

وزارة التعليم العالي والبحث 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 الإخوة منتوري  
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biologie et écologie végétale

قسم البيولوجيا وإيكولوجيا النبات

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master Domaine : Sciences  
de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et physiologie végétale/reproduction

Intitulé :

**Contribution à l'étude de l'activité antioxydante,  
antifongique et antienzymatique des extraits foliaires de  
l'espèce *Juniperus oxycedrus* L.**

Présenté et soutenu par : *KOUITEN Ikhlal*

IDIOU Lamiss Tinhinane

Le : 26/06/2019

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** BOUCHIBI BAAZIZ Nacera (MCB - UFM Constantine).

**Rapporteur :** BOUCHOUKH Imane (MAA - UFMConstantine).

**Examinatrices :** ZEGHAD Nadia (MCB - UFMConstantine).

Année universitaire 2018 – 2019

## Remerciements :

On tient à adresser nos vifs et sincères remerciements à toutes les personnes qui nous ont apporté leur aide et leur soutien, en particulier :

Madame **BOUCHOUKH IMANE**, Maître assistante classe A à l'université de Constantine, on lui témoigne notre profonde reconnaissance, pour ses conseils scientifiques et son soutien. On la remercie pour sa gentillesse, sa disponibilité, sa patience pour qu'on réalise ce travail dans de bonnes conditions.

On tient aussi à remercier **Mme BOUCHIBI BAAZIZ Nacera**, Maître de conférences classe B à l'université de Constantine pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail en acceptant de présider le jury. On lui exprime notre profond respect et de notre sincère reconnaissance. Nos remerciements sincères et respectueux vont également à **Mme ZEGHAD Nadia**, Maître de conférences classe B à l'université de Constantine, pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail. Recevez mesdames notre profonde considération.

Nous remercions très sincèrement **Mr BENSOUICI CHAOUKI.**, Chef de laboratoire de biochimie au Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine (CRBt). On tient à lui exprimer notre sincère reconnaissance et notre plus profond respect.

Nos remerciements vont également **Mr DEBBI ALI et Mr ABDESSAMAD ALA**, les chefs des laboratoires de Mycologie et de Qualité-Analyse respectivement, au Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine (CRBt). Merci de nous avoir accueillis et aidés. De même, nos remerciements vont vers **Mme MAGHBOUNE IBTISSEME**, Ingénieure au laboratoire Qualité-Analyse (CRBt), pour tous ses conseils, ses encouragements et son enthousiasme. C'était un véritable plaisir de travailler ensemble. Nous adressons nos remerciements à l'ensemble des ingénieurs et techniciens des laboratoires du CRBt pour leur aide.

Enfin, on adresse nos remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin au présent travail

## *Dédicace*

*Je remercie tout d'abord Allah le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail.*

*Je dédie ce travail à mes chers :*

*Ma chère maman **Medaguine Houria** qui m'a aidés à être ce que je suis et m'a entourée avec tant d'amour et d'affection. je remercie son dévouement, son consacre de temps et sa présence constante au cours de toutes ces années d'« études ». Je ne saurais jamais la remercier assez pour son bien. Je t'aime...*

*A la mémoire de mon père, que Dieu tout puissant l'accueille dans son vaste paradis.*

*A mes chères sœurs et frère, pour leur amour, soutien et encouragements, qui m'ont soutenue et sur tout m'ont supportées au moment difficiles. Que Dieu les protège : **Balkis, Berdis, Anis.***

*A ma famille pour leur soutien et leur encouragement, et un merci du fond du nos cœur à ma grand-mère **Aicha** pour ces douaa et sa foi en moi.*

*A mes tantes : **Souad et Hayette et Bouchra**, et à toutes mes cousines.*

*A mes meilleures amies : **Asma, Lyna, Rayan, Moncef***

*A mon équipière: **Kouiten Ikhlas***

*À toute ma famille paternelle **Idiou** et maternelle **Medaguine***

*Enfin, je suis profondément reconnaissante à toute personne qui m'a aidé de près ou de loin, directement ou indirectement durant ce passage.*

## *Dédicace*

*Je tiens d'abord à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir  
Donné la foi de m'avoir permis m'en arriver là*

*Je dédie ce travail à mes chers :*

*A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifié pour mon  
bonheur et ma réussite, à la source de mes efforts, la flamme de mon coeur, ma  
vie, Ma mère.*

*A la mémoire de mon père, que Dieu tout puissant l'accueille dans son vaste  
paradis.*

*A la mémoire de ma chère grande mère : FETOUM*

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes  
côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études*

*A mes SŒURS MAWAHEB SAMAH LAMIA NADJLA*

*Mes tantes MOUNIRA SAMIA YAMINA*

*MES AMIS HALA . AHMED NOREDDINE. YACINE .SOROR.AMIR*

*A mon équipière LAMIS TINHINANE*

*À toute ma famille paternelle **KOUITEN** et maternelle **BELAIDI***

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Répartition du genre <i>Juniperus</i> dans le.....	<b>3</b>
<b>Figure 2 :</b> <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	<b>4</b>
<b>Figure 3:</b> Rameaux de <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	<b>5</b>
<b>Figure 4:</b> Feuille de <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	<b>5</b>
<b>Figure 5:</b> Pied mâle de <i>J. oxycedrus</i> .....	<b>5</b>
<b>Figure 6 :</b> Pied femelle <i>J. oxycedrus</i> .....	<b>5</b>
<b>Figure7 :</b> Baies de <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	<b>6</b>
<b>Figure 8 :</b> Relation entre les métabolismes primaire et secondaire.....	<b>9</b>
<b>Figure 9:</b> Dérivés de l'acide hydroxycinnamiques.....	<b>15</b>
<b>Figure 10:</b> Les dérivés de l'acides hydroxybenzoïques .....	<b>15</b>
<b>Figure 11:</b> Exemples des flavonoïdes.....	<b>17</b>
<b>Figure 12:</b> Structure chimiques de l'acide gallique.....	<b>23</b>
<b>Figure 13:</b> Structure chimique des tanins condensés .....	<b>24</b>
<b>Figure 14:</b> Structure chimique des terpènes.....	<b>24</b>
<b>Figure 15:</b> Structures chimiques de quelques alcaloïdes).....	<b>25</b>
<b>Figure 16:</b> Dosage des polyphénols totaux.....	<b>28</b>
<b>Figure 17:</b> Représentation schématique de la dilution en série.....	<b>30</b>
<b>Figure 18:</b> Mécanisme réactionnel d'un antioxydant avec Le DPPH.....	<b>30</b>
<b>Figure 19:</b> Procédure de test DPPH.....	<b>31</b>
<b>Figure 20:</b> Réduction du complexe chromogène de $\text{Cu}^{+2}$ -Nc.....	<b>32</b>
<b>Figure 21:</b> Préparation du milieu de culture.....	<b>35</b>
<b>Figure 22:</b> Le milieu de culture après stérilisation.....	<b>36</b>

<b>Figure 23:</b> Le coulage des boîtes de Pétri avec le milieu de culture et ajout des extraits végétaux.....	<b>36</b>
<b>Figure 24:</b> Solidification du milieu de culture mélangé à l'extrait sous haute.....	<b>37</b>
<b>Figure 25:</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.....	<b>39</b>
<b>Figure 26:</b> Test de la quercétine sur une microplaque.....	<b>40</b>
<b>Figure 27:</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.....	<b>40</b>
<b>Figure 28:</b> Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes entre les trois extraits foliaires de <i>J. oxycedrus</i> .....	<b>41</b>
<b>Figure 29 :</b> Courbes d'étalonnage des résultats du DPPH.....	<b>44</b>
<b>Figure 30 :</b> Courbes d'étalonnage des résultats du GOR.....	<b>46</b>
<b>Figure 31 :</b> Courbes d'étalonnage des résultats CUPRAC. ....	<b>48</b>
<b>Figure 32 :</b> Courbes d'étalonnage des résultats de l'ABTS.....	<b>50</b>
<b>Figure 33 :</b> Résultat de l'activité antifongique.....	<b>53</b>

## Liste des tableaux :

<b>Tableau 01:</b> Classification botanique de <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	<b>4</b>
<b>Tableau 02 :</b> Principaux produits du métabolisme secondaires.....	<b>12</b>
<b>Tableau 03:</b> Principales classes de composés phénoliques.....	<b>14</b>
<b>Tableau 04 :</b> Principales classes des flavonoïdes.....	<b>17</b>
<b>Tableau 05 :</b> Quelques sources naturelles de flavonoïdes.....	<b>22</b>
<b>Tableau 6 :</b> Concentrations de l'échantillon pour une solution mère de 4mg/ml.....	<b>29</b>
<b>Tableau 7 :</b> Concentrations de l'échantillon pour une solution mère de 2mg/ml.....	<b>29</b>
<b>Tableau 8 :</b> Concentrations de l'échantillon pour une solution mère de 0,25 mg/ml.....	<b>30</b>
<b>Tableau 9:</b> Taux de polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits de feuilles de <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	<b>41</b>
<b>Tableau 10 :</b> Résultats de l'activité antiradicalaire DPPH et Pourcentage d'inhibition des extraits de feuilles de <i>J. oxycedrus</i> .....	<b>43</b>
<b>Tableau 11 :</b> Résultats de l'activité Galvinoxyl radical (GOR) et pourcentage d'inhibition des trois extraits foliaires de <i>J. oxycedrus</i> .....	<b>45</b>
<b>Tableau 12 :</b> Résultats de l'Activité (CUPRAC) et les absorbances des trois extraits foliaires de <i>J. oxycedrus</i> .....	<b>47</b>
<b>Tableau 13 :</b> Résultats de l'activité ABTS et Pourcentage d'inhibition des trois extraits foliaires de <i>J. oxycedrus</i> .....	<b>49</b>
<b>Tableau 14 :</b> Résultats de l'activité anti- acétylcholinestérase et pourcentage d'inhibition des trois extraits foliaires de <i>J. oxycedrus</i> .....	<b>51</b>
<b>Tableau 15 :</b> Résultats de l'activité anti- butyrylcholinestérase et pourcentage d'inhibition des trois extraits foliaires de <i>J. oxycedrus</i> .....	<b>52</b>
<b>Tableau 16 :</b> Résultats de l'activité antifongique des extraits foliaire de <i>J. oxycedrus</i> .....	<b>54</b>

## Liste des abréviations :

(Al (NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, 9H<sub>2</sub>O): Nitrate d'aluminium

Abs: Absorbance

AChE: Enzyme Acetylcholinesterase

ACI: Acetylthiocholine iodide

BChE: Enzyme butyrylcholinesterase.

BHA: Butylhydroxyanisole

BHT: Butylhydroxytoluène

BuCI: S-Butyrylthiocholine iodide

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

CUPRAC: Cupric Réducing Antioxidant Capacity.

DMSO: Diméthylsulfoxyde

DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyle

DTNB: (5,5 -Dithiobis (2-nitro-benzoic acid)

E.AG : Equivalent d'acide gallique

EC<sub>50</sub> : Concentration Efficace à 50%

EQ: Equivalent de quercétine

EtOH : Ethanol

FCR : Folin Ciocalteu

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

H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub> : Acide phosphomolybdique

H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub> : Acide phosphotungstique

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

K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> : persulfate de potassium

MeOH : Méthanol.

mg: Milligramme

ml: Millilitre

Mo<sub>8</sub>O<sub>23</sub>: oxydes de molybdène

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

nm: Nanomètre

O.M.S: Organisation mondiale de la Santé

PDA: Potato Dextrose Agar.

PH: Le potentiel hydrogène



PI: Pourcentage d'inhibition

ppm: Partie par million

UV: Rayonnement ultra-violet

W8O23: Oxydes de tungstène

µg: Microgramme

µg EAG: Microgrammes d'équivalents d'acide gallique

µL: Micro litre

## Table des matières

### Partie I : Etude bibliographique

I- Présentation de la plante <i>Juniperus oxycedrus</i>	
I-1- Généralités sur les plantes médicinales ..	1
I-2-La famille des Cupressacées :...	1
I-3-Le genre <i>Juniperus</i> .....	1
I-4-L'espèce <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	2
I-4-1- Nomenclature.....	2
I-4-2- Distribution géographique.....	2
I-4-3- Taxonomie et description botanique .....	3
I-4-4- Ecologie du genévrier oxycèdre .....	6
a-Altitude .....	6
b-Exigences édaphiques.....	6
c-Exigences climatiques .....	6
I-4-5- Utilisation traditionnelle .....	7
II- Métabolisme secondaire	
II-1-Généralité.....	8
II-2- Définition .....	9
II-3- Relations entre métabolisme secondaire et métabolisme primaire.....	9
II-4- Rôle des Métabolites secondaires .....	10
II-4-1- Rôle biologique .....	10
II-4-2- Rôle physiologique .....	10
a-La coopération avec les animaux .....	10
b-Lutte contre la compétition avec d'autres plantes .....	10
c-Protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores .....	10
II-4-3- Rôle pour l'Homme.....	11
II-4-4- Utilisation en médecine.....	11
II-5- Types de métabolites secondaires.....	11
II-5-1- Métabolites secondaires hydrophiliques .....	11
II-5-2- Métabolites secondaires lyophiliques .....	11

II-6- Principaux métabolites secondaires.....	12
II-7- Classification des métabolites secondaires.....	13
II-7-1- Composés phénoliques .....	13
II-7-1-1- Définition.....	13
II-7-1-2- Structure chimique .....	13
II-7-1-3- Rôle des composés phénoliques chez les plantes .....	13
II-7-1-4- Principales classes des composés phénoliques .....	13
a-Acides hydroxycinamiques .....	14
b-Acide hydroxybenzoïques.....	14
c-Les coumarines.....	15
d- Les flavonoïdes.....	16
•Définition.....	17
•Propriété physio-chimique des flavonoïdes :.....	18
-.Solubilité des flavonoïdes .....	18
-Absorption des rayonnements UV.....	20
-Stabilité des flavonoïdes.....	21
-Distribution et localisation des flavonoïdes.....	21
-Rôle des flavonoïdes dans la plante.....	23
e-Les tanins.....	23
-Tanins hydrolysables.....	23
-Tanins condensés.....	23
f- Les lignines.....	24
g-Les Terpènes.....	24
h-Les alcaloïdes.....	25

## Partie 2 :Matériels et méthodes

I- Le matériel végétal	
II- Etude phytochimique	
II-1- La macération .....	26
II-2- Préparation des extraits	
a-Fractionnement par le chloroforme .....	26
b-Fractionnement par l'Acétate d'éthyle.....	26
c-Fractionnement par le n-butanol.....	26
II-3- Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes .....	27

II-3-1- Dosage des polyphénols totaux.....	27
a-Principe .....	27
b-Préparation des solutions.....	27
c-Procédure.....	28
II-3-2- Dosage des flavonoids.....	28
a-Principe.....	28
b-Préparation des solutions .....	28
c-Procédure.....	29
II-4- Evaluation de l'activité Antioxydante.....	29
II-4-1- Préparation des échantillons.....	29
II-4-2- Test du DPPH.....	30
a-Principe .....	30
b-Procédure.....	31
II-4-3- Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC) ....	31
a-Principe .....	31
b-Procédure.....	32
II-4-4- Méthode de ABTS scavenging activity .....	32
II-4-5- Méthode Galvinoxyl radical (GOR) scavenging assay.....	33
II-5- L'activité anti-enzymatique .....	33
a-Préparation des solutions.....	33
b-Préparation des enzymes.....	33
c-Procédure .....	34
III-Activité antifongique	
III-1- Souches fongiques.....	34
III-2- Préparation du milieu de culture.....	35
III-3- Ajout des extraits végétaux.....	36
III-4- Culture de la souche fongique.....	37
III-5- Lecture des résultats.....	37

### Partie 3 :Résultats et Discussion

#### I- Etude phytochimique :

I-1- Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes .....	38
a-Courbes d'étalonnages .....	38
•Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux .....	40
•Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes .....	40

b-Teneur en polyphénols totaux et en flavonoids.....	41
I -2-Activité Antioxydante	
I-2-1- Activité antiradicalaire par le test DPPH.....	42
•Détermination de l'IC50 .....	44
I-2-2-L'activité Galvinoxyl radical (GOR)... ..	45
I-2-3- Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)... ..	47
I-2-4- Le test ABTS .....	48
I-3-Activité anti-enzymatique (Anti Alzheimer) .....	50
1-3-1- Activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE) .....	51
1-3-2- Activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase (BChE) .....	52
II-Activité antifongique.....	53
Partie 4 :Conclusion générale et perspectives	
I -Conclusion générale et perspectives.....	54
II. Références Bibliographiques	
III. Résumé	

# **Introduction**

## **générale :**

# Introduction

---

## Introduction générale :

L'utilisation des plantes en thérapeutique (phytothérapie) est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public. Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent. (Marc, 2001). Selon l'organisation mondiale de la santé (O.M.S); la médecine traditionnelle se définit comme l'ensemble de toutes les connaissances pratiques explicables ou non pour diagnostiquer ou éliminer un déséquilibre physique, mental en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation, transmises de génération en génération (oralement ou par écrit) (Adjanohoun et coll, 2001). Par ailleurs, selon l'O.M.S, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique, dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui constituent 90% de la médecine traditionnelle. En 2004, près de 75% de la population africaine a recours aux plantes qui l'entourent pour se soigner et n'a pas accès aux médicaments dits modernes (Pousset, 1989). Sachant qu'une plante peut contenir plusieurs milliers de substances différentes, on peut se rendre compte de la richesse naturelle du règne végétal. Aujourd'hui il a été estimé que les principes actifs provenant des végétaux représentent 25% des médicaments prescrits soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes (Potterat et Hostettmann, 1995).

De multiples études, certes dispersées, ont été faites sur les plantes médicinales ce qui dénote toute l'importance accordée à la médecine traditionnelle dans la politique sanitaire de notre pays.

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'une étude phytochimique en évaluant les propriétés antioxydantes, antifongiques et antibactériennes des différents extraits phénoliques d'une plante médicinale largement distribuée en Algérie : *Juniperus oxycedrus*

Ce manuscrit est divisé en deux parties :

- La première partie est une synthèse bibliographique qui comprend deux chapitres, le premier chapitre est consacré à la présentation générale de la plante *J. oxycedrus* qui a fait l'objet de la présente étude. Le deuxième chapitre consiste en une présentation générale des métabolismes secondaires.
- La deuxième partie est celle des matériels et des méthodes.
- La troisième partie est constituée des résultats obtenus et de leur discussion.
- Enfin, une conclusion générale.

**Partie 1:**  
**Revue**  
**bibliographique**



## **Revue bibliographiques :**

### **I- Présentation de la plante :**

#### **I-1- Généralités sur les plantes médicinales :**

Les plantes aromatiques et médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composantes à valeurs thérapeutiques (Nostro et *al.*, 2000). Les extraits naturels issus de ces plantes possèdent t des propriétés biologiques très intéressantes, qui peuvent être utilisés dans divers domaines à savoir la médecine, la pharmacologie et la cosmétologie (Madsen et *al.*, 1995). Ces dernières années, divers métabolites secondaires des végétaux ont été largement étudiés comme source d'agents médicinaux contre diverses infections. Les classes importantes de ce groupe de composés comprennent les alcaloïdes, les composés phénoliques et les huiles essentielles. Ces substances ou composés ont une application thérapeutique contre les microorganismes pathogènes (les bactéries, les champignons et les virus), les radicaux libres et l'inflammation (Okigbo et Omodamiro, 2006).

#### **I-2- La 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 et Roussel, 2000). Elle comporte environ trente genres (Farjon, 2001) ; les plus importants sont *Cupressus* L., *Juniperus* L. et *Callitris* Vent. (Schulz et *al.*, 2005).

#### **I-3- 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 et Filer, 2013).

Le genre botanique des genévriers, également appelé poivre du pauvre, il comporte un grand nombre d'espèces, des variétés « rigides » aux aiguilles piquantes et des variétés «souples » au feuillage en écailles.

Le genre *Juniperus* est caractérisé par des cônes très particuliers, appelés « galbules », comportant des écailles plus ou moins complètement soudées entre elles. Beaucoup d'espèces sont dioïques, au printemps, les pieds mâles portent des petits cônes à l'aisselle des feuilles de

l'année précédente. Les trois ovules, à l'aisselle des écailles supérieures du rameau, émettent une goutte micropylaire captant le pollen.

Les fleurs se présentent sous la forme de très petits chatons à l'aisselle de feuilles vers le milieu de jeunes rameaux.

L'écorce est filandreuse grise brunâtre. Les branches partent dès le pied du tronc.

Les genévriers produisent des baies vertes « galbules » qui virent au bleu, au brun ou au noir à maturité.

Le genre *Juniperus* est représenté par trois sections : *caryocedrus*, *oxycedrus* et *sabina*

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-4- L'espèce *Juniperus oxycedrus* :**

Le genévrier appartient à la famille des Cupressacées, il se présente sous forme d'arbres et d'arbustes, qui peuvent atteindre dix mètres de hauteur, à feuilles linéaires, persistantes, étroites et épineuses, toujours vertes, à fleurs monoïques et parfois dioïques, les mâles s'organisent en châton ovoïde, les femelles en châton arrondi, formant plus tard une baie de la grosseur d'un pois, à deux ou à trois graines (Gray, 1864).

#### **I-4-1- Nomenclature :**

Le genévrier appartient à la famille des Cupressacées, Il a été décrit par Linné en 1753 sous le nom de *Juniperus oxycedrus*.

Le nom *oxycedrus* provient de deux mots grecs « oxys » et « cedros » qui signifient respectivement aigu et cèdre, c'est-à-dire « cèdre à feuilles épineuses » (Garnier et *al.*, 1961).

Noms communs :

- En kabyle : taqqa (Trabut, 2006)
- En arabe : taga, Aar'Ar (Quezel et santa, 1962)
- En français : cadier, cade genévrier oxycédre, petite cèdre, petite cèdre d'Espagne.

#### **I-4-2- Distribution géographique :**

Le genre *Juniperus* présentent une large répartition géographique dans le monde (Figure1) (Adams, 2011).



**Figure 1** : Répartition du genre *Juniperus* dans le monde (Mao et *al.*, 2010) in (Bouadam-arhi, 2013).

*Juniperus oxycedrus* est une espèce typique de la région méditerranéenne, sa répartition s'étend dans l'Afrique du nord (Maroc, Algérie et la Tunisie). Il se trouve aussi en Espagne, en France, en Italie, en Portugal, en Turquie, dans la péninsule Balkanique, et aussi dans l'Est du Caucase et au Nord de l'Iran. C'est une espèce qui se développe sur des pentes sèches, mais elle est rare sur les dunes de sable. Elle apprécie les lieux arides, rocaillieux, sur calcaire ou sur sols acides, où il est fréquemment associé au chêne vert et au chêne kermès (Farjon, 2005) in (Brus et *al.*, 2011). Cette espèce comprend cinq sous espèces qui diffèrent selon leurs habitats, le diamètre des cônes et la largeur des aiguilles: subsp. *macrocarpa*, subsp. *badia*, subsp. *transtagana* et subsp. *oxycedrus* (Klimko et *al.*, 2007) et subsp. *rufesens* (Medini et *al.*, 2009). En Algérie, Quézel et Médial (2003) notent deux sous espèces ; subsp. *rufesens* et subsp. *macrocarpa*.

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 .

### **I-4-3- Taxonomie et description botanique :**

L'espèce *Juniperus oxycedrus* appartient à la section *Juniperus*, la classification de l'espèce dans le monde végétal est mentionnée dans le tableau 1.

C'est un arbre ou arbuste, dioïque de 8 à 12 m de hauteur, avec branches étalées, à feuilles persistantes, verticillées en aiguille ou en écaille 8-25 mm de longueur et 1-1,5 mm de

## Revue bibliographique

---

largeur. Les cônes femelles de 8-10 mm d'épaisseur contenant trois graines par cône, présentent une couleur orange à brune rougeâtre à sa maturité (Schulz et *al*, 2003).

Les cônes mâles sont petits terminaux ou axillaires, ils sont subglobuleuses de 1 mm de diamètre. (Figure 2) (Miara et *al.*, 2013).

**Tableau 1** : Classification botanique de *Juniperus oxycedrus* (Klimko et *al.*, 2007).

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous-embranchement</b>	Gymnospermes
<b>Classe</b>	Conifères
<b>Ordre</b>	Coniférales
<b>Famille</b>	Cupressacées
<b>Genre</b>	<i>Juniperus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Juniperus</i> <i>Oxycedrus</i>



**Figure 2** : *Juniperus oxycedrus* (Dupont et Guignard, 2007).

Les feuilles, persistantes toutes en aiguilles piquantes, sont verticillées par 3 et disposées en 6rangs le long de la tige. Elles sont un peu glauques et donnent à l'arbuste une teinte grisâtre.

Elles présentent 2 raies blanches sur la face supérieure (une seule raie chez *Juniperus communis* de part et d'autre de la nervure principale).

Les rameaux sont souples, étalés et anguleux. (Riou-Nivert, 2001)



**Figure 3 :** Rameaux de *Juniperus oxycedrus*



**Figure 4 :** Feuille de *Juniperus oxycedrus*

Les fleurs mâles et femelles forment des cônes. Les cônes femelles prennent peu à peu l'apparence des baies, les écailles se soudant les unes aux autres. Ces cônes arrivent à maturité au bout de deux ans environ. C'est un arbuste dioïque dont la floraison intervient en avril-mai. 3, 4.

Sur les pieds mâles, les fleurs sont de petits cônes jaunes, dont chacun est une fleur mâle, qui libèrent un abondant pollen sur les pieds femelles les petits cônes globuleux sont des inflorescences le long desquelles sont disposées quelques écailles charnues dont les plus hautes portent à leur face supérieure, un seul ovule nu. Elles ont la taille d'un pois-chiche et sont d'un vert-pruineux la première année, et brun-rouge la seconde : ce sont les galbules. Elles contiennent de 1 à 6 graines au tégument osseux et bosselés. Les fruits sont bruns rouges à maturité, de 6 à 9 mm. La pollinisation est anémogame. La floraison a lieu au printemps



**Figure 5 :** Pied mâle de *J. oxycedrus*



**Figure 6 :** Pied femelle *J. oxycedrus*

(Menard, 2010)

Chaque fruit contient 3graines triangulaires de 2 à 3 mm logées dans la partie charnue de la galbule.



**Figure7** : Baies de *Juniperus oxycedrus* (Saule, 2002)

#### **I-4-4- Ecologie du genévrier oxycède :**

##### **a- Altitude :**

Le cade s'étend de 0 m d'altitude, sur les dunes littorales et peut s'élever dans les montagnes jusqu'à 1200 m (Gaston, 1990)

##### **b- Exigences édaphiques :**

Il est indifférent au sol. Il apprécie les lieux arides, rocailleux, sur calcaire ou sur sols acides, où il est fréquemment associé au chêne vert et au chêne Kermès. Il préfère les sols drainés, même calcaire ou sec. Les sols calcaires, mi-calcaires et marneux lui conviennent particulièrement. (Lucienne, 1961 in Belkacem, 2015).

La germination de ces graines réclame un sol humifère.

##### **c- Exigences climatiques :**

Le cade est une espèce héliophile qui ne se développe complètement qu'en pleine lumière ; supporte des sécheresses sévères (xérophiles) et résiste aux embruns salés. Elle est très résistante aux aérosols riches en Na Cl (embruns marins). C'est une espèce des climats subhumide et semi-aride frais à froid. Espèce continentale, elle est souvent associée au pin d'Alep et au chêne vert. En Algérie, il est fréquent dans le semi-aride et aride.

### I-4-5- Utilisation traditionnelle :

Le genévrier (ou genièvre) est connu pour ses propriétés diurétiques depuis l'antiquité. Au I<sup>er</sup> siècle, il était indiqué pour le traitement des problèmes urinaires et pour lutter contre la toux. Il a des propriétés antirhumatismales, carminatives, antiseptiques, antifongiques et anti oxydantes (Grünwald et Jancke, 2004). Il est aussi employé pour soulager la dysenterie, l'hémorragie, l'arthrite rhumatoïdale et les douleurs menstruelles (Seca et Silva, 2006).

L'huile de cade, extraite par distillation des branches et des bois de la plante, elle est largement employée dans la dermatologie humaine et vétérinaire pour traiter l'eczéma et autres maladies de la peau, aussi elle est utilisée comme composant de parfum dans les savons, détergents, crèmes, lotions et parfums (Bouhlal et *al.*, 1988). En outre, cette plante est également utilisée comme un remède populaire pour traiter divers maux : l'hyperglycémie, l'obésité, la tuberculose, la bronchite et la pneumonie (Sanchez de Medina et *al.*, 1994). Comme elle possède différentes propriétés : stimulante, diurétique, tonique de l'estomac, antiseptique pulmonaire et dépurative (Miara et *al.*, 2013).

Les extraits de *Juniperus* présentent de nombreuses activités biologiques, c'est-à-dire antioxydants (Chaouche et *al.*, 2013), antiseptiques (Taviano et *al.*, 2013) anti inflammatoires (Lesjak et *al.*, 2014), analgésiques (Akkol et *al.*, 2009), anticancéreux (Kusari et *al.*, 2010), antidiabétiques (Orhan et *al.*, 2012) et neuroprotecteurs (Tavares et *al.*, 2012).

### **II- Métabolisme secondaire :**

#### **1-Généralité :**

Une façon de comprendre la notion de métabolisme secondaire est de passer par un détour historique. Comme chacun sait, de très nombreuses plantes médicinales, tinctoriales ou aromatiques contiennent des métabolites qui leur sont très spécifiques et à des teneurs parfois extrêmement élevées. Pour des raisons économiques, l'étude biochimique de ces composés a fait l'objet d'intenses efforts, contribuant au développement de plusieurs pans entiers de la phytochimie ayant des rapports étroits avec la pharmacie et l'industrie des colorants. Devant la quantité et la diversité des molécules caractérisées s'est rapidement posé la question de leur rôle biologique éventuel. Dans la mesure où ces molécules ne sont retrouvées que chez quelques espèces uniquement, on a d'abord pensé<sup>1</sup> qu'elles ne pouvaient avoir aucun rôle réellement important en comparaison des métabolites universellement représentés comme les glucides, les protéines, les lipides ou les acides nucléiques et dont les fonctions biologiques commençaient déjà à être solidement établies.

Une des particularités des végétaux est de former de nombreux composés dont le rôle au niveau de la plante n'est pas encore parfaitement élucidé.

Le fait que beaucoup de ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces montre qu'il n'entre pas dans le métabolisme générale (primaire) : ce sont des métabolites secondaires, qui n'exerce aucune fonction directe au niveau des activités fondamentale de l'organisme végétale (croissance, développement, reproduction...) mais peuvent jouer différent rôle pour la survie du végétale lui-même, rôle de défense, rôle de résistance. (Merghem , 2009)

Les composés du Métabolisme secondaire sont classés en 3 grandes classes :

- Les alcaloïdes et composés azotés
- Les composés phénoliques
- Les composés terpéniques



## 2- Définition :

Le terme « métabolite secondaire », qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes. Telles que la communication intercellulaire, la défense, la régulation des cycles catalytiques (Guillaume, 2008).

Ces richesses en molécules très diversifiées qui permet les tentatives d'une classification chimique des végétaux ou chimiotaaxonomie. Cette classification consiste à établir les corrélations entre la présence de certains types de métabolite secondaire et les entités taxonomique. (Merghem , 2009).

## 3- Relations entre métabolisme secondaire et métabolisme primaire :

Les voies du métabolisme secondaire des plantes produisent les trois types généraux de composés secondaires : produits azotés, composés phénoliques et terpénoïdes.

La relation avec le métabolisme primaire et secondaire est résumée sur la figure 3.

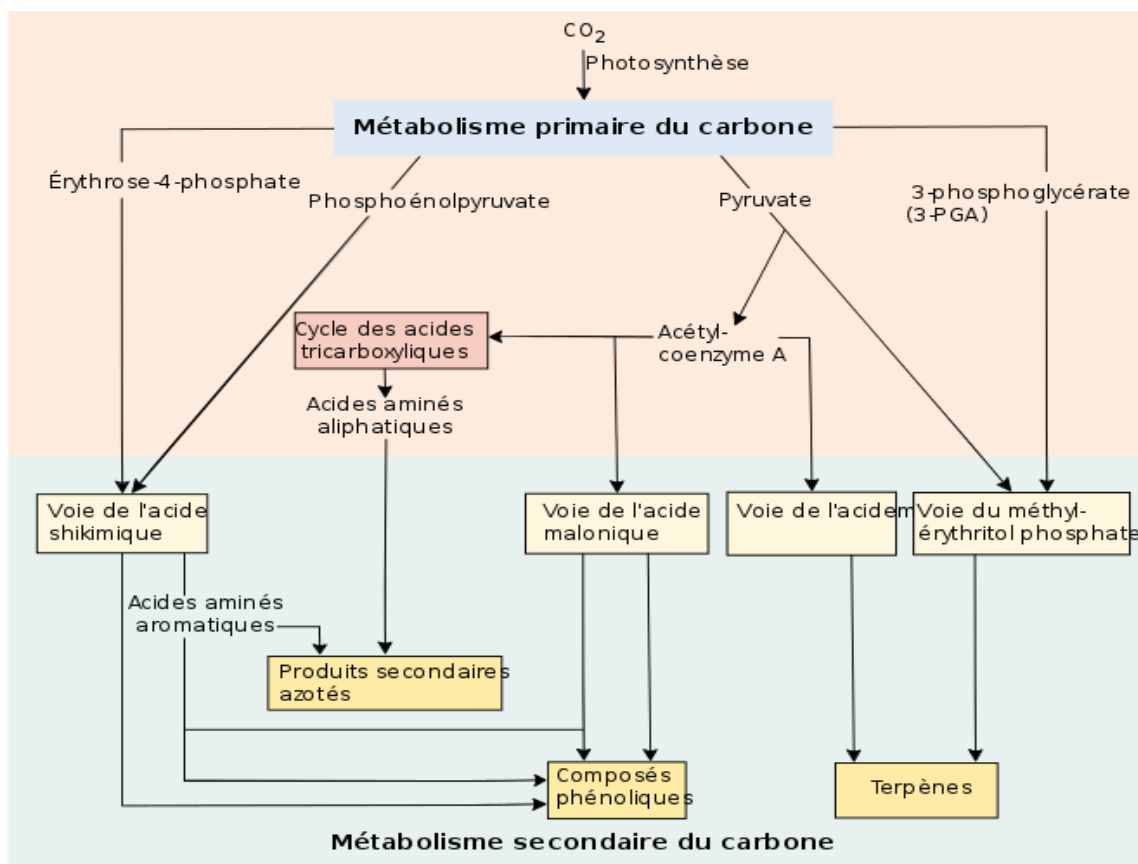


Figure 8 : Relation entre les métabolismes primaire et secondaire.

### **II-4- Rôle des Métabolites secondaires :**

#### **II-4-1- Rôle biologique :**

- a) Défense contre les herbivores (insectes, vertébrés...).
- b) Défense contre les moisissures et les bactéries.
- c) Défense contre les virus.
- d) Défense contre autres plantes qui rivalisent pour lumière, eau et éléments nutritifs (ex: allélopathie).
- e) Des composés du Signal attirer pollinisateur et les animaux disperser les graines (disséminateur).
- f) Signaux pour communication entre plantes et micro-organismes symbiotique (Rhizobium fixe N ou moisissures du mycorhize)
- g) La Protection contre les rayons UV ou autre stress physique
- h) La sélection des fonctions physiologiques (Wink, 2010)

#### **4-2- Rôle physiologique :**

##### **4-2-1 La coopération avec les animaux :**

Les métabolites secondaires peuvent être des moyens de signalisation et d'interaction entre les plantes et les animaux disséminateurs ou pollinisateurs : certains métabolites secondaires interviennent dans les mécanismes d'attraction des animaux (monoterpènes parfumées, anthocyanes de couleur ou de caroténoïdes dans les fleurs), nécessaires à la dispersion des graines et des insectes pollinisateurs par l'intermédiaire de couleurs et d'odeurs.

##### **4-2-2 Lutte contre la compétition avec d'autres plantes :**

Les métabolites secondaires participent à des réponses allélopathiques : compétition entre les plantes pour la germination et croissance au moyen de toxicité qui empêchent la croissance des autres plantes compétitrices.

##### **4-2-3 Protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores :**

Il y a plus de 100 ans Ernst Stahl a montré expérimentalement que les métabolites secondaires servent de composés de défense contre les escargots et autres herbivores (Wink, 2003).

### 4-3- Rôle pour l'Homme :

Les métabolites secondaires végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Ces composés sont en grande mesure illustrés en thérapeutique (Bahorun, 1997).

### 4-4- Utilisation en médecine

Les métabolites secondaires qui font la base des remèdes pour l'Homme :

-En urologie, dermatologie, gastrites aiguës, toux, ulcères d'estomac, laxatifs, sommeil et désordres nerveux.

-Pour les systèmes cardiovasculaires, ex : Flavoce est un médicament constitué par la flavone non substituée en combinaison avec la rutine et isoquercétine est utile dans le traitement de l'athérosclérose.

-Comme drogues immunostimulantes, antispasmodiques et anti-inflammatoire extraits des plantes *Melaleuca alternifolia* et *Echinacea angustifolia*.

- Contre le diabète (*Azadirachta indica*).

-Contre les maladies du stress, ces métabolites ont une activité antioxydante, tel le thé noir, le thé vert et le cacao sont riches en composé phénoliques, parmi lesquels theaflavine, le resveratrol, le gallate et epigallocatechine procyanidine (Lee *et al*, 2005).

- Pour l'effet antimicrobien, antiviral, antiparasitaire: depuis des périodes très anciennes ces substances naturelles ont joué un rôle important dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques tels : la quinine obtenue à partir du quinquina "*Cinchona*" a été avec succès employée pour traiter le malaria, Et l'arbre de thé (*Melaleuca alternifolia*) est renommé aussi pour ses propriétés : anti-infectieux, antifongiques, mais aucune plante n'est aussi efficace que les médicaments antirétroviraux pour arrêter la réplication du VIH (Mohammedi, 2006).

## II-5- Types de métabolites secondaires

### 5-1- Métabolites secondaires hydrophiliques :

Se trouvent dans la vacuole (beaucoup alcaloïdes, NPAA, saponines, glycosides, flavonoïdes, anthocyanines, tannins, cyanogènes, glucosinolates, amines), les laticifères (quelques alcaloïdes (Lobelia, Papaver, Chelidonium), cyanogènes, NPAA, cardiac glycosides (Nerium), apoplaste et paroi cellulaire (tannins)

### 5-2- Métabolites secondaires lyophiliques :

On les trouve dans la cuticule (cires, flavonoïdes lipophile, terpénoïdes), le trichome (monoterpènes, sesquiterpènes ; quinones), les laticifères (Polyterpènes, diterpènes (phorbol

## Revue bibliographique

---

esters), les huiles des cellules (Anthraquinone and naphthodianthrones (hypericin), terpénoïdes) et la membrane des plastide (ubiquinone, tetraterpènes) (Wink, 2010).

### II-6- Principaux métabolites secondaires :

Le tableau ci-dessous résume les principaux métabolites secondaires et leur distribution chez les plantes.

**Tableau 2 :** Principaux produits du métabolisme secondaires (Merghem , 2009)

Classe	Nombre de structure	Distribution
<b>Composés azotés</b>		
alcaloïde	5500	Angiosperme, feuille, fruit, racine
Amine	100	Angiosperme, fleur
Aminoacide non protéique	400	Grains
Glucoside cyanogénique	30	Feuille et fruit
glucosinate	75	crucifères
<b>Terpénoïdes</b>		
monoterpènes	1000	Huiles essentielles
sesquiterpènes	600	Composées, angiosperme
diterpènes	1000	Latex, résines
saponine	500	Feuille, fleur, fruit
caroténoïdes	500	apoginacées
<b>Composés phénoliques</b>		
Phénols simples	200	Feuilles et tissus
flavonoïdes	1000	angiospermes
proanthocyanidines		gymnospermes
quinones	500	rhamnacées

### **II-7- Classification des métabolites secondaires :**

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Krief, 2003, Haven *et al.*, 2000)

#### **II-7-1- Composés phénoliques :**

##### **II-7-1-1- Définition :**

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire pour se défendre contre les agressions environnementales. Ils sont localisés dans différentes parties des plantes selon l'espèce végétale et le groupe polyphénolique considérés.

Comme définition, nous pouvons dire que les polyphénols sont des composés phénoliques hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (Dangles *et al.*, 1992, Hagerman *et al.*, 1998, Sarni-Manchado et Cheyrier, 2006 ; in Akroum, 2011) Les composés de ce groupe important de métabolisme secondaire végétaux se reconnaissent à la présence d'un ou plusieurs groupe hydroxyle, modifié ou non, attachés à une structure aromatique. Souvent les composés phénoliques se présentent liés à des glucosides surtout lorsqu'ils sont en solution suc vacuolaire. (Gerhard, 1993)

##### **II-7-1-2- Structure chimique :**

Les polyphénols sont caractérisés par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient (Manallah, 2012).

##### **II-7-1-3- Rôle des composés phénoliques chez les plantes :**

Une des fonctions majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes notamment à celle des fleurs. Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape, fondamentale de sa reproduction. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes. Les flavonoïdes montrent d'autres fonctions intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. D'autre part, les

composés phénoliques possèdent souvent une activité antimicrobienne (Maillard, 1996).

### II-7-1-4- Principales classes des composés phénoliques :

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants [Salunkhe, 1990]. Les polyphénols naturels vont de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tanins.

Une classification de ces substances a été proposée par Harborne (1980). On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base.

Deux principales classes sont largement répandues :

- Les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques).
- Les flavonoïdes.
- Les tanins et lignines.

Plus rares, les coumarines, les stilbènes ne seront pas décrit en détail ici. (Nkhili, 2009).

**Tableau 3:** Principales classes de composés phénoliques (Macheix et *al.*, 2005).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol	Epices, fraise
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides Hydroxybenzoïques	p-Hydroxybenzoïque Acide	Pomme, Pomme de terre
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides Hydroxycinnamiques	caféique, férulique	Citrus
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Coumarines	Scopolétine	Noix
	Naphthoquinones	Juglone	Vign
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resvératrol	e
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes	Flavonols	Kaempférol, quercétine
		Anthocyanes	Cyanidine, pélargonidine
		Flavanols	Catéchine, épicatechines
		Flavanones	Naringénine
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Isoflavonoïdes	Diadzéine	Soja, pois
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C <sub>15</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines		Bios, noyau des fruits
	Tanins condensés		Raisin rouge, kaki

### a- Acides hydroxycinnamiques :

Représentent une classe très importante dont la structure de base (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) dérive de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de la série hydroxycinnamique l'acide p-coumarique (et ses isomères, les acides o- et m-coumariques), l'acide caférique, l'acide férulique et son dérivé 5-hydroxylé, et enfin l'acide sinapique (Macheix *et al.*, 2005).

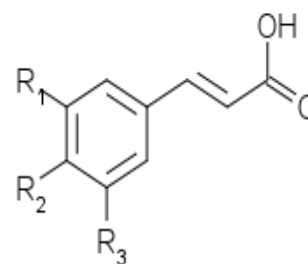
R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=H acide cinnalique (non phénolique)

R<sub>1</sub>=RH, R<sub>2</sub>=OH acide p-cinnamique

R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=OH, R<sub>3</sub>=H acide caféique

R<sub>1</sub>=R<sub>3</sub>=OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=OH acide sinapique

R<sub>1</sub>=OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=OH, R<sub>3</sub>=H acide férulique



**Figure 9** : Dérivés de l'acide hydroxycinnamiques (Macheix *et al.*, 2005).

### b- Acides hydroxybenzoïques :

Le plus important c'est l'acide gallique qui est abondant dans le mil, riz, sorgho (Hahn *et al.*, 1983; Suba *et al.*, 2002 ; Zhou *et al.*, 2004). Cet acide présente une très grande activité antioxydante (Smith et Kramer, 1999).

L'acide gallique a pour pouvoir *in vitro* de réduire la viabilité des cellules cancéreuse du poumon chez les souris et que la combinaison de cet acide avec les médicaments anticancéreux tels la cisplatine peut être un traitement efficace pour ce type de cancer (Kawada *et al.*, 2001 in Rangkadilok *et al.*, 2007).

Il peut aussi à une faible concentration, prévenir les dommages oxydatifs d'ADN cellulaire (Lee *et al.*, 2005).

Sont composés d'un noyau benzénique et présentent une structure en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> (Chira, 2008).

R<sub>1</sub> =R<sub>2</sub> =R<sub>3</sub>=R<sub>4</sub>=H acide benzoïque (nonphénolique)

R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>=H, R<sub>3</sub>=OH acide p-hydroxybenzoïque

R<sub>1</sub>=R<sub>4</sub>=H, R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=OH acide protocatéchinique

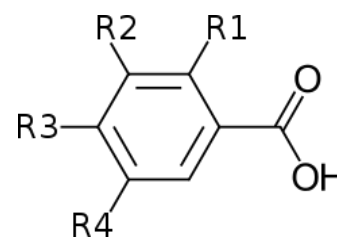
R<sub>1</sub>=R<sub>4</sub>=H, R<sub>2</sub>=OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>=OH acide vanillique

R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=R<sub>4</sub>=OH acide gallique

R<sub>1</sub>=OH, R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=R<sub>4</sub>=H acide salicylique

R<sub>1</sub>=R<sub>4</sub>=OH, R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=H acide gentisique

R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>=OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>=OH acide syringique



**Figure 10** : Les dérivés de l'acides hydroxybenzoïques

### c- Les coumarines

Comme l'autre phénylpropanoïdes, les coumarines constituent une classe de métabolites secondaires des plantes dérivés d'acide cinnamique par cyclisation de la chaîne latérale de l'acide *o*-coumarique. (Giada, 2013)

Ce groupe peut être trouvé libre dans la nature ou à la forme combiné avec les sucres comme l'hétérosides et glycosides dans beaucoup de familles du dicotyledones, y compris l'Apiaceae, Asteraceae, Fabaceae, Moraceae, Rosaceae, Rubiaceae, et Solanacée. Les coumarines peuvent être classées en :

**-hydroxycoumarins simple** (umbelliférol, esculetin, et scopoletin)

**-furanocoumarins** (bergaptène)

**-Le pyranocoumarins** (calanolide B). (Lattanzio, 2013)

### d- Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. (Ghedira, 2005)

#### 1-Définition :

Les flavonoïdes sont des dérivés phénylpropanoïdes solubles dans l'eau, souvent incolores ou jaunes (sauf exceptions dont les anthocyanes). Ces composés sont des dérivés de la naringénine-chalcone, elle-même issue de la condensation de trois résidus malonyl-CoA avec une molécule d'acide cinnamique. Il s'agit donc de dérivés phénylpropanoïdes. La structure de base comporte deux cycles aromatiques à 6 carbones joints par un hétérocycle à oxygène. Les flavonoïdes constituent en eux même une famille de composés extrêmement vaste, jouant des rôles physiologiques importants (interactions Légumineuses/Rhizobium, filtres UV...). La variété des composés est essentiellement liée au degré d'hydroxylation/méthylation/glycosylation de chacun des trois cycles des molécules de base. De nombreux flavonoïdes présents dans produits de consommation présentent un intérêt d'un point de vue de la santé humaine et font l'objet de nombreuses allégations concernant la santé, particulièrement de par leur caractère anti-oxydant.

Selon la nature de l'hétérocycle C, on distingue :

– Les flavones et les flavonols, sont les composés flavonoïdiques les plus répandus dont notamment: la quercétine, le kaempférol, la myricétine et l'apigénine

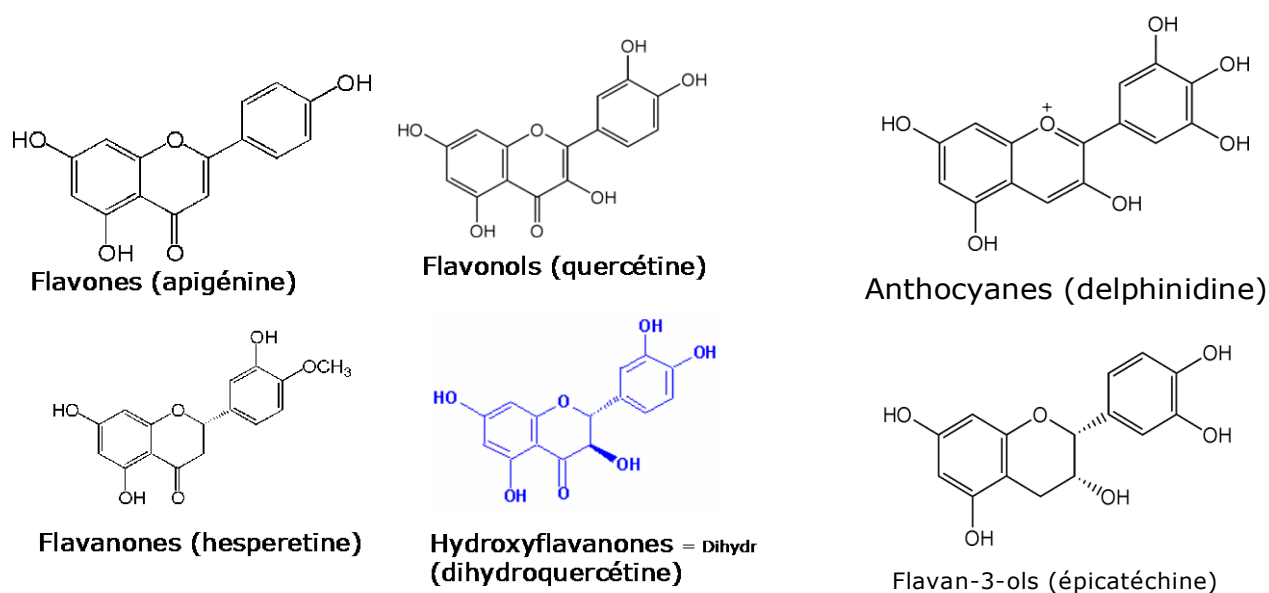
– Les flavanones (naringénine), les flavanols (catéchine) et les dihydroflavanols



## Revue bibliographique

(dihydrokaempférol, dihydroquercétine) et les dihydroflavan-3,4-diols (leucopélargonidol, leucocyanidol), sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires en raison de leur distribution naturelle restreinte

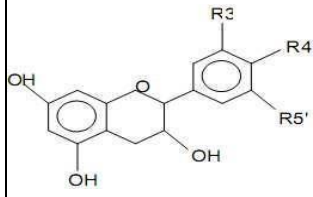
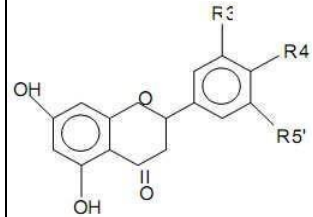
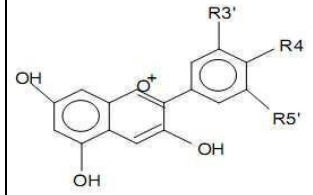
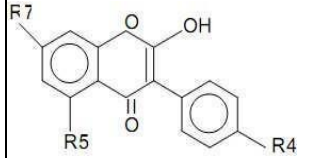
Les flavonoïdes peuvent se présenter sous forme d'aglycones ou génines (entités dépourvues de reste osidique) ou d'hétérosides (portant un ou plusieurs résidus osidiques) (Havsteen, 2002).



**Figure 11** : Exemples de flavonoïdes

**Tableau 4** : Principales classes des flavonoïdes (Narayana *et al.*, 2001 ; W- Erdman *et al.*, 2007 in Zeghad , 2009).

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	exemple
<b>Flavones</b>		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
<b>Flavonols</b>		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine

<b>Flavanols</b>		OH	OH	H	Catéchine
<b>Flavanones</b>		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
<b>Anthocyanidines</b>		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
<b>Isoflavones</b>		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

## 2-Propriété physio-chimique des flavonoïdes :

### Solubilité des flavonoïdes :

En présence d'un solvant, la structure du flavonoïde pourrait être différente suite aux interactions suivantes :

-Des interactions de type hydrophobe avec les solvants apolaires concernant les cycles aromatiques (A et B) et les substituents carbonés aliphatiques.

-Des interactions dipolaires entre les solvants polaires et les groupes fonctionnels des flavonoïdes (carbonyle, éther, ester, hydroxyle).

-Des liaisons hydrogènes entre le solvant (eau, alcool, amine) et les divers groupes donneurs ou accepteurs de ce type de liaison présent sur le flavonoïde.

## Revue bibliographique

---

-Des interactions de type électrostatique entre les groupes hydroxyles et carboxyliques ou pour les anthocyanes à certain pH.

Selon (Saidman *et al.*, 2002), le facteur principal influençant la solubilité de la flavone est sa capacité à former des liaisons hydrogènes avec le solvant.

Les différences structurales au sein d'une même famille sont tellement importantes qu'il est difficile d'estimer la solubilité d'un composé dans un solvant. Toutefois, la solubilité des flavonoïdes dans l'eau et dans des solvants très apolaires est faible et dépendante du pH. En effet, à un pH 1.5, la solubilité de l'hesperitine et de la naringénine est respectivement de 6 et de 25 mg/L, alors qu'à un pH 8 la solubilité est quatre fois plus élevée.

D'autre part, la solubilité de la rutine, de la naringine et de la quercétine dans l'eau à 20°C est respectivement de l'ordre de 125 mg/L, 0,5 g/L et < 10 mg/L. (Benavente-Garcia *et al.*, 2001) ont évalué la solubilité de la néohespéridine dihydrochalcone dans différents mélanges eau/éthanol. La solubilité de ce composé à 20°C dans l'eau, l'éthanol et le mélange eau/éthanol (1/1) est respectivement de 0,4 g/L, 12 g/L et 123 g/L. L'étude de la solubilité dans les solvants organiques a été pas ou peu étudié.

La faible solubilité des flavonoïdes dans les phases aqueuses et lipophiles laisse leurs incorporations dans les formulations pharmaceutiques et alimentaires difficiles. Toutefois, la métabolisation (hydrolyse de la partie glycosylée, sulfatation, glucuronisation) de ces composés par les cellules de l'intestin permet leur absorption par l'organisme.

Pour pallier ces problèmes de solubilité, différentes techniques ont été utilisées ayant pour but de modifier la structure de ces molécules :

-La glycosylation de la naringine par du maltotriose, en présence de l'amylase maltogénique de *Bacillus stearothermophilus*, a permis l'augmentation de sa solubilité dans l'eau de 250 fois.

-La complexation de la naringénine et de l'hespéretine avec de la  $\beta$  cyclodextrine a permis d'augmenter leur solubilité dans des milieux hydrophiles à différents pH.

-L'acylation par des acides gras ou aliphatiques substitués avec un groupement polaire (sucre, phosphate, carboxylate) a permis d'améliorer la solubilité respectivement dans des phases lipophiles ou en milieu aqueux. Le succinate de quercétine (2-phosphonoyl-inositol), l'acétate de quercétine et le propionate de quercétine ont une solubilité dans l'eau respectivement 15000 fois, 500 fois et 12 fois plus importante que la quercétine. (Cependant, Perrier *et al.* et Sakai *et al.*, 1998) ont observé, respectivement, une augmentation de la

solubilité de l'hespéretine et de la catéchine dans les phases grasses après acylation par des acides gras.

La polymérisation de la rutine a permis d'augmenter sa solubilité dans l'eau. (Chebil, 2006)

### – Absorption des rayonnements UV :

L'action des flavonoïdes dans les plantes résulte en partie de leur effet filtre et de leur forte absorption dans le domaine UV du spectre (23, 24). Les spectres UV des flavonoïdes exhibent deux bandes d'absorption principales dans la région 240-400 nm.

La bande I (300- 395 nm) est considérée comme étant associée à l'absorption de la partie cinnamoyl (noyau B du flavonoïde) et la bande II (240-280 nm) à celle de la partie benzoyl comme l'indique le schéma suivant :

Plusieurs facteurs peuvent affecter le spectre d'absorption et le coefficient d'extinction des flavonoïdes. L'augmentation du nombre d'hydroxyles sur la partie aglycone provoque un déplacement bathochrome des bandes d'absorption vers de plus grandes valeurs.

En absence d'hydroxyle en position 3, cas des flavones, la longueur d'onde de la bande I est plus courte de 20 à 30 nm. La méthylation comme la glycosylation, en particulier sur les hydroxyles en position 3, 5, 7, 4', provoquent un déplacement hypsochrome vers les longueurs d'ondes plus courtes. Toutefois, la nature du sucre n'a généralement pas d'effet. Pour l'acylation, peu de données existent sur l'effet de cette réaction sur les propriétés spectrales des flavonoïdes. (chebil, 2006)

### 2- Stabilité des flavonoïdes :

L'importante réactivité des flavonoïdes donne à ces molécules une instabilité à plusieurs conditions environnementales.

Les paramètres qui peuvent agir sur la stabilité des flavonoïdes sont la lumière, le pH, la température, la nature du solvant, la présence d'enzyme, d'ion métallique ou non et d'oxydant. Ainsi, une élévation de la température et du pH, la présence d'ions métalliques favorisent la dégradation des flavonoïdes. En effet, la stabilité est plus faible à des PH

## Revue bibliographique

---

basiques en raison d'une augmentation de l'oxydation de ces molécules due soit à une déprotonation de ces composés (diminution du potentiel d'oxydation), soit à une stabilisation de l'oxydant (anion superoxyde).

La nature du solvant affecte le mécanisme de dégradation des flavonoïdes. En effet, lors de l'étude de la dégradation de la quercétine par le DPPH (1- diphenyl-2-picrylhydrazyl), (Fargeix, 2000) a observé la formation de produits différents en milieu protique et aprotique. De même, (Tommasini *et al.*, 2004) ont rapporté, lors de l'étude de la photostabilité du 3-hydroxyflavone, des voies de dégradation différentes selon la nature du solvant avec une amélioration de la stabilité en présence de cyclodextrines.

### **3-Distribution et localisation des flavonoïdes :**

Certaines classes de flavonoïdes sont présentes exclusivement chez certains végétaux, on trouvera par exemple, les flavanones dans les agrumes, les isoflavones dans le soja, les anthocyanes et les flavonols ont une large distribution dans les fruits et les légumes tandis que les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs, sont considérés comme des pigments naturels au même titre que les chlorophylles et les caroténoïdes (Lahouel, 2005, Piquemal, 2008 in Zeghad , 2009)

**Tableau 5 :** Quelques sources naturelles de flavonoïdes (Ghedira, 2005)

Flavonoïde	Produits alimentaires et plantes médicinales
<b>Flavones</b>	
Apigénine	<i>Apium graveolens, Passiflora incarnata, Petroselinum sativum</i>
<b>Flavones glycosylés</b>	
Baicaline	<i>Scutellaria baicalensis</i>
<b>Flavonols</b>	
Quercétine	<i>Allium cepa, Crataegus cuneata, Ginkgo biloba, Glycyrrhiza glabra, Morus alba, Olea europea, Solanum lycopersicum, Thea sinensis, Vaccinium macrocarpon, Vitis vinifera, Pueraria thumbergiana</i>
Kaempférol	<i>ichorea endivia, Ginkgo biloba, Raphanus sativus, Thea sinensis, Vitis vinifera</i>
Myricétine	<i>Thea sinensis, Vaccinium macrocarpon, Vitis vinifera</i>
<b>Flavonols glycosylés</b>	
Rutine (rutoside)	<i>Eucalyptus macrorrhyncha, Fagopyrum esculentum, Stellaria media, Sophora japonica</i>
<b>Flavan-3-ols</b>	
Catéchine	<i>Thea sinensis, Vitis vinifera</i>
<b>Flavanones</b>	
Naringénine	Fruits du genre <i>Citrus</i> (sp. <i>aurantium, limon, etc.</i> )
<b>Isoflavones</b>	
Génistéine	Soya hispida, <i>Stellaria media, Pueraria lobata, Sophora japonica</i>

## 4-Rôle des flavonoïdes dans la plante :

Les flavonoïdes pourraient jouer un rôle dans les chaînes d'oxydo-réduction et modifier certaines réactions concernant la croissance, la respiration, la morphogénèse, et la lignification.

Les flavonoïdes dont l'absorption UV est importante, protègent les plantes vis-à-vis des rayonnements nocifs.

Certains flavonoïdes ont des propriétés fongicides et insecticides.

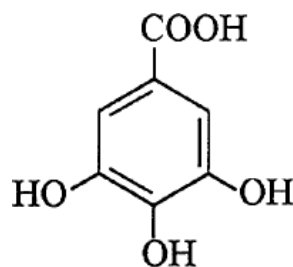
Au niveau des feuilles et fleurs, les flavonoïdes ont un rôle attractif pour les abeilles ou répulsif sur les insectes herbivores. (Merghem , 2009)

Les flavonoïdes aussi servent comme signaux pour interactions de la plante avec les symbiotes. Flavones et les flavonols sont émis comme substances du signal de racines légumineuses dans ordonnez d'induire dans Rhizobia l'expression des gènes exigée pour nodulation (Heldt , 2004)

### e-Les tanins

Ce sont des composés phénoliques capables de se lier aux protéines en solution et de précipiter (Silanikove *et al.*, 2001). Leur poids moléculaire est compris entre 5000 et 3000 Daltons. Il est classique de distinguer deux grands groupes de tanins :

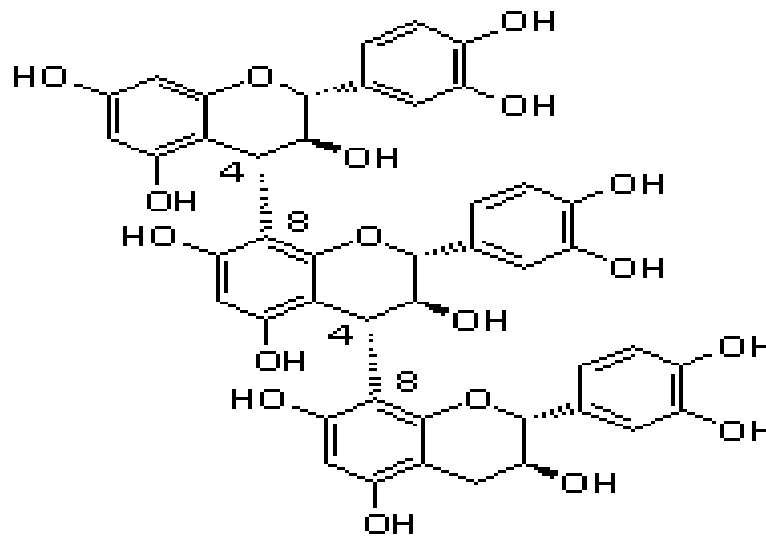
- **Tanins hydrolysables** : qui sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallotanins soit l'acide éllagique dans le cas des tanins classiquement dénommés éllagitanins (Bruneton, 2009)



**Figure 12** : Structure chimiques de l'acide gallique (Bruneton, 2009).

- **Tanins condensés** : qui se diffèrent fondamentalement des tanins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leurs molécules et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères

flavoniques constituées d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone (Bruneton, 2009)



- Figure 13 : Structure chimique des tanins condensés (Bruneton, 2009)

- **f-Les lignines**

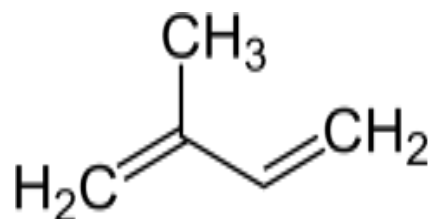
Bien que la lignine représente une biomasse considérable produite annuellement par les végétaux, la deuxième après la cellulose, elle est rattachée aux composés phénoliques en raison de sa structure chimique et des voies de biosynthèse qui sont directement liées à celle des phénylpropanoïdes (Edeas *et al.*, 2007).

- **g-Les Terpènes :**

Le terme terpène inventé par Kekulé, vient de leur origine historique de l'arbre de térébinthe : « *Pistacia Terebinthus* » (Ayad, 2008).

Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale (Malecky, 2005). Synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux (Benaïssa, 2011).

L'exploitation de ces composés s'effectuait sous forme d'huiles extraites de plantes (huiles essentielles) par le moyen de la distillation (Malecky, 2005).



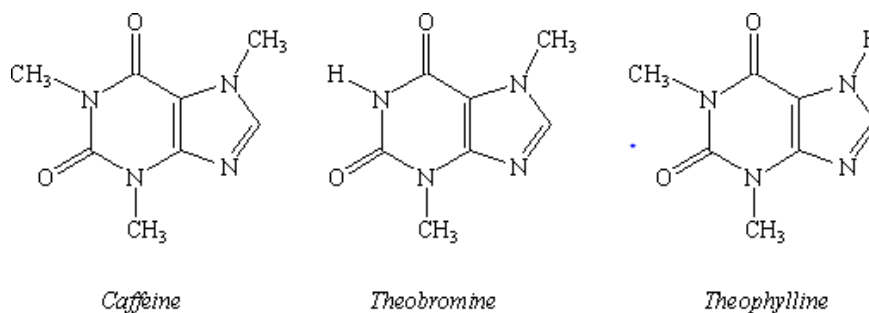
**Figure 14 :** Structure chimique des terpènes



Les terpénoïdes ont des activités biologiques et pharmacologiques variées : anti-inflammatoire, antivirus, analgésiques, antibactériennes et antifongiques (Bisoli *et al.*, 2008 ; Bruneton, 2009).

### **h-Les alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont d'origine naturelle, le plus souvent végétale. Ce sont des substances organiques azotés et basiques, doués, à faible dose, de propriétés pharmacologiques marquées. A l'état naturel, ils sont généralement salifiés par les acides organiques (tratrates, maliates,....) ou combinés à des tanins (Bruneton, 2009).



**Figure 15 :** Structures chimiques de quelques alcaloïdes (Bruneton, 2009).

D'un point de vue biologique, les alcaloïdes présentent diverses activités à faible dose, analgésiques (morphine), anesthésiques locaux (cocaïne), antibactérienne, anticancéreuse... (Bruneton, 2009 ; Hocquemiller *et al.*, 1982).

**Partie 2 :**  
**Matériels et**  
**méthodes**

### **Matériels et méthodes :**

#### **I- Le matériel végétal :**

Le matériel végétal est constitué des feuilles de *Juniperus oxydrus*.L العرعار qui ont été récoltées de la commune de Djbel El Ouahch dans la Wilaya de constantine. Les feuilles ont été réduites en poudre après le séchage ensuite une procédure d'extraction a été réalisée au niveau du Centre de Recherche en Biotechnologie CRBt de Constantine.

#### **II- Etude phytochimique :**

##### **II-1- La macération :**

Cette étape du travail a été réalisée au niveau du laboratoire Qualité-Analyse du CRBt (Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine).

La macération est une méthode classique, qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal, en contact prolongé avec un solvant, pour en extraire les principes actifs, elle se déroule à température ambiante, ce qui est très positif, pour conserver l'intégrité des molécules.

On a utilisé 187 g des parties aériennes, de la plante *Juniperus oxycedrus*.L sous forme de poudre, dans un décimateur, contenant un mélange solvant: (Méthanol : eau) (70 :30), et puis laisser macérer pendant 72h.

Cette macération est répétée 03 fois. Les macérâtes hydro-alcoolique ont été filters à travert du coton et papier Wattman. Après filtration, le mélange hydroalcoolique est concentré à sec, sous pression réduite au moyen d'un évaporateur rotatif à une temperature de 37C, on obtient un extrait méthanolique (une patte) puis on ajoute de l'eau distillé pour obtenir une phase liquide.

##### **II-2- Préparation des extraits :**

Cette étape du travail a été réalisée au niveau du laboratoire Qualité-Analyse du CRBt (Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine).

##### **a- Fractionnement par le chloroforme :**

Cette étape consiste a ajouter à l'ampoule à decanter l'extrait et 100ml du chloroforme, on mélange puis on dégaze, après 20min jusqu'à la séparation de deux phases organique et aqueuse (chloroformique) on récupère la phase de chloroforme (répéter 3fois) en utilisant rotavapor a 37°C après séchage sous l'haute L'extrait obtenu pèse 4g.

### **b- Fractionnement par l'Acétate d'éthyle :**

Cette étape consiste d'ajouter la phase aqueuse à l'ampoule à décanter et 100ml d'acétate d'Ethyle. On mélange puis on dégaze, après 20min jusqu'à la séparation de deux phases organique et aqueuse (d'acétate d'Éthyl) on recupere la phase d'acetate d'Éthyle (répéter 3fois) en utilisant rotavapor a 37c après séchage sous la hotte. L'extrait obtenu pèse 16g.

### **c- Fractionnement par le n-butanol :**

Cette étape consiste d'ajouter la phase aqueuse a l'ampoule à déconter et 100ml du chloroforme, on mélange puis on dégaze, après 20min jusqu'à la séparation de deux phases organique et aqueuse (n-butanol) on recupere la phase de n- Butanol (répéter 3fois) en utilisant rotavapor a 55c après séchage sous la hotte. L'extrait obtenu pèse 18g.

### **II-3- Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes :**

Cette étape du travail a été réalisée au niveau du laboratoire de Biochimie du CRBt (Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine).

#### **II-3-1- Dosage des polyphénols totaux :**

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).

#### **a- Principe :**

Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

#### **b- Préparation des solutions :**

- Préparation de Carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) à 7,5% :

7,5 grammes de  $Na_2CO_3$  et sont dissouts dans 100 ml d'eau distillé.

- 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)

- Préparation de Folin- Ciocalteu (FCR) dilué 10fois :

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

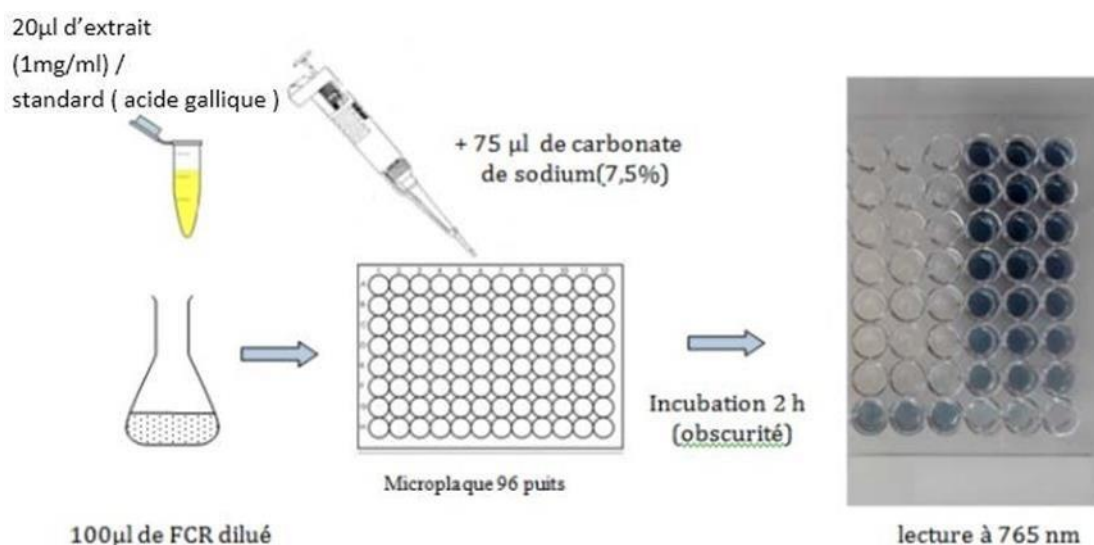
## Materiels et methodes

- 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 S1 (0,2mg/ml).

### c- Procédure :

Dans une microplaque de 96 puits: 20 µl d'extrait de plante + 100µl de FCR dilué (1 :10) + 75 µl de carbonate de sodium (7,5%) et 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.



**Figure 16 :** Dosage des polyphénols totaux

### II-3-2- Dosage des flavonoïdes :

#### a- Principe :

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.

#### b- Préparation des solutions :

- Pour 1 M Potassium acétate ( $CH_3COOK$ ) on dissout 9.80 grammes de ( $CH_3COOK$ ) dans 100 ml d'eau distillé pour obtenir la solution S1
- Pour 10% nitrate d'aluminium ( $Al(NO_3)_3, 9H_2O$ ) 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 (S2).

## Materiels et methodes

---

### c- Procédure :

50µl (S2) (extrait) + 130 µl (MeOH) +10 µl (S1) (CH<sub>3</sub>COOK) + 10 µl (Al (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 9H<sub>2</sub>O) et attendre 40 mn + lecture à 415 nm. Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50µl extrait + 150µl méthanol).

### II-4- Evaluation de l'activité Antioxydante :

Cette étape du travail a été réalisée au niveau du laboratoire de Biochimie du CRBt (Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine).

Il existe plusieurs méthodes pour déterminer l'activité antioxydante. Dans cette étude, les propriétés antioxydantes de l'extrait méthanolique de *Juniperus oxycedrus* L. a été testé par quatre méthodes: piégeage du radical libre DPPH, méthode CUPRAC, méthode de Galvinoxyl radical (GOR) scavenging assay , méthode de ABTS scavenging activity.

Tous ces méthodes ont été réalisées sur microplaque et leur lecture spectrophotométrique était faite à l'aide d'un lecteur de microplaque.

#### II-4-1- 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, 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 ½ ) de l'échantillon en ordre décroissant comme suit :

**Tableau 6 :** Concentrations de l'échantillon pour une solution mère de 4mg/ml.

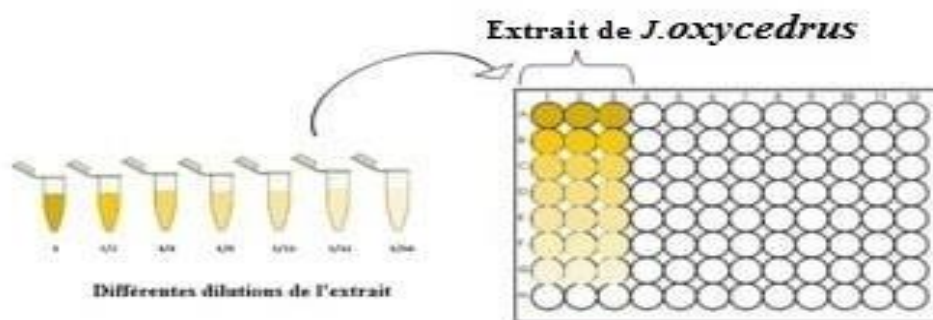
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Concentration µg/ml	800	400	200	100	50	25	12.5

**Tableau 7 :** Concentrations de l'échantillon pour une solution mère de 2mg/ml.

	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Concentration µg/ml	400	200	100	50	25	12.5	6.25

**Tableau 8 :** Concentrations de l'échantillon pour une solution mère de 0,25 mg/ml.

		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Concentration µg/ml	125	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78

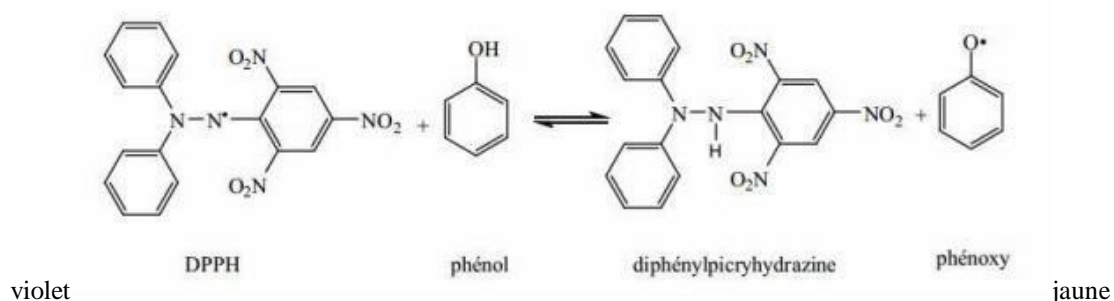


**Figure 17 :** Représentation schématique de la dilution en série.

### II-4-2- Test du DPPH :

#### a- Principe :

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

### b- Procédure :

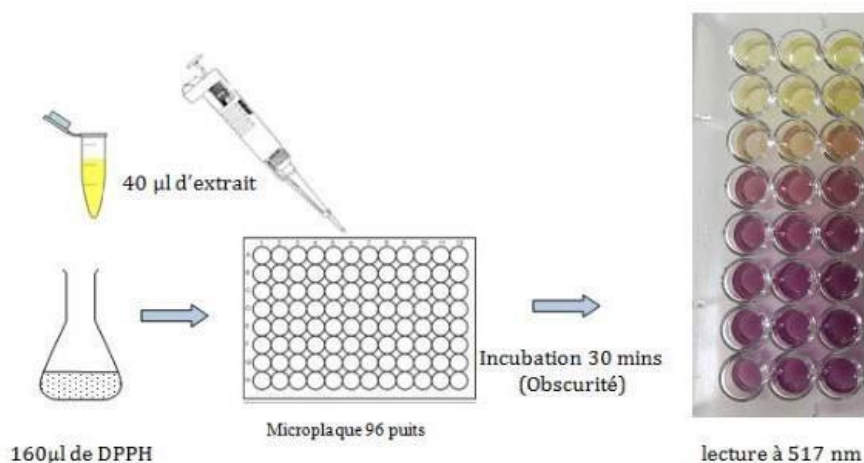
Cette activité est déterminée selon la méthode de (Blois 1958). Un volume de 40  $\mu\text{L}$  de différentes concentrations de chaque échantillon ainsi que l'antioxydant standard BHT (Butylhydroxytoluène), est déposé en triplicata sur une microplaque à 96 puits, en ajoutant sur chaque puits un volume 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



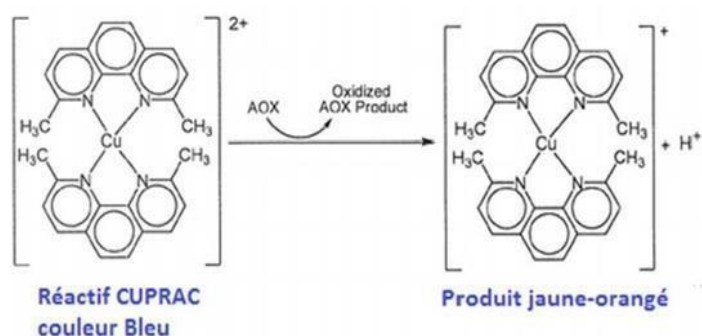
**Figure 19** : Procédure de test DPPH



### II-4-3- Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC) :

#### a- Principe :

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) 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. C'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).



**Figure 20 :** Réduction du complexe chromogène de  $\text{Cu}^{2+}$ -Nc

#### b- 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  $\mu\text{l}$  Cu (II) (10 mM), 50  $\mu\text{l}$  neocuprine (7,5 mM), et 60  $\mu\text{l}$  de solution tampon  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (1 M, pH = 7,0). Différentes concentrations d'extrait ont été ajoutées au mélange initial afin de rendre le volume final de 200  $\mu\text{l}$ . 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 ( $\mu\text{g} / \text{ml}$ ) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

#### II-4-4- Méthode de ABTS scavenging activity :

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de (Re et *al.*, 1999). A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ : les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16H ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (Ethanol ou  $\text{H}_2\text{O}$ ) à  $0.700 \pm 0.020$  à 734 nm avant l'usage.

## Materiels et methodes

---

(ABTS+) → 19,2 mg (7 mM) ABTS + 5 ml H<sub>2</sub>O + 3,3 mg (2.45 mM) (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) +5 ml H<sub>2</sub>O+ attendre 16 heures à l'abri de la lumière. On met 160 µl (ABTS+) et 40 µl (extrait) et on attend 10 mn après la lecture à 734 nm.

### II-4-5- Méthode Galvinoxyl radical (GOR) scavenging assay:

L'activité Galvinoxyl radical (GOR) scavenging assay est déterminée par la méthode décrite par : (Shi et *al.*, 2001). On met 40 µl (extrait) et 160 µl (0,1 mM Galvinoxyl) (4 mg dans 100 ml MeOH) après incubation 120 mn puis la lecture à 428 nm.

### II-5- L'activité anti-enzymatique :

Cette étape du travail a été réalisée au niveau du laboratoire de Biochimie du CRBt (Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine).

On a réalisé le test de l'activité anti Anticholinesterase par le l'évaluation de l'inhibition de Acetylcholinesterase et butyrylcholinesterase.

L'activité anticholinesterase est déterminée par la méthode de (Ellman et *al.*, 1961).

#### a- Préparation des solutions :

##### •Solution tampon :

1- pour V1 on met 8,890 g de (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2H<sub>2</sub>O) et 500 ml de H<sub>2</sub>O

2- pour V2 on met 1,56 g de (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2H<sub>2</sub>O) et 100 ml de H<sub>2</sub>O

V1 +V2 → Solution Tampon comme le montre le tableau suivant

On ajoute du NaOH pour augmenter la valeur du PH

PH	5,8	6,2	6,4	6,6	6,8	7	7,2	7,4	7,6	7,8	8
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (ml)	92	81,5	73,5	62,5	51	39	28	19	13	8,5	5,3
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (ml)	8	18,5	26,5	37,5	49	61	72	81	87	91,5	94,5

##### • DTNB (5,5 -Dithiobis (2-nitro-benzoic acid)) Solution:

On met 16 mg DTNB et 1 ml (PH=7) et on rajoute 7,5 mg NaHCO<sub>3</sub> et 1 ml (PH=7) et 2 ml (PH=7) et 4 ml (PH=8) pour obtenir volume total 8 ml

##### • ACI (Acetylthiocholine iodide) substrate Solution:

On met 16 mg ACI et 4 ml H<sub>2</sub>O et 4 ml Tampon (PH =8)

## Materiels et methodes

---

- **BuCl (S-Butyrylthiocholine iodide) substrate Solution:**

On met 4 mg BuCl et 4 ml H<sub>2</sub>O et 4 ml Tampon (PH =8)

**b- Préparation des enzymes :**

- **AChE Solution :**

On met 0,2 mg AChE et 4 ml (PH=8) pour donner la solution A après on met 20 µl de la solution A dans 20 Eppendorf, On prend un seul Eppendorf qui contient 20 µl de la solution A et on ajoute 3 ml de PH = 8 + contrôlé l'absorbance à 412 nm qui doit être entre 0.4-0.5.

- **BChE Solution :**

On met 0,2 mg AChE +et 1 ml (PH=8) pour donner la solution A après on met 20 µl de la solution A dans 20 Eppendorf, On prend un seul Eppendorf qui contient 20 µl de la solution A et on ajoute 2 ml de PH = 8 + contrôlé l'absorbance à 412 nm qui doit être entre 0.4-0.5.

**c- Procédure :**

150 µL of 100 mM sodium phosphate buffer (pH 8.0) et 10 µL d'extrait solution dissous dans l'éthanol a différentes concentrations et 20 µL AChE ( $5.32 \times 10^{-3}$  U) ou BChE ( $6.85 \times 10^{-3}$  U) solution+ incubé a 25°C pendant 15 mn et 10 µL of DTNB (0.5 mM) et 10 µL of acetylthiocholineiodide (0.71 mM) ou 10 µL of butyrylthiocholinechloride (0.2 mM) après la lecture à 412 nm, à 0 mn et 15 mn

Le pourcentage d'inhibition d'AChE ou BChE enzymes est déterminé par rapport au blanc (éthanol avec le phosphate buffer pH 8) par la formule  $(E - S) / E * 100$ .

E : l'activité de l'enzyme sans extrait / S : l'activité de l'enzyme avec l'extrait

Le Galantamine est utilisé comme référence.

### **III- Activité antifongique :**

Cette étape du travail a été réalisée au niveau du laboratoire de Mycologie du CRBt (Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine).

#### **III-1- Souches fongiques :**

Une espèce de champignon phytopathogène a été fournie au niveau du laboratoire de mycologie du CRBt de Constantine : *Fusarium oxysporum*. Les souches de lycopersici

L'inhibition la croissance mycélienne de ces champignons par nos extraits végétaux a été testée.

## Materiels et methodes

---

L'activité inhibitrice des différents composés, sur la croissance du mycélium des agents phytopathogènes, est déterminée en mesurant la croissance radiale du champignon sur un milieu PDA (pomme de terre, dextrose, gélose) contenant le complexe à tester.

### III-2- Préparation du milieu de culture :

On a préparé le milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar)

Sur une plaque chauffante en fait bouillir 340 grammes de la pomme de terre dans 1500 ml d'eau distillée à 400 C° pendant 30 minutes. Une filtration est faite pour enlever la pomme de terre et récupérer l'eau.



**Figure 21** : Préparation du milieu de culture.

Dans un bécher on a ajouté 34 g d'agar sur l'eau de pommes de terre avec agitation. On a ajusté avec la chaleur pour éviter les grumeaux et remplir avec le reste de 200 ml d'eau distillée et bien mélanger le tout.

On a versé 100 ml de la solution obtenue dans des Erlenmeyer et mise dans l'autoclave à 121 C° pendant 30min à une pression de 1,2 bar pour la stérilisation. On a laissé refroidir jusqu'à 55 C° pour éviter la condensation de vapeur.

On obtient donc 17 Erlenmeyers remplis de 100 ml de milieu de culture préparé est prêt pour être utilisé.

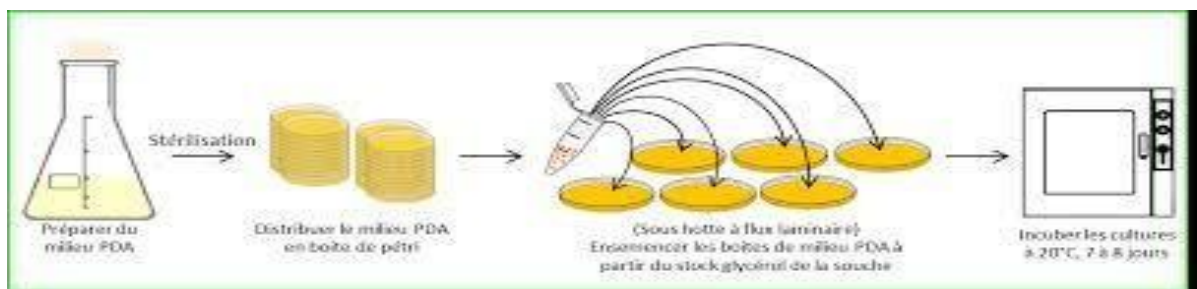


**Figure 22 :** Le milieu de culture après stérilisation

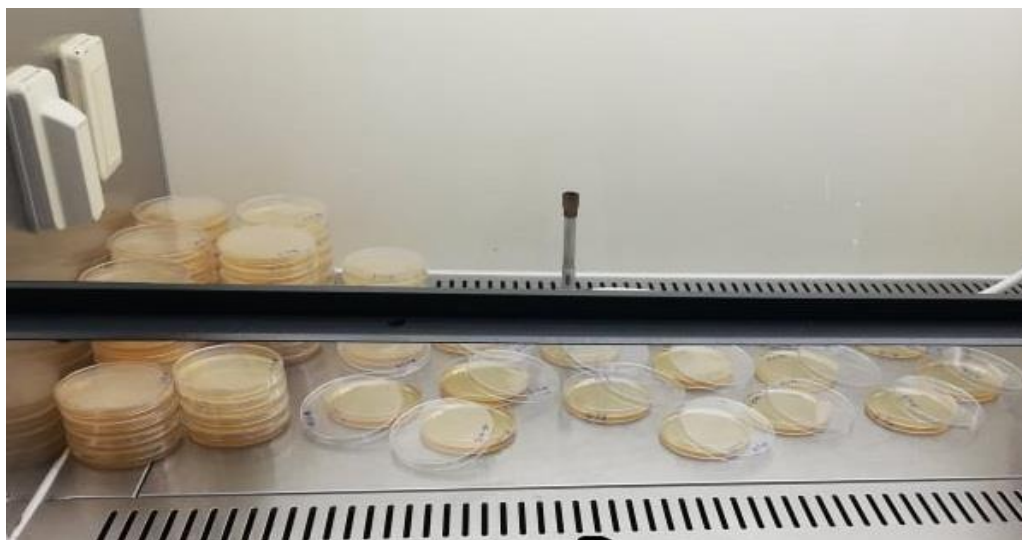
### III-3- Ajout des extraits végétaux :

Un volume de 1 ml de solution de DMSO contenant 1 , 2 , 4 , 8 , 16 mg de l'extrait a été ajouté à 100 ml de milieu PDA à 60 C°, préalablement stérilisé puis réparti dans 4 boîtes de Pétri. De 1 ml de DMSO a été ajouté à 100 ml de milieu PDA et a été considéré comme un contrôle positif. Le contrôle négatif contient le support PDA sans aucun autre produit (Song et al., 2004).

On a laissé refroidir le milieu de culture mélangé à l'extrait dans les boîtes pétri jusqu'au où il devient solide.



**Figure 23 :** Le coulage des boîtes de Pétri avec le milieu de culture et ajout des extraits végétaux.



**Figure 24** : Solidification du milieu de culture mélangé à l'extrait sous haute.

### **III-4- Culture de la souche fongique :**

Un disque de 5 mm de diamètre provient d'une jeune culture fongique et est déposé de manière aseptique au centre de la boîte de Pétri contenant le milieu PDA et le complexe à tester (extrait chloroformique, extrait butanolique et extrait d'acétate d'éthyle). L'expérience est répliquée 4 fois pour chaque traitement avec des concentrations de 1mg, 2mg, 4mg, 8mg, 16mg.

On a obtenu à la fin 68 boites de pétri fermer et protéger avec du papier film et mis dans l'étuve. Les boites ont été incubées 7 jours à 28 ° C.

### **III-5- Lecture des résultats :**

La croissance mycélienne de l'agent phytopathogène est mesurée à l'échelle millimétrique à l'aide d'une règle. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition de la croissance de chaque champignon pour chaque complexe, par rapport au diamètre moyen des colonies de chaque milieu cultivé sans contrôle. Ainsi, l'activité d'inhibition a été exprimée en pourcentage et a été calculée selon la formule suivante :

## Materiels et methodes

---

$$I = \frac{C - T}{C} \times 100$$

(Dennis et al., 1971).

- **I** = taux d'inhibition en%
- **C** = croissance radiale de l'agent phytopathogène en mm sur milieu PDA avec DMSO (témoin).
- **T** = la croissance radiale, en mm, de l'agent phytopathogène sur milieu PDA contenant le complexe à tester.

**Partie 3 :**  
**Résultats et**  
**Discussion**



## Résultats et discussion

### Résultats et discussion :

#### I- Etude phytochimique :

##### I-1- Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes :

###### a-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.

###### b-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 ( $\mu\text{g}$  EAG/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

(Figure25)

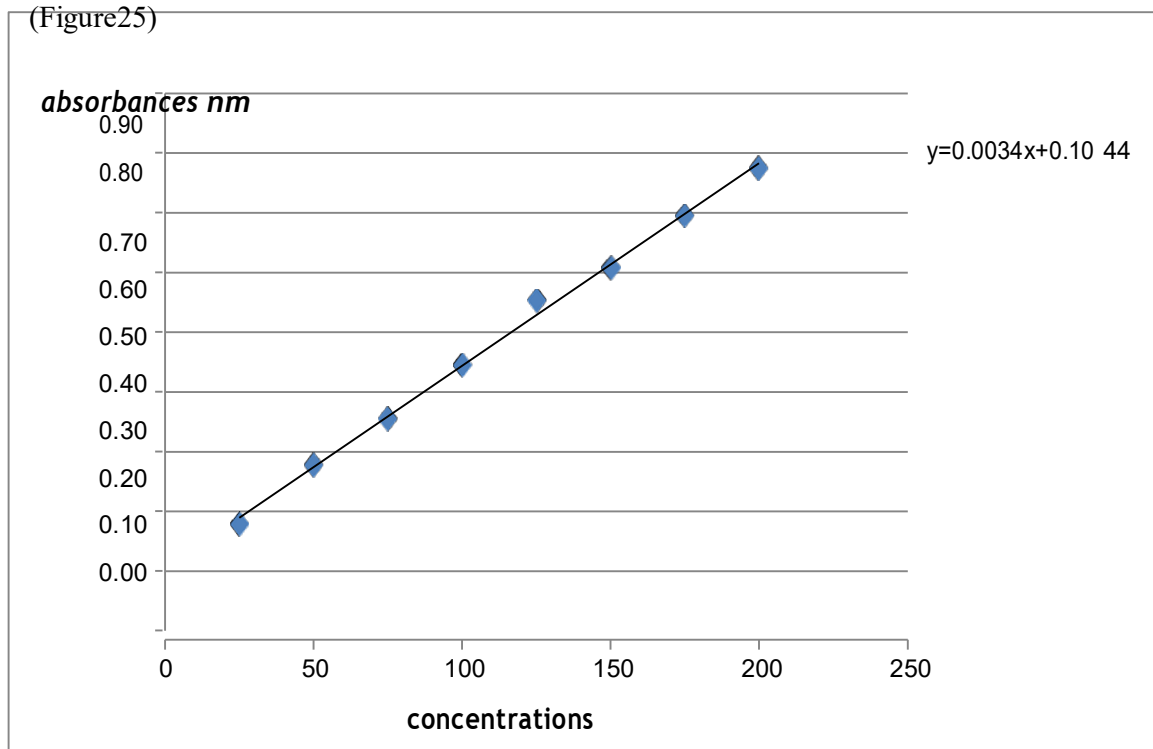
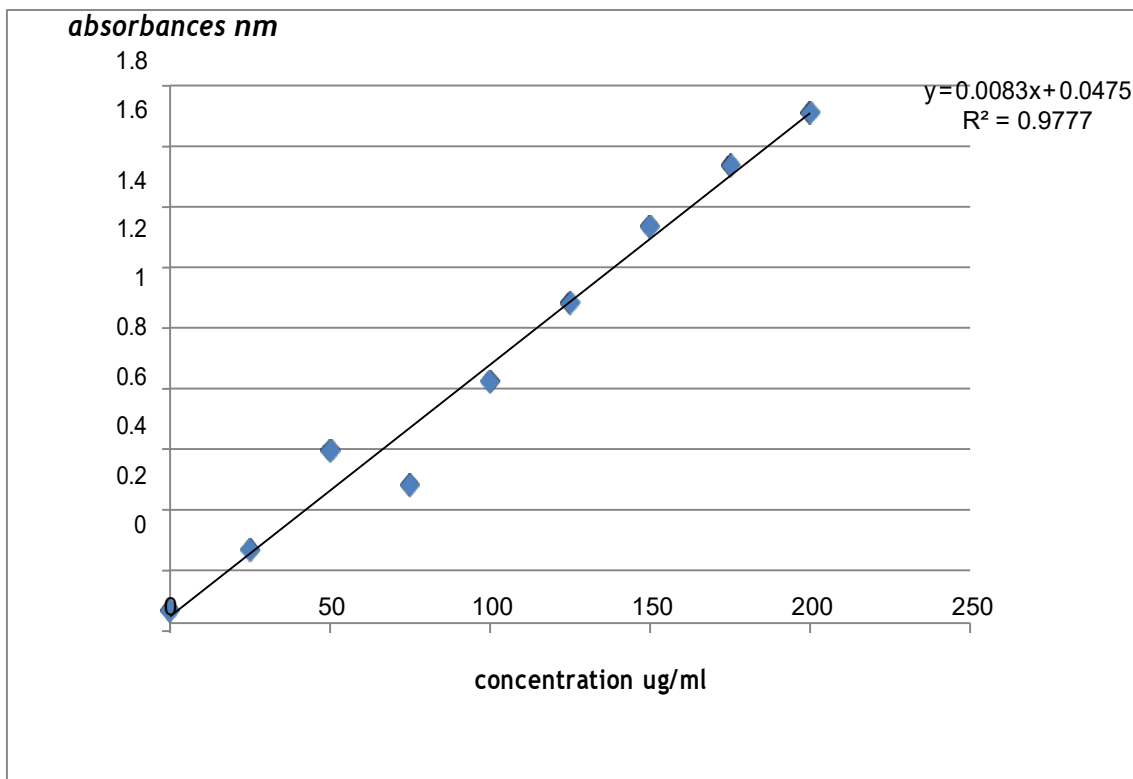


Figure 25 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols

## Résultats et discussion

### · Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes :

Le taux des flavonoïdes est calculé 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 ( $\mu\text{g}$  EQ/mg). La formule de la régression linéaire de cette courbe est de  $y=0,0048x0$  avec un coefficient de détermination  $R^2$  égal à 0,9777. (Figure 26)



**Figure 26 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

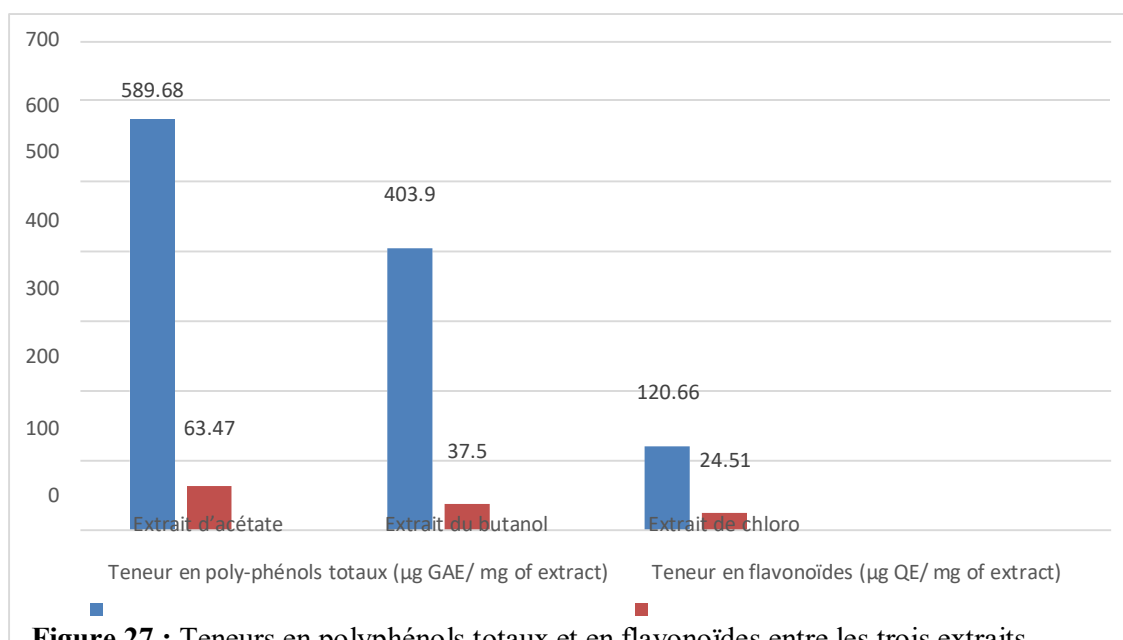
## Résultats et discussion

### b- Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes :

Les extraits ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre (lecteur de microplaque). Les valeurs exprimées représentent la moyenne des trois répétitions. Les contenus en polyphénols et en flavonoïdes sont calculés et représentés dans le tableau ci-dessous et illustrés graphiquement

**Tableau 9:** Taux de polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits de feuilles de *Juniperus oxycedrus*

Extrait	Polyphénols totaux ( $\mu\text{g GAE/ mg}$ )	Flavonoïdes ( $\mu\text{g QE/ mg}$ )
Phase acétate	589,68	63,47
Phase butanol	403,90	37,5
Phase chloroforme	120,66	24,51



**Figure 27 :** Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes entre les trois extraits foliaires de *J. oxycedrus*

## Résultats et discussion

---

Les résultats du dosage des polyphénols totaux présentés dans la figure indiquent que la concentration moyenne est de (589.68  $\mu\text{g}$  EAG/mg) enregistrée au niveau d'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *J. oxycedrus*.

Les résultats du dosage des flavonoïdes ont permis d'enregistrer des teneurs de (63.47  $\mu\text{g}$  EQ/mg) 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.

Nos résultats sont proches à ceux trouvés dans l'étude de (Soltani et *al.*,2017) qui ont analysé la teneur de l'extrait méthanolique 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 extraits en flavonoïdes est (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 *JuniperusPhoenicea.L* en Polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux, indique que les teneurs obtenues sont (extrait méthanolique : 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 g glucose.

### **I -2-Activité Antioxydante :**

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

#### **I-2-1- Activité antiradicalaire par le test DPPH :**

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

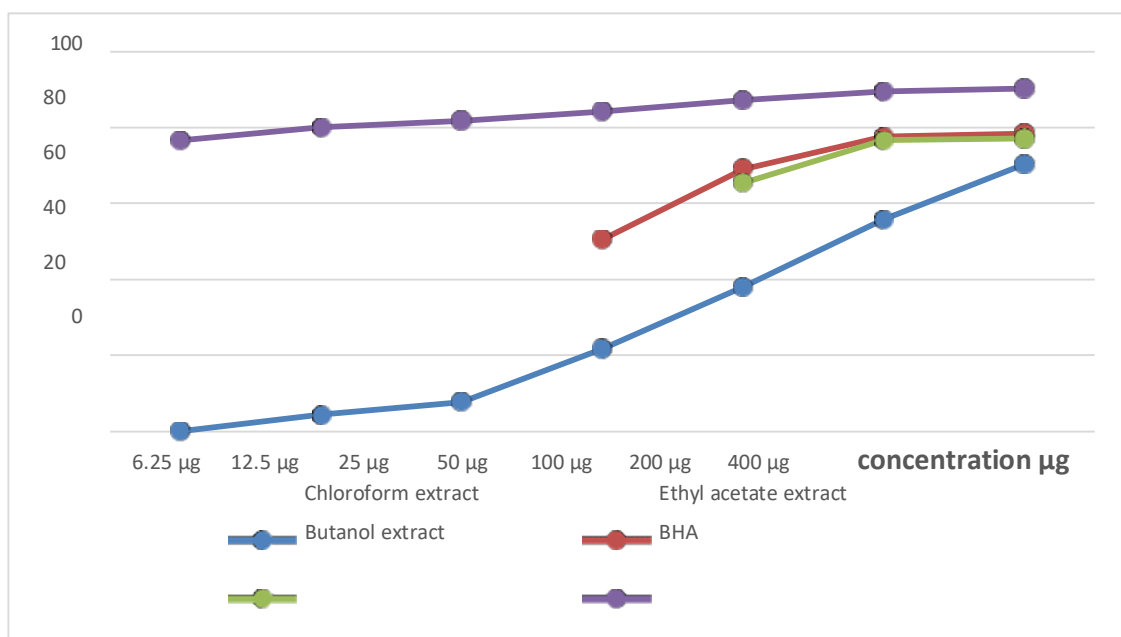
## Résultats et discussion

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 10** : Résultats de l'activité antiradicalaire DPPH et Pourcentage d'inhibition des extraits de feuilles de *J. oxycedrus*

Extraits	% Inhibition							
	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	IC <sub>50</sub> µg/mL
<b>Phase Chloroforme</b>	NA	4.34±2.17	7.67±1.64	21.64±2.26	37.99±3.54	55.64±1.00	70.25±1.88	169,23±7.14
<b>Phase Acétate</b>	NA	NA	NA	50,48±4.28	69,07±3.15	77,46±0.89	78,33±17.65	88,70±0.41
<b>Phase butanol</b>	NA	NA	NA	NA	65,35±5.14	76,67±0.68	77,06±0.59	<100
<b>BHT</b>	49,09±0.76	72,63±2.06	88.73±0.89	94.00±0.31	94.97±0.08	95.38±0.41	95.02±0.23	12.99±0.41

NA : Non absorbance.



**Figure 29** : Courbes d'étalonnage des résultats du DPPH.

## Résultats et discussion

---

### . Détermination de l'IC<sub>50</sub> :

Les résultats obtenus ont permis également de déterminer la valeur de l'IC<sub>50</sub> (la valeur qui correspond à 50% d'inhibition) afin de pouvoir évaluer l'activité de l'extrait comparé au standard. Les valeurs de l'IC<sub>50</sub> de l'extrait ainsi que celle de BHT sont représentées sous forme de courbes.

L'IC<sub>50</sub> 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 IC<sub>50</sub> 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 Chloroformique possède des propriétés antioxydantes faibles (IC<sub>50</sub>=169,23±3,69 µg/mL) en le comparant au standard le BHT (IC<sub>50</sub>=12.99±0.41µg/mL). (Medini et *al.*,2013) ont montré que les extraits méthanoliques des feuilles des *Juniperus phoenicea* L. obtenues de deux différentes régions possèdent une activité oxydante moins actives que celle de la vitamine C ( standard ) ( IC<sub>50</sub> = 20.38 µg/ml , IC<sub>50</sub> = 08.77 µg/ml , IC<sub>50</sub> = 03.1 µg/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 (IC<sub>50</sub> = 28.0 ± 0.1µg/mL ; 18.1 ± 0.2 µg/ml)

## Résultats et discussion

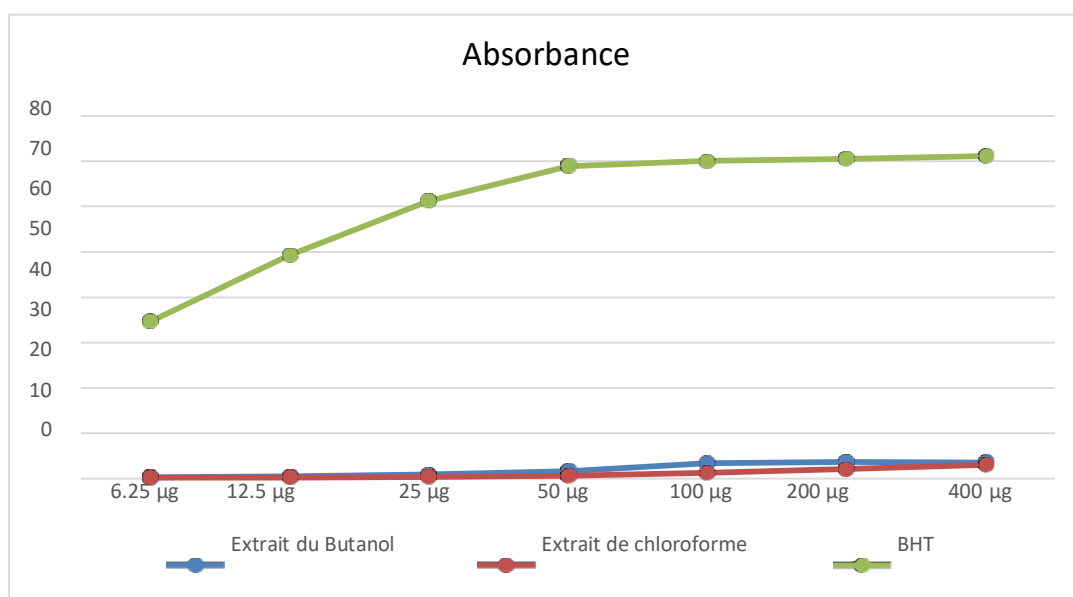
### I-2-2-L'activité Galvinoxyl radical (GOR) :

L'activité antioxydante est traduite par les valeurs des absorbances à différentes concentrations.  $A_{0,5}$  est la concentration correspondant à une absorbance de 0,5, cette valeur est comparée à celle du standard (BHT)

Les résultats de l'activité Galvinoxyl radical (GOR) sont représentés par (Tableau 11)

**Tableau 11** : Résultats de l'activité Galvinoxyl radical (GOR) et pourcentage d'inhibition des trois extraits foliaires de *J. oxycedrus*.

Extraits	% Inhibition							
	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	CI <sub>50</sub> µg/mL
Phase butanol	29.89±3.48	55.72±0.96	75.16±0.94	77.22±0.05	79.57±0.36	87.26±0.74	92.54±0.78	12.02±1.35
Phase chloroforme	2.20±3.79	8.84±4.99	16.70±2.70	28.65±1.72	51.02±1.62	71.43±2.96	83.36±1.30	98.48 ±7.40
	0.7812 µg	1.5625 µg	3.12 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50µg	
Phase acetate	NA	38.57±8.23	61.35±2.59	64.089±2.34	72.03±2.86	77.75±1,18	77.85±4.37	19.06±0.88
BHT	34,66±2.62	49,23±0.77	61,29±0.69	68,89±0.26	70,02±0.50	70,49±0.55	71,13±0.74	3.32±0,18
BHA	25.99±2.56	39.15±0.88	54.16±0.27	65.02±1.26	70,19±0.51	70.32±0.65	70.60±0.10	5.38 ±0.06



**Figure 30** : Courbes d'étalonnage des résultats du GOR

## Résultats et discussion

Les résultats montrent une activité antioxydante intéressante des phases butanol et acétate avec  $IC_{50}=12,02 \mu\text{g/ml}$  et  $IC_{50}=19,06 \mu\text{g/ml}$  respectivement. La phase chloroforme présente la plus faible activité antioxydante. La méthode GOR est très récente, et notre étude est parmi les premières à l'utiliser pour estimer le pouvoir antioxydant

### I-2-3- Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

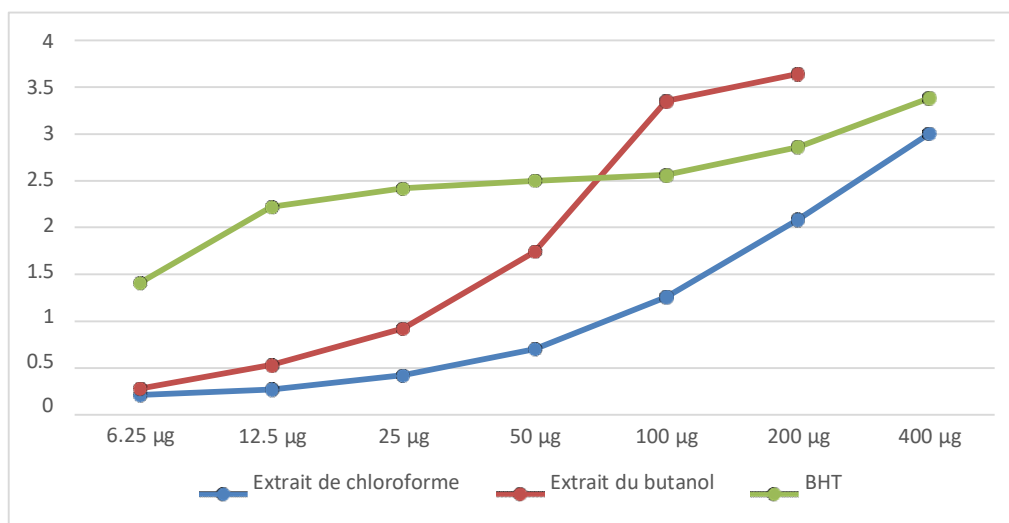
**Tableau12 :** Résultats de l'Activité (CUPRAC) et les absorbances des trois extraits foliaires de *J. oxycedrus*.

. De ce fait, il n'y a pas d'études préalables sur notre espèce.

Extraits	Absorbances							
	6.25 $\mu\text{g}$	12.5 $\mu\text{g}$	25 $\mu\text{g}$	50 $\mu\text{g}$	100 $\mu\text{g}$	200 $\mu\text{g}$	400 $\mu\text{g}$	$A_{0.50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>Extrait chloroforme</b>	0.21 $\pm$ 0.01	0.27 $\pm$ 0.02	0.42 $\pm$ 0.02	0.7 $\pm$ 0.05	1.26 $\pm$ 0.03	2.08 $\pm$ 0.02	3 $\pm$ 0.15	32.45 $\pm$ 2.82
<b>Extrait du butanol</b>	0.28 $\pm$ 0.00	0.53 $\pm$ 0.01	0.92 $\pm$ 0.01	1.74 $\pm$ 0.09	3.35 $\pm$ 0.04	3.64 $\pm$ 0.02	Sat	12.36 $\pm$ 0.28
	0.78125 $\mu\text{g}$	1.5625 $\mu\text{g}$	3.125 $\mu\text{g}$	6.25 $\mu\text{g}$	12.5 $\mu\text{g}$	25 $\mu\text{g}$	50 $\mu\text{g}$	$A_{0.50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>Extrait acétate</b>	0.13 $\pm$ 0.00	0.18 $\pm$ 0.01	0.34 $\pm$ 0.04	0.42 $\pm$ 0.01	0.78 $\pm$ 0.00	1,42 $\pm$ 0.12	2.23 $\pm$ 0.83	7.05 $\pm$ 0.24
<b>BHA<sup>b</sup></b>	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



## Résultats et discussion



**Figure 31 :** Courbes d'étalonnage des résultats CUPRAC.

Les résultats montrent une activité antioxydante importante des trois extraits, avec une valeur plus basse de  $A_{0,5}$  enregistrée pour la phase acétate (7.05 µg/ml), cette valeur est proche à celle donnée par les standards BHA et BHT (5, 35 µg/ml et 8,97 µg/ml respectivement)

D'autres espèces du genre *Juniperus* ont été testées pour leur pouvoir réducteur par la méthode CUPRAC. Par exemple, *Juniperus communis* a montré des résultats de 4.86 mg of Trolox équivalent (TE)/g (Assefa et al., 2018). Alors que l'aubier et le duramen de *Juniperus foetidissima* ont montré des résultats de ( $EC_{50} = 50.95$  mg/g, 88.65 mg/g) respectivement. (Özkan et al., 2013).

### I-2-4- Le test ABTS :

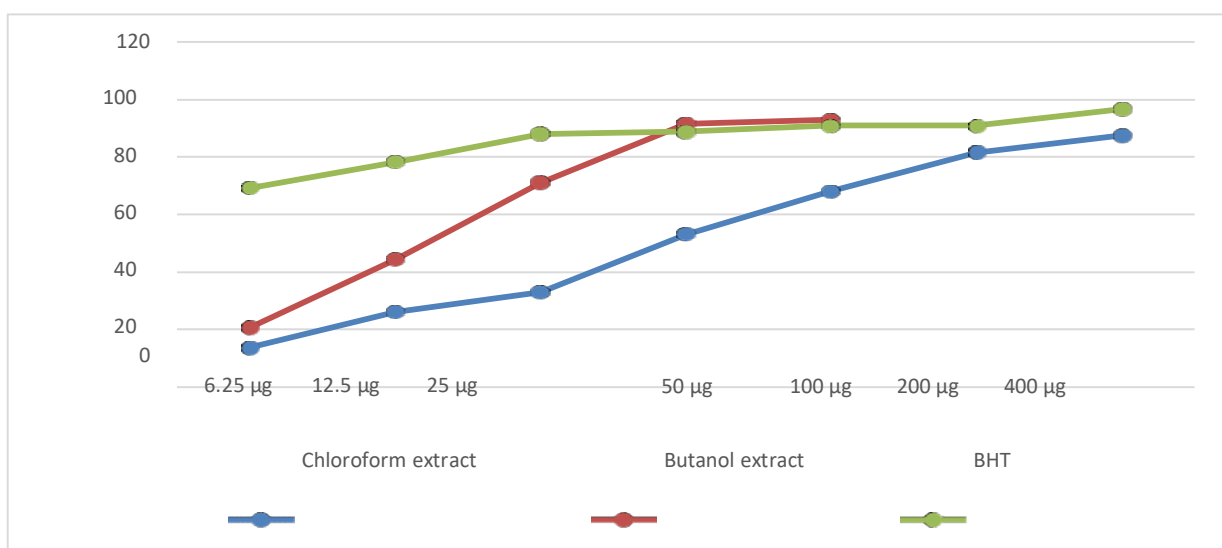
L'activité antioxydante des extraits a été également étudiée en utilisant l'ABTS. Ce dernier réagit avec le persulfate de potassium pour donner le radical ABTS.

La génération du radical avant l'ajout des extraits est nécessaire afin d'éviter l'interférence des composés dans la formation du radical ce qui conduit à une surestimation de la capacité antioxydante (Katalinic et al., 2006). L'ajout de l'extrait ou du BHA entraîne une décoloration de la solution indiquant l'existence d'une activité scavenger des échantillons. Après avoir mesuré l'absorbance à 734 nm.

## Résultats et discussion

**Tableau 13 :** Résultats de l'activité ABTS et Pourcentage d'inhibition des trois extraits foliaires de *J. oxycedrus*.

Extrait	% Inhibition							
	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	CI <sub>50</sub> µg/mL
<b>Extrait Chloroforme</b>	13.78±0.75	26.13±2.43	33.09±1.14	53.17±1.95	68.06±1.03	81.54±0.95	87.54±0.56	<b>46,36±2.01</b>
<b>Extrait Butanol</b>	20.74±3.77	44.42±1.03	71.13±3.46	91.64±0,19	92.99±0.25	Sat	Sat	<b>17,37±8.77</b>
	0.7812 µg	1.5625 µg	3.135 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	IC <sub>50</sub> µg/mL
<b>Extrait Acetate</b>	7.46±2.39	15.68±1.93	41.16±2.16	57.60±2.54	89.20±0.10	90.72±0.81	91.78±0.27	<b>4.81±0.35</b>
<b>BHA</b>	92.83±1.42	94.68±0.42	94.95±0.90	95.32±0.25	95.59±0.47	95.83±0.15	95.86±0.10	<b>1.81±0.10</b>



**Figure 32 :** Courbes d'étalonnage des résultats de l'ABTS.

## Résultats et discussion

---

D'après les résultats du tableau, nous constatons que l'extrait acétate possède des propriétés antioxydantes intéressantes ( $IC_{50} = 4.81 \pm 0.35 \mu\text{g/ml}$ ), proche à celle du standard le BHT ( $IC_{50} = 1.29 \pm 0.30 \mu\text{g/ml}$ ) alors que les résultats des deux autres extraits sont supérieurs à

Ceux du standard, la phase butanol avec  $IC_{50} = 17.37 \pm 8.77$  et le chloroforme avec  $IC_{50} = 46,36 \pm 2,01$ ).

D'après (Eljimli 2016), l'extrait de feuilles d'une autre espèce du genre *Juniperus* (*J. thurifera*) a été testé pour ses propriétés antioxydantes, la valeur de  $IC_{50}$  était de  $30.36 \pm 0.24 \mu\text{g/ml}$ .

### **I-3-Activité anti-enzymatique (Anti Alzheimer) :**

Les substances anticholinestérasiques sont des inhibiteurs d'une enzyme cholinestérase responsable de la dégradation de l'acétylcholine

La maladie d'Alzheimer est la forme de démence la plus fréquente chez les personnes âgées; elle représente environ 65 % des cas de démence. Le terme démence englobe, de façon bien générale, les problèmes de santé marqués par une diminution irréversible des facultés mentales. La maladie d'Alzheimer se distingue des autres démences par le fait qu'elle évolue graduellement et touche surtout la mémoire à court terme, dans ses débuts. Cependant, le diagnostic n'est pas toujours évident et il peut être difficile pour les médecins de différencier la maladie d'Alzheimer. Les médicaments prescrits dans le traitement de la maladie d'Alzheimer sont en majorité des inhibiteurs réversibles de l'enzyme qui régule la production d'acétylcholine dans certains neurones du cerveau en cause dans les démences séniles. Ces médicaments ont vocation à « recharger » le cerveau en acétylcholine, un médiateur qui joue un rôle clé dans ces démences.

## Résultats et discussion

### 1-3-1- Activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE) :

**Tableau 14** : Résultats de l'activité anti- acétylcholinestérase et pourcentage d'inhibition des trois extraits foliaires de *J. oxycedrus*.

Extraits	% d'inhibition							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	IC <sub>50</sub> µg/mL
Phase acetate	NA	NA	Na	NA	NA	NA	Na	/
Phase butanol	NA	NA	Na	NA	NA	NA	Na	/
Phase chloroforme	NA	NA	Na	NA	NA	NA	Na	/
Galantamine	35.93 ± 2.28	43.77 ± 0.00	68.50 ± 0.31	80.69 ± 0.41	85.78 ± 1.63	91.80 ± 0.20	94.77 ± 0.34	6.27±1.15

### 1-3-2- Activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase (BChE) :

**Tableau 15** : Résultats de l'activité anti- butyrylcholinestérase et pourcentage d'inhibition des trois extraits foliaires de *J. oxycedrus*.

Extraits	% d'inhibition							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	IC <sub>50</sub> µg/mL
Phase acetate	NA	NA	Na	NA	NA	NA	Na	/
Phase butanol	NA	NA	Na	NA	NA	NA	Na	/
Phase chloroforme	NA	NA	Na	NA	NA	NA	Na	/
Galantamine	35.93 ± 2.28	43.77 ± 0.00	68.50 ± 0.31	80.69 ± 0.41	85.78 ± 1.63	91.80 ± 0.20	94.77 ± 0.34	6.27±1.15

D'après les résultats qui sont négatifs, il n'y a pas une activité enzymatique à nos concentrations d'extrait.

Des recherches ont été faites ont montré, par un test β - carotène et acide linoléique, que des extraits à l'acétone de *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*, *J. sabina* et *J. excelsa*, et des extraits au méthanol de *J. phoenicea* et de *J. sabina* ont efficacement inhibé l'oxydation de l'acide linoléique. Les extraits à l'hexane de *J. oxycedrus* subsp.

## Résultats et discussion

---

### II-Activité antifongique :

On a essayé d'évaluer et de comparer l'activité contre le champignon : *Fusarium oxysporum*, de trois extraits alcooliques des feuilles de *Juniperus oxycedrus* L. Les résultats sont exprimés sous forme de pourcentage d'inhibition.

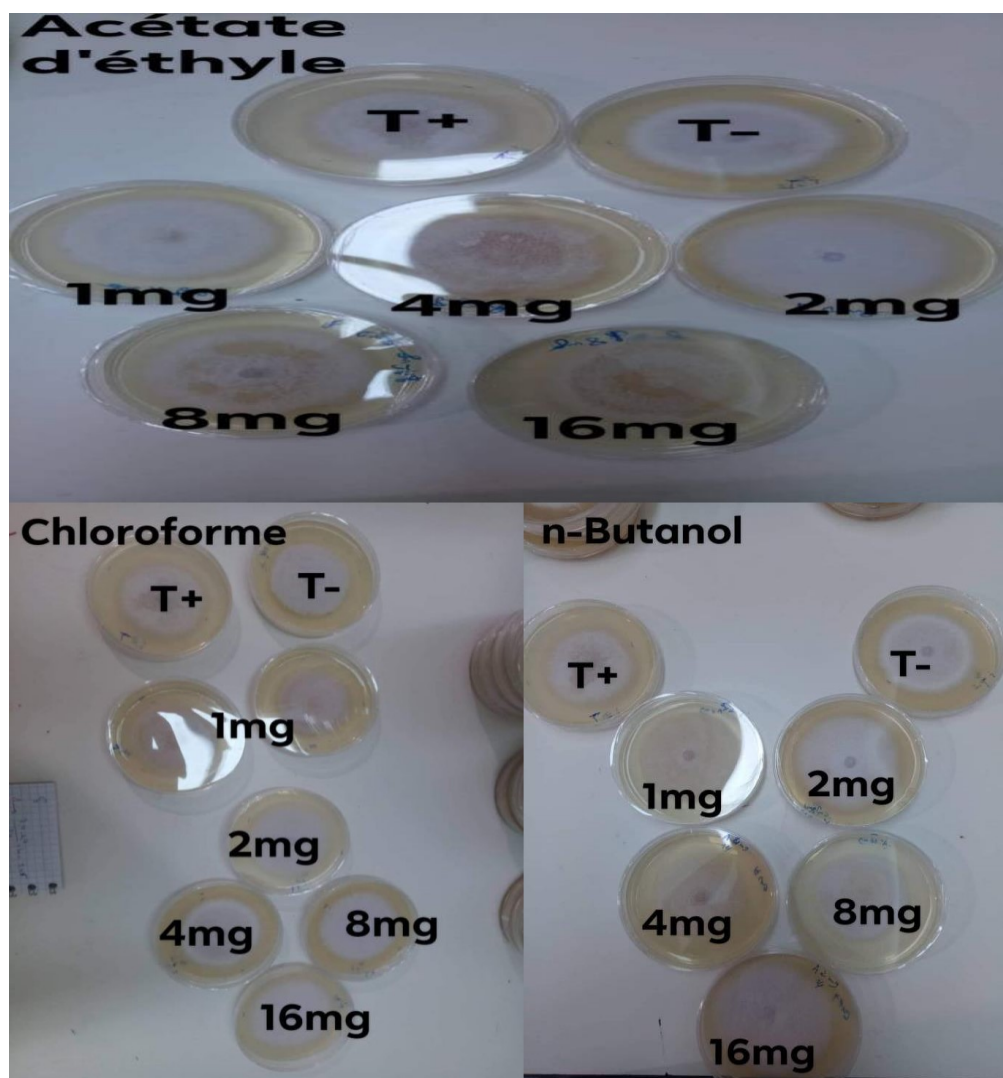


Figure 40 : Résultat de l'activité antifongique.

## Résultats et discussion

---

**Tableau16** : Résultats de l'activité antifongique des extraits foliaire de *J. oxycedrus*.

Concentrations	1mg	2mg	4mg	8mg	16mg	Témoin positif
Acétate	7.25%	7.15%	6.75%	6.70%	6.40%	7.40%
Butanol	7.10%	6.85%	6.82%	6.80%	6.75%	Témoin négatif
Chloroforme	6.70%	6.69%	6.65%	6.60%	6.55%	7.00%

Dans notre étude, l'expérience est faite avec des faibles concentrations 1mg, 2mg 4mg, 8mg, 16mg. Et les résultats ont démontré une activité fongique contre *Fusarium oxysporum* d'après le pourcentage d'inhibition.

En comparant les différents résultats obtenus, on observe que parmi les trois extraits (acétate, butanol, chloroforme) le meilleur résultat est celui de l'Acétate à la concentration 1 mg avec un PI de 7.25%.

Donc l'acétate n'a pas permis au champignon *Fusarium oxysporum* f. de se disperser sur le milieu PDA.

Des études récentes ont indiqué que les huiles essentielles isolées des feuilles de *J. oxycedrus* ont été testées pour leur activité antifongique contre neuf espèces fongiques importantes en agriculture. Ces résultats ont montré que l'huile réduisait de manière significative la croissance des espèces fongiques sur un très large spectre.

Les résultats obtenus confirment l'activité antifongique des huiles essentielles de conifères rapportée par d'autres rapports (Lis-Balchin, et *al.*, 1998

# **Conclusion générale et perspectives**

### Conclusion générale et perspectives

Ce travail nous a permis en premier lieu de maîtriser des techniques analytiques universelles tels que l'utilisation de la lecture spectrophotométrique des microplaques. Ces techniques nous ont permis une analyse des métabolites secondaires issus des feuilles de *Juniperus oxycedrus*. L'analyse ainsi que l'évaluation de leur potentiel antioxydant, antifongique et anti-enzymatique.

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes nous a permis d'évaluer la richesse de nos extraits en ces composés.

L'activité antioxydante des trois extraits des feuilles de notre espèce a été évaluée à différentes échelles par le test DPPH, GOR, ABTS, ainsi que le test de CUPRAC, ce qui nous a permis de confirmer leurs pouvoirs scavenger des radicaux libres. Cette activité est liée en grande partie à la composition de l'extrait et sa richesse en composés phénoliques et flavonoïdes.

Pour l'activité antifongique, les feuilles de *J. oxycedrus* L. ont été testées pour leur activité contre *Fusarium oxysporum*, qui a été significativement inhibé par nos extraits foliaires.

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
- Utilisant les extraits des autres parties de la plante.
- Réalissant des séparations chromatographiques pour quantifier et identifier les différentes molécules.
- Elargissant l'étude à d'autres espèces du genre *Juniperus*.



## Résumé :

Ce travail est consacré à l'étude phytochimique et l'évaluation de quelques activités biologiques de trois extraits : chloroformique, d'acétate d'éthyle et butanolique, obtenus des feuilles de l'espèce *Juniperus oxycedrus* L. de la famille des Cupressacées.

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes nous a montré une richesse de notre extrait en ces composés. La teneur en polyphénols totaux de l'extrait d'acétate est de 589.68 µg EAG/mg, alors que la teneur en flavonoïdes est de 63,47 µg QE/mg. Concernant la phase butanol, la teneur en polyphénols totaux est de 403,90 µg EAG/mg et celle des flavonoïdes est de 37.5 µg QE/mg. Pour la phase acétate, le taux de polyphénols totaux est de 120,66 µg EAG/mg, alors que celui des flavonoïdes est de 24.51 µg QE/mg.

Quatre méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante de l'espèce *Juniperus oxycedrus* L. Cette dernière a montré une bonne activité avec la méthode de DPPH et des activités modérées avec les tests de CUPRAC, ABTS et GOR.

L'activité anti Alzheimer a été évaluée par l'inhibition de enzymes acétylcholinestrase et buturylcholinestrase. A nos concentrations d'extrait, les résultats étaient négatifs.

Les extraits foliaires de *J. oxycedrus* L. ont été testés pour leur activité antifongique et les résultats ont révélé une réduction significative de la croissance de *Fusarium oxysporum* sur un très large spectre.

## Mots clés :

*Juniperus oxycedrus* L. - activité antioxydante- activité anti Alzheimer- activité antifongique.

## **Abstract**

This work is devoted to the phytochemical study and the evaluation of some biological activities of the three chlorformic extracts and of ethyl and butanolic acetate obtained from the leaves of the *Juniperus Oxycdrus* L. plant of the Cupressaceae family.

The phytochemical tests of the three extracts allowed us to reveal the presence of: polyphenols and flavonoids

. The determination of the total polyphenols and flavonoids allowed us to evaluate the richness of our extract in these compounds: the total polyphenols content in acetate extract is (589.68  $\mu\text{g}$  EAG / mg). While the content of flavonoids is (63.47  $\mu\text{g}$  EQ / mg), the total polyphenols content in n-butanol extract is (403.90  $\mu\text{g}$  EAG / mg). While the flavonoid content is (37.5  $\mu\text{g}$  EQ / mg), the content is (120.66  $\mu\text{g}$  EAG / mg). While the flavonoid content is (24.51  $\mu\text{g}$  EQ / mg).

Four methods were used to evaluate the antioxidant activity of *Juniperus oxycdrus* L. The latter showed good activity with the DPPH method. And moderate activities with CUPRAC, GOR and ABTS tests.

Anti-Alzheimer's activity was controlled by the inhibition of acetylcholinestrerase and buturylcholinestrerase enzymes. At our extract concentrations, the results were negative.

The leaves of *J. oxycdrus* L. were tested for their antifungal activity and were considered to significantly reduce the growth of the fungal species over a very broad spectrum.

### **Keywords:**

*Juniperus oxycdrus* L.- Antioxidant Activity- Anti Alzheimer Activity- Antifungal Activity

## ملخص

يكرس هذا العمل للدراسة الكيميائية النباتية وتقييم بعض الأنشطة البيولوجية لمستخلصات التي تم الحصول عليها من أوراق نبات *Juniperus oxycedrus* L. لعائلة Cupressaceae.

لقد سمحت لنا الاختبارات الكيميائية النباتية للعناصر الإضافية الثلاثة بالكشف عن وجود: البوليفينول والفلافونويد . سمح لنا تحديد مجموع البوليفينول والفلافونويد بتقييم ثراء مستخلصنا في هذه المركبات: إجمالي محتوى البوليفينول في مستخلص الأسيتات هو (589.68 ميكروغرام EAG / ملغم). في حين أن محتوى الفلافونويد هو (63.47 ميكروغرام مكافئ / ملغم) ، فإن إجمالي محتوى البوليفينول في مستخلص n-بيوتانول هو (90.403 ميكروغرام EAG / ملغم). في حين أن محتوى الفلافونويد هو (37.5 ميكروغرام مكافئ / ملغم) ، فإن المحتوى (120.66 ميكروغرام EAG / ملغم). في حين أن محتوى الفلافونويد هو (24.51 ميكروغرام مكافئ / ملغم).

تم استخدام أربع طرق لتقييم نشاط مضادات الأكسدة في *Juniperus oxycedrus* L. وأظهر الأخير نشاط جيد مع طريقة DPPH. وأنشطة معتدلة مع اختبارات Cuprac و GOR.ABTS.

غياب نشاط إنزيم مضادات الكولين

تم اختبار أوراق *J. oxycedrus* L. لنشاطها المضاد للفطريات ، وتم اعتبارها تفضل بشكل كبير من نمو الأنواع الفطرية على نطاق واسع جدًا

كلمات مفتاحية:

*Juniperus oxycedrus* L. - نشاط مضاد للأكسدة - نشاط إنزيمي - نشاط مضاد للفطريات.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques:

- **Adams, R.P. (2014).** Junipers of the World: the genus *Juniperus*. Trafford Publishing Co., Bloomington.
- **Adjanooum J.E.; Aké Assi L.; Floret J J.; Guinko S.; Koumaré M.; Ahyi A.; M.R.; Raynal J. (1979).** Médecine traditionnelle et Pharmacopée Contribution aux études ethnobotaniques et florestiques au Mali. ACCT, Paris. 291 P.
- **Akkol E.K., Guvenc A. and Yesilada, E., (2009).** A comparative study on the antinociceptive and anti-inflammatory activities of five *Juniperus taxa*. Journal of Ethnopharmacology. 125: 330-336.
- **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.
- **Ayad, R. (2008).** recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique, université Mentouri Constantine. p 35-39, 40, 47.
- **Bahorun, T. (1997).** Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council Mauritiias. p83-94.
- **Bisoli, E., Garcez., W. S., Hamerski, L., Tieppo, C., & Garcez, F. R. (2008).** Bioactive pentacyclic triterpenes from the stems of *Combretum laxum*. Molecules, 13(11), 2717- 2728.
- **Blois M.S., (1958)** Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. Nature, 4617 (181): 1119-1200.
- **Bouhlal K., Meynadier J. M., Peyron J. L., Peyron L., Marion J. P., Bonetti G. et Meynadier J. (1988).** Le cade en dermatology. Parfums, Cosmétiques et Aromes. 83: 73–82.
- **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Lavoisier.
- **Brus R., Ballian D., Zhelev P., Pandz M., Bobinac M., Acevski J., Raftoyannis Y. and Jarni K. (2011).** Absence of geographical structure of morphological variation in *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *Oxycedrus*. European Journal of Forest Research. 130
- **Chaouche T., M. Haddouchi F. Ksouri R., Medini F. and Atik-Bekara F. (2013).** In vitro evaluation of antioxidant activity of the hydro-methanolic extracts of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. Phytothérapie. 11: 244–249.

- **Chebli, L. (2006).** Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia* : études cinétique, structurale et conformationnelle, Procédés Biotechnologiques et Alimentaires. Institut national polytechnique de lorraine.
- **Debazac, E.F. (1991).**— Manuel des conifères. 2e éd., ENGREF, Nancy.
- **Dennis C, Webster J (1971).** Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* II. Prod
- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidai N.( 2006)** Antioxydant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry, 97, 654-660. Ed. Fabre S A, Lausanne, Suisse, 253 P.
- **Edeas, M. (2007).** Les polyphénols et les polyphénols de thé. Phytothérapie, 5(5), 264-270.ethnobotaniques et florestiques au Mali. ACCT, Paris. 291 P. Edition. 426 P
- **Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherston, R.M., 1961.** A new and rapidcolorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem. Pharmacol. 7, 88–95.
- **Farjon, A. (2001).** World checklist and bibliography of conifers. 2nd ed. Royal Botanic Gardens, Kew.
- **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.
- **Gaston B.,( 1990)**-La grande flore en couleurs (la flore de France) Edit.Belin.Tome I,II,III,IV,index.Paris. France.
- **Gerhard, R. (1993).** Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie. Presses polytechnique et universitaire Lausanne . P : 292, 317-319, 321.
- **Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie. p : 162-169.
- **Grûnwald J. et Jancke C. (2004).** Guide de la phytothérapie. Editions Marabout, 416p.
- **Guillaume,2008** in Mémoire p Master en Sciences de la Nature et de la Vie , Berkal Garmia.,S. Bouchama 2016,
- **H. Medini., Bruno Manongiu.,Med larbi Khouja., Rachid Chemli.,Fethia HarzallaSkhiri (2013).**chemical polymorphism of Two *Juniperus phoenicea* sub species essential oil collected from ten tunisian localities

- **Haluk, J.P. et 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.
- **Harborne, J.B., (1980).** Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology, New series.p8, 329-402.
- **Havsteen, B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut.* p96, 67– 202.
- **Hayouni. ,Manef Abderrabba.,Marielle Bouix.,Moktar Hamdi.(2007)** .The effect of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera L.* and *Juniperus phoenicea L.* fruit extracts
- **Heldt, H. (2005)** Plant Biochemistry. Elsevier Academic Press. P : 449.
- **Hocquemiller, R., Cave, A., Jacquemin, H., Touche, A., & Forgacs, P. (1982).** Alcaloides des annonacées. Xxxvi (alcaloides de l'*Annona crassiflora* mart). *Plantes medicinales et phytotherapie.* Tome XVI, 1, p. 4-6
- **Hostettmann K. (1997).** Tout savoir sur le pouvoir des plantes, source de médicaments.*International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* . Page: 228
- **Katalinic V., Milos M., Kulisic T., Jukic M. (2006).** Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*, 94: 550–557.
- **Keskes. H, K.Mnafguia.,KHamdenb.,M.Damaka.,A El Fekib-N.Allouchea.(2014)** .In vitro anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant proprieties of *Juniperus phoenicea L.* leaves from Tunisia
- **Klimko M., Boratynska K., Montserrat JM., Didukh Y., Romo A., Gomez D., Kluza-Wieloch M., Marcysiak K. and Boratynski A. (2007).** Morphological variation of *Juniperus oxycedrus subsp. Oxycedrus* (Cupressaceae) in the Mediterranean region. *Flora—Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants.* 202: 133–147.
- **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
- **Krief, S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.
- **Kusari S., Zuhlke S., and Spitteller M. (2010).** Chemometric evaluation of the anticancer pro-drug podophyllotoxin and potential therapeutic analogues in *Juniperus* and *Podophyllum* species. *Phytochemical Analysis.* 22: 128–143.

- **Lahouel, 2005, Piquemal, 2008 in Zeghad ,( 2009 )**ACCT : Paris ; 66-86.
- **Lee, K.W., Hur, H.J., Lee, C.Y. (2005).** Antiproliferative effects of dietary phenolic substances and hydrogen peroxide. *J. Agric. Food Chem.* p53, 1990-1995.
- **Lesjak M. M., Bearaa I. N., Orcic D. Z., Petar K. N., Simin N. D., Emilija S. D. and Mimica-Dukic N. M. (2014).** Phytochemical composition and antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activities of *Juniperus macrocarpa Sibth. et Sm.* *Journal of Functional Foods.* 53: 530–539..
- **Lis-Balchin, S.G. Deans and E. Eaglesham (1998).** Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils, *Flavour Fragr. J.* Vol. 13, 98-104.
- **Lucienne, (1961), Saule, (2002), Dupont et Guignard, (2007) in Belkacem Zeyneb. , (2015).** Contribution à l'étude du cortège floristique de l'espèce *Juniperus oxycedrus* (Cupressacées) dans la région de Tlemcen, Mémoire master2, en Ecologie Végétale et Environnement . Université Abou Bekr Belkaid p 11 ,12-17
- **Macheix, J.J., Fleriet, A et Christian, A .2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. *PPTUR Lausanne.*
- **Maillard, M. N., (1996).** Thèse Doct., E.N.S.IA., Paris. 148p.
- **Maire, R. (1952).**— Flore de l'Afrique du Nord. *Encyclopédie biologique.* Volume 1. Éd. Paul Le Chevalier, Paris.
- **Malecky, M. (2005).** Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.
- **Manallah, A. (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea L.* Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- sétif, 87p.
- **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.
- **Marc T. ,Gerard W. , Denis L (2001).** Classification des anti-inflammatoires in *Guide*
- **Marc, (2001) Pousset,(1989), Potterat, et Hostettmann, (1995).**IN **Amadou Diallo.,(2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense wild.*(MYRTACEAE), e Grade de Docteur, en Pharmacie ,université bamako p 2
- **Marco, G.J., (1968.)** A rapid method for evaluation of antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 45, 594–598.



- **Medini H., Marzouki H., Chemli R., M. L. Khouja, B. Marongiu B., Piras A., Porcedda S. and Tuveri E. (2009).** Comparison of the antimicrobial activity and the essential oil composition of *juniperus oxycedrus subsp. Macrocarpa* and *j. oxycedrus subsp. rufescens* obtained by hydrodistillation and supercritical carbon dioxide extraction methods. *Chemistry of Natural Compounds*. 45 (5): 739-741
- **Medini, H. , Manongiu, B. , Khouja, M. L. , Chemli, R. , Harzalla-Skhiri, F.** Chemical polymorphism of two *Juniperus Phoenicea sub species* essential oils collected from ten Tunisian localities.
- **Merghem, R. (2009)** élément de biochimie végétales. Bahaeddine edition. p : 95, 103, 120-121.
- **Miara M. D., Ait Hammou M. et Hadjadj Aoul S. (2013).** Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie*. 11:206-218
- **Mohammedi, Z. (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. mémoire magister. Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen. 155p.
- **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.
- **Narayana et al., 2001 ; W- Erdman et al., 2007 in Zeghad , 2009**
- **Nkhili, E. (2009)** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de doctorat de l'université CADI AYYAD. Marrakech. P : 1.
- **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
- **Orhan N., Orhan I. E and Ergun F. (2011).** Insights into cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of five *Juniperus* species. *Food and Chemical Toxicology*. 49: 2305-2312.
- **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 Erçağ, S.Esin çelik., Baki Safa., Yıldız Leyla., Karaman Seyda., Apak Resat. (2011).** A comprehensive review of CUPRAC methodology, *CRITICAL REVIEW*, 3, 2439

- **Parajuli, R.d. Tiwari, R.P. Chaudhary et V.N. Gupta (2005).** toxicité fongique des huiles essentielles de certaines plantes aromatiques de manang contre *alternaria brassicicola*, Scientific World. Vol. 3, 39-43.
- **Pepeljnjak., I. Kosalec., Z. Kaloera et N. Blazevic (2005).** Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de baies de genièvre (*Juniperus communis L.*, Cupressaceae), Acta Pharm. Vol. 55, 417–422.pharmacologie. Etudiants et professionnels paramédicaux. 4ème
- **Pousset JL. 1989.** Plantes médicinal et africaines - Utilisation pratique. Ellipses,
- **Quézel P., et Médial F. (2003).** Ecologie et biogéographie de la forêt du bassin méditerranéen. Edition scientifiques et médicales Elsevier SAS. Paris, 571p.
- **Quézel, P. & Santa, S. (1962).**— Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. Éd. CNRS, Paris.
- **Raynal J. (1979).** Médecine traditionnelle et Pharmacopée Contribution aux études
- **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.
- **Schulz C., Jagel A., and Stutzel T. (2003).** Cone morphology in *Juniperus* in the light of cone evolution in Cupressaceae s.l. Flora. 198:161–177.
- **Schulz C., Knop ,P. & STÜTZEL, T. (2005).**— Identification key to the Cypress family (Cupressaceae). Feddes Repert., 116: 96-146.
- **Seca ML., Silva AMS. (2006).** The chemical composition of the *Juniperus genus* (1970-2004), recent progress in medicinal plants. Phytomedicines.16:402–522.
- **Shi H., Noguchi N., Niki E.** Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. MethodsEnzymol 2001; 335:157-66.
- **Silanikove, N., Perevolotsky, A., & Provenza, F. D. (2001).** Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. Animal Feed Science and Technology, 91(1), 69-81.
- **Singleton V.L and Rossi J.A.J. (1965).**Colorimetry of total phenolics withphosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents.Amer. J. Enol. Viticult. 16:144-58.
- **Singleton, V.L., R. Orthofer and R.M. Lamuela-Raventos, (1999).** Analysis of Total Phenols and other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. Met. Enzym, 299, 152-178

- **Taiz, Lincoln ., Eduardo Zeiger(2006)**, Secondary Metabolites and Plant Defense in: Plant Physiology, Fourth Edition, Sinauer Associates, chap. 13.
- **Tavares L., Gordon J., Fortalezasa S., Stewart D., Ricardo B.F. and Cláudia N. (2012)**.The neuroprotective potential of phenolic-enriched fractions from four *Juniperus* species found in Portugal. Food Chemistry. 135: 562–570.
- **Taviano M.F., Marino A., Trovato A., Bellinghieri V., Melchini A., Dugo P., Cacciola F., Donato P., Mondello L. Guvenc A., De Pasquale R. and Miceli N(2013)**. *Juniperus oxycedrus L. subsp. oxycedrus* and *Juniperus oxycedrus L. subsp. macrocarpa*(Sibth & Sm.) Ball. “berries” from Turkey: comparative evaluation of phenolicprofile, antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities. Food and Chemical Toxicology.58: 22-29.
- **Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarkürkcü C., Öztürk M., and Ulubelen A. 2007**. A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. Food Chemistry 103: 816–822
- **Turkoglu A., Emin Duru M., Mercan N., Kivrak I.,Gezer K., 2007**. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus*(Bull.) Murrill. Food Chemistry 101: 267–273.
- **V. Katalinic., M. Milos ., T. Kulisic.,, M. Jukic.(2006)**.Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidantcapacity and total phenols
- **Wink, M. (2010)** Biochemistry of plant secondary metabolism. Annual plant reviews.Blackwell Publishing Ltd. P: 11-15.
- **Y. Soltani., M. Ali-Bouzi ., F. Toumi. ., A. Benyamina . 2017** . Activités antioxydantes des extraits de trois organesde *Juniperus phoenicea L.* de l’Ouest algérien . Phytothérapie. Lavoisier SAS 2017
- **Y.Assefa., Paul Carter., Mark Hind.s, Gaurav Bhalla., Ryan Schon., Mark Jeschke., Steve Paszkiewicz., Stephen Smith & Ignacio A. Ciampitti(2018)**.Analysis of Long Term Study Indicates Both Agronomic Optimal Plant Density and Increase Maize Yield per Plant Contributed to Yield Gain.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques:

- **Adams, R.P. (2014).** Junipers of the World: the genus *Juniperus*. Trafford Publishing Co., Bloomington.
- **Adjanooum J.E.; Aké Assi L.; Floret J J.; Guinko S.; Koumaré M.; Ahyi A.; M.R.; Raynal J. (1979).** Médecine traditionnelle et Pharmacopée Contribution aux études ethnobotaniques et florestiques au Mali. ACCT, Paris. 291 P.
- **Akkol E.K., Guvenc A. and Yesilada, E., (2009).** A comparative study on the antinociceptive and anti-inflammatory activities of five *Juniperus taxa*. Journal of Ethnopharmacology. 125: 330-336.
- **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.
- **Ayad, R. (2008).** recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique, université Mentouri Constantine. p 35-39, 40, 47.
- **Bahorun, T. (1997).** Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council Mauritiias. p83-94.
- **Bisoli, E., Garcez., W. S., Hamerski, L., Tieppo, C., & Garcez, F. R. (2008).** Bioactive pentacyclic triterpenes from the stems of *Combretum laxum*. Molecules, 13(11), 2717- 2728.
- **Blois M.S., (1958)** Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. Nature, 4617 (181): 1119-1200.
- **Bouhlal K., Meynadier J. M., Peyron J. L., Peyron L., Marion J. P., Bonetti G. et Meynadier J. (1988).** Le cade en dermatology. Parfums, Cosmétiques et Aromes. 83: 73–82.
- **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Lavoisier.
- **Brus R., Ballian D., Zhelev P., Pandz M., Bobinac M., Acevski J., Raftoyannis Y. and Jarni K. (2011).** Absence of geographical structure of morphological variation in *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *Oxycedrus*. European Journal of Forest Research. 130
- **Chaouche T., M. Haddouchi F. Ksouri R., Medini F. and Atik-Bekara F. (2013).** In vitro evaluation of antioxidant activity of the hydro-methanolic extracts of *Juniperus oxycedrus subsp. oxycedrus*. Phytothérapie. 11: 244–249.

- **Chebli, L. (2006).** Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia* : études cinétique, structurale et conformationnelle, Procédés Biotechnologiques et Alimentaires. Institut national polytechnique de lorraine.
- **Debazac, E.F. (1991).**— Manuel des conifères. 2e éd., ENGREF, Nancy.
- **Dennis C, Webster J (1971).** Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* II. Prod
- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidai N.( 2006)** Antioxydant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry, 97, 654-660. Ed. Fabre S A, Lausanne, Suisse, 253 P.
- **Edeas, M. (2007).** Les polyphénols et les polyphénols de thé. Phytothérapie, 5(5), 264-270. ethnobotaniques et florestiques au Mali. ACCT, Paris. 291 P. Edition. 426 P
- **Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherston, R.M., 1961.** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem. Pharmacol. 7, 88–95.
- **Farjon, A. (2001).** World checklist and bibliography of conifers. 2nd ed. Royal Botanic Gardens, Kew.
- **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.
- **Gaston B.,( 1990)**-La grande flore en couleurs (la flore de France) Edit.Belin.Tome I,II,III,IV,index.Paris. France.
- **Gerhard, R. (1993).** Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie. Presses polytechnique et universitaire Lausanne . P : 292, 317-319, 321.
- **Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie. p : 162-169.
- **Grünwald J. et Jancke C. (2004).** Guide de la phytothérapie. Editions Marabout, 416p.
- **Guillaume, 2008** in Mémoire p Master en Sciences de la Nature et de la Vie , Berkal Garmia., S. Bouchama 2016,
- **H. Medini., Bruno Manongiu., Med larbi Khouja., Rachid Chemli., Fethia Harzalla Skhiri (2013).** chemical polymorphism of Two *Juniperus phoenicea* sub species essential oil collected from ten tunisian localities

- **Haluk, J.P. et 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.
- **Harborne, J.B., (1980).** Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology, New series.p8, 329-402.
- **Havsteen, B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut.* p96, 67– 202.
- **Hayouni. ,Manef Abderrabba.,Marielle Bouix.,Moktar Hamdi.(2007)** .The effect of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera L.* and *Juniperus phoenicea L.* fruit extracts
- **Heldt, H. (2005)** Plant Biochemistry. Elsevier Academic Press. P : 449.
- **Hocquemiller, R., Cave, A., Jacquemin, H., Touche, A., & Forgacs, P. (1982).** Alcaloides des annonacées. Xxxvi (alcaloides de l'*Annona crassiflora* mart). *Plantes medicinales et phytotherapie.* Tome XVI, 1, p. 4-6
- **Hostettmann K. (1997).** Tout savoir sur le pouvoir des plantes, source de médicaments.*International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* . Page: 228
- **Katalinic V., Milos M., Kulisic T., Jukic M. (2006).** Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*, 94: 550–557.
- **Keskes. H, K.Mnafguia.,KHamdenb.,M.Damaka.,A El Fekib-N.Allouchea.(2014)** .In vitro anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant proprieties of *Juniperus phoenicea L.* leaves from Tunisia
- **Klimko M., Boratynska K., Montserrat JM., Didukh Y., Romo A., Gomez D., Kluza-Wieloch M., Marcysiak K. and Boratynski A. (2007).** Morphological variation of *Juniperus oxycedrus subsp. Oxycedrus* (Cupressaceae) in the Mediterranean region. *Flora—Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants.* 202: 133–147.
- **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
- **Krief, S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.
- **Kusari S., Zuhlke S., and Spiteller M. (2010).** Chemometric evaluation of the anticancer pro-drug podophyllotoxin and potential therapeutic analogues in *Juniperus* and *Podophyllum* species. *Phytochemical Analysis.* 22: 128–143.

- **Lahouel, 2005, Piquemal, 2008 in Zeghad ,( 2009 )**ACCT : Paris ; 66-86.
- **Lee, K.W., Hur, H.J., Lee, C.Y. (2005).** Antiproliferative effects of dietary phenolic substances and hydrogen peroxide. *J. Agric. Food Chem.* p53, 1990-1995.
- **Lesjak M. M., Bearaa I. N., Orcic D. Z., Petar K. N., Simin N. D., Emilija S. D. and Mimica-Dukic N. M. (2014).** Phytochemical composition and antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activities of *Juniperus macrocarpa Sibth. et Sm.* *Journal of Functional Foods.* 53: 530–539..
- **Lis-Balchin, S.G. Deans and E. Eaglesham (1998).** Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils, *Flavour Fragr. J.* Vol. 13, 98-104.
- **Lucienne, (1961), Saule, (2002), Dupont et Guignard, (2007) in Belkacem Zeyneb. , (2015).** Contribution à l'étude du cortège floristique de l'espèce *Juniperus oxycedrus* (Cupressacées) dans la région de Tlemcen, Mémoire master2, en Ecologie Végétale et Environnement . Université Abou Bekr Belkaid p 11 ,12-17
- **Macheix, J.J., Fleriet, A et Christian, A .2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. PPTUR *Lausanne.*
- **Maillard, M. N., (1996).** Thèse Doct., E.N.S.IA., Paris. 148p.
- **Maire, R. (1952).**— Flore de l'Afrique du Nord. Encyclopédie biologique. Volume 1. Éd. Paul Le Chevalier, Paris.
- **Malecky, M. (2005).** Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.
- **Manallah, A. (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea L.* Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- sétif, 87p.
- **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.
- **Marc T. ,Gerard W. , Denis L (2001).** Classification des anti-inflammatoires in Guide
- **Marc, (2001) Pousset,(1989), Potterat, et Hostettmann, (1995).IN Amadou Diallo.,(2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense wild.*(MYRTACEAE), e Grade de Docteur, en Pharmacie ,université bamako p 2
- **Marco, G.J., (1968.)** A rapid method for evaluation of antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 45, 594–598.



- **Medini H., Marzouki H., Chemli R., M. L. Khouja, B. Marongiu B., Piras A., Porcedda S. and Tuveri E. (2009).** Comparison of the antimicrobial activity and the essential oil composition of *juniperus oxycedrus subsp. Macrocarpa* and *j. oxycedrus subsp. rufescens* obtained by hydrodistillation and supercritical carbon dioxide extraction methods. *Chemistry of Natural Compounds*. 45 (5): 739-741
- **Medini, H. , Manongiu, B. , Khouja, M. L. , Chemli, R. , Harzalla-Skhiri, F.** Chemical polymorphism of two *Juniperus Phoenicea sub species* essential oils collected from ten Tunisian localities.
- **Merghem, R. (2009)** élément de biochimie végétales. Bahaeddine edition. p : 95, 103, 120-121.
- **Miara M. D., Ait Hammou M. et Hadjadj Aoul S. (2013).** Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie*. 11:206-218
- **Mohammedi, Z. (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. mémoire magister. Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen. 155p.
- **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.
- **Narayana et al., 2001 ; W- Erdman et al., 2007 in Zeghad , 2009**
- **Nkhili, E. (2009)** Polyphénols de l’Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de doctorat de l’université CADI AYYAD. Marrakech. P : 1.
- **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
- **Orhan N., Orhan I. E and Ergun F. (2011).** Insights into cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of five *Juniperus* species. *Food and Chemical Toxicology*. 49: 2305-2312.
- **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 Erçağ, S.Esin çelik., Baki Safa., Yildiz Leyla., Karaman Seyda., Apak Resat. (2011).** A comprehensive review of CUPRAC methodology, *CRITICAL REVIEW*, 3, 2439

- **Parajuli, R.d. Tiwari, R.P. Chaudhary et V.N. Gupta (2005).** toxicité fongique des huiles essentielles de certaines plantes aromatiques de manang contre *alternaria brassicicola*, Scientific World. Vol. 3, 39-43.
- **Pepeljnjak., I. Kosalec., Z. Kaloera et N. Blazevic (2005).** Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de baies de genièvre (*Juniperus communis L.*, Cupressaceae), Acta Pharm. Vol. 55, 417–422.pharmacologie. Etudiants et professionnels paramédicaux. 4ème
- **Pousset JL. 1989.** Plantes médicinal et africaines - Utilisation pratique. Ellipses,
- **Quézel P., et Médial F. (2003).** Ecologie et biogéographie de la forêt du bassin méditerranéen. Edition scientifiques et médicales Elsevier SAS. Paris, 571p.
- **Quézel, P. & Santa, S. (1962).**— Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. Éd. CNRS, Paris.
- **Raynal J. (1979).** Médecine traditionnelle et Pharmacopée Contribution aux études
- **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.
- **Schulz C., Jagel A., and Stutzel T. (2003).** Cone morphology in *Juniperus* in the light of cone evolution in Cupressaceae s.l. Flora. 198:161–177.
- **Schulz C., Knop ,P. & STÜTZEL, T. (2005).**— Identification key to the Cypress family (Cupressaceae). Feddes Repert., 116: 96-146.
- **Seca ML., Silva AMS. (2006).** The chemical composition of the *Juniperus genus* (1970-2004), recent progress in medicinal plants. Phytomedicines.16:402–522.
- **Shi H., Noguchi N., Niki E.** Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. MethodsEnzymol 2001; 335:157-66.
- **Silanikove, N., Perevolotsky, A., & Provenza, F. D. (2001).** Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. Animal Feed Science and Technology, 91(1), 69-81.
- **Singleton V.L and Rossi J.A.J. (1965).**Colorimetry of total phenolics withphosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents.Amer. J. Enol. Viticult. 16:144-58.
- **Singleton, V.L., R. Orthofer and R.M. Lamuela-Raventos, (1999).** Analysis of Total Phenols and other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. Met. Enzym, 299, 152-178

- **Taiz, Lincoln ., Eduardo Zeiger(2006)**, Secondary Metabolites and Plant Defense in: Plant Physiology, Fourth Edition, Sinauer Associates, chap. 13.
- **Tavares L., Gordon J., Fortalezasa S., Stewart D., Ricardo B.F. and Cláudia N. (2012)**.The neuroprotective potential of phenolic-enriched fractions from four *Juniperus* species found in Portugal. Food Chemistry. 135: 562–570.
- **Taviano M.F., Marino A., Trovato A., Bellinghieri V., Melchini A., Dugo P., Cacciola F., Donato P., Mondello L. Guvenc A., De Pasquale R. and Miceli N(2013)**. *Juniperus oxycedrus L. subsp. oxycedrus* and *Juniperus oxycedrus L. subsp. macrocarpa*(Sibth & Sm.) Ball. “berries” from Turkey: comparative evaluation of phenolicprofile, antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities. Food and Chemical Toxicology.58: 22-29.
- **Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarkürkcü C., Öztürk M., and Ulubelen A. 2007**. A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. Food Chemistry 103: 816–822
- **Turkoglu A., Emin Duru M., Mercan N., Kivrak I.,Gezer K., 2007**. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus*(Bull.) Murrill. Food Chemistry 101: 267–273.
- **V. Katalinic., M. Milos ., T. Kulisic.,, M. Jukic.(2006)**.Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidantcapacity and total phenols
- **Wink, M. (2010)** Biochemistry of plant secondary metabolism. Annual plant reviews.Blackwell Publishing Ltd. P: 11-15.
- **Y. Soltani., M. Ali-Bouzi ., F. Toumi. ., A. Benyamina . 2017** . Activités antioxydantes des extraits de trois organesde *Juniperus phoenicea L.* de l’Ouest algérien . Phytothérapie. Lavoisier SAS 2017
- **Y.Assefa., Paul Carter., Mark Hind.s, Gaurav Bhalla., Ryan Schon., Mark Jeschke., Steve Paszkiewicz., Stephen Smith & Ignacio A. Ciampitti(2018)**.Analysis of Long Term Study Indicates Both Agronomic Optimal Plant Density and Increase Maize Yield per Plant Contributed to Yield Gain.

Année universitaire : 2018-2019

Présenté par : Kouiten Ikhlas  
Idoui Lamiss Tinhinane

## *Etude Phytochimique et activités biologiques de Juniperus Oxycedrus.L*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention de diplôme de Master en  
Biologie et Physiologie végétale/ Biologie et  
Physiologie du Reproduction

Ce travail est consacré à l'étude phytochimique et l'évaluation de quelques activités biologiques de trois extraits : chloroformique, d'acétate d'éthyle et butanolique, obtenus des feuilles de l'espèce *Juniperus Oxycedrus* L. de la famille des Cupressacées.

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes nous a montré une richesse de notre extrait en ces composés. La teneur en polyphénols totaux de l'extrait d'acétate est de 589.68 µg EAG/mg, alors que la teneur en flavonoïdes est de 63,47 µg QE/mg. Concernant la phase butanol, la teneur en polyphénols totaux est de 403,90 µg EAG/mg et celle des flavonoïdes est de 37.5 µg QE/mg. Pour la phase acétate, le taux de polyphénols totaux est de 120,66 µg EAG/mg, alors que celui des flavonoïdes est de 24.51 µg QE/mg.

Quatre méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante de l'espèce *Juniperus Oxycedrus* L. Cette dernière a montré une bonne activité avec la méthode de DPPH et des activités modérées avec les tests de CUPRAC, ABTS et GOR.

L'activité anti Alzheimer a été évaluée par l'inhibition de enzymes acétylcholinestrase et butyrylcholinestrase. A nos concentrations d'extrait, les résultats étaient négatifs.

Les extraits foliaires de *J. oxycedrus* L. ont été testés pour leur activité antifongique et les résultats ont révélé une réduction significative de la croissance de *Fusarium oxysporum* sur un très large spectre.

### **Mots clés :**

*Juniperus Oxycedrus* L. - activité antioxydante- activité anti alzheimer- activité antifongique.

Laboratoire de recherche : controle de qualité labo5, biochimie labo2, mycology labo9 de CRBT

### **Membres du jury**

**Président du jury: BOUCHIBI BAAZIZ NACIRA** (MCB - UFM Constantine).  
**Rapporteur : BOUCHOUKH IMANE** (MAA- UFM Constantine).  
**Examinatrices : ZEGHAD NADIA** (MCB - UFM Constantine).