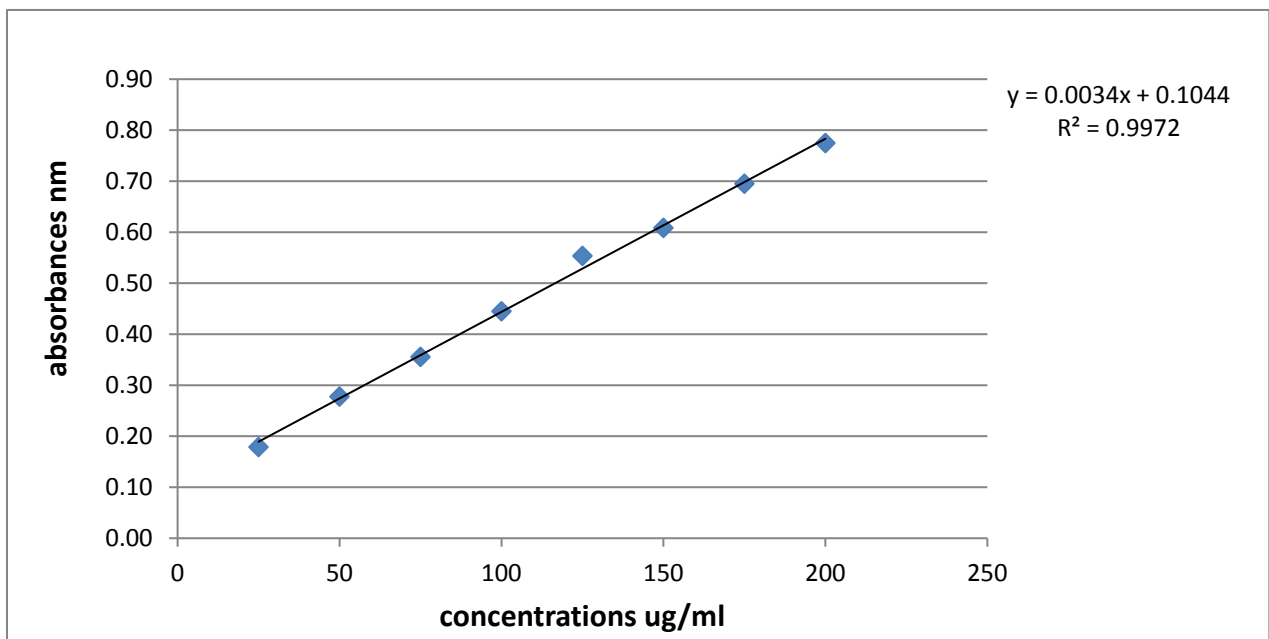
## V.2 Teneur en composés phénoliques

### Courbes d'étalonnages

Les courbes d'étalonnage sont élaborées par des solutions standards de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols et de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes préparés à des concentrations différentes.

#### a. Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est calculé à partir de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique et est exprimée en  $\mu\text{g}$  d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait ( $\mu\text{gEAG}/\text{mg}$  d'extrait). La formule de la régression linéaire de cette courbe est de  $y = 0.0034x + 0.1044$  avec un coefficient de corrélation  $R^2$  égal à 0.9972 (figure 24)

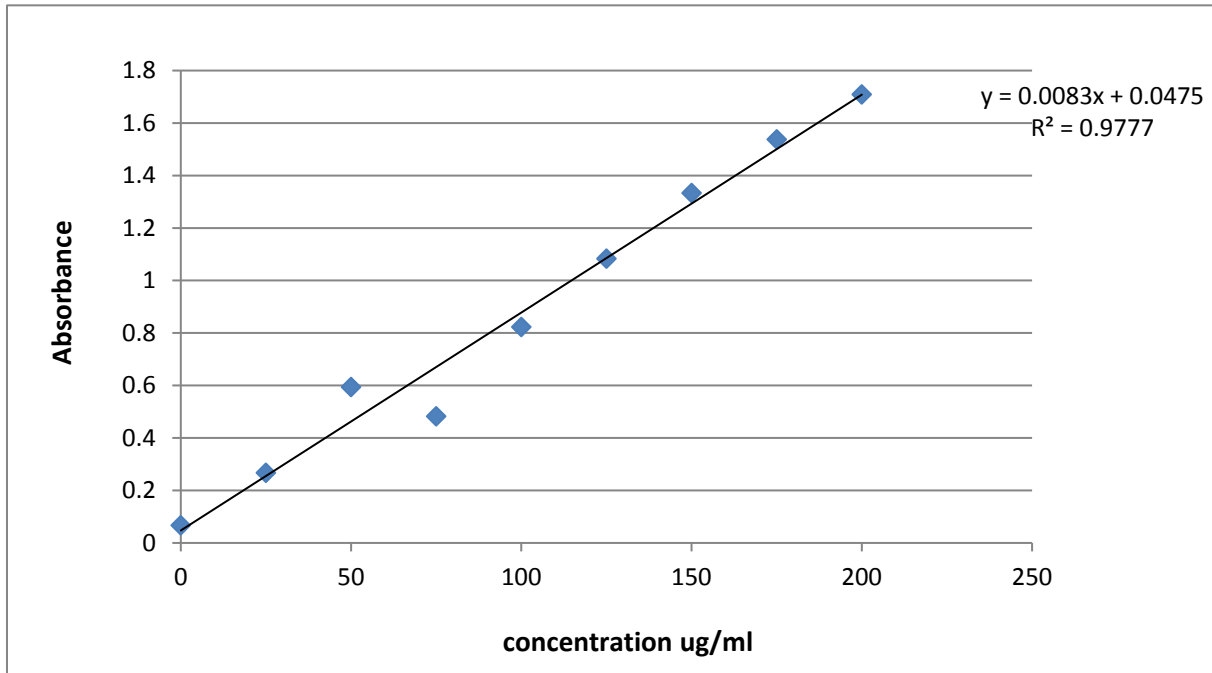


**Figure 24** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols

#### B - Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est calculée à partir de la gamme d'étalonnage de la quercétine et est exprimée en  $\mu\text{g}$  d'équivalent de quercétine par mg d'extrait ( $\mu\text{gEQ}/\text{mg}$ ). La formule de la régression linéaire de cette courbe est de  $y = 0,0083x + 0,0475$  avec un coefficient de détermination  $R^2$  égal à 0,9777 (figure 25).





**Figure 25:** Courbe d'étalonnage de la Quercetine pour le dosage des flavonoïdes

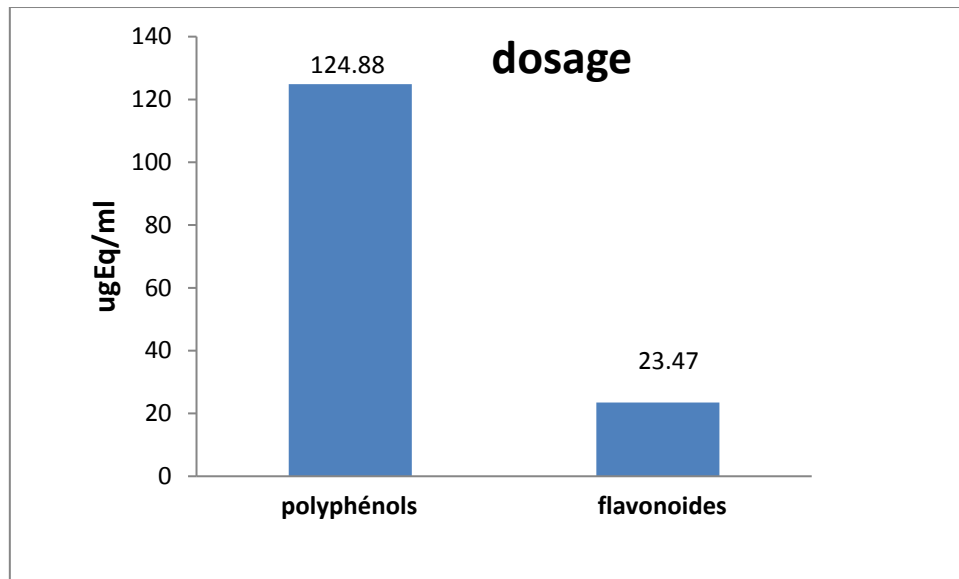
### Analyses spectrophotométriques des extraits

Les extraits ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre, pour leurs contenus en polyphénols et en flavonoïdes, les résultats du dosage sont présentés dans le tableau :

**Tableau 13:** Taux de polyphénols totaux, des flavonoïdes contenus dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Juniperus Phoenicea.L*

Extrait méthanolique des feuilles de <i>J.Phoenicea</i>	
Teneur en poly-phénols totaux (µg EAG/mg d'extrait)	124.88
Teneur en flavonoïdes (µg EQ/mg d'extrait)	23.47

Les résultats figurant dans le tableau ci-dessus sont illustrés graphiquement dans la figure :



**Figure 26** : Comparaison des teneurs des poly-phénols et des flavonoïdes

Les résultats du dosage des polyphénols totaux présentés dans la figure indiquent que la concentration moyenne est de (124.88  $\mu\text{g}$  EAG/mg) enregistrée au niveau d'extrait méthanoliques des feuilles de *Juniperus phoenicea.L* .

Les résultats du dosage des flavonoïdes ont permis d'enregistrer des teneurs de (23.47  $\mu\text{g}$  QE/mg) d'extrait pour l'extrait des feuilles de genévrier. Les flavonoïdes sont considérés comme une sous classe des composés phénoliques, il est par conséquent logique que la teneur en phénols totaux de l'extrait soit directement reliée à leur teneur en flavonoïdes.

La comparaison de nos résultats avec ceux trouvés dans l'étude de ( Soltani et al ,2017 ) qui ont analysé la teneur de l'extrait methanolique en composés phénoliques des feuilles du genévrier de Phénicie , indique que les teneurs obtenues sont (114,00 mg EAG /g) tandis que la teneur de leurs extrait en flavonoïdes sont ( 98,36 mg EC/g d'extrait)

Alors que l'étude menée par ( Keskes et *al.*,2014) sur la teneur de différents extraits des feuilles de *Juniperus Phoenicea.L* en Polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux , indique que les teneurs obtenues sont ( extrait methanolique : 265 mg EAG /g et 176 mg EQ/g d'extrait ; extrait Acetate d'ethyl : 180.8 mg EAG /g et 104 mg EQ/g ) respectivement .

En général, la teneur en polyphénols d'un extrait dépend de la méthode d'extraction utilisée, de la nature du solvant ainsi que du matériel végétal utilisé (Hayouni et al., 2007).

Néanmoins, les résultats du dosage des composés phénoliques ne donnent pas les valeurs exactes des teneurs en polyphénols, car malgré la grande sensibilité de la méthode de Folin-Ciocalteu, elle peut présenter des problèmes d'interférence. En effet, le réactif Folin-Ciocalteu peut réagir avec les acides aminés (tyrosine, tryptophane), et les sucres réducteurs comme le glucose .

De plus, on peut déduire que le Genévrier rouge synthétise ces molécules en grandes quantité dans les grandes altitudes pour s'adapter aux conditions du milieu, ces molécules actives interviennent dans le cas du stress et améliorent l'efficacité de reproduction de la plante

### V.3 Activité Antioxydante

#### V.3.1 Dosage de l'activité antiradicalaire par le test DPPH

L'absorbance a été mesurée à 517 nm, le pourcentage d'inhibition est calculé par la suite selon la formule suivante :

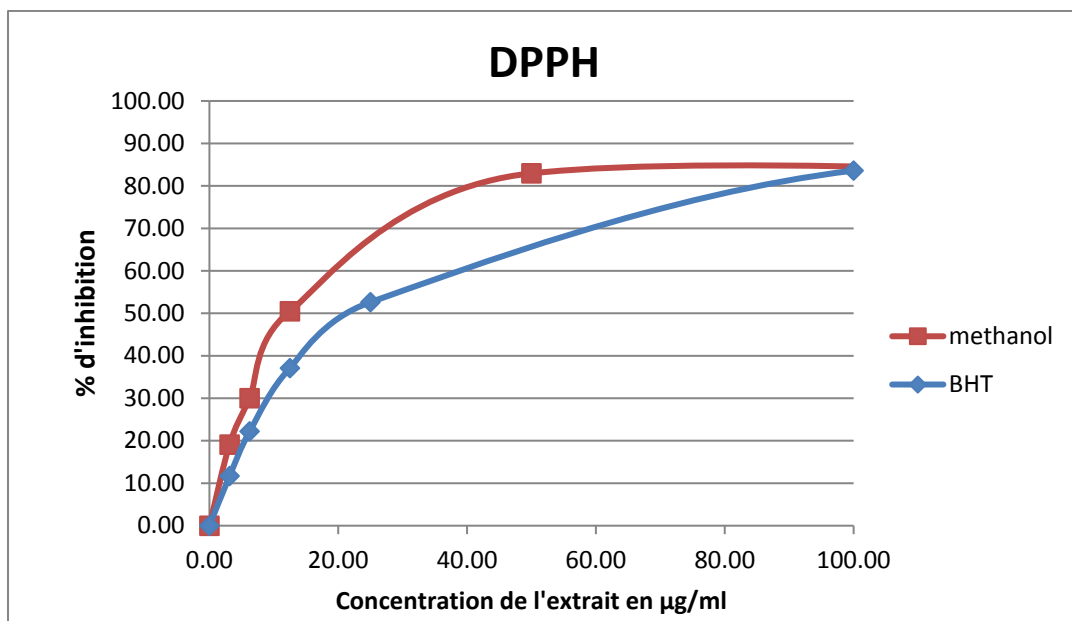
$$\% I = [(Abs\ contrôle - Abs\ extrait) / Abs\ contrôle] \times 100$$

L'activité antiradicalaire (DPPH) de l'extrait méthanolique a été évaluée par son activité inhibitrice sur une solution méthanolique de DPPH, mesurée à 517 nm. Le standard utilisé est le BHT. Les résultats de l'activité antiradicalaire au DPPH sont représentés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50% (Tableau 14 )

**Tableau 14** : Activité antiradicalaire au DPPH et Pourcentage d'inhibition

Extracts	% Inhibition in DPPH assay							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	IC <sub>50</sub> µg/mL
<b>Extrait MeOH</b>	19.11	30.04	50.48	82.04	82.96	83.65	80.66	12,57 ±0,51
<b>BHT</b>	11,69 ±1,88	22,21 ±1,30	37,12 ±1,80	52,63 ±2,70	56,02 ±0,53	83,60 ±0,23	87,28 ±0,26	22.32 ±1.19

Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits et de standard (Figure 27).

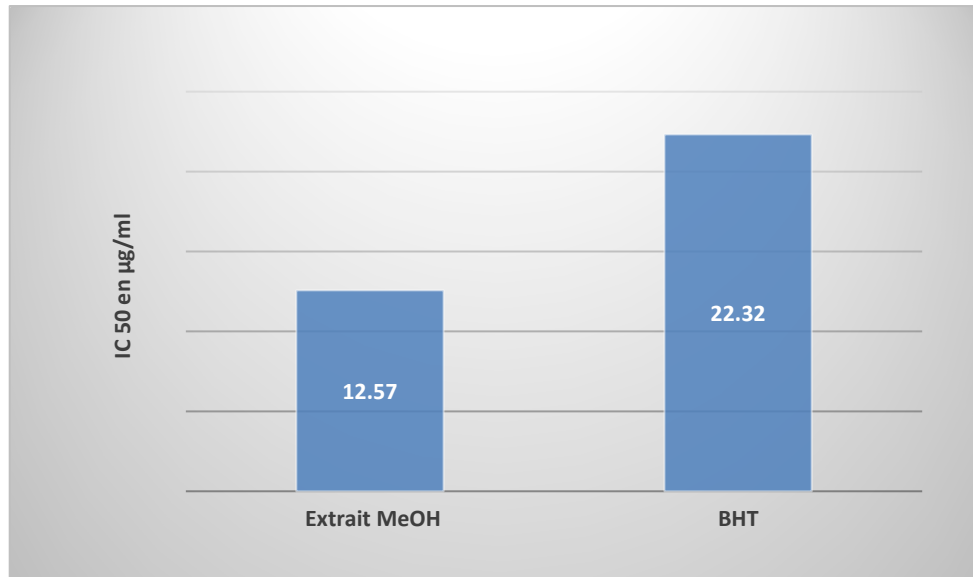


**Figure 27**: Courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait méthanolique des feuilles de *Juniperus phoenicea* .L

La figure révèle que l'extrait méthanolique possède une activité antiradicalaire dose dépendante

### Détermination de l'IC50

Les résultats obtenus ont permis également de déterminer la valeur de l'IC50 (la valeur qui correspond à 50% d'inhibition) afin de pouvoir évaluer l'activité de l'extrait vis-à-vis du standard. Les valeurs de l'IC50 de l'extrait ainsi que celle de BHT sont classés sous forme d'histogramme (Figure 28 ).



**Figure 28:** Valeurs des IC50 exprimés en µg / ml des échantillons étudié

La IC50 exprime la quantité d'antioxydant requise pour réduire de 50% la concentration du radical libre. Elle est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante d'un composé. En effet, plus la valeur de IC50 est basse, plus l'activité antioxydante est grande (Dung et al., 2008). Sa détermination permet d'évaluer et de comparer l'efficacité de nos échantillons.

D'après les résultats du tableau, nous constatons que l'extrait méthanolique possède des propriétés antioxydantes intéressantes ( $IC_{50} = 12.57 \pm 0.51 \mu\text{g/mL}$ ), supérieure à celle du standard le BHT ( $IC_{50} = 22.32 \pm 1.19 \mu\text{g/mL}$ ).

Par comparaison ( Medini et al.,2013) ont montré que les extraits méthanoliques des feuilles des *Juniperus phoenicea*.L obtenues de deux différentes regions possèdent une activité oxydante moins actives que celle de la vitamine C ( standard ) (  $IC_{50} = 20.38 \mu\text{g/ml}$  ,  $IC_{50} = 08.77 \mu\text{g/ml}$  ,  $IC_{50} = 03.1 \mu\text{g/ml}$  ) respectivement (Keskes et al.,2016) ont montré aussi que l'extrait méthanolique des feuilles possède une activité antioxydante moins active que celle de BHT ( standard) (  $IC_{50} = 28.0 \pm 0.1(\mu\text{g/mL}$  ;  $18.1 \pm 0.2 \mu\text{g/ml}$  )

### V.3.2 Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

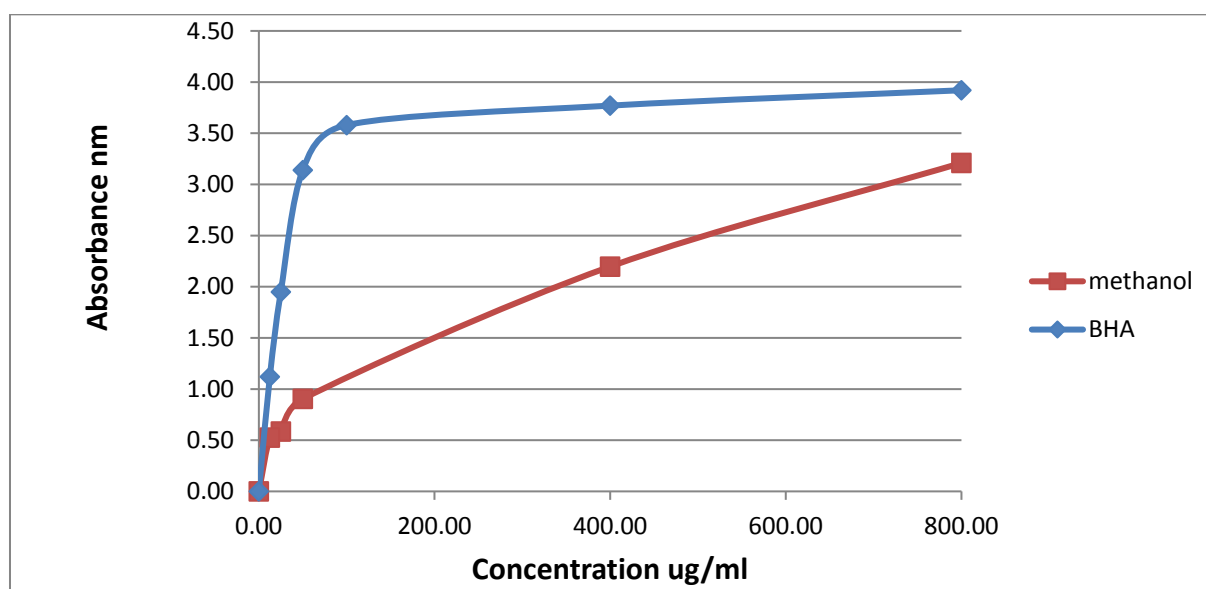
C'est une méthode développée par Apak et al en 2004. Le principe de ce test se base sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe  $\text{Cu}^{2+}$  - Nc, produisant ainsi un complexe chromogène de  $\text{Cu}^{+}$  - Nc qui absorbe à 450 nm .

**Tableau 15** : Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre

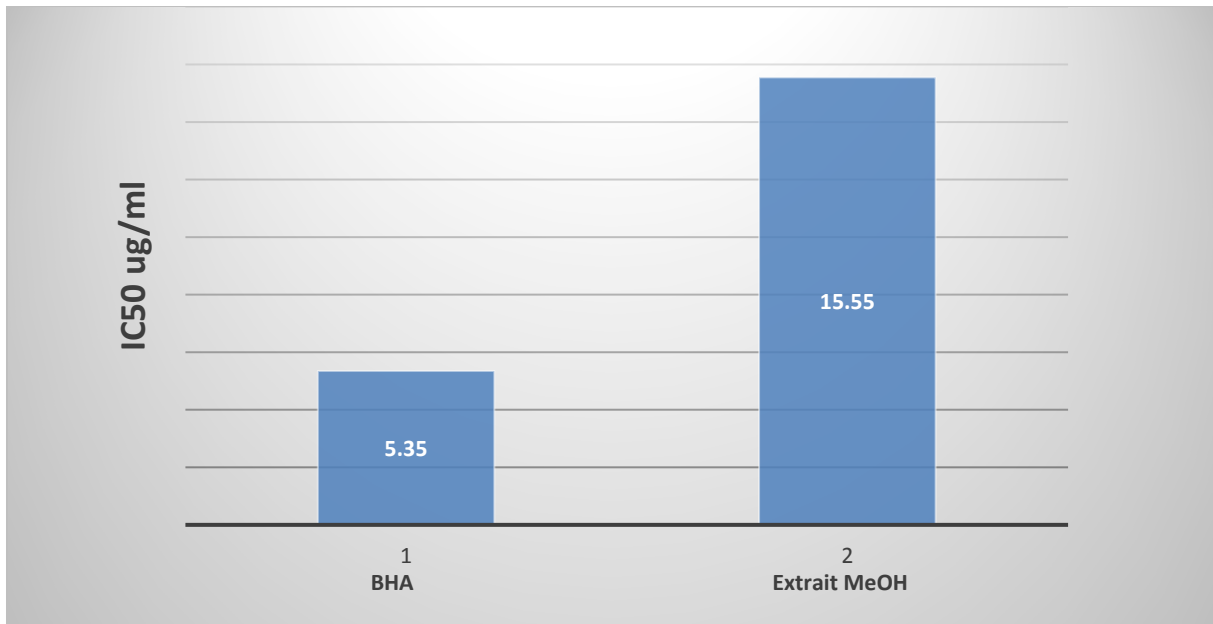
Extraits	Cuprac absorbances							
	12.5 $\mu\text{g/ml}$	25 $\mu\text{g/ml}$	50 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$	200 $\mu\text{g/ml}$	400 $\mu\text{g/ml}$	800 $\mu\text{g/ml}$	$A_{0,50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Extrait methanol	0,486	0,574	0,905	1,129	1,213	2,197	3,210	$15,55 \pm 1,38$
BHA <sup>b</sup>	$1,12 \pm 0,05$	$1,95 \pm 0,31$	$3,14 \pm 0,46$	$3,58 \pm 0,42$	$3,35 \pm 0,20$	$3,77 \pm 0,19$	$3,92 \pm 0,13$	$5,35 \pm 0,71$

Les valeurs exprimées représentent la moyenne  $\pm$  l'écart type (S.D) des trois répétitions pour chaque essai

L'extrait méthanolique a révéls une capacité de réduire le cuivre. La figure (29) présente les courbes de l'absorbance en fonction de la concentration de standards et de l'extrait.



**Figure 29**: Courbe d'absorbance en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique



**Figure 30** : Détermination d'IC 50 (la concentration a l'absorbance 0,5)

A partir de la figure on peut déduire que le BHA montre un pouvoir réducteur de cuivre plus important que celui de l'extrait avec des A0.50 égale à 5.35 et 15.55 µg/ml respectivement.

D'autres espèces du genre *Juniperus* ont été testées pour leur pouvoir reducteur vis à vis du Cuprac . Le *Juniperus communis* étudié par ( Assefa et al., 2018) a montré des résultats de (4.86 mg of Trolox equivalent (TE)/g). Alors que l'Aubier et Le duramen de *Juniperus foetidissima* étudiés par ( ÖZKAN et al., 2013 ) ont montré des résultats de (EC50 = 50.95 mg/g , 88.65 mg/g) respectivement .

### V.3.3 Méthode de réduction de fer (FRAP: Ferric reducing antioxidant power)

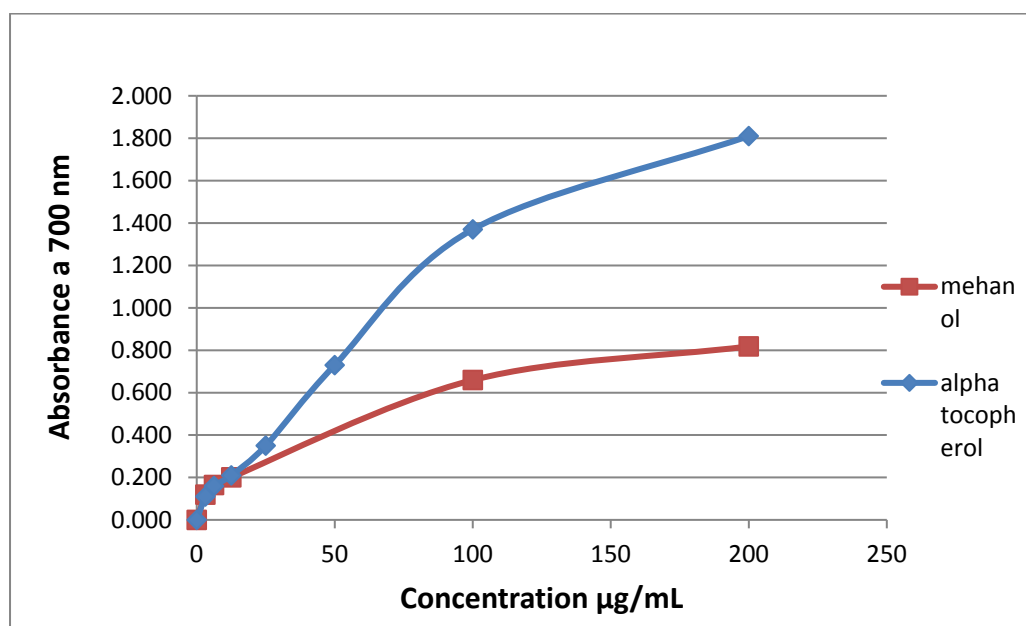
La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Yang et coll., 2008).

Les résultats de l'activité antioxydante par méthode de réduction de fer sont représentés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50% pour l'extrait méthanolique des feuilles de *Juniperus phoenicea*.L et α-Tocopherol ( standard ) (Tableau 16 )

**Tableau 16:** Valeurs du Test FRAP en  $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$  d'échantillon

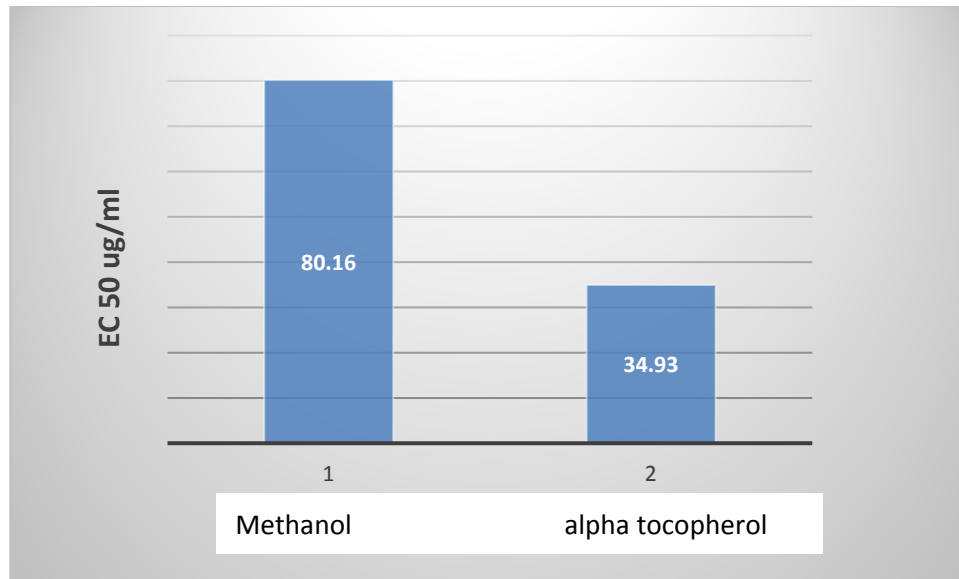
Extracts	% Inhibition in reducing power assay							
	3.125 $\mu\text{g}$	6.25 $\mu\text{g}$	12.5 $\mu\text{g}$	25 $\mu\text{g}$	50 $\mu\text{g}$	100 $\mu\text{g}$	200 $\mu\text{g}$	$A_{0.5}$ $\mu\text{g/mL}$
Extrait methanol	0.11	0.16	0.2	0.26	0.34	0.66	0.81	80,16 9,61
$\alpha$ -Tocopherol	0.11 $\pm$ 0,00	0.16 $\pm$ 0,00	0,21 $\pm$ 0,03	0,35 $\pm$ 0,03	0,73 $\pm$ 0,03	1,37 $\pm$ 0,08	1,81 $\pm$ 0,09	34.93 $\pm$ 2.38

Les résultats obtenus nous ont permis de tracer des courbes de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des d'extrait et de standard ( Figure 31 ) :

**Figure 31:** Courbe d'absorbance en fonction de la concentration pouvoir réducteur.

Les valeurs de l'EC50 de l'extrait ainsi que celle de  $\alpha$ -Tocopherol sont classés sous forme d'histogramme (Figure 32).





**Figure 32:** Valeurs des EC50 exprimés en µg / ml des échantillons étudiés

Le pouvoir réducteurs de méthanolique a été testé, en utilisant un procédé spectrophotométrique où on détermine la teneur en ions ferriques qui ont été réduits par l'échantillon testée. D'après les résultats obtenus, l'extrait présente une diminution proportionnelle de la réduction du fer par rapport aux concentrations utilisées. Nous avons constaté que notre échantillon a été capable de réduire le fer ferrique en fer ferreux avec des valeurs de (EC 50 = 80.16 µg/mL). Notons que cette capacité de réduction reste faible par rapport au standard  $\alpha$ -Tocopherol dont le pouvoir réducteur est de (EC 50 = 34.93 µg/mL).

Par comparaison ( El jemli et al .,2016 ) ont montré que l'extrait des feuilles des *Juniperus phoenicea*.L possède un pouvoir reducteur plus actif par rapport a notre extrait avec (EC 50 = 46.85 ± 0.42 µg/ ml ) .

Les composés phénoliques sont dotés de plusieurs propriétés thérapeutiques, d'ailleurs l'explication de l'efficacité supposée de nombreuses plantes médicinales repose en tout ou partie sur leurs présences dans ces plantes.

Des travaux antérieurs ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Jeong et al ., 2004 ; El-Haci. Et al .,2012 ) Cette dernière est vraisemblablement liée à la richesse des organes de l'arbre en composés phénoliques du fait que certains groupes de recherche ont rapporté une telle corrélation positive entre le contenu phénolique total et l'activité antioxydante (Wong et al.,2006 ; Turkmen et al ., 2007 )

#### V.4 Activité photoprotectrice antisolaire

L'Activité photoprotectrice déterminée par la méthode FPS *in vitro*. La mesure du FPS (Facteur de Protection Solaire) est l'ultime façon de déterminer l'efficacité de la formulation de protection solaire. Plus le FPS est élevé, plus une protection contre les rayons UV est offerte par un écran solaire. Dans notre étude, le FPS de l'extrait méthanolique des feuilles de *Juniperus phoenicea* a été évalué *in vitro* par spectrophotométrie UV en appliquant l'équation mathématique de Mansur et al (1986). Les valeurs de FPS sont :

**Tableau 17** : Valeurs du facteur de protection solaire (FPS) de l'extrait méthanolique:

	Moyenne	SD
Extrait méthanolique	<b>26.13</b>	<b>1.73</b>

**Tableau 18** : Catégories de protection affichées sur les produits solaires en fonction des facteurs de protection mesurés, selon la Recommandation de la Commission Européenne 2006

Catégorie indiquée	Facteur de protection indiqué	Facteur de protection solaire mesuré	Facteur de protection UVA minimal recommandé	Longueur d'onde critique minimale recommandée
« Faible protection »	6	6 - 9,9	1/3 du facteur de protection solaire indiqué sur l'étiquette	370 nm
	10	10 - 14,9		
« Protection moyenne »	15	15 - 19,9		
	20	20 - 24,9		
	25	25 - 29,9		
Haute » « protection »	30	30 - 49,9		
	50	50 - 59,9		
« Très haute protection »	50+	60 ≤		

Les valeurs de FPS montrent clairement que l'extrait méthanolique possède une activité photoprotectrice moyenne de ( 26.13 ± 1.73 )

**Tableau 19** : Pourcentage des rayons UVB bloqués ( ESKENAZI , 2017 )

FPS	POURCENTAGE
2	50% des UVB,
15	93% des UVB,
<b>20</b>	<b>95% des UVB</b>
30	97% des UVB
50	98% des UVB

En comparant la valeur de FPS de l'extrait étudié avec celles indiquées dans le tableau, il est évident que l'extrait aura la propriété de bloquer environ 95% des rayonnements UV.

Cela peut être dû à la présence de flavonoïde. Les flavonoïdes et les composés phénoliques ont été signalés comme des composants fonctionnels dans les plantes et les fruits, qui jouent un rôle important dans le traitement des inflammations et des érythèmes. La propriété antioxydante des flavonoïdes et des composés phénoliques potentialise encore la protection UV en modulant la réponse cellulaire et en piégeant les espèces radicalaires oxygénées. En effet, plusieurs brevets ont revendiqué l'utilisation des flavonoïdes dans des préparations anti-UV (Bonina et al., 1996 ; Zhang et al., 1997 ; Saija et al., 2003 ; Saewam et al., 2013 )

## V.5 Activité Antihyperglycemiante et hypoglycemiante

### V.5.1 Activité Antihyperglycemiante

Le tableau présente les variations de la glycémie des rats suite à l'administration IP du glucose, du glucophage et de l'extrait méthanolique a différentes doses et les Pourcentages de réduction

**Tableau 20:** Evolution de la glycémie chez les rats traités durant 3 heures

Lots		T= 0	30 mins	1 heure	2 heures	3 heures
Témoins	(A)	0.72±0.53	1.13±0.53	1.04±0.42	1.02±0.05	0.99±0.138
	% de réduction	/	/	7.96%	9.73%	12.38%
	(B)	0.81±0.052	1.486±0.081	1.346±0.128	0.856±0.33	0.843±0.14
	% de réduction	/	/	9.42%	42.39%	43.27%
Extrait méthanolique	(C) (250mg/kg)	0.85 ± 0.07	1.34 ± 0.51	1.19 ± 0.21	1.05 ± 0.27	0.76 ± 0.01
	% de réduction	/	/	11.19%	21.64%	43.28%
	(D) (500mg/kg)	0.71 ± 0.09	1.91 ± 0.34	1.77 ± 0.37	1.66 ± 0.34	0.93 ± 0.11
	% de réduction	/	/	7.32%	13.08%	51.30%
	(E) (1000mg/kg)	0.76 ± 0.02	1.81 ± 1.01	1.12 ± 0.02	0.98 ± 0.05	0.83 ± 0.04
	% de réduction	/	/	38.12%	45.85%	56.54%

L'étude du pouvoir hypoglycémiant passe par une induction d'une hyperglycémie chez l'animal. L'hyperglycémie pouvant être induite soit temporairement à partir d'une solution de glucose soit définitivement par contact avec des agents tel que la STZ ou l'alloxane (Hanhineva *et al.*, 2010).

Dans notre travail, il s'agit d'une induction temporaire par une solution de glucose (4g/kg). Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique possède une activité hypoglycémiant comparable à celle de l'hypoglycémiant oral, Le glucophage. En effet, les deux substances ont eu une action hypoglycémiant après la première demi-heure de la prise de la glycémie. De plus, le suivi de l'évolution de cette dernière sur une durée de 3 heures (30, 60, 120, 180

minutes), nous a permis de noter une diminution de la glycémie de ( 43.28 % ; 51.30 % ; 56.54 % ) pour les trois doses testées (250, 500 et 1000 mg/kg) de l'extrait méthanolique respectivement , par rapport à celle observée avec le glucophage (43.27%) et par rapport au 1er lot ( témoin négatif ) qui a présenté une diminution modérée de ( 12.38% )

### V.5.2 Activité Hypoglycémiante

Le tableau présente les variations de la glycémie des rats normo-glycémiques suite à l'administration IP de l'extrait methanolique a différentes doses ( lots testés) et de l'eau physiologique ( lot témoin )

**Tableau 21:** Evolution de la glycémie chez les rats normo-glycémiques durant 3 heures

Lots		T = 0	30 min	1 heure	2 heures	3 heures
Témoin	(A)	0.446 ±0.118	0.646 ±0.118	0.636 ±0.041	0.54 ±0.042	0.526 ±0.105
	% réduction	/	/	1.54%	16.4%	18.57%
Extrait méthanolique	(B) (250mg/kg)	0.66 ± 0.09	1.3 ± 0.12	1.115 ± 0.51	1.005 ± 0.44	0.87 ± 0.18
	% réduction	/	/	14.23%	22.69%	33.07%
	(C) (500mg/kg)	0.61 ± 0.06	1.235 ± 0.12	1.14 ± 0.24	1.13 ±0.35	0.91 ± 0.13
	% réduction	/	/	7.69%	8.50%	26.31%
	(D) (1000mg/kg)	0.66 ± 0.09	1.71 ±0.14	1.42 ± 0.43	1.23 ± 0.6	1.15 ± 0.31
	% réduction	/	/	16.95%	28.07%	32.74%

Les résultats obtenus montrent l'effet hypo-glycémiant sur la glycémie de base des rats normo-glycémiques de l'extrait méthanolique.

Le suivi de l'évolution de la glycémie au cours de 3 heures nous a permis de remarquer une baisse significative de la glycémie (33.07 % ; 26.31 % ; 32.74 % ) chez les lots traités par l'extrait methanolique a des doses de ( 250 ; 500 ; 1000 mg/kg ) respectivement . Par rapport au lot témoin qui montré une réduction modérée de 18.57 % .

Des études antérieures montrent que le *Juniperus phoenicea.L* a des effets hypoglycémiant chez des rats diabétiques. en augmentant la libération d'insuline par les cellules bêta ( Al-Ahdab , 2017 )

(El-Sawi et *al.*,2015) ont indiqué que les extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea.L* par soxhlet ont montré une activité antihyperglycemiante importante a une dose de (100 mg/kg) comme suit : l'extrait de chloroforme était le plus puissant où sa puissance relative était de (70,3% ) suivie de l'extrait d'éther de pétrole (65,0%), puis extrait à l'éthanol (54,6%), tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle a montré la plus faible activité (38,0%), après 8 semaines par rapport à la metformine (100,0% puissance) (150 mg/kg) .

Ce potentiel hypoglycémiant de notre extrait est probablement due aux polyphénols et flavonoïdes largement représentés dans cette plante.

Les polyphénols ont été largement étudié pour leurs activités biologiques multiples, ils ont été suggéré qu'ils réduisent hyperglycémie à jeune et postprandiale par l'inhibition des enzymes digestives ( $\alpha$  amylase et  $\alpha$  glucosidases) (Hanhineva et al., 2010). Ils exercent aussi une activité antidiabétique par stimulation de la captation de glucose, en augmentant l'activité de la glucokinase hépatique, donc augmentation de stockage de glucose sous forme de glycogène et inhibition de la néoglucogenèse. Ils protègent aussi les cellules  $\beta$  pancréatiques de la glucotoxicité et stimulent la sécrétion d'insuline (El-Abhar et al., 2014).

*Conclusion générale*  
*et perspectives*

## VI. Conclusion générale et perspectives

Ce travail nous a permis en premier lieu de maîtriser des techniques analytiques universelles de base tels que l'analyse qualitative et quantitative des métabolites secondaires issus des feuilles de *Juniperus phoenicea.L* ainsi que sa valorisation par l'évaluation de son potentiel antioxydant, photoprotecteur et hypoglycémiant.

Le criblage phytochimique des feuilles de *Juniperus phoenicea.L* a révélé la présence de différentes familles de métabolites secondaires. Il s'agit essentiellement des flavonoïdes, tanins, saponosides, flavonoïdes glycosides, phénols et les sucres réducteurs. Ces constituants sont connus de part leurs diverses propriétés biologiques pouvant ainsi, contribuer à l'utilisation de *Juniperus phoenicea.L* comme remède en médecine traditionnelle.

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes nous a permis d'évaluer la richesse de notre extrait en ces composés: la teneur en polyphénols totaux est de (124.88 µg EAG/mg). Alors que la teneur en flavonoïdes est de (23.47 µg QE/mg).

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des feuilles de notre espèce a été évalué à différentes échèles par le test DPPH, FRAP, ainsi que le test de CUPRAC ce qui nous a permis de confirmer leurs pouvoir scavenger de radicaux libres. Cette activité est liée en grande partie à la composition de l'extrait et sa richesse en composés phénoliques et flavonoïdes.

Afin de valoriser notre plante, nous nous sommes proposées d'en évaluer son potentiel photoprotecteur, pour cela le test au FPS a été utilisé, et les résultats ont montré que l'extrait méthanolique possède une activité photoprotectrice moyenne de (26.13 ± 1.73)

Pour les activités : hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant réalisée *in vivo* sur des rats *Wistar* ont montré que l'extrait administrée par voie intrapéritonéale a différentes doses a un potentiel Hypoglycémiant important.

L'ensemble des résultats obtenus au cours de notre investigation, constitue une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active, il serait intéressant d'étayer ce travail en :

- Testant d'autres méthodes d'extraction et leurs influences sur le rendement et la composition chimique des extraits



- Extrayant différents extraits d'autres parties de la plante et les étudier.
- Doser d'autres paramètres biochimiques plasmatiques : HDL- cholestérol, l'insulinémie, hémoglobine glycosylé, urée, albuminurie, LDH... ;
- Utiliser d'autres espèces animales et modèles expérimentaux,...
- Elargir le nombre des rats expérimentaux et la durée de l'expérimentation.
- Utiliser d'autres modes d'administration.
- Utiliser d'autres méthodes d'analyse chimique de l'extrait (Chromatographie sur colonne, HPLC, CPG, RMN,...)

# *Références Bibliographiques*

## VII. Références Bibliographiques

**Aboul-Ela M., El-Shaer N., El-Azim T.A, 2005**, Chemical constituents and antihepatotoxic effect of the berries of *Juniperus phoenicea* Part II. *Natural Produc. Sciences*, 11(4), 240-247p

**Achak N. et al., 2008**. Essential oil composition of *Juniperus phoenicea* from Morocco and Tunisia. *J. Essent. Oil Bear. Plants*, 11, 137-142.

**Achat S, 2013**. Polyphénols de l'alimentation : Extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métallique. Thèse de docteur en Sciences Alimentaires., Université A. MiraBejaia. P 22

**ADAMS, R.P. (2014a)**.— *Junipers of the World: the genus Juniperus*. Trafford Publishing Co., Bloomington.

**Adams, R.P., Barrero, A.F., Lara, A. (1996)**: Comparisons of the leaf essential oil of *Juniperus phoenicea*, *J. phoenicea* subsp. *eu-mediterranea* Lebr. et Thiv. and *J. phoenicea* var. *turbinata* (Guss) Parl. *J. Essent. Oil Res.* 8: 367-371.

**Afaf Al Groshi, Andrew R. Evans, Fyaz M. D. Ismail, Lutfun Nahar, Satyajit D. Sarker , (2018 )** Cytotoxicity of Libyan *Juniperus phoenicea* against Human Cancer Cell Lines A549, EJ138, Hepg2 and MCF7 . *Pharmaceutical Sciences*, March 2018, 24, 3-7

**Afifi M.S. et al., 1992**. Essential oils of *Thuja occidentalis*, *Thuja orientalis*, *Cupressus sempervirens* and *Juniperus phoenicea* from the Mansoura. *J. Pharm. Sci.*, 8, 37-46.

**Ahsan H., Ali A. and Ali R. (2003)** Oxygen free radicals and systemic autoimmunity. *Clinical and experimental immunology*. 131, 398-404.

**Akerblom HK, Vaarala O, Hyoty H, Ilonen J, Knip M (2002)**: Environmental factors in the etiology of type 1 diabetes. *Am J Med Genet*, 115(1):18-29.

**Aljaiyash AA, Mariam HG, Mojahidul I, Chaouch A (2014)** Antibacterial and cytotoxic activities of some Libyan medicinal plants. *Journal of Natural Product and Plant Resources* 4:43-51.

**Alzand K.I., Aziz D.M., Tailang M, 2014**, Isolation, structural elucidation and biological activity of the flavonoid from the leaves of *Juniperus phoenicea*. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 3(10), 951-965p

**Amalich, S., N. Zekri, N. D. K. Soro, K. Fadili, Y. Khabba, M. Mahjoub, E. L. Akdim and T. ZAÏR .2015.** Chemical characterization and antibacterial evaluation of *Juniperus phoenicea* L. leaves and fruits' essential oils from eastern high Atlas (Morocco). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 13(4): 881-889.

**Amaral Franco J. 1986.** *Juniperus* L. In: *Flora Iberica*. Vol. 1. Castroviejo S., Laínz M., López González G., Monserrat P., Muñoz Garmendia F., Paiva J., Villar L. (eds.). Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid: 181–188.

**Anne-Sophie Bernard , Sylvain Clède , Matthieu émond , Hélène Monin-Soyer . (2012.)** *Techniques Expérimentales en Chimie* , 1ere edition , Éditeur Dunod , . P91

**Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., Karademir, S.E., 2004.** Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J. Agric. Food Chem.* 52, 7970–7981.

**Awraris Derby Assefa· Young-Soo Keum · Ramesh Kumar Saini .2018 .** A comprehensive study of polyphenols contents and antioxidant potential of 39 widely used spices and food condiments. *Journal of Food Measurement and Characterization*

**Azzi, A., Davies, K. J. A., Kelly, F. (2004).** Free radical biology- terminology and critical thinking. *FEBS Letters.* 558: 3 6

**Baril, D. (2007).** Les oncogènes brisent la molécule d ADN : Une découverte de Gerardo Ferbeyre permet de mieux comprendre un mécanisme naturel de protection contre le cancer. *FORUM* : 41(17)

**Barrero Alejandro F, José F Quílez del Moral, M Mar Herrador, Mohamed Akssira, Ahmed Bennamara, Said Akkad, Mohamed Aitigri 2004.** Oxygenated diterpenes and other constituents from Moroccan *Juniperus phoenicea* and *Juniperus thurifera* var. *Africana*. *Phytochemistry*,; 65(17): 2507–2515.

**Beardsall, K., B. M. Diderholm, et al. (2008).** "Insulin and carbohydrate metabolism." *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 22(1): 41-55.

**Bellakhder J. 1997.** *La pharmacopée marocaine traditionnelle*. Éd. Ibis Press, Paris, p 271–272.

**Benariba N ; 2003.** Contribution a l'étude antidiabétique des extraits de graine de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar rendu diabétique par la Streptozotocine. Mémoire de Magistère en Biologie Moléculaire et Cellulaire. Département de biologie, Faculté des sciences, Université de Tlemcen

**Benkhiguel O, Ben Akka F, Salhi S, et al (2014)** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans la région d'Al Haouz-Rhamna (Maroc). *J Anim Plant Sci* 23:3539–68

**Benlamdini N, Elhafian M, Rochdi A, et al (2014)** Étude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale du Haut Atlas oriental (Haute Moulouya) Maroc. *J Appl Biosci* 78:6771–87

**Blois M.S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*. 181: 1199-1200.

**Bonina F , Saija A et al 1996.** Flavonoids as potential protective agents against photo-oxidative skin damage *International Journal of Pharmaceutics*;145:87-94

**Bonnefont-Rousselot D. 2002** - Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Met Care*, 5, 561-68

**Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M. & Chaabouni M.M., 2008.** Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *J. Soc. Chim. Tunis.*, 10, 119-125.

**Buchanan TA, Xiang AH, Page KA. 2012** .Gestational diabetes sucré: risks and management during and after pregnancy. *Nat Rev Endocrinol*.

**C. Sanchez-Moreno, 2002.** Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food. Sci & Technol. Int.*, 8, 121-137.

**Carr AC, Zhu BZ, Frei B (2000).** Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (Vitamin C) and alpha-tocopherol (Vitamin E). *Circ Res*. 7(5): 349-354.

**Cavaleiro C. et al., 2000.** Intraspecific chemical variability of the leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* var. *turbinata* from Portugal. *Biochem. Syst. Ecol.*, 29, 1175-1183.

**Ceretta, L. B., Réus, G. Z., Abelaira, H. M., Ribeiro, K. F., Zappellini, G., Felisbino, F.F., ... & Quevedo, J. (2012).** Increased oxidative stress and imbalance in antioxidant enzymes in the brains of alloxan-induced diabetic rats. *Experimental diabetes research*, 1-8.

**Chen, K. Suh, J. Carr, A.C. Morrow, J.D. Zeind, J. Frei, B. (2000).** Vitamin C suppresses oxidative lipid damage in vivo, even in the presence of iron overload. *American Journal Physiology Endocrinology Metabolism*, Vol 279(6), pp. 1406-1412

**Chevallier A., 1997.** Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse, Paris, 335p.

**COMMISSION DES COMUNAUTES EUROPEENNES.** Recommandation du 22 septembre 2006 relative aux produits de protection solaire et aux allégations des fabricants.

**Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J (2003).** Oxidative DNA damage:mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J.* 17(10): 1195-1214.

**Coppieters KT, Boettler T, von Herrath M.** Virus infections in type 1 diabetes. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012; 2:a007682

**D. Grigonis, P.R. Venskutonis, B. Sivik, M. Sandahl and C.S. Eskilsson, (2005)** Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*), *The Journal of Supercritical Fluids*, 33 (3) 223-233.

**D. Huang, B. Ou, R. L. Prior, 2005.** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric & Food Chem.*, 53, 1841-1856.

**Dane, Y.; Mouhouche, F.; Canela-Garayoa, R.; Delpino-Rius, 2015 .A.** Phytochemical analysis of methanolic extracts of *Artemisia absinthium* L. 1753 (Asteraceae), *Juniperus phoenicea* L. and *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast, 1892 (Cupressaceae) and evaluation of their biological activity for stored grain protection. *Arab. J. Sci. Eng.*.

**Davies MJ (2003).** Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochem Biophys Res Commun.* 305(3): 761-770

**Davis WA, Knuihan MW, Davis TME ,2010.** An Australian cardiovascular risk equation for type 2 diabetes:the Fremantle Diabetes Study. *Intern Med J*; 40: 286–92

**Dawidar A.M., Ezmirly S.T. & Abdel-Mogib M., 1991.** Sesquiterpenes and diterpenes from *Juniperus phoenicea* L. *Pharmazie*, 46, 472-473.

**Dean, R. T., Fu, S., Stocker, R., Davies, M. J. (1997).** Biochemistry and pathology of radical mediated protein oxidation. *Biochem J.* 324(Pt 1): 1-18.

**DEBAZAC, E.F. (1991).**— Manuel des conifères. 2e éd., ENGREF, Nancy.

**Defraigne J.O (2005).** Un mécanisme physiopathologique central à l'origine des complications du diabète. *Rev Med Liege*, 60 (5-6) : 472-478.

**DeFronzo RA, Ferrannini E, Zimmet P, et al. 2015 .**International Textbook of Diabetes Mellitus, 2 Volume Set, 4<sup>th</sup> Edition. Wiley-Blackwell,.

**Delattre J, Bonnefont-Rousselot D, Bordas-Fonfrede M, Jaudon MC.1999 -** Diabète sucré et stress oxydant. *Ann Biol Clin*, 57, 437-44.

**Densiov E T, Afanas'ev I B (2005).** Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology. Eds, Taylor & Francis Group (U.S.A), pp: 703-861.

**Derwich, E., Benziane, Z., Taouil, R., Senhadji, O. and Touzani, M. (2010).** A Comparative Study of The Chemical Composition of The Leaves Volatil Oil of *Juniperus phoenicea* and *Juniperus oxycedrus* . *Middl-East J.Res* . 5(5): 416-424

**Dob Tahar, Dahmane Dahmane, Chelghoum Chaabane 2008.** Chemical Composition of the Essential Oil of *Juniperus phoenicea* L. from Algeria, *The Journal of essential oil research*,; 20(1): 15–20.

**Dohou, N., Yamni, K., Gmira, N., Idrissi Hassani, L.M.(2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine *Thymelaealythroïdes*, *Bull. Soc. Bordeaux*. p142, 61-78

**Duke J.A., 1998.** Phytochemical database. Beltsville, MD, USA: Beltsville Agricultural Research Center.

**Dutra E.A, Oliveira D.A.G.C., Kedor-Hackmann E.R.M., Santoro M.I.R.M. (2004)** Determination of Sun protection Factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry. *Bra.J.Pharm.Sci.* 40,31

**Edeas, M. (2006).** Les antioxydants. PepsiCo France 1 place de la Boule 92024 Nanterre cedex.

**Edwin J, Balakrishnan S.J and Chandra J.D; 2008.** Diabetes and Herbal Medicines. *Iranian journal of pharmacology & therapeutics* 97-106.

**El- Sawi, S.A. et Motawe, H.M. (2008)** .Labdane, Pimarane And Abietane Diterpenes From The Fruits Of Juniperus Phoenicea L. Grown In Egypt And Their Activities Against Human liver Carcinoma. Canadian Journal Of Pure And Applied Sciences .2(1) :115-122,

**El-Abhar, H. S., & Schaalán, M. F. (2014)**. Phytotherapy in diabetes: review on potential mechanistic perspectives. World J Diabetes, 5(2), 176-197.

**El-Haci IA, Atik-Bekkara F, Didi A, et al (2012)** Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. Phytothérapie 10:280–5

**El-Sawi S.A., Motawae H.M. & Ali A.M., 2007**. Chemical composition, cytotoxic activity and antimicrobial activity of essential oils of leaves and berries of Juniperus phoenicea L. grown in Egypt. Afr. J. Tradit. Complementary Altern. Med., 4(4), 417-426.

**El-Sawi S.A., Motawae H.M., Sleem M.A.-F., El-Shabrawy A.-R.O., Sleem A., Ismail M A.-N, 2014**, Phytochemical screening, investigation of carbohydrate contents, and antiviral activity of Juniperus phoenicea L. growing in Egypt. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 20(1), 83-91p

**Jacques Young, 2016**, ENDOCRINOLOGIE, DIABÉTOLOGIE ET MALADIES MÉTABOLIQUES , Réussir les ECNi , 3ème édition , Elsevier Masson, Collège des enseignants d'endocrinologie, diabète et maladies métaboliques , 2016 . P338-339

**ESKENAZI Marine, 2017** . Les produits de protection solaire de nouvelle génération . (Thèse, Université de Marseille, 2017). 76-77.

**F. Marc, A. Davin, L. Deglène-Benbrahim, C. Ferrand, 2004**. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. Erudit, M/S, Med. Sci., 20, 458-463.

**Fadel H., Benayache F., Benayache S, 2016**, Antioxidant properties of four Algerian medicinal and aromatic plants Juniperus oxycedrus L., Juniperus phoenicea L., Marrubium vulgare L. and Cedrus atlantica (Manetti ex Endl). Der Pharmacia Lettre, 8(3), 72-79p

**FARJON, A. & FILER, D. (2013)**.— An atlas of the world's conifers: An analysis of their distribution, biogeography, diversity and conservation status. Brill, Boston & Leiden.

**FARJON, A. (2001)**.— World checklist and bibliography of conifers. 2nd ed. Royal Botanic Gardens, Kew.



**Favier. Alain, (2003)** Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique ; mécanisme biochimique p 109-113

**FID (Fédération Internationale du Diabète), 2017.** Atlas du diabète de la FID. Huitième édition : 5-153.

**Fouad Menaceur , Ahmed Benchabane , Mohamed Hazzit & Aoumeur Baaliouamer (2013):** Chemical Composition and Antioxidant Activity of Algerian *Juniperus phoenicea* L. Extracts, *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 3:1, 87-96

**França, M. B., Panek, A. D., Eleutherio, E. C. A. (2007).** Oxidative stress and its effects during dehydration. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. 146: 621-631

**Frankel E N. Water house A L, Teissedre P L, 1995.** *Agric. Food. Chem.*, 43,221-235p.

**Garait B. (2006).** Le stress oxydant induit par voie métabolique ( régimes alimentaires ) ou par voie gazeuse ( hyperoxie ) et effet de la Glisodin .Thèse de doctorat . Université –Joseph Fourier –Grenoble1

**Giasson, B. I., Duda, J. E., Murry, I. V. J. (2000).** Oxidative damage linked to neurodegeneration by selective alpha-synuclein nitration in synucleinopathy lesions. *Science*. 290: 985–989.

**Greuter W., Burdet H.M., Long G. 1984.** Med-Checklist. Conservatoire et Jardin Botaniques de la Ville de Genève et Med-Checklist Trust of OPTIMA. Genève, Vol. 1, 330 pp.

**Hadduchi.F ; Chaouche.TM ; Ksouri.R , 2014.** Phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of aqueous-extracts of *Helichrysumstoechas subsp. rupestre* and *Phagnalonsaxatile subsp. saxatile*. *Chin J Nat Med* 12:415–22.

**Hagar H.H.J., 1979.** Hagers Handbuch des pharmazeutischen Praxis. Berlin, Deutschland: Springer -Verlag.

**Hajjar D, Kremb S, Sioud S, Emwas A-H, Voolstra CR, Ravasi T (2017)** Anti-cancer agents in Saudi Arabian herbals revealed by automated highcontent imaging. *PLoS ONE* 12(6): e0177316.

**Halliwell B, Gutteridge JMC (1990)** The antioxidants of human extracellular fluids. Arch Biochem Biophys 280: 1–8

**Halliwell B. (1999).**Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning)Free Radic Res ; 31: 261-72.

**Halliwell B. and Gutteridge J.M.C. (1999)** Free Radicals in Biology and Medicine. In “Free radicals in biology and medicine”. 3 rd Ed. Oxford. University Press. pp: 1-543.

**Halliwell, B., Aruoma, O.I. (1993).** DNA damage by oxygen-derived species: its mechanism and measurement using chromatographic methods. In Molecular Biology of Free Radicals Scavenger System. (JG Scandalios, ed). Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York. 47-67.

**HALUK, J.P. & ROUSSEL, C. (2000).**— Caractérisation et origine des tropolones responsables de la durabilité naturelle des Cupressacées. Application potentielle en préservation du bois. Ann. For. Sci., 57: 819-829.

**Hamad MAH & Aisha MRA .2017.** Separation and Identification the Speciation of the Phenolic Compounds in Fruits and Leaves of Some Medicinal Plants (Juniperus phoenicea and Quercus coccifera) Growing at Al –Gabal Al –Akhder Region (LIBYA). Indian J of Pharmaceutical Education and Research.;51(3)Suppl:S299-303.

**Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., & Poutanen, K. (2010).** Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. International journal of molecular sciences, 11(4), 1365-1402.

**Harfouche A., Nedjahi A., Ellatifi M. et Daly-Hassen H., 2005.** Les Ressources Génétiques Forestières Nord-Africaines et Leur Conservation. Revue Forestière Française (1), pp.15-32.

**Harrison D., Griendling K.K., Landmesser U., Hornig B. and Drexler H. (2003)** Role of oxidative stress in atherosclerosis. The American Journal of Cardiology. 91, 7-11.

**Henda Keskes, Kais Mnafigui, Khaled Hamden, Mohamed Damak, Abdelfattah El Feki, Nouredine Allouche,2014 .** In vitro anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant proprieties of Juniperus phoenicea L. leaves from Tunisia . Asian Pac J Trop Biomed 2014; 4(Suppl 2): S649-S655

**Henda Keskes, Sahla Belhadj, Lobna Jlail, Abdelfattah El Feki, Mohamed Damak, Sami Sayadi & Noureddine Allouche (2016):** LC-MS–MS and GC-MS analyses of biologically active extracts and fractions from Tunisian *Juniperus phoenice* leaves, *Pharmaceutical Biology*.

**Hwang, E. S., Kim, G.H. (2007).** Biomarkers for oxidative stress status of DNA, lipids, and proteins in vitro and in vivo cancer research. *Toxicology*. 229: 1–10.

**Hypponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR ,2001,** Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet*; 358:1500-3.

**Iqbal Hussain ; Moneeb.Ur RehmanKhattak; Riazullah; Zia Muhammad; Naeem Khan; Farhat Ali Khan; ZahoorUllah and SajjadHaider, 2011 :** Phytochemicals screening and antimicrobial activities of selected medicinal plants of *Khyberpakhtunkhwa* Pakistan *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* Vol. 5(6), pp. 746-750.

**J. Jalas, J. Suominen, Atlas Florae Europaeae , 1973:** distribution of vascular plants in Europe Vol. 2 Gymnospermae (Pinaceae to Ephedraceae) (Committee for Mapping the Flora of Europe and Societas Biologica Fennica Vanamo, Helsinki,).

**Januel, C. (2003).** Stress Oxydant Au Niveau Des Plaquettes Sanguines Humaines Dans Le Contexte Du Diabete : Etude Du Glutathion Et De La Glutathion Péroxydase 4. Thèse Doctorale : Biochimie. Ecole Doctorale Interdisciplinaire Science-Santé. Université Lyon I/ INSA-Lyon. N° : 03-ISAL-0024. 41–50

**Jenner, P., Olanow, C. W. (1996).** Oxidative stress and the pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurology*. 47: 161–170.

**Jeong SM, Kim SY, Kim DR (2004)** Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *J Agric Food Chem* 52:3389–93

**Karagözler A., Erdag B., Calmaz Emek Y, 2008,** Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*. *Food Chemistry*, 111(2), 400-407p

**Kehrer, J. P., and Lund, L. G. (1994).** Cellular reducing equivalents and oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 17, 65-75

**Khalil, A. (2002).** Molecular mechanisms of the protective effect of vitamin E against atherosclerosis. *Can J Physiol Pharmacol*. 80(7): 662 – 669.

**Knip M, Simell O .2012.** Environmental triggers of type 1 diabetes. Cold Spring Harb Perspect Med; 2:a007690.

**Knip M, Veijola R, Virtanen SM, Hyoty H, Vaarala O, Akerblom HK. 2005** .Environmental triggers and determinants of type 1 diabetes. Diabetes;54 Suppl 2:S125-36.

**Koechlin-Ramonatxo C. (2006)** Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. Nutrition Clinique et Métabolique. 20, 165- 177

**Koffi.N; Beugré.K ; Guédé.N.Z ; Dossahoua.T ; Laurent.A , 2009.**Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Kroubo (Agboville, Côte-d'Ivoire), Sciences & Nature Vol.6 N°1:1 – 15

**Krippeit-Drews P, Lang F, Haussinger D, Drews G. 1994-** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced hyperpolarization of pancreatic B- cells. Pflugers Arch, 426, 552-554.

**Kukko M, Kimpimaki T, Kupila A, Korhonen S, Kulmala P, Savola K, Simell T, Keskinen P, Ilonen J, Simell O, Knip M. 2003** ,Signs of beta-cell autoimmunity and hla-defined diabetes susceptibility in the finnish population: The sib cohort from the type 1 diabetes prediction and prevention study. Diabetologia;46:65-70.

**Lahsissene H, Kahouadji A, Tijane M, et al (2009)** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental). Rev Botan 186:1–26

**Lamba S.S., Buch K.Y., Lewis H., Lamba H.J., 2000.** Phytochemicals as potential hypoglycemic agents. Studies in Natural Products Chemistry, 21: 457-496

**Le Floch E., 1983.** Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Radès ville, Tunisie : Imprimerie officielle de la République tunisienne.

**Lebreton P., Rivera D. 1989.** Analyse du taxon *Juniperus phoenicea* L. sur des bases biochimiques et biométriques. Naturalia Monspeliensia. Série botanique 53: 17–41.

**Lehucher-Michel M.P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P. and Prost M. (2001)** Stress oxydant et pathologies humaines. La Presse médicale. 30, 1076-1081.

**Lesgards, J. F., Prost, M., Lehucher-Michel, M. P. (2002).** Le stress oxydatif et ses implications Myalgies international supplément scientifique (Marseille, France). Vol 2 (3) : 1631–1641.

**M. Mazur, et al., (2010).**Dendrobiology 63, 21

**M.D. Luque de Castro and L.E. Garcia-Ayuso, (1998).** Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future, *Analytica Chimica Acta* 369 1- 10.

**Maatooq, G.T., El-Sharkawy, S.H., Afifi, M.S., Risazza, J.Pn. (1998).** Flavonoid From Cupressaceae Plants. *Natural Product Sciences*. 4(2) : 9-14

**MADAMANCHI N.R., VENDROV A., AND RUNGE M.S., 2005-** Oxidative Stress and Vascular Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Vol. 25:29-38

**Maha Ahmed Al-Ahdab (2017).** Hypoglycemic Effect of Alcoholic Extracts of *Phyllanthus virgatus* and *Juniperus Phoenicea* L, on Streptozotocin-Induced Diabetic in Male Rats . *Life Science Journal* 2017;14(9).

**MAIRE, R. (1952).**— Flore de l’Afrique du Nord. *Encyclopédie biologique*. Volume 1. Éd. Paul Le Chevalier, Paris.

**Makhloufi A., Bouyahyaoui A., Seddiki N., Benlarbi L., Mebarki L., Boulanouar A, 2014,** Phytochemical screening and anti-listerial activity of essential oil and crude extracts from some medicinal plants growing wild in Bechar (south west of Algeria). *International Journal of Phytotherapy*, 4(2), 95-100p

**MANSUR, J. S.; BREDER, M. N. R.; MANSUR, M. C. A.; AZULAY, R. D. 1986 .** Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An. Bras. Dermatol.*, Rio de Janeiro, v. 61, p. 121-124,.

**MAO, K., HAO G., LIU, J., ADAMS, R.P. & MILNE, R.I. (2010).**— Diversification and biogeography of *Juniperus* (Cupressaceae): variable diversification rates and multiple intercontinental dispersals. *New Phytol.*, 188: 254-272.

**Marles R.J., Farnsworth N.R., 1995.** Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*, 2: 13-189.

**Mazari K., Bendimerad N., Bekhechi C., Fernandez X,( 2010)**, Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L.. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(10), 959-964p

**Médart, J. (2009)**. Manuel pratique de nutrition: l'alimentation préventive et curative. 2<sup>ème</sup> édition. Edition de Boeck Université, p 51 , 52.

**Medini H. et al., 2006**. Composition and variability of the essential oils of the leaves from *Juniperus phoenicea* L. from Tunisia. In : Acte du séminaire international « Les plantes à parfum, aromatiques et médicinales », SIPAM, Tunisie.

**Medini H., Elaissi A., Khouja M.L., Chemli R, 2013**, Phytochemical screening and antioxidant activity of *Juniperus phoenicea* ssp. *phoenicea* L. extracts from two Tunisian locations. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 1(2), 77-82p

**Meryem El Jemli, Rabie Kamal, IliasMarmouzi, Asmae Zerrouki, Yahia Cherrah, Katim Alaoui , 2016** , Radical-Scavenging Activity and Ferric Reducing Ability of *Juniperus thurifera* (L.), *J. oxycedrus* (L.), *J. phoenicea* (L.) and *Tetraclinis articulata* (L.) . *Advances in Pharmacological Sciences*

**Mishra A.K, Mishra A., (2001)** .Chattopadhyay P.Evaluation of Sun protection Factor of Some marketed Formulations of Sunscreens by Ultraviolet Spectroscopic Method. *J. Current. Pharma.Res.* 5(1),32-35.

**Molyneux P., 2004**. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH<sup>o</sup>) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn ; Journal of Sciences and Technologies*, 26 (2): 211-219

**More B.H.,Sakharwade S.N., Tembhurne S.V., Sakarkar D.M. (2013)**.Evaluation of sunscreen activity pf cream containing leaves extract of *Buteamonosperma* for Topical application. *International Journal of research in Cosmetic Science.*3 (1), 1-6 .

**Meryem El Jemli, Rabie Kamal, IliasMarmouzi,Asmae Zerrouki,Yahia Cherrah, and Katim Alaoui, 2016**. Radical-Scavenging Activity and Ferric Reducing Ability of *Juniperus thurifera* (L.), *J. oxycedrus* (L.), *J. phoenicea* (L.) and *Tetraclinis articulata* (L.) . *Advances in Pharmacological Sciences*.

**Mukherjee P.K., Maiti K., Mukherjee k., Houghton P.J., 2006.** Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials. *J. of Ethnopharmacol*, 106: 1-28

**Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., V. Böhm V. 2010.** Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 43: 992–999.

**Naik RG, Palmer JP. 2003 .** Latent autoimmune diabetes in adults (LADA). *Rev Endocr Metab Disord*; 4:233-41.

**Najjaa.N; Zouari.S; Arnault.I; Auger.J ; Emna.A ; Neffati.M, 2011.** Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium* *Alliumroseum* L. et *Allium ampeloprasum* L, *Acta Bot. Gallica*, 158(1), 111-123.

**Nasri N, Tlili N, Elfalleh W, Cherif E, Ferchichi A, Khaldi A, Triki S (2011).** Chemical compounds from *Phoenicia Juniper* berries (*Juniperus Phoenicea*). *Nat. Prod. Res.* 25(18):1733-42

**Nedjimi B., Beladel B., Guit B, 2015,** Multi-element determination in medicinal juniper tree (*Juniperus phoenicea*) by instrumental neutron activation analysis. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 8, 243-246p

**Nerup, J., Platz, P., Andersen, O.O., Christy, M., E, J.L. ø, Poulsen, J.E., Ryder, L.P., Thomsen, M., Nielsen, L.S., and Svejgaard, A. (1974).** HL-A ANTIGENS AND DIABETES MELLITUS. *The Lancet* 304, 864–866.

**Nostro, A., Germano, M .P., D’Angelo,V., Marino, A., & Cannatelli, M. A. (2000).** Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity, 30 (5), 79 – 384

**OruamboI.F; Onuba.E.O; Anyim.S.D, 2010.**Glucose tolerance test in hyperglycemic Guinea pigs treated with aqueous *Vernonia Amygdalina*. *Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences* 18:1, 21-26, 2010

**Osman Emre ÖZKAN , Gökhan ZENGİN, Mehmet AKÇA, Mehmet Cengiz BALOĞLUç†, et al 2013 .** DNA Protection, Antioxidant, Antibacterial and Enzyme Inhibition Activities of Heartwood and Sapwood Extracts from Juniper and Olive Woods . *The Royal Society of Chemistry* 20xx. 2013, 00, 1-3

**Ouelbani R., Bensari S., Mouas T.N., Douadi K., 2016.** Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria). *Journal of Ethnopharmacology*. 194; 196-218.

**Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307–315.

**Özyürek Mustafa, Kubilay Güçlü, Tütem Esmâ, Kevser Sözgen Başkan, Erol Erçag, S.Esin Çelik, Baki Safa, Yıldız Leyla, Karaman Seyda, Apak Resat. (2011).** A comprehensive review of CUPRAC methodology, *CRITICAL REVIEW*, 3, 2439.

**P. Quezel et M. Gast,** « Genévrier », in Gabriel Camps (dir.), 20 | *Gauda – Girrei*, Aix-en-Provence, Edisud (« Volumes », no 20) , 1998 [En ligne], mis en ligne le 01 juin 2011, consulté le 02 février 2018. URL : <http://encyclopedieberbere.revues.org/1863>

**Patterson CC, Dahlquist GG, Gyurus E, Green A, Soltesz G. 2009** .Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. *Lancet*; 373:2027-33.

**Patterson CC, Dahlquist GG, Gyurus E, Green A, Soltesz G.** Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a  
Pierangeli G., Vital G. et Windell Rivera L. J., 2009. *Medic. Plants Res.* 3 (7)511

**Pincemail, J., Lecomte, J., Collart, E., Castiaux, J.P. and Defraigne, J.O. (2003).** Stress oxydant, antioxydants et exercice physique. *MEDECINE INTERNE. Vaisseaux, Coeur, Poumons* . 8. 1-3.

**Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., Defraigne, J. O. (1999).** Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*. 4 (4) : 6–11.  
Polunin et Huxley, 1967. *Fleurs du bassin Méditerranéen*. Ed Fernand Nathan, Paris.  
prevention study. *Diabetologia* 2003;46:65-70.

**Qnais E.Y., Abdulla YY. & Abu Ghlyun P., 2005.** Antidiarrheal effect of *Juniperus phoenicea* L. leaves extract in rats. *J. Biol. Sci.*, 8(6), 867-871.

**QUÉZEL, P. & MÉDAIL, F. (2003).**— Écologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen. Editions scientifiques et médicales, Elsevier SAS.



**QUÉZEL, P. & SANTA, S. (1962).**— Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. Éd. CNRS, Paris.

**R. P. Adams, et al., (2013).** Phytologia 95, 202

**Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. (1999).**

Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine. 26 (9/10): 1231-1237.

**Reichheld, J. P., Meyer, E., Khafif, M., Bonnard, G., Meyer, Y. (2005).** AtNTRB is the major mitochondrial thioredoxin reductase in Arabidopsisthaliana. FEBS Lett. 579(2): 337-342.

**Renuka B. Rajurkar,Z.H.Govind,T.G.2003.** Studies on levels of glutathione S-transferase, its isolation and purification from Helicoverpa armigera. Current Science.Vol. 85: 1355-1360.

**Rezzi S. et al., 2001.** Intraspecific chemical variability of the leaf essential oil of Juniperus phoenicea subsp. turbinata from Corsica. Biochem. Syst. Ecol., 29, 179-188

**S. Amalich, K. Fadili, M. Fahim, F. EL Hilali1, T. Zaïr . 2016 ,** Polyphenols content and antioxidant power of fruits and leaves of Juniperus phoenicea L. From Tounfite (Morocco). Mor. J. Chem. 4 N°1 (2016) 177-186

**S El-Sawi Hemaia ,M Motawae , A El-Shabrawy , M Sleem, A Sleem , M Maamoun ( 2015 )** Antihyperglycemic effect of Juniperus phoenicea L. on alloxan-induced diabetic rats and diterpenoids isolated from the fruits . Journal of Coastal Life Medicine 2015; 3(11): 906-909

**Saija A, Tomaino A, Trombetta D, Luisa Pellegrino M, Tita B, Messina C, Bonina FP, Rocco C, Nicolosi G, Castelli F. 2003 .**'In vitro' antioxidant and photoprotective properties and interaction with model membranes of three new quercetin esters. Eur. J. Pharm. Biopharm.;56:167-174

**Salhi S., Fadli M., 2006 -** Plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc)Lazaroa 31:131-146

**Saltiel, A. R. (1996).** "Diverse signaling pathways in the cellular actions of insulin." Am J Physiol 270(3 Pt 1): E375-385

- Sanjay M.J., 2002.** Herbal Drugs as Antidiabetics: An overview. CRIPS, 13: 9 -13
- Sayre R.M., Agin P.P., Levee G.J., Marlowe E. A. (1979).** Comparison of in vivo and in vitro testing of sun screening formulas. Photochemistry and Photobiology; 29(3): 559-566 .
- Schauenberg P., Paris F., 2006.** Guide des plantes médicinales. Ed.Dalachaux et Nieslé .Paris. 330 p
- Schrader, M., Fahimi, H. D. (2006).** Peroxisomes and oxidative stress. Biochimica et Biophysica Acta. 1763: 1755 1766
- SCHULZ, C., KNOPF, P. & STÜTZEL, T. (2005).**— Identification key to the Cypress family (Cupressaceae). Feddes Repert., 116: 96-146.
- Serrano, F., Klann, E. (2004).** Reactive oxygen species and synaptic plasticity in the aging hippocampus. Ageing Research Reviews. 3: 431 443.
- Shah AD, Langenberg C, Rapsomaniki E, et al. 2015 .**Type 2 diabetes and incidence of a wide range of cardiovascular diseases: a cohort study in 1.9 million people. The Lancet; 385, S86;
- Singleton V.L and Rossi J.A.J. 1965.**Colorimetry of total phenolics withphosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents.Amer. J. Enol. Viticult. 16:144-58.
- Soares, A. F. (2005).** Effets Du Stress Oxydant Sur Le Fonctionnement Des Adipocytes : Adiponectine et Prostaglandines. Thèse Doctorale : Biochimie. Ecole Doctorale Interdisciplinaire Science-Santé. N° : 2005-ISAL- 00123 : 35 43.
- Soumyanath A., 2006.** Traditional Herbal Medicines for Modern Times: Antidiabetic plants. CRC Press (Taylor Francis Group), 6: 19-82.
- Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., and Ulubelen A. 2007.** A new flavone from antioxidant extracts of Pistacia terebinthus. Food Chemistry 103: 816–822
- Turkmen N, Velioglu YS, Sari F, et al (2007)** Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. Molecules 12:484–96
- Uphof J.C.T., 1968.** Dictionary of economic plants. Frankfurt am Main, Germany: Verlag von Cramer.

**Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullou, M. (2006).** Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 64: 178-189.

**Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological function and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39, 44 – 84.

**Weir, G.C., and S. Bonner-Weir. 2004.** Five stages of evolving beta-cell dysfunction during progression to diabetes. *Diabetes*. 53 Suppl 3:S16-21.

**Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. 2004 .**Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*; 27:1047-53.

**Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. 2004 .**Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*; 27:1047-53.

**Wong CC, Li HB, Cheng KW, et al (2006)** Systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem* 97:705–11

**Y. Soltani · M. Ali-Bouzi · F. Toumi · A. Benyamina . 2017 .** Activités antioxydantes des extraits de trois organes de *Juniperus phoenicea* L. de l'Ouest algérien . *Phytothérapie*. Lavoisier SAS 2017

**Yves-Alain.B; Janat.A; Mamyrbekova.B; Boua.B; Fézan.H.Trabi; Ehouan, E, 2007.** Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. and Zarucchi (*Caesalpinaceae*), *Sciences & Nature* Vol. 4 N°2 : 217 – 225.

**Zafrilla, P., Mulero, J., Xandri, J. M., Santo, E., Caravaca, G., Morillas, J. M. (2007).** Stress Oxydatif Dans Différents Stades De La Maladie D'Alzheimer. *Maladie D'Alzheimer Et Déclin Cognitif*: 12 (14): 131-137.

**Zhang K, Yang E-B, Tang W-Y, Wong KP, Mack P. 1997 .**Inhibition of glutathione reductase by plant polyphenols. *Biochem. Pharmacol.*;54:1047-1053

**Zhihua, J. Elias, S.J.A. Ying, M. Linda, J. Jinming, S. Siqui, Z. Shujun, L. Ruiying, W. Tianzhu, Z. Ganglin, Y. Junqiu, L. Jiacong, S. Guimin, L. 2004.** Expression of

selenocysteine-containing glutathione S-transferase in Escherichia coli. Biochem and Bioph Res Commun. Vol 321:94–101

**KANOUN K., 2011.** Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de Myrtus communis L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de Magister en Biologie. universite aboubekr belkaid tlemcen. p 30-48.

**Zipitis CS, Akobeng AK. 2008 .**Vitamin D supplementation in early childhood and risk of type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. Arch Dis Child; 93:512-7.

**Zweier J.L. and Hassan Talukder M.A. (2006)** The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. Cardiovas. Res. 70(2), 181-190

## VIII. Résumé

Ce travail est consacré à l'étude phytochimique et l'évaluation de quelques activités biologiques *in-vitro* et *in-vivo* de l'extrait méthanolique obtenu par soxhlet des feuilles de la plante *Juniperus phoenicea*.L de la famille des Cupressacées .

Les testes phytochimiques de l'extrait méthanolique nous a permis de révéler la présence des: tanins, phénols , alcaloïdes, et des sucres réducteurs .

Le dosage des composés phénoliques a montré que l'extrait est riche en phénols totaux avec une teneur de 124.88  $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait., tandis que la quantité des flavonoides est estimée à 23.47  $\mu\text{g}$  EQ/mg .

Trois méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante de *Juniperus phoenicea*.L. Cette dernière a montré une bonne activité avec la méthode de DPPH . Et des activités modérées avec les tests de Cuprac et FRAP .

Due au potentiel antioxydant de l'extrait nous nous sommes proposées d'en évaluer l'activité Photoprotectrice *in vitro* , pour cela le test au FPS (le facteur de protection solaire ) a été utilisé, les résultats montrent que l'extrait méthanolique possède un potentiel photoprotecteur moyen.

L'influence de l'extrait méthanolique sur l'évolution de la glycémie a été testé chez des rats *Wistar* par provocation d'une hyperglycémie temporaire ( activité antihyperglycemante ) et des rats normo-glycémique ( activité hypoglycemiante) . Les résultats montrent que l'extrait méthanolique des feuilles de *Junipers phonicea*.L possède un bon potentiel hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant.

Mots clés :

*Juniperus phoenicea*.L ; Activité Antioxydante ; Activité Photoprotectrice , Anti – hyperglycémie , hypoglycémie.

## المخلص

هذا العمل مخصص لدراسة التركيب الكيميائي النباتي وتقييم بعض الأنشطة البيولوجية والمجراة على مستخلص الميثانول المتحصل عليه بواسطة طريقة Soxhlet لأوراق العرعر الفينيقي *Juniperus phoenicea.L* المنتمي لعائلة السرويات. كشف التحليل الكيميائي النباتي عن وجود مركبات كيميائية مختلفة مثل : العفص، الفينولات، قلويدات والسكريات المختزلة. أظهر التقدير الكمي الاجمالي المركبات الفينولية و الفلافونويد أن المستخلص غني بهذه المركبات .

تم استخدام ثلاث طرق لتقييم نشاط مضادات الأكسدة ل *Juniperus phoenicea.L* أظهر هذا الأخير نشاط جيد مع طريقة DPPH وأنشطة معتدلة مع اختبارات Cuprac و FRAP .

نظرا لإمكانات المستخلص المضادة للأكسدة . اقترحنا تقييم مدى فعاليته في الوقاية من أشعة الضوء ، لهذا قمنا بإجراء التجربة بواسطة اختبار SPF (عامل الحماية من الشمس) وأظهرت النتائج أن مستخلص الميثانول لديه قدرة حماية متوسطة.

تم اختبار تأثير مستخلص الميثانول على التغييرات في نسبة السكر في الدم في فئران من نوع *Wistar* بإثارة فرط مؤقت في نسبة السكر في الدم نسبة و عند فئران في حالة معتدلة . أظهرت النتائج أن المستخلص الميثانولي من أوراق *Junipers phonicea.L* لديه قدرة جيدة على خفض سكر الدم ومكافحة فرط سكر الدم.

كلمات مفتاحية :

*Juniperus phoenicea.L*؛ نشاط مضاد للأكسدة. نشاط مقاوم للحساسية , مكافحة ارتفاع السكر في الدم ونقص السكر في الدم.

## ***Abstract***

This work is devoted to the phytochemical study and the evaluation of some *in-vitro* and *in-vivo* biological activities of the methanolic extract obtained by soxhlet of the leaves of the *Juniperus phoenicea.L* plant of the *Cupressaceae* family.

The phytochemical tests of the methanolic extract allowed us to reveal the presence of: tannins, phenols, alkaloids, and sugar reducing compounds.

The determination of the phenolic compounds showed that the extract is rich in total phenols with a content of 124.88 µg EAG / mg of extract., While the amount of flavonoids is estimated at 23.47 µg EQ / mg.

Three methods were used to evaluate the antioxidant activity of *Juniperus phoenicea.L*. The latter showed good activity with the DPPH method. And a moderate activities with Cupric and FRAP tests.

Due to the antioxidant potential of the extract we proposed to evaluate the *in vitro* Photoprotective activity, for this the FPS test (the sun protection factor) was used, the results show that the methanolic extract has a medium photoprotective potential.

The influence of the methanolic extract on the evolution of glycemia was tested in Wistar rats by provoking a temporary hyperglycemia (antihyperglycemic activity) and normoglycemic rats (hypoglycemic activity). The results show that the methanolic extract of the leaves of *Juniperus phoenicea.L* has a good hypoglycemic and anti-hyperglycemic potential.

Keywords :

*Juniperus phoenicea.L*; Antioxidant activity; Photoprotective activity , Anti-hyperglycemia and hypoglycemia.

# *Annexes*



## IX. Annexes

### Annexe 1

Equipement et appareils	Verreries et petit matériel	Réactifs et produits chimiques
<ul style="list-style-type: none"><li>- <b>Agitateur</b></li><li>- <b>Bain marie</b></li><li>- <b>Balance de précision</b></li><li>- <b>Etuve</b></li><li>- <b>Un lecteur microplaque (Perkin Elmer, Enspire)</b></li><li>- <b>Réfrigérateur</b></li><li>- <b>Centrifugeuse</b></li><li>- <b>Glucomètre</b></li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Tube à essai</li><li>- Béchers</li><li>- Erlenmeyers</li><li>- Papier aluminium</li><li>- Des embouts</li><li>- Micro pipette</li><li>- Pipettes graduées</li><li>- Cuves</li><li>- Spatule</li><li>- Cages</li><li>- Gants</li><li>- Balance</li><li>- Seringue à injection d'insuline</li><li>- Seringue de 10ml</li><li>- Bandelettes réactives</li><li>- Des eppendorfs</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- HCl 50 %.</li><li>- réactif de Mayer</li><li>- Méthanol à 80%</li><li>- FeCl<sub>3</sub> à 1 %</li><li>- NaOH 1/10</li><li>- alcool iso amylique</li><li>- magnésium</li><li>- réactif de Fehling</li><li>- l'éthanol à 96%.</li><li>- KOH à 1%</li><li>- Acide sulfurique</li><li>- Acide Gallique</li><li>- Carbonate de sodium</li><li>- Folin-Ciocalteu</li><li>- 10% nitrate d'aluminium</li><li>- Potassium acétate</li><li>- Quercetine<ul style="list-style-type: none"><li>- DPPH</li><li>- BHT</li><li>- α-tocopherol</li><li>- BHA</li><li>- K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub></li><li>- FeCl<sub>2</sub></li><li>- ferrozine</li><li>- Eau physiologique</li><li>- Eau distillée</li></ul></li><li>- Glucophage (Metformine )</li></ul>

#### • Préparation de réactif Mayer :

(10 g de KI +2.70 g de Hgcl<sub>2</sub> +20 ml de l'eau distillé)

KI :iodure de potassium.

Hgcl<sub>2</sub> :chlorure de mercure

• **Préparation de NaOH :**

1N  $\longrightarrow$  40 g  $\longrightarrow$  1000 ml (eau distillée) .

1N  $\longrightarrow$  2 g  $\longrightarrow$  50 ml .

0.1 N  $\longrightarrow$  0.2 g  $\longrightarrow$  50 ml .

• **Préparation de Feheling :**

**Solution A :**

-Dans un erlenmeyer de 250 ml :

Dissoudre 7 g de sulfate de cuivre penta hydraté dans 100 ml de l'eau distillé .

**Solution B :**

-Dans un erlenmeyer de 250 ml :

Dissoudre 34.6 g de tartrate double de sodium et de potassium et 10 g d'hydroxyde de sodium dans 100 ml de l'eau.

• **Préparation de tampon phosphate :**

**Solution1 :**

7.1g( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )  $\longrightarrow$  250ml (eau distillé).

**Solution2 :**

7.8 g( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )  $\longrightarrow$  250ml (eau distillé).

0.2M, pH6.6 37.  $\longrightarrow$  5ml (solution1) + 62.5ml (solution2).

• **Préparation de glucose (50%) :**

50 g  $\longrightarrow$  100ml (eau distillé).

**Préparation de glucophage :**

100g  $\longrightarrow$  100ml (eau distillé).

• **Préparation de TCA :**

10g  $\longrightarrow$  100ml (eau distillé).

Année universitaire : 2017-2018

Présenté par : Telaidji Ahmed Noureddine

## **Caractérisation chimique et activités biologiques (*in vitro* et *in vivo*) de l'extrait méthanolique de *Juniperus phoenicea.L***

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention de diplôme de Master en  
Biochimie/Nutrition Moléculaire et Santé.

Ce travail est consacré à l'étude phytochimique et l'évaluation de quelques activités biologiques *in-vitro* et *in-vivo* de l'extrait méthanolique obtenu par soxhlet des feuilles de la plante *Juniperus phoenicea.L* de la famille des *Cupressacées*.

Les testes phytochimiques de l'extrait méthanolique nous a permis de révéler la présence des: tanins, phénols, alcaloïdes, et des composés réducteurs.

Le dosage des composés phénoliques a montré que l'extrait est riche en phénols totaux avec une teneur de 124.88 µg EAG/mg d'extrait., tandis que la quantité des flavonoides est estimée à 23.47 µg EQ/mg.

Trois méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante de *Juniperus phoenicea.L*. Cette dernière a montré une bonne activité avec la méthode de DPPH. Et des activités modérées avec les tests de Cuprac et FRAP.

Due au potentiel antioxydant de l'extrait nous nous sommes proposées d'en évaluer l'activité Photoprotectrice *in vitro*, pour cela le test au FPS (le facteur de protection solaire) a été utilisé, les résultats montrent que l'extrait méthanolique possède un potentiel photoprotecteur moyen.

L'influence de l'extrait méthanolique sur l'évolution de la glycémie a été testé chez des rats Wistar par provocation d'une hyperglycémie temporaire (activité antihyperglycémiant) et des rats normo-glycémique (activité hypoglycémiant). Les résultats montrent que l'extrait méthanolique des feuilles de *Junipers phoenicea.L* possède un bon potentiel hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant.

### **Mots clés :**

*Juniperus phoenicea.L* ; Activité Antioxydante ; Activité Photoprotectrice, Anti-hyperglycémie, hypoglycémie.

Laboratoire de recherche : Biochimie, CRBT

### **Membres du jury**

<b>Président du jury :</b>	<b>Madi Aicha</b>	<b>(MCB - UFM Constantine).</b>
<b>Rapporteur :</b>	<b>Maameri Zineb / Habibatni</b>	<b>(MCA - UFM Constantine).</b>
<b>Examinatrices :</b>	<b>Mosbah Asma</b>	<b>(MCA - UFM Constantine).</b>
	<b>Halmi Sihem</b>	<b>(MCB - UFM Constantine).</b>