

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie physico-chimie
Spécialité Biochimie appliquée



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Extraction et dosage des composés phénoliques
au niveau des cones et des feuilles et leur
activité antioxydante de *Juniperus phoenicea* de
Taref**

Présenté par :

Bouakkaz Kahina & Labeled Khadidja

Soutenu le : 21 Juin 2018 à 11h00

Devant le jury composé de :

M^r. Hamoum. M.

MAB

Président

M^r. Bouadam. S.

MAA

Encadreur

M^{elle}. Ayouni . K.

MAB

Examineur

Année universitaire : 2017 / 2018

Remerciements

La première personne que nous tenons à remercier est M^r BOUADAM .S d'avoir

Accepté de nous encadrer et qui a su nous laisser la liberté nécessaire à l'accomplissement de notre recherche avisée. Merci pour votre rigueur scientifique et vos conseils toujours judicieux et aussi d'avoir eu la patience de corriger notre mémoire et de nous avoir responsabilisés du début jusqu'à la fin de notre travail.

Nous aimerons remercier tout particulièrement M^{me} BOUADAM .B pour nous avoir

Accueillis au sein du laboratoire et permis ainsi d'effectuer ce travail dans la liberté totale, Merci pour votre générosité et votre bonne humeur.

Nous remercions M^r HAMOUM.M pour l'honneur qu'il nous a fait pour assurer la présidence du jury.

Nous exprimons aussi notre reconnaissance à M^{elle} AYOUNI.K d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Dédicaces

*Je dédie ce travail, qui est le couronnement de toutes les années d'étude et qui ne s'est
achevé sans votre amour et encouragement:*

Je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage, la patience et la volonté pour

Réaliser ce travail.

Je dédie ce modeste travail, tout particulièrement à mes parents pour leur encouragement et

leur aide. Merci d'avoir été patients en m'accompagnant tout au long de ces année.

A mes très chers Sœur et frères pour leur présence de tous les instants et leur encouragement

qu'ils m'ont apporté.

A toute ma famille

A tous mes amis

Et à ceux qui me sont très chers et qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce travail

B,kahina

Dédicaces

Je dédie ce travail, qui est le couronnement de toutes les années d'étude et qui ne s'est achevé sans votre présence et encouragement:

Je dédie ce modeste travail, tout particulièrement à mes parents mes frères et sœurs,

Soumeya en particulier

A mon très cher époux pour son encouragement et sa patience, surtout de m'avoir épaulé tout le long de cette année

A ma belle famille

A tous mes amis

Et à ceux qui me sont très chers et qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce travail.

L. Khadidja

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Partie bibliographiques

Chapitre I : les composés phénoliques

I. Composés phénoliques.....	03
I.1 Définition	03
I.2. Biosynthèse des composés phénoliques.....	03
I.2.1. voie shikimate	03
I.2.2. voie acétate.....	04
I.3. Classification des composés phénoliques	04
I.3.1. Phénols simples.....	04
I.3.2. Acides phénoliques	05
I.3.2.1. Acides Benzoïques	05
I.3.2.2. Acides cinnamiques	06
I.3.3. Stilbenes	06
I.3.4. Tanins.....	06
I.3.4.1. Tanins hydrosolubles	07
I.3.4.2. Tanins condensés	07
I.3.5. Flavonoïdes	08
I.3.5.1. Anthocyanes	08
I.3.5.2. Flavonols	09
I.3.5.3. Flavanes 3-ol.....	09
I.3.6. Coumarines	10
I.3.7. Lignanés	10
I.4. Radicaux libres.....	11
I.4.1. Différents types de radicaux libres	11
I.4.2. Le rôle des radicaux libre dans l'organisme	11
I.4.3. Mécanismes de production des radicaux libres	12
I.5. Dommage oxydatif des radicaux libres.....	12
I.5. 1. Stress oxydant	12
I.5.2. Conséquences du stress oxydatif	12
I.6. Systèmes de défense antioxydant.....	13
I.6.1. Système endogène	13
I.6.2. Système exogène	14
I.7. Activité antioxydant des composés phénoliques	14

Chapitre II : Genévrier

II.1. Description générale de genévrier	15
II.2. Description générale de l'espece de <i>Juniperus phoenicea</i>	15
II.3. Taxonomie	15
II.4. Autre nom de <i>Juniperus phoenicea</i>	16
II.5. Habitat du genévrier de Phénicie	16
II.6. Répartitions géographiques de <i>Juniperus phoenicea</i>	16
II. 1. Dans le monde	16

II.2. En Algérie.....	17
II.7. Activité biologique de la plantes	17
II.8. Domaine d'application du genévrier	18
Chapitre III : Matériels et Méthodes	
III. Matériel et Méthodes.....	19
III.1. Présentation de la région d'étude	19
III.2. Echantillonnage	19
III.3. Matériel végétal.....	20
III.4. Méthodes	21
21 III.4.1.Etude biochimique.....	21
III.4.1.1. Extraction des polyphénols	21
III.4.1.2. Dosage des polyphénols	22
III.4.1.2.1. Dosage des phénols totaux	22
III.4.1.2.2. Dosage des flavonoïdes	24
III.4.1.2. Activités antioxydants	26
III.4.1.2.1. pouvoir réducteur	26
III.4.1.2.2. Test de DPPH	28
Chapitre VI: Résultats et discussions	
VI .1. Résultats biochimiques d'extraction aqueuse et ethanolique.....	31
VI .1.1.1. polyphénols totaux (extraction aqueuse)	32
VI.1.1.2. polyphénols totaux (extraction ethanolique).....	32
VI .1.1.3.Flavonoïdes (extraction aqueuse)	33
VI .1.1.3.Flavonoïdes (extraction ethanolique).....	33
VI .1.2.Résultats de l'activité antioxydant	34
VI .1.2.1. Résultats du pouvoir réducteur (extraction aqueuse).....	34
VI .1.2.2. Résultats du pouvoir réducteur (extraction ethanolique).....	34
VI .1.2.3.Résultats du DPPH (extraction aqueuse)	36
VI .1.2.3.Résultats du DPPH (extraction ethanolique)	36
Conclusion	41
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

ADN: Acide désoxyribonucléique.

AlCl³⁺ : Chlorure d'aluminium.

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium.

DPPH : Radical 1,1-diphényl 2-picrylhydrazyl.

EAG : Equivalent de l'acide gallique.

EQ : Equivalent de la quercétine.

Fe²⁺ : Ion ferreux.

Fe³⁺ : Ion ferrique.

FeSO₄ : Sulfate ferreux.

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène.

H₃ PMO₁₂O₄₀: Acide Phosphomolybdique.

H₃ PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique.

K₃Fe (CN) ₆: Fericyanure de potassium.

NO : Monoxyde d'azote.

OH[•] : Radical hydroxyle.

¹O₂ : Oxygène singulet.

ONOOH : Nitroperoxyde.

ROS : Espèce réactive d'oxygène.

RO : Radical alkoxy.

ROO : Radical peroxy.

Liste des figures

Figure n°01: Biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués par la voie de shikimate.....	04
Figure n°02 : Structures chimique des phénols simples	05
Figure n° 03 : Structure chimique d'acide benzoïque	05
Figure n°04 : Structure chimique de l'acide cinnamique	06
Figure n° 05 : Structure chimique des Stilbènes	06
Figure n°06: Structure chimique des acides galliques (A) et ellagiques (B)	07
Figure n° 08 : Structure chimique générale des flavonoïdes.....	07
Figure n°09 : Structure chimique des anthocyanes	08
Figure n°10: Structure chimique des flavonols.....	09
Figure n°11 : structure chimique générale des flavanes.....	10
Figure n°12 : Répartition du genre <i>Juniperus</i> dans le monde	17
Figure n°13: les feuilles et les fruits (baies) de <i>Juniperus phoenicea</i>	18
Figure n°14: Image satellitaire de la localisation de la région d'étude	19
Figure n°15: Protocole expérimentale de dosage des phénols totaux	23
Figure n°16: Protocole expérimental de flavonoïdes	25
Figure n°17 : Protocole expérimental du pouvoir réducteur	27
Figure n°18: Protocole expérimental du DPPH	29

Figure n°19: Résultats des extractions aqueuses des polyphénols totaux à partir des feuilles et des cônes de <i>Juniperus phoenicea</i> prélevés dans la station de Taref à différentes altitudes (30m, 200m ; 380m).....	31
Figure n°20: Teneurs en polyphenols totaux des extraits éthanoliqes des feuilles et des cônes de <i>Juniperus phoenicea</i> prélevés dans la station de Taref à différentes altitudes (30m, 200m ; 380m).....	37
Figure n°21: Résultats des extractions aqueuses des flavonoïdes à partir des feuilles et des cônes de <i>Juniperus phoenicea</i> prélevés dans la station de Taref à différentes altitudes (30m, 200m ; 380m).....	33
Figure n°22: Teneurs en flavonides des extraits éthanoliqes des feuilles et des cônes de <i>Juniperus phoenicea</i> prélevés dans la station de Taref à différentes altitudes (30m, 200m ; 380m).....	38
Figure n°23: Résultats du pouvoir réducteur des extraits aqueux des feuilles et des cônes de <i>Juniperus phoenicea</i> prélevés dans la station de Taref à différentes altitudes (30m, 200m ; 380m).....	35
Figure n°24: Résultats du pouvoir réducteur des extraits éthanoliqes des feuilles et des cônes de <i>Juniperus phoenicea</i> prélevés dans la station de Taref à différentes altitudes (30m, 200m ; 380m)	39
Figure n°25: Résultats de l'activité scavenger du radical DPPH des extraits aqueux des feuilles et des cônes de <i>Juniperus phoenicea</i> prélevés dans la station de Taref à différentes altitudes (30m, 200m ; 380m)	35
Figure n°26: Résultats de l'activité scavenger du radical DPPH des extraits éthanoliqes des feuilles et des cônes de <i>Juniperus phoenicea</i> prélevés dans la station de Taref à différentes altitudes (30m, 200m ; 380m).....	40

Liste des tableaux

Tableau I : Types des radicaux libres..... **11**

Tableau II : Mécanismes de production des radicaux libres..... **12**

Introduction

Depuis l'aube des temps, les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition contre les maladies simples, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Ni le hasard, ni la superstition qui a guidé la médecine traditionnelle à employer certaines plantes plutôt que des autres, mais c'est l'expérience où les gens apprécient les vertus apaisantes de ces plantes sans vraiment savoir comment ou pourquoi (**Iserin, 2001**).

A travers les siècles, les traditions humaines ont développé une connaissance et une utilisation des plantes médicinales dans le but de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes (**Iserin, 2001**). Aujourd'hui encore, presque la moitié des produits pharmacologiques ont recours aux propriétés curatives des plantes et que les traitements à base de ces dernières sont préférables par rapport aux médicaments dont leur efficacité décroissante vue leurs effets secondaires sur la santé publique.

Jusqu'au XXème siècle, les composés responsables de cet effet curatif sont restés un mystère, ainsi les chercheurs scientifiques ont tourné leur intérêt vers les métabolites secondaires des plantes, jusqu'au là étaient que des composés responsables de la pigmentation, la saveur, ou l'odeur des feuilles, fruits ou fleurs. Jusqu'à ou on découvre les maintes activités biologiques des composés phénoliques (**Packer, 2001 ; Hurst, 2008**).

Actuellement, la communauté scientifique, biologiste et chimiste, met en évidence le rôle tragique du stress oxydatif incontrôlable induit par les espèces réactives oxygénées (ERO). Ces oxydants sont à l'origine directe de différents états pathologiques tels que le vieillissement et le cancer et indirecte sur la peroxydation des lipides des denrées alimentaires. Quelque soit le cas, le risque est aggravé avec l'accumulation de ces molécules dans l'organisme en aboutissant à une chaîne réactionnelle radicalaire qui dégrade les molécules vitales biologiques à savoir l'ADN, les lipides, les protéines et les glucides.

En effet, les antioxydants naturels font l'objet de nombreuses recherches et une nouvelle haleine vers l'exploitation des métabolites secondaires généralement et les polyphénols particulièrement, tant dans la santé et pour lutter contre des maladies malignes (cancer), que dans l'industrie agro-alimentaire. Ces composés qui sont représentés par la famille des flavonoïdes et les acides phénoliques sont largement recherchés pour leurs

propriétés biologiques: antioxydants, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-carcinogènes. Notant que l'efficacité puissante de ces substances à stopper les réactions radicalaires en neutralisant les radicaux libres est due principalement à leurs structures phénoliques avec la présence des groupements hydroxyles **(Belyagoubi, 2011)**.

Dans le présent travail, on s'intéresse à l'extraction et dosage des composés phénoliques au niveau des cônes et des feuilles de l'espèce *Juniperus phoenicea* en évaluant ses propriétés antioxydants, en deux principales parties :

- Partie bibliographique, où nous allons commencer par une étude bibliographique des composés phénoliques, leur biosynthèse et quelques activités biologiques attribués à différentes familles de ces composés. Puis on décrira le Genévrier, sa classification, sa taxonomie et son habitat, et les domaines d'application possible pour ce Cade endormi. On évoquera aussi la répartition géographique du *Juniperus phoenicea* en Algérie et dans le monde.
- Partie expérimentale, qui consiste à l'extraction des composés phénoliques et le dosage colorimétrique des composés phénoliques, on teste aussi l'activité antioxydant par deux méthodes (pouvoir réducteur et test du DPPH).

Et enfin, nous terminerons notre travail par une conclusion générale.

I. Composés phénoliques

I.1. Définition

Les composés phénoliques, également dénommés « Les polyphénols », forment un groupe de composés largement distribué dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques différentes et bien identifiées.

Les polyphénols sont issus du métabolisme secondaire des plantes, ils sont présents dans tous les organes du végétal (tiges, feuilles, cônes, fruits, racines ...) sans qu'ils aient une fonction directe dans la croissance et le développement de la plante, par contre ils ont d'autres rôles plus importants dans l'odorat, la protection contre les herbivores et les insectes, les rayonnements UV, et la pigmentation (couleur) , comme ils contribuent dans les interactions entre la plante et l'environnement extérieur, telle que l'attraction des insectes pollinisateurs (**Lugasi et al; 2003**).

Ces composés phénoliques sont caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (OH) libres ou liés à un glucide (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Les composés phénoliques ont également attiré l'attention des scientifiques pour étudier leurs propriétés anti-oxydante et anti-inflammatoire et surtout leurs effets bénéfiques dans la prévention du cancer, maladie cardiovasculaires et neurodégénératives (**Lambert, 2011**).

I.2. Biosynthèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont issus de 2 grandes voies métaboliques, la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acide acétate.

I.2.1. Voie shikimate

L'origine biosynthétique des composés phénoliques des végétaux est très rapprochée, presque tous dérivent de l'acide shikimique, cette voie shikimate conduit à la formation des oses aux acides aminés aromatique (Figure 1), « phénylalanine et la tyrosine », puis par désamination de ces derniers en acides cinnamique et à ses dérivés (acide benzoïque, lignines, coumarines...) (**Bruneton, 1993**).

I.2.2. Voie acétate

La voie polyacétate est moins courante que la voie shikimate, elle consiste à la condensation de 3 unités d'Acétyl-CoA et plusieurs d'autres composés pour aboutir à la fin à la formation des composés phénoliques (Coulin et Crouzet, 2011).

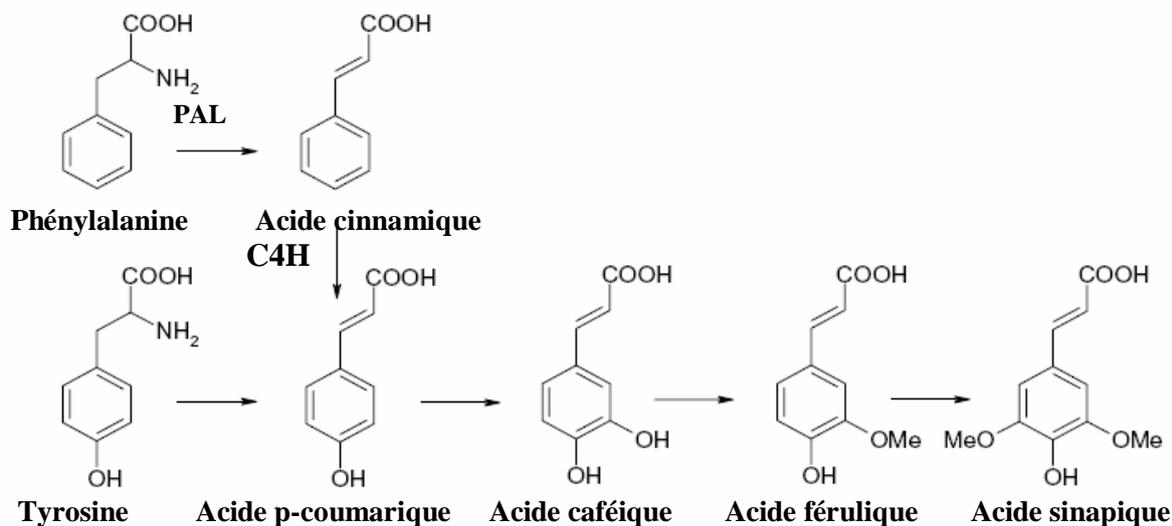


Figure n° 01 : Biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués par la voie shikimate (Crozier *et al.*, 2006).

PAL : phénylalanine ammonia-lyase ;
C4H : cinnamate 4-hydroxylase.

I.3. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques forment un vaste groupe de substances chimiques très diversifié, ils sont porteurs d'au moins une fonction phénol (cycle benzoïque), sont regroupés en plusieurs classes selon la complexité de leur structure de base (cycle de C₆ jusqu' à des formes très polymérisés), puis selon le degré de modification de ce squelette (oxydation, hydroxylation, méthylation, etc.), en fin par les liaisons qui peuvent être établies entre ces composés phénoliques et d'autre molécules (glucides, lipides, protéines ...etc) (Beta *et al.*, 2005).

I.3.1. Phénols simples

Les phénols simples sont des composés qu'on trouve rarement solitaire dans la nature, généralement on les retrouve liés à d'autres molécules ou sous forme d'hétérosides ; ils

possèdent un squelette de base C₆ (Figure 2), issus de la voie shikimate, parmi les phénols simple on site : l'Hydroquinone, le Catéchol (**Belebcir, 2008**).



Figure n° 02 : Structures chimique des phénols simples (Packer, 2001).

I.3.2. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont largement présents chez les végétaux, cette nomination englobe les dérivés de l'acide benzoïque C₆-C₁ et l'acide cinnamique C₆-C₃ :

I.3.2.1. Acides Benzoïques

Les acides Benzoïques sont parmi les formes phénoliques les plus simple avec une formule générale de C₆-C₁, la variation de structure des différents dérivés de l'acide Benzoïque se situe dans l'hydroxylation et la méthylation du noyau aromatique, parmi ces dérivés on site :

- L'acide hydroxy benzoïque (Figure 3)
- l'acide vanillique
- l'acide syringique
- l'acide dihydroxybenzoïque
- l'acide gallique

(**Ben Abbas, 2011**)

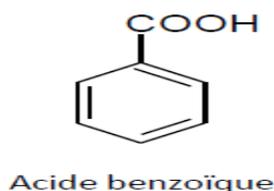


Figure n° 03 : Structure chimique d'acide benzoïque (Bruneton, 1999).

I.3.2.2. Acides cinnamiques

Les acides cinnamiques ont une structure générale de C₆-C₃ (Figure 4), les plus répandus chez les végétaux sont l'acide *p*-coumarique, caféïque, férulique et sinapique (Dacosta, 2003).

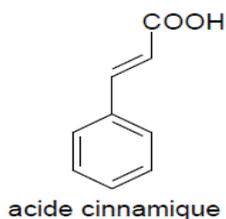


Figure n° 04 : Structure chimique de l'acide cinnamique (Bruneton, 1999).

I.3.3. Stilbenes

Les stilbenes sont des composés phénoliques pas très répandus dans le règne végétal, sont sous forme C₆-C₂-C₆ (Figure 5), composés de deux cycles benzéniques reliés par deux carbones (C), qui sont à leur tour reliés par une double liaison formant un système conjugué ; Ils sont synthétisés par les plantes en réponse à des stressés biotique comme les attaques des insectes, donc c'est un puissant antifongique, ou a stressé abiotique tels que les rayonnements UV ; les stilbenes les plus répandus sont : Le resvératrol, ptérostilbènes, picéïdes (Khater, 2011; Lambert, 2011).

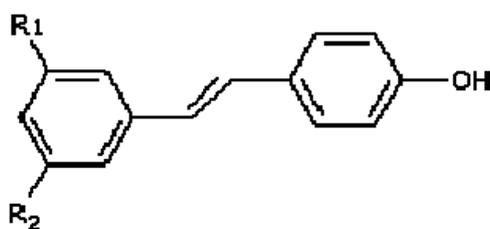


Figure n° 05 : Structure chimique des Stilbènes (Manach *et al.*, 2004).

I.3.4. Tanins

Les tannins forment une classe de polyphénol, d'une masse moléculaire variante entre 500 et 3000 kDa, ont la capacité de précipiter les alcaloïdes et plusieurs protéines grâce à leur plusieurs groupement hydroxyle (OH), et ils ont surtout la propriété de tanner les peaux et les rendre imputrescible et peu perméable, sont utilisés dans la fabrication des cuirs, on trouve les tanins dans toutes les parties de la plante (bois, feuilles, cônes, fruits...). Les tanins ont une

activité inhibitrice sur les microorganismes en bloquant leur pouvoir de digestion (**Kamra et al., 2006**).

On peut distinguer deux groupes de tannins différents par leur structure et par leur origine biosynthétique :

I.3.4.1. Tanins hydrosolubles

Sont des molécules Oglyco ou polyester, formées d'une partie osidique et d'une autre partie d'acide phénol, le sucre est généralement le D-Glucose, et l'acide phénol est, soit :

- L'acide gallique dans le cas des gallotannins.
- L'acide ellagique dans le cas des ellagitannins. (Figure 6)

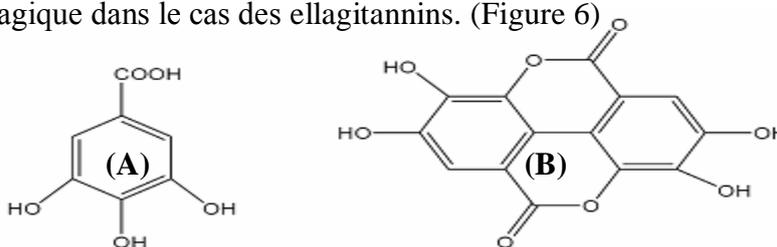


Figure n° 6 : Structure chimique des acides galliques (A) et ellagiques (B) (**Havsteen, 2002**).

I.3.4.2. Tanins condensés

Qui se différencient fondamentalement des tannins hydrosolubles par l'absence de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine à celle des flavonoïdes (Figure 7). Il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone (**Bruneton, 1999**).

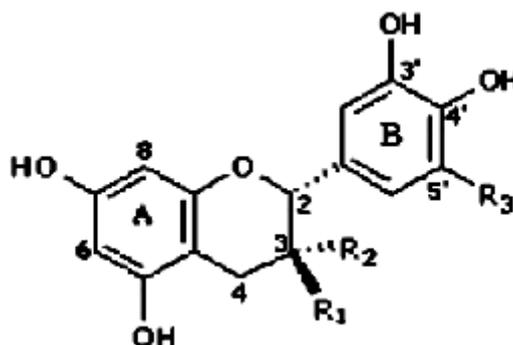


Figure n° 07 : Structure chimique des tanins condensés (**Bruneton, 1999**).

I.3.5. Flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin *flavus*, jaune) C'est le groupe le plus répandu des composés phénoliques dans le règne végétal, ont un squelette de base de quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C₆-C₃-C₆ (Figure 8), constitués de 2 cycles aromatiques A et B reliés par une chaîne en C₃ qui forme un hétérocycle oxygéné C (**Guignard, 2001**), selon ce dernier les flavonoïdes se répartissent en plusieurs familles : anthocyanidines ; flavonoles ; isoflavonoles ; flavones ; isoflavones ; flavanes ; isoflavanes ; flavanols ; isoflavanols ; flavanones ; isoflavanones ; auronnes (**Belyagoubi, 2011**)

Les flavonoïdes sont considérés comme des pigments universels des végétaux, où sont responsables des couleurs vives des fleurs, fruits et feuilles:

Les anthocyanes pigments rouge ou bleu, les flavones et les flavonols de couleur crème ou jaune clair (**Marfak, 2003**).

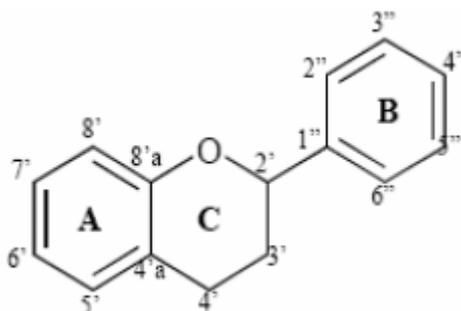


Figure n° 08 : Structure chimique générale des flavonoïdes (**Havsteen, 2002**).

I.3.5.1. Anthocyanes

Les anthocyanes font partie de la famille des flavonoïdes, sont responsable de la pigmentation qui varie du bleu au rouge en fonction de leur environnement (**Nanacy et al., 2014**), Elles sont présentes dans les feuilles et les fruits, où elles ont un rôle protecteur contre les UV et le stress oxydant et permettent d'attirer les disséminateurs.

Les anthocyanes sont solubles et s'accumulent dans les vacuoles des cellules de l'épiderme des feuilles (**Lambert, 2011**)

Leurs structures (Figure 9) se différencient par le nombre et la position de groupes hydroxyles et méthyles sur le noyau B. Les anthocyanidines sont le plus souvent glycosylées en position

C3 et C5 avec le plus fréquemment des monosaccharides (glucose, galactose, rhamnose et arabinose) (**Khater, 2011**).

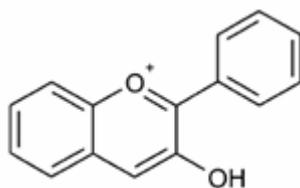


Figure n° 09 : Structure chimique des anthocyanes (**Havsteen, 2002**).

I.3.5.2. Flavonols (OH-3-flavone)

Les flavonols portent un OH en position C3 (Figure 10), ce sont les flavonoïdes les plus répandus, responsables de la couleur jaune claire (**Khater, 2011**).

Ils sont caractérisés par la présence d'une fonction carbonyle sur l'hétérocycle. Ils peuvent être liés à un sucre, le plus souvent le glucose, ils jouent un rôle de protection contre les UV et d'antioxydant.

La quercétine, le kaempférol, la myricétine, l'apigénine sont les flavonols les plus présents chez les plantes. (**Lambert, 2011**).

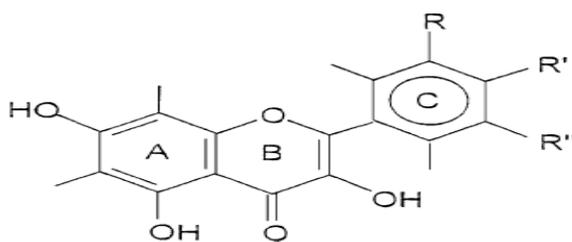


Figure n° 10: Structure chimique des flavonols (**Havsteen, 2002**).

I.3.5.3. Flavan-3-ol

Les flavan-3-ols se caractérisent par leur hétérocycle central C saturé substitué en C3 par un hydroxyle (Figure 11).

Il n'existe pas de forme glycosylée des flavan-3-ols, contrairement aux autres flavonoïdes.

Les flavan-3-ols sont à l'origine des polymères flavaniques appelés proanthocyanidols ou tanins condensés (**Benguerba, 2008**).

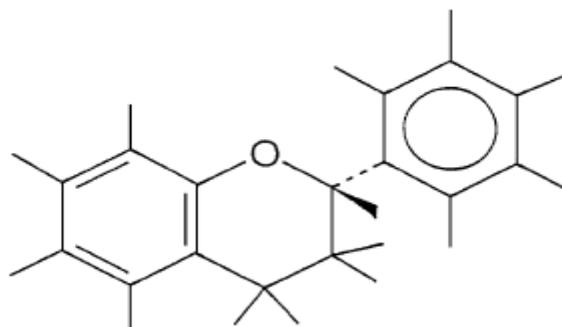


Figure n° 11 : Structure chimique générale des flavanes (Havsteen, 2002).

I.3.6. Coumarines

Les coumarines sont des dérivés de C₆-C₃, appartiennent au groupe des composés connus par des benzo- α -pyrone et toutes sont substituées en C7 par un hydroxyle (OH). Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (O'Kennedy et Thornes, 1997).

I.3.7. Lignanes

Ce sont des composés dont la formation implique la condensation d'unités phénylpropaniques C₆-C₃. Leur distribution botanique est large, plusieurs centaines de composés ont été isolés dans environ 70 familles (Cowan, 1999).

I.4. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (molécule, morceau de molécule aux simples atomes) très réactifs. Sur la couche électronique la plus externe, les radicaux libres possèdent un ou plusieurs électrons non appariés, cette propriété donne à ces molécule une grande réactivité donc une demi vie-très courte. Et pour se stabiliser, ces molécule oxydent toujours un autre composé en captant un électron à fin de remplir leur orbitale externe (Goudable et Favier, 1997).

I.4.1. Différents types de radicaux libres

Les différentes catégories de radicaux libres sont indiquées dans le (Tableau I)

Tableau I : Types de radicaux libres (Favier, 2003).

Les radicaux primaires	Les radicaux secondaires
Anion superoxyde	Oxygène singulet $^1\text{O}_2$
Radical hydroxyle (OH), le radicale alkoxyde (RO)	Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)
Monoxyde d'azote (NO), le radicale peroxyde (ROO)	Nitroperoxyde(ONOOH)

I.4.2. Rôle des radicaux libre dans l'organisme

Les radicaux libres sont nécessaires aux bons fonctionnements de l'organisme, ils participent dans plusieurs fonctions biologiques notamment :

- Ils participent dans la transduction des signaux cellulaire (Favier, 2003).
- Ils interviennent dans la destruction des cellules tumorales par apoptose.
- Ils participent au fonctionnement de certains neurones.
- Ils interviennent dans la fécondation de l'ovule.
- Ils interviennent dans la différenciation cellulaire.
- Ils régulent la voie d'activation des facteurs de transcription (Duranteau et Huet, 2008).

I.4.3. Mécanismes de production des radicaux libres

Les mécanismes de production des radicaux libre sont multiples, Ils peuvent être endogènes ou exogènes : (Tableau II)

Tableau II : Mécanismes de production des radicaux libres.

Endogènes	Référence	Exogènes	Référence
Des fuites d'électrons au niveau des chaînes respiratoires des mitochondries	(Afonso et al., 2007).	Rayons solaires ultraviolet	(Dulot et al., 2008).
Des processus inflammatoires produit par les cellules phagocytaires activées	(Duranteau et Huet, 2008)	pollution	(Dulot et al., 2008).
Mécanismes de cycle redox qui se produit dans l'organisme	(Favie, 2013).	Infection et le tabac	(Dulot et al., 2008).

I.4.4. Dommages oxydatifs des radicaux libres

I.4.4.1. Stress oxydant

Le stress oxydant est défini comme une rupture de l'équilibre dynamique entre la production des radicaux libres et leur élimination par le système de protection, dans cette situation les cellules ne contrôlent plus la présence excessive de radicaux libres et l'organisme se trouve alors dans un état de « stress oxydant » (**Pincemail et al., 2002**).

I.4.4.2. Conséquences du stress oxydatif

Le stress oxydant peut toucher les tissus et toutes leurs composantes notamment : les lipides, les protéines, les glucides et l'ADN, ce qui entraîne la formation de différentes maladies telles que les maladies neurodégénératives (l'Alzheimer et Parkinson), les maladies cardiovasculaires et déficience cardiaque, les œdèmes et le vieillissement prématuré de la peau (**Favier, 2006**).

I.4.5. Systèmes de défense antioxydant :

Pour lutter contre les ERO, notre organisme possède deux systèmes antioxydants :

I.4.5.1. Système endogène

Il est constitué principalement d'un réseau enzymatique (superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase) et des protéines plasmatiques (albumine, la ceruloplasmine, la transferrine), ces protéines interviennent dans le phénomène d'antioxydant par la fixation des ions de cuivre et de fer (**Afonso et al., 2007**).

I.4.5.2. Système exogène

Notre organisme utilise aussi un apport externe qui est issu d'une alimentation saine et équilibrée (fruit et légumes) riche en antioxydants : Les vitamines C, E, A, ainsi que les polyphénols, le glutathion, les caroténoïdes et les oligoéléments comme le sélénium, le cuivre, zinc, cofacteur enzymatique (**Afonso et al., 2007**).

I.4.6. Activité antioxydante des composés phénoliques

Les composés phénoliques présentent une activité antioxydante, cette activité est due principalement à la présence d'une propriété redox élevée et à leur structure chimique qui est capable de neutraliser les RL. En effet, la structure chimique des composés phénoliques ayant des groupements hydroxyle, ces derniers piègent des RL en libérant un atome d'hydrogène.

Or l'interaction des composés phénoliques avec les espèces réactives induit la formation d'une forme radicalaire de l'antioxydant, et cette dernière possède une grande stabilité chimique (**Zheng et Wang, 2001**).

Les composés phénoliques sont capable aussi de chélater des métaux pro-oxydant comme le fer et le cuivre (**Yang et al., 2001**). Et ils ont la capacité d'inhiber certains enzymes qui interviennent dans la fabrication des RL. En effet, la présence de cycle benzenoiques hydrophobes et du potentiel de liaison hydrogène des groupe hydroxyle phénolique offre la possibilité a ces groupes d'interagir fortement avec les protéines (enzymes) et de les inhiber (**Cos et al., 1988**).

II. *Juniperus phoenicea*

II.1. Description générale du genévrier

Le genévrier (*Juniperus*) appartient à la famille des Cupressacées, dans ce genre on dénombre approximativement 67 espèces qui sont réparties dans le monde (**Alaouar et al., 2017**). Il pousse à l'état sauvage. Les feuilles du genévrier sont soit linéaires et épineux ressemblant à des aiguilles soit sous forme d'écailles de couleur vert foncé. Ses fleurs donnent des fruits globuleux et charnus (**Bruneton, 2009**).

Le genre *Juniperus* est divisé en trois sections : *caryocedrus*, *juniperus oxydrus* et *sabina* (**Adams, 1998**). Cette plante résiste à la lumière et aux climats secs (**Sanguin et al., 2016**).

II.1.1. L'espèce *Juniperus phoenicea*

Le Genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea*) est un arbre branchu appartenant à la section de *sabina*, il peut atteindre 08 mètres de hauteur possédant un tronc court qui peut mesurer deux mètres de circonférence possédant une écorce épaisse de couleurs brun rougeâtre ou grisâtre, la floraison a lieu pendant l'hiver et la fructification à la fin de l'été de l'année suivante, ces fruits allons de la couleur verte au bruns rouge et luisants à maturité et leur diamètre est compris entre 7 à 10 mm (**Akrout, 2004**). le système racinaire est profond, les rameaux sont fins et de forme arrondie ayant des bourgeons nus et des ramilles cylindriques, cette espèce est divisée en trois sous espèces : *J. phoenicea* subsp *phoenicea*, *J. phoenicea* subsp *eu-mediterranea* et *J. phoenicea* var *turbinata* (**Admas et al., 1996**).

II.2. Taxonomie et classification botanique de *Juniperus phoenicea*

- ✚ Règne : Plantea
- ✚ Sous règne : Tracheobionta
- ✚ Division : Pinophyta
- ✚ Classe : Pinopsida
- ✚ Ordre : Pinales
- ✚ Famille : Cupressaceae
- ✚ Genre : *Juniperus*
- ✚ Espèce : *Juniperus phoenicea* (**Adams, 2004**).

II.3. Autres nominations

Ils existent plusieurs noms utilisés à fin de désigner le *Juniperus phoenicea* notamment: Araâr (en Arabe), Genévrier rouge, Genévrier de Lycie, junipero, sabino, enebro et tascate (en Mexique) (Rangel et al., 2018), Cade endormi. Les provençaux l'appellent « morven » ou genévrier à fruits rouges (Abdelli, 2017).

II.4. Habitat

Le genre de *Juniperus phoenicea* est une espèce rustique qui peut pousser dans des milieux très disparates ; sur les sols rocaillieux, dans les dunes côtières, les pinèdes, les maquis, les garrigues sur sols calcaires, sur les grandes parois des falaises et sur les sommets rocheux. La rusticité de cette espèce lui permet de supporter des conditions extrêmes (aridité, vent) aussi elle peut vivre dans différents sols comme l'argile, les sables, les sols légèrement salés, calcaires ou dolomitiques, les marnes ou encore, les sols volcaniques (Abdelli, 2017).

II.5. Répartitions géographiques de *Juniperus phoenicea*

II.5. 1. Dans le monde

Juniperus phoenicea présente une large distribution géographique, il se trouve en Afrique du nord (Algérie, Tunisie, Maroc), en Asie, aux îles Canaries et en Amérique du nord (Rangel et al., 2018). Il existe aussi en Égypte (El-bana et al., 2010), en Arabie Saoudite et en Portugal (Nedjimi et al., 2015), en Italie (Adams et al., 2013), en Espagne (Cavaleiro et al., 2001) et en France (sanguin et al., 2016).

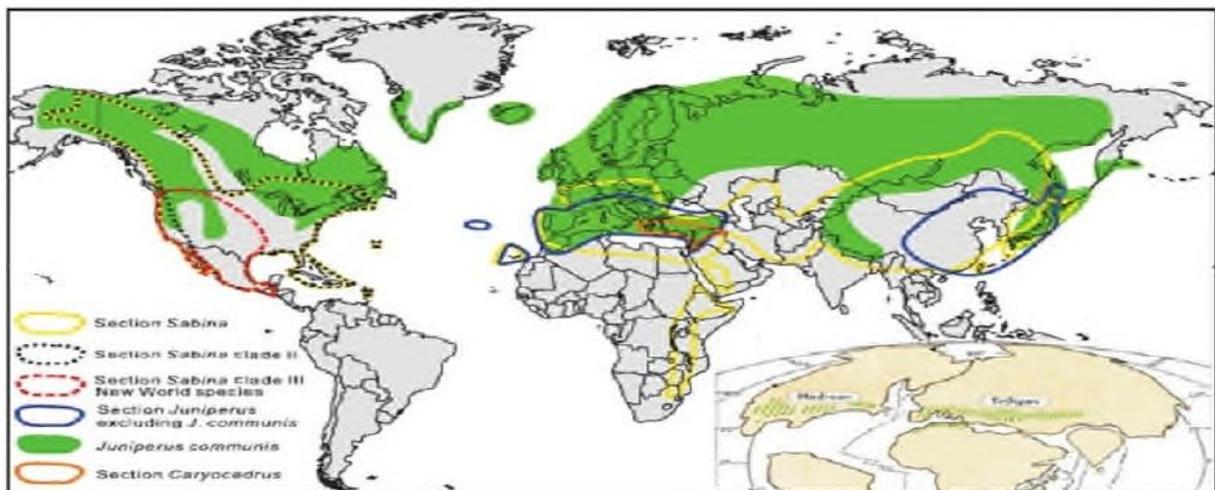


Figure n° 12: Répartition du genre *Juniperus* dans le monde (Mao et al., 2010) in (Bouadam-Farhi, 2013).

II.5.2. En Algérie :

En Algérie, le genévrier est représenté par deux sections (*Juniperus* et *Sabina*), et cinq espèces (*J. oxycedrus* L., *J. communis* L., *J. phoenicea* L., *J. thurifera* L., *J. sabina* L.), elles occupent environ 10% de la surface de forêt algérienne (227.000 ha), elles sont distribuées à partir des dunes littorales jusqu'aux limites sahariennes.

C'est la principale couverture végétale dans les montagnes des Aurès (Abdelli, 2017).

II.6. Activité biologique de la plante

Cette espèce présente plusieurs activités biologiques parmi ces activités on cite :

Activités antioxydant, antidiabétique, anti-obésité (Keskes et al., 2014), hépato-protectrice (Laouar et al., 2016), anti-tumorale (Nabi et al., 2012), anticancéreuse (Cirse et al., 1980), anti-inflammatoire et antibactérien (Derwich et al., 2010), antimicrobienne et antifongiques (Mansouri, 2011).



Figure n° 13 : les feuilles et les fruits (baies) de *Juniperus phoenicea* (Nedjimi et al., 2015).

II.7. Domaines d'application du genévrier

Les domaines d'application du genévrier sont très variés, elle est appliquée comme des épices dans différentes cuisines européennes et comme des arômes pour les boissons alcooliques (Alaouar et al., 2017), leur bois est utilisé pour le chauffage et pour fabriquer le charbon (Abdelli, 2017). les feuilles de la plante sont utilisées dans la médecine traditionnelle

pour traiter la diarrhée, le diabète (**Nedjimi et al., 2015**), le rhumatisme et les maladies gynécologiques et pour contrôler la pression sanguine (**Rangel et al., 2018**). De l'autre côté, le mélange des fruits et des feuilles est utilisé pour traiter l'hypoglycémie (**Nedjim et al., 2015**).

Cette plante contient une large variété des composés biochimiques (lignanes, flavonoïdes...) qui offrent la possibilité d'incorporer ces composés dans les préparations pharmaceutiques (**Alaouar et al., 2017**).

III. Matériel et Méthodes

III.1. Présentation de la région d'étude

La plante étudiée (*Juniperus phoenicea*) a été prélevée dans la wilaya de Taref en partant de la plage M'cida jusqu'à la frontière tunisienne (**dune et forêt**), selon 3 altitudes par rapport au niveau de la mer : **Station (1)** 30 m, **Station (2)** 200m, **Station (3)** 380m. Le choix de ces trois stations est conditionné par la disponibilité de la plante.

III.2. Échantillonnage

La récolte des différents échantillons a été effectuée au niveau d'une forêt et d'une dune à **Taref** pendant le mois de Décembre 2017, Suivant un échantillonnage aléatoire, 03 individus ont été échantillonnés dans chaque station. Les échantillons ont été portés dans des sacs en plastique étiquetés.

Nous allons étudier la variabilité biochimique et l'activité antioxydant du génévrier de ces stations d'étude.



Figure n° 14: Image satellitaire de la localisation de la région d'étude (google earth).

III.3. Matériel végétal

Notre étude a porté sur les parties aériennes (feuilles et cônes) de l'espèce *Juniperus phoenicea*.



Figure n°15 : Image représentant les rameaux, feuilles et cônes de *Juniperus phoenicea*

III.3.1. séchage

Le matériel végétal est séché à l'ombre à une température ambiante, 20 jours en moyenne. Le matériel végétal séché (feuilles et cônes) est passé dans un broyeur électrique, le broyat est tamisé à l'aide d'un tamis de 250 μ m de diamètre, la poudre obtenue est conservée dans des flacons opaques.

III.4. Méthodes

III.4.2. Etude biochimique

Nous avons analysé la teneur en composés phénoliques (Polyphénols totaux, Flavonoïdes) ainsi que l'activité antioxydante de 09 individus (feuilles et cônes) séparément de *Juniperus phoenicea* à raison de trois individus par station.

III.4.2.1. Extraction des polyphénols

La méthode d'extraction utilisée, est celle d'Oomah (2010), dans cette étude on a réalisé une extraction avec deux solvant différents (éthanol / eau distillée), cette méthode

d'extractions consiste à suspendre **0,8 g** du broyat végétal séparément dans **32 ml** de solvant (d'éthanol à 96% ou eau distillée).

Les mélanges sont laissés agiter pendant deux heures à température ambiante suivi d'une centrifugation pendant **10 mn** à **6000 tours/mn**. Après la filtration, le surnageant est récupéré dans des tubes à essai puis conservé au frais.

III.4.2.2. Dosage des polyphénols

III.4.2.2.1. Dosage des phénols totaux

III.4.2.2.1.1. Principe

La teneur phénolique totale est généralement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre selon la méthode de **Folin-Ciocalteu** où les composés phénoliques réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif utilisé est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur jaune.

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques, le réactif entraîne la formation d'un nouveau complexe de tungstène (W_8O_{23}) et molybdène (MO_8O_{23}) de couleur bleue, la coloration produite dont l'absorption maximale est comprise entre **725 et 750 nm** est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

III.4.2.2.1.2. Protocole

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé avec le réactif colorimétrique **Folin-Ciocalteu** selon la méthode citée par **Skerget et al., (2005)**, le protocole appliqué comporte les étapes suivantes :

Un volume de **500 µl** pour chaque extrait est introduit dans des tubes à essais, après on ajoute **2500 µl** de folin-ciocalteu dilué (1/10). Les tubes sont agités à l'aide d'un vortex et incubés pendant 3 min à température ambiante, ensuite **2000 µl** de Na_2CO_3 (7,5%) sont additionnés au mélange.

Les tubes sont ensuite passés dans un bain marie à 50°C pendant 5mn. Après le refroidissement, L'absorbance est ensuite lue à **760 nm** par un spectrophotomètre.

Le témoin est préparé de la même façon en remplaçant l'extrait par **500µl** de solvant d'extraction (éthanol/ eau distillée).

III.4.2.2.1.3. Expression des résultats

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, celle-ci est établie avec le standard étalon d'acide gallique (0,01-0,1 mg/ml) qui est le standard le plus souvent utilisé dans la méthode au Folin-Ciocalteu (**Maisuhisakul et al., 2008**). Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g).

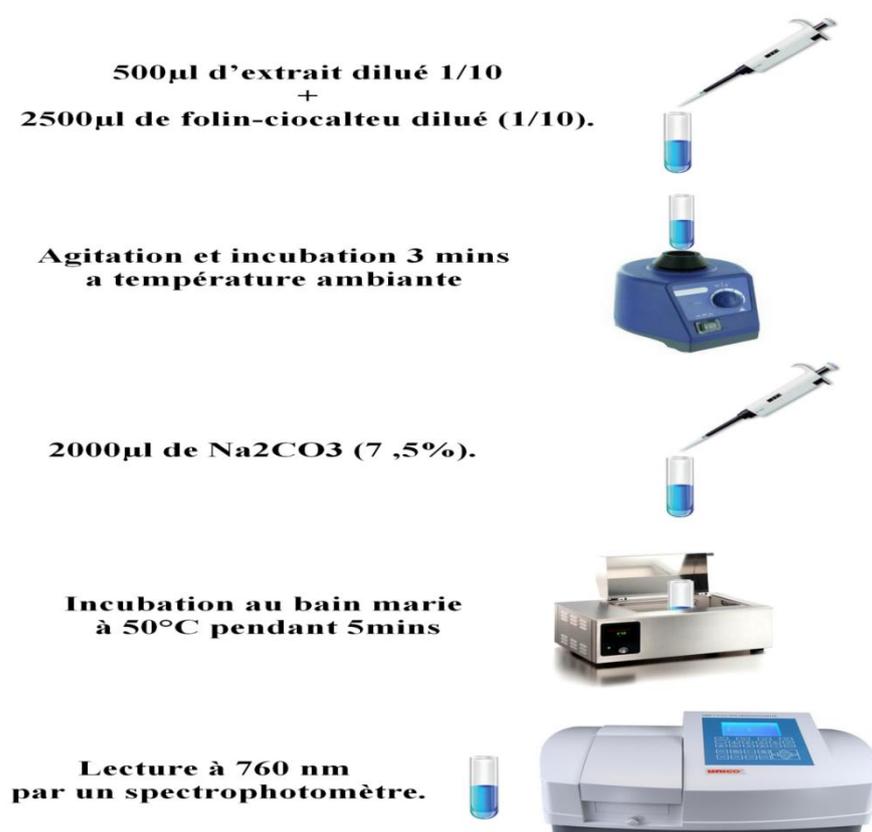


Figure n° 15: Protocole expérimental de dosage des phénols totaux.

Le témoin a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant d'extraction (l'éthanol ou eau distillée).

III.4.2.2. Dosage des flavonoïdes

III.4.2.2.1. Principe

Lors de l'ajout du chlorure d'aluminium y'aura la formation d'un complexe de couleur jaune due à la fixation des ions Al^{3+} sur les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes, à fin de détermine la quantité des flavonoïdes dans un extrait on utilise le flavonoïde prédominant, cependant la Quercétine est largement utilisée comme standard pour la détermination de la teneur des flavonoïdes dans un échantillon (Bahorun et al.,1996).

III.4.2.2.2. Protocole

La méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) décrite par (Chang et al., 2002 et Djeridane et al.,2006) est employée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits. Le protocole de dosage est le suivant:

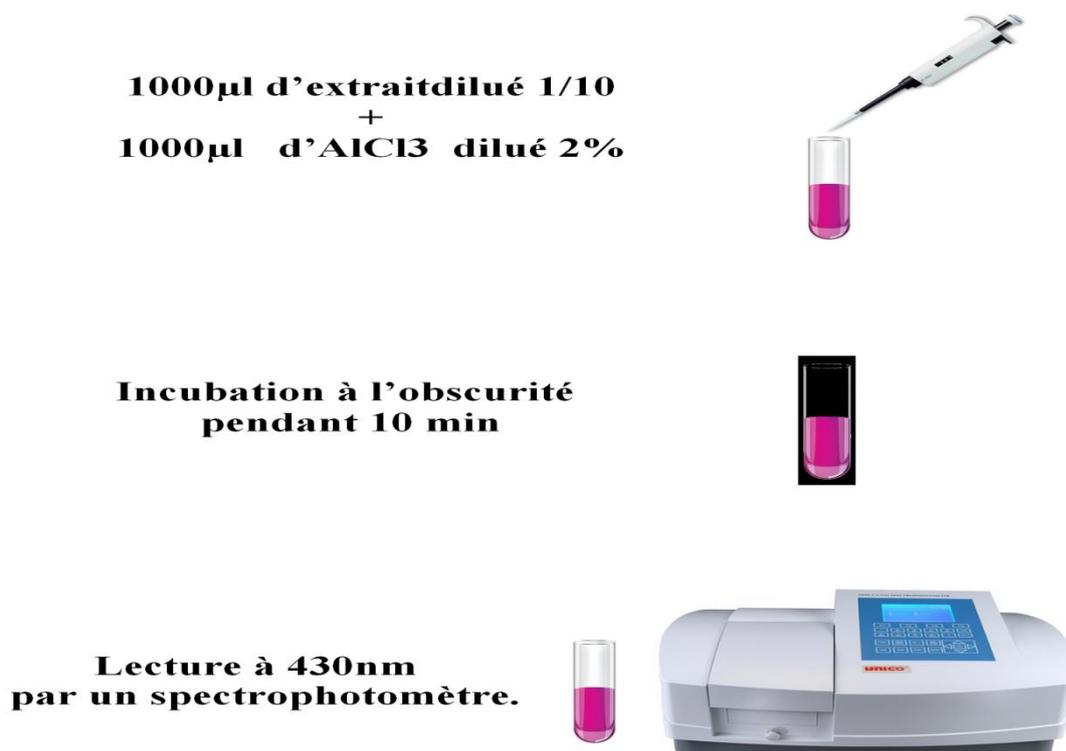


Figure n° 16: Protocole expérimental des flavonoïdes.

III.4.2.2.3. Expression des résultats

La concentration des flavonoïdes des différents extraits est déduite à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par la Quercétine à différentes concentrations (0,001-0,01mg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de Quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g).

III.4.2.3. Activités antioxydants

III.4.2.3.1. Pouvoir réducteur

Dans cette méthode, la conversion du complexe Fe^{3+} /ferricyanure au fer ferreux Fe^{2+} est révélée par le changement de couleur de solution de jaune vers le vert ou bleu (Deore *et al.*, 2008), cela dépend de la présence de réducteurs qui exposent un pouvoir antioxydant (Senevirathne *et al.*, 2006). Le pouvoir réducteur est étudié en utilisant la méthode décrite par (Zubia *et al.*, 2007).

L'analyse a été réalisée en mélangeant **1000 µl** d'extrait avec **2500µl** du tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) et **2500 µl** de ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) à 1%.

Le mélange est agité vigoureusement et incubé dans un bain marie pendant 20min à 50°C. **2500 µl** de cette solution sont additionné à **2500 µl** d'acide trichloracétique (TCA) à 10% dans un tube à essai, une fraction de **2500 µl** à partir du surnageant est ajouté à **2500 µl** d'eau distillée et **500 µl** chlorure ferrique ($FeCl_3.6H_2O$) à 0,1%. Après 10 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance du mélange obtenu est mesurée à **700 nm**.

L'acide ascorbique est utilisé pour la préparation de la courbe standard pour quantifier l'activité réductrice.

Le pouvoir réducteur des extraits éthanoliques et des extraits aqueux est exprimé en équivalent milligramme d'acide ascorbique par 100g d'échantillon.

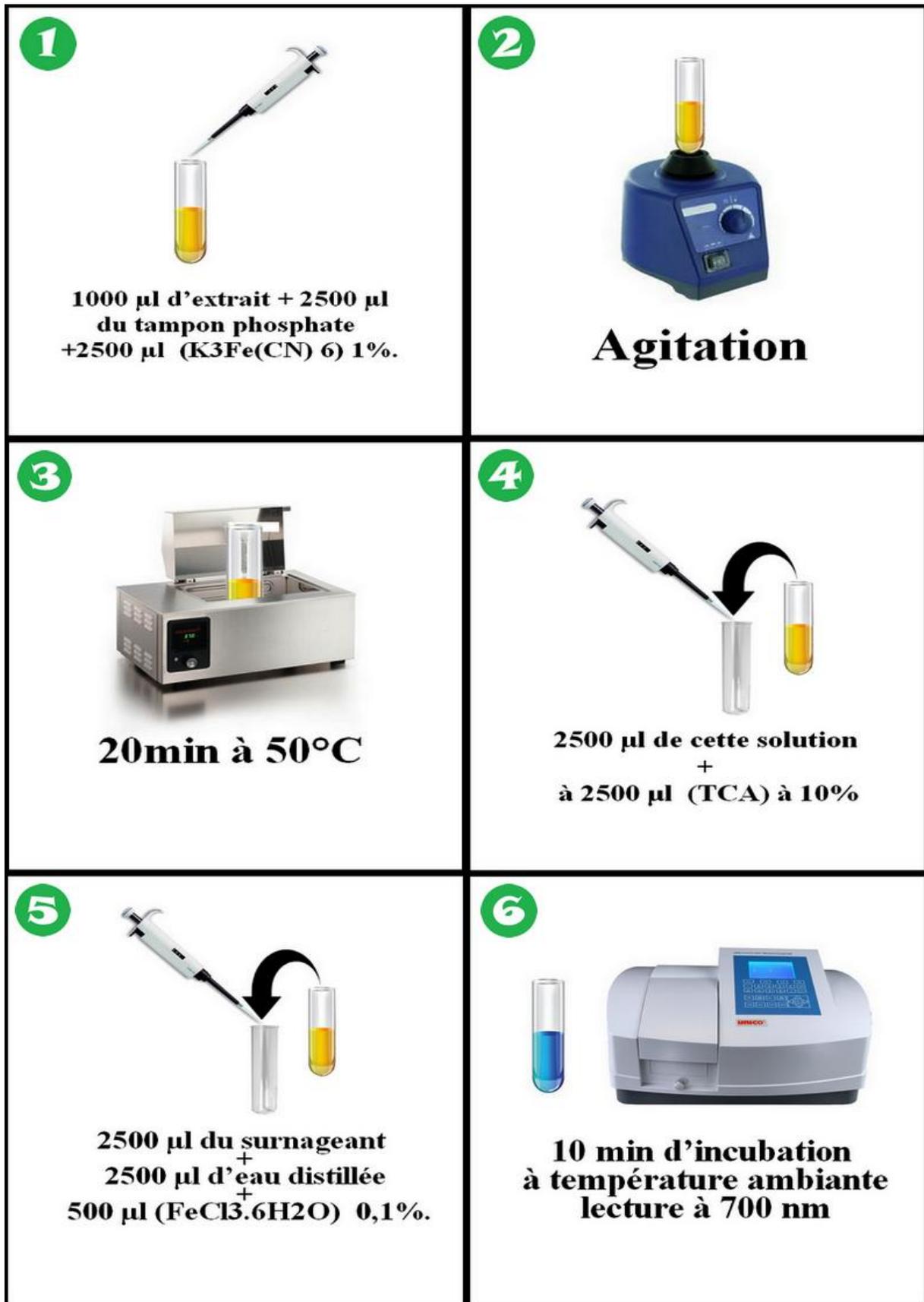


Figure n° 17 : Protocole expérimental du pouvoir réducteur.

III.4.2.3.2. Test de DPPH

III.4.2.3.2.1. Principe

Dans ce test le DPPH est considéré comme un radical libre, le principe de cette méthode est basé sur la mesure de la capacité antioxydante des extraits à piéger le radical libre 2,2-diphenyle-1-picrylhydrazil (DPPH) en présence des molécules antioxydantes, le DPPH capte un atome d'hydrogène et se transforme en sa forme réduite (diphényl-hydrazine) (Keskes *et al.*, 2014) cette transformation induit la diminution de l'absorption et sa couleur change du violet au jaune.

L'effet scavenger des extraits éthanoliques de *Juniperus phoenicea* vis-à-vis du radical DPPH est évalué selon la méthode décrite par (Chun *et al.*, 2005).

Dans des tubes à essais un volume de **1900 µl** de la solution de DPPH (0.24mM) est additionné à **100 µl** des solutions d'extraits, immédiatement le mélange est complètement agité. Après une incubation de 30 min à l'obscurité et à température ambiante, la lecture de l'absorbance à **517 nm**.



Figure n° 18: Schéma illustratif de l'activité scavenger du DPPH.

Le pourcentage de l'activité anti-radicalaire est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$(I \%) = \left(\frac{A_b - A_e}{A_b} \right) \times 100$$

Avec

A_b: Absorbance du témoin

A_e: Absorbance de l'échantillon

IV. Résultats et Discussion

Afin de comparer nos résultats du dosage quantitatif des polyphénols totaux et d'évaluer l'activité antioxydant des composés phénoliques et de comparer entre les deux extractions (aqueuse et éthanolique), les résultats sont présentés sous forme d'histogrammes dans lesquels on compare entre les extraits des cônes (galbule) et des écailles (feuilles) de trois altitudes (30m, 200m, 380m) de l'espèce *Juniperus phoenicea* (génévrier rouge) récolté au niveau de la région de Taref.

IV.1. Extraction aqueuse et éthanolique

IV.1.1. Résultats des dosages

IV.1.1.1. Polyphénols totaux (extraction aqueuse)

Les résultats du dosage des polyphénols totaux sont indiqués dans la figure 19, comme première constatation, les teneurs foliaires sont nettement plus importantes que celles des cônes et cela quelque soit l'altitude.

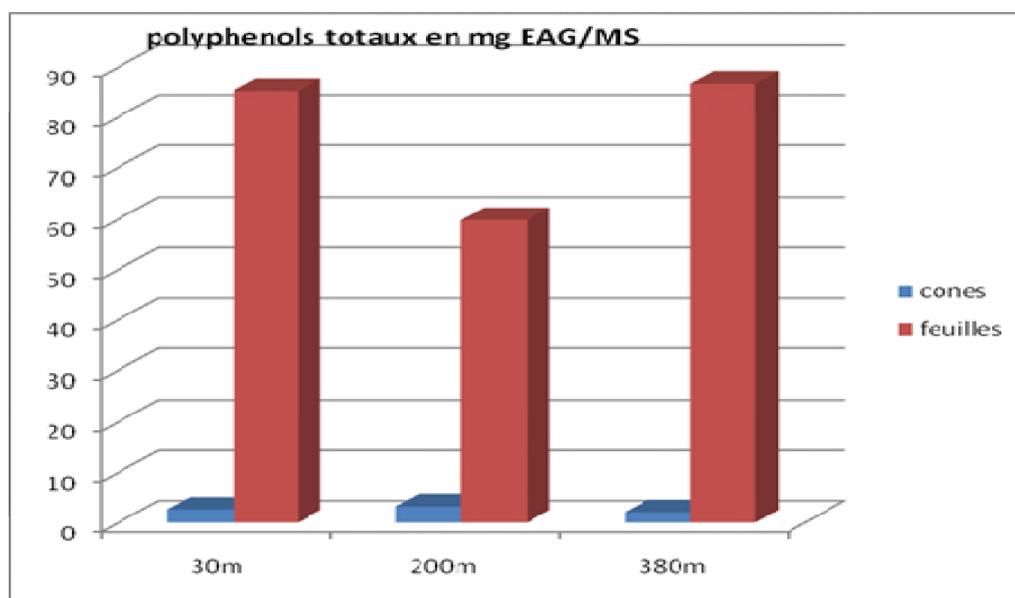


Figure n°19: Résultats des extractions aqueuses des polyphénols totaux à partir des feuilles et des cônes de *Juniperus phoenicea* prélevés dans la station de Taref à différentes altitudes (30m, 200m ; 380m).

Au niveau de la mer (30m), l'extraction aqueuse a révélé que la valeur la plus importante des concentrations en polyphénols se trouve chez les feuilles avec une teneur de 85,22 mg EAG /g ms, alors que les extraits des cônes (fruits) contiennent uniquement 2,65 mg

EAG /g ms. La même tendance est constaté à 200m d'altitude, les dosages révèlent toujours une teneur foliaire plus élevée (59,8mg EAG /g ms), tandis que les concentrations des cônes (fruits) indiquent une quantité très faible qui est de l'ordre de 3,29 mg EAG /g ms. Le dosage des polyphénols totaux chez les plantes prélevées à 380m d'altitude ne déroge pas à la tendance observée précédemment. En effet, ce sont toujours les feuilles qui accumulent les quantités les plus importantes par rapport aux cônes, nous avons enregistré des concentrations de l'ordre de 86,69mg EAG /g ms au niveau foliaire comparativement à une valeur de 2,11mg EAG /g ms à l'échelle des cônes.

La comparaison des teneurs en polyphénols totaux entre les genévriers rouges des trois altitudes d'échantillonnage (Figure 19) montre que pour ce qui est des feuilles, ce sont les plantes poussant à 380 m qui accumulent le plus de polyphénols totaux avec 86,69mg EAG /g ms, viennent juste après celles récoltées à 30m (85,22 mg EAG /g ms), et en fin arrivent les plantes de l'altitude 200m (59,8mg EAG /g ms). Concernant les cônes, ces organes enregistrent des teneurs faibles avec une légère variation selon l'altitude. Cela pourrait être interprété de la manière suivante : l'altitude seule ne serait pas déterminante dans l'accumulation des polyphénols par nos plantes, ils y auraient d'autres facteurs environnementaux qui influeraient aussi, et les teneurs seraient la résultante de l'effet combiné de l'ensemble des facteurs (Figure 19).

Quand on compare nos résultats avec ceux d'une étude menée par **Hayouni et al., (2007)** qui ont travaillé sur la même plante, on constate que la quantité des composés phénoliques détectée dans les extraits des plantes des trois altitude de la station de **Taref** sont inférieurs à ceux obtenus par les auteurs dans les extraits des feuilles et des cônes (167et 189 mg EAG /gs).

Nos résultats sont aussi inférieurs aux résultats trouvés par **Keskes et al., (2014)** qui sont de l'ordre de 162 mg EAG /g pour *Juniperus phoenicea*.

IV.1.1.2. Polyphénols totaux (extraction éthanolique)

Les concentrations des composés phénoliques des extraits éthanoliques des plantes du genévrier de Phénicie récoltées au niveau de station de **Taref** sont illustrées dans la figure 20. Les concentrations en polyphénols totaux des extraits des feuilles sont nettement supérieures à celles quantifiées dans les extraits des cônes, nous retrouvons la même tendance (feuilles plus riches que les galbules) notée déjà avec les extraits aqueux. On constate

également que la teneur foliaire la plus haute est observée chez les plantes localisées à 380m d'altitude. La disparité entre les deux types d'extraction réside dans les quantités qui varient ici d'environ 85 mg EAG /g ms à de 122 mg EAG /g ms pour les feuilles, et d'environ 5 mg EAG /g ms à 18 mg EAG /g ms pour les galbules. Pour ces derniers, la teneur la plus importante est enregistrée dans les cônes des plantes de la deuxième altitude (200m) comme pour l'extrait aqueux.

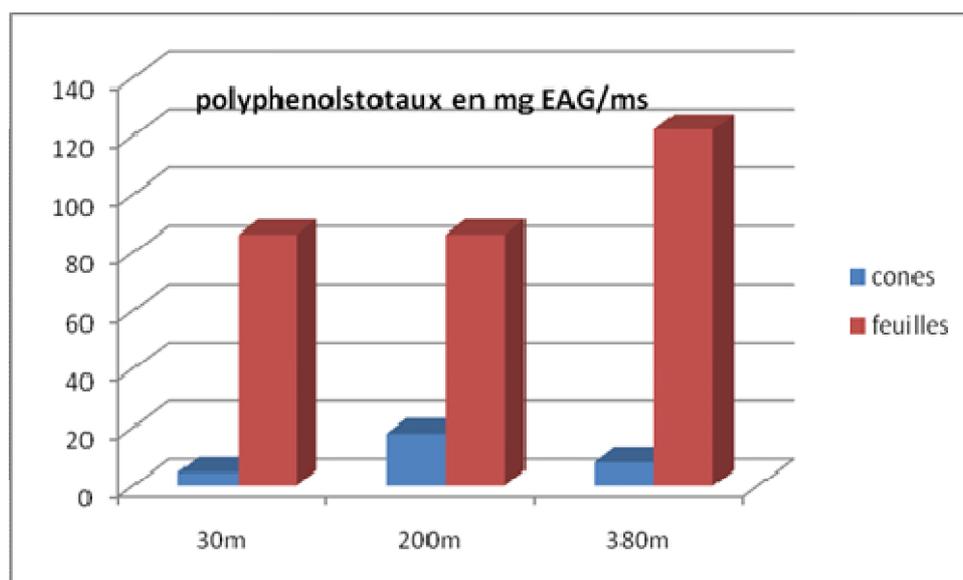


Figure n° 20: Teneurs en polyphénols totaux des extraits éthanoliques des feuilles et des cônes de *Juniperus phoenicea* prélevés dans la station de Taref à différentes altitudes (30m, 200m ; 380m).

En comparant nos résultats avec ceux obtenus par **Menaceur et al., (2013)** qui ont travaillé sur la même espèce on trouve que leurs teneurs en polyphénols totaux (308 mg GAE/g) sont supérieures aux nôtres. On expliquerait cet écart par le lieu du prélèvement et méthodes extraction.

L'opposition des teneurs foliaires aux teneurs des fruits en polyphénols révèle une grande différence qui s'expliquerait par le fait que les galbules (fruits) sont connus pour accumuler beaucoup plus de composés terpéniques tels que les huiles essentielles que de composés phénoliques (**Guendouzen et Haddouche, 2016**).

Selon **Hayouni et al., (2007)** La différence de quantité des composés phénoliques est expliquée par :

- La nature du solvant d'extractions utilisées.
- Le lieu ainsi que la durée d'échantillonnage.
- La taille des particules.
- La température de l'extraction.

IV.1.1.2. Flavonoïdes (extraction aqueuse)

Après les dosages des composés phénoliques totaux, nous avons effectué la quantification des flavonoïdes qui constituent une partie intégrante des polyphénols totaux. Les valeurs de cette analyse sont consignées dans la figure 21.

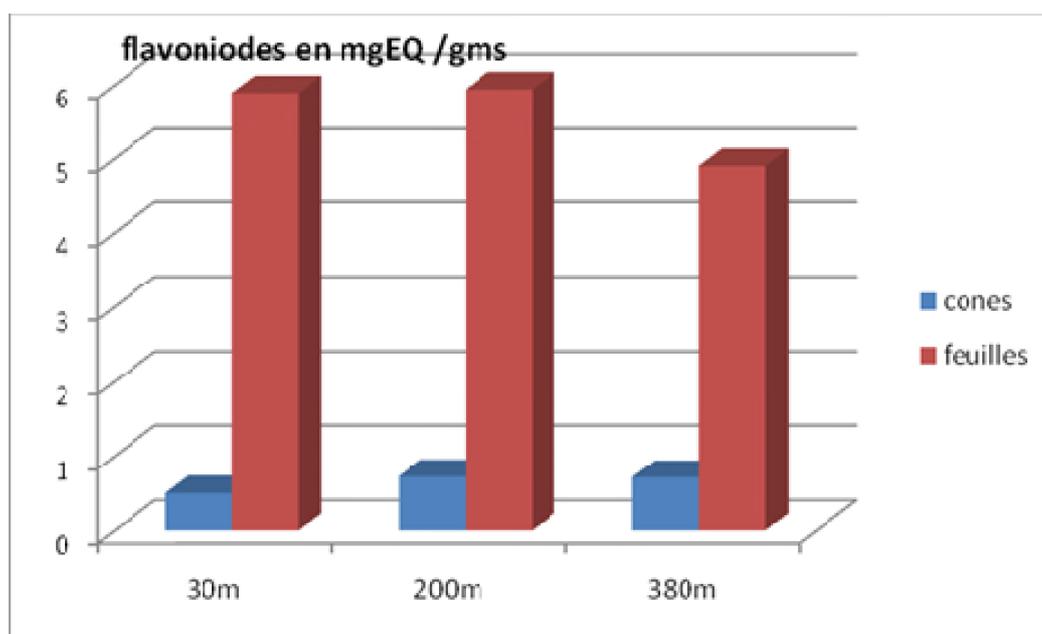


Figure n°21: Résultats des extractions aqueuses des flavonoïdes à partir des feuilles et des cônes de *Juniperus phoenicea* prélevés dans la station de Taref à différentes altitudes (30m, 200m ; 380m).

D'une manière générale et indépendamment des altitudes, la fraction flavonoïdique est inférieure par rapport à la teneur en polyphénols totaux, et les feuilles sont plus riches en flavonoïdes que les galbules.

Pour la première altitude, les concentrations les plus dominantes appartiennent aux extraits des feuilles (5,94 mg EQ /g ms), en revanche les extraits des cônes (fruits) ont donné seulement 0,72mg EQ /g ms. Au niveau des deux autres altitudes, l'ampleur des teneurs en flavonoïdes des extraits aqueux reste comparable à celle de la première dans les deux organes, et elle fluctue légèrement au tour de 5mg EQ /g ms pour les feuilles et de 0.7mg EQ /g ms pour les cônes. En effet, la concentration foliaire en flavonoïdes la plus élevée est remarquée au niveau de la troisième altitude (380m), après c'est la première altitude (30m) et en fin c'est la deuxième altitude (200m) avec respectivement 5,94 mg EQ/ g ms, 5,89 mg EQ/ g ms et 4,90 mg EQ/ g ms. Du côté des cônes, ce sont les plantes de la deuxième altitude (200m) qui enregistrent la valeur la plus élevée (0.72mg EQ/ g ms), puis la troisième altitude (380m) (0,71mg EQ/ g ms), et en dernier lieu les extraits de la première altitude (30m) (0.5 mg EQ/ g ms).

En comparant nos résultats à ceux de **Laouar et al., (2017)**, qui ont travaillé sur la même espèce végétale et ont trouvé les valeurs de 2.09mg EQ/g au niveau des feuilles et 2.88mg EQ/g au niveau des fruits, on constate que la teneur en flavonoïdes est inférieure à la nôtre dans les extraits des feuilles et supérieure à la nôtre dans les extraits des cônes.

IV.1.1.3. Flavonoïdes (extraction éthanolique)

L'histogramme au-dessus (Figure 22) présente les résultats du dosage des flavonoïdes dans les extraits des feuilles et des cônes des trois altitudes au niveau de stations **Taref**. La figure montre que les flavonoïdes sont plus concentrés au niveau des extraits des feuilles (6.9mg EQ/g ms) en comparaison avec les extraits des cônes qui ne recèlent que de faibles quantités de l'ordre de 1 mg EQ/g ms.

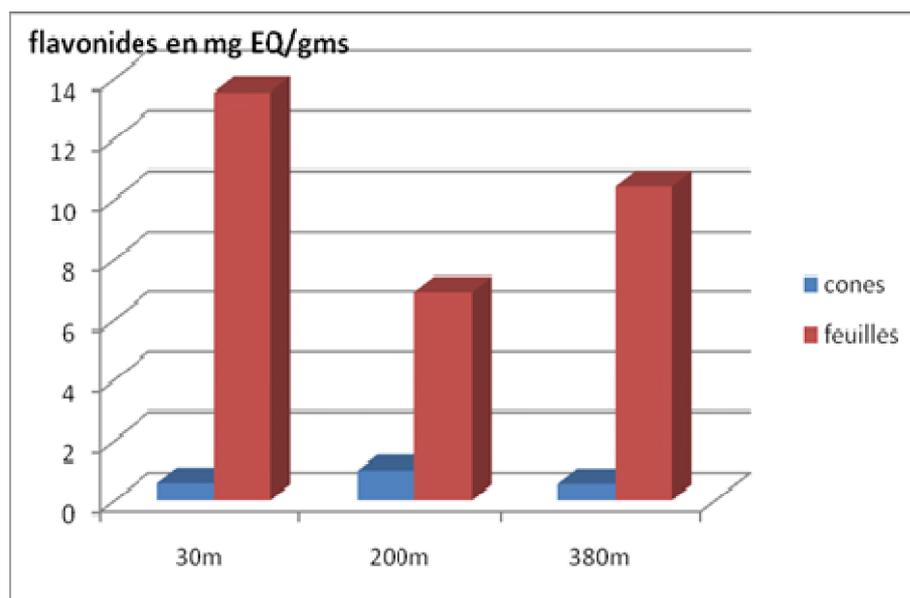


Figure n° 22: Teneurs en flavonoïdes des extraits éthanoliques des feuilles et des cônes de *Juniperus phoenicea* prélevés dans la station de Taref à différentes altitudes (30m, 200m ; 380m).

Le dosage des flavonoïdes révèle la présence d'une quantité élevée dans les extraits éthanoliques des feuilles (13.55mg EQ /g ms) de première altitude (30m) suivie par la troisième altitude (380m), et en fin c'est la deuxième altitude (200m) avec respectivement 10.42 mg EQ/gms, 6.9mg EQ/g ms. Pour les cônes, c'est la deuxième altitude qui est dotée de la valeur la plus élevée (1 mg EQ/g ms), puis c'est la première (0,58mg EQ /g ms), et enfin la troisième altitude (0,55mg EQ /g ms).

La comparaison de nos résultats à ceux trouvés par **Soltani et al., (2017)** qui est travaillé sur l'activité antioxydant des extraits de trois organes de *Juniperus phoenicea L.* de l'Ouest algérien, on trouve que la teneur en flavonoïdes des extraits des feuilles (140,10 mg CE/g) est très élevée par rapport à la notre. Cette différence s'expliquerait par le lieu ainsi que la période d'échantillonnage.

IV.1.2. Activité oxydante des extraits aqueux et éthanolique

Pour évaluer l'activité antioxydant des extraits aqueux du genévrier de Phénicie, nous avons réalisé deux tests.

IV.1.2.1. Pouvoir réducteur (extraction aqueux)

Les résultats du pouvoir réducteur sont indiqués dans la (Figure 23) de prime abord, on peut constater que le pouvoir réducteur des extraits aqueux des feuilles est plus important que celui des extraits des cônes. On note aussi que l'activité la meilleure (131,83mg

EAAsc/gms) est présentée par l'extrait des feuilles récoltées au niveau de la mer (30m). Observant aussi que les activités antioxydant les plus faibles sont celles des cônes en général, et des feuilles de la deuxième station (200m), et que cela coïncide avec les teneurs en polyphénols totaux les plus basses. Ce qui suggérerait une relation de cause à effet entre la teneur en polyphénols totaux et le pouvoir réducteur.

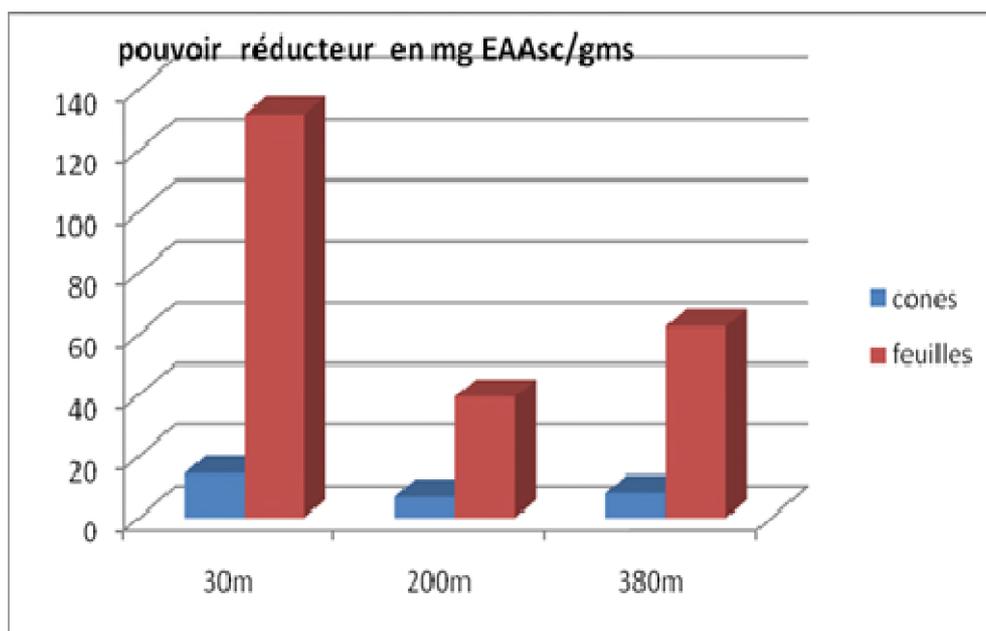


Figure n° 23: Résultats du pouvoir réducteur des extraits aqueux des feuilles et des cônes de *Juniperus phoenicea* prélevés dans la station de Taref à différentes altitudes (30m, 200m ; 380m).

IV.2.2.2. Pouvoir réducteur (extraction éthanolique)

Les résultats d'évaluation du pouvoir réducteur sont illustrés dans la (Figure 24). Ce sont toujours les extraits éthanoliques des feuilles de trois altitudes qui enregistrent l'activité antioxydant la plus puissante. On remarque aussi que la meilleure activité antioxydant (92.29 mg EAAsc/g ms) est révélée au niveau des extraits des feuilles de la troisième altitude (380m), suivie par les deux autres altitudes (65.8mg EAAsc/g ms, 61,36 mg EAAsc/g ms). Notant aussi que les activités antioxydant les plus faibles sont celles des cônes en général, dont les valeurs sont estimées à 4.78mg EAAsc/g ms, 11.42 mg EAAsc/g ms et 3.59mg EAAsc/g ms pour les extraits des galbules en provenance des trois altitudes.

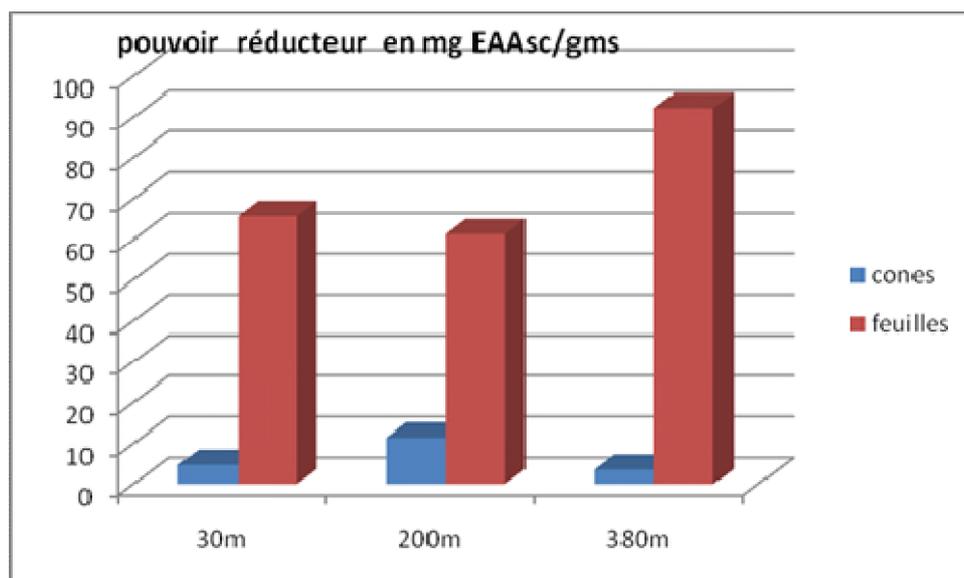


Figure n° 24: Résultats du pouvoir réducteur des extraits éthanoliques des feuilles et des cônes de *Juniperus phoenicea* prélevés dans la station de Taref à différentes altitudes (30m, 200m ; 380m).

IV .1.2.2. Test de DPPH (extraction aqueux)

Le deuxième élément analysé dans l'activité antioxydant est le test DPPH, les résultats de ce dernier sont présentés dans la (Figure 25).

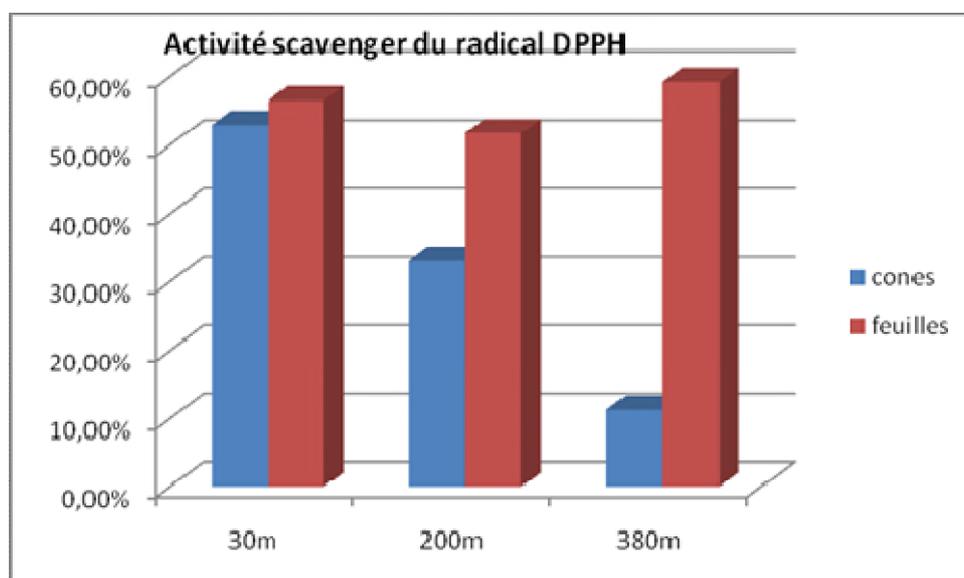


Figure n° 25: Résultats de l'activité scavenger du radical DPPH des extraits aqueux des feuilles et des cônes de *Juniperus phoenicea* prélevés dans la station de Taref à différentes altitudes (30m, 200m ; 380m).

Selon la (Figure 25), la réduction du radical DPPH par les extraits aqueux foliaires est plus efficace et cette réduction est en fonction des teneurs foliaires en polyphénols. Toujours d'après la même figure, on remarque que l'activité anti-radicalaire des extraits des cônes est importante surtout pour l'extrait des plantes récoltées à 30m d'altitude, contrairement à ce que nous avons observé précédemment concernant le pouvoir réducteur.

La comparaison de nos résultats aux travaux qui ont été faits par **Medini et al.,(2013)** qui ont trouvé une moyenne variant de 72.15 à 95.89 %, indique que leur activité antioxydante est plus importante par rapport à la nôtre. Le désaccord peut être expliqué par le fait que les auteurs ont utilisé des méthodes différentes à fin de l'évaluer l'activité antioxydante et aussi le type de solvant d'extraction utilisé.

IV.2.2.3. Test de DPPH (extraction éthanolique)

Les extraits des feuilles de deuxième altitude (200m) ont une meilleure capacité antioxydante (52.45 %), puis celle de la première et de la troisième altitude (51.21% et 49.32%). Pour ce qui est des extraits des cônes, c'est la deuxième altitude (69.39%) qui révèle la meilleure capacité de réduction mieux que celles de la première et la troisième altitude (40.26%,39.04%).

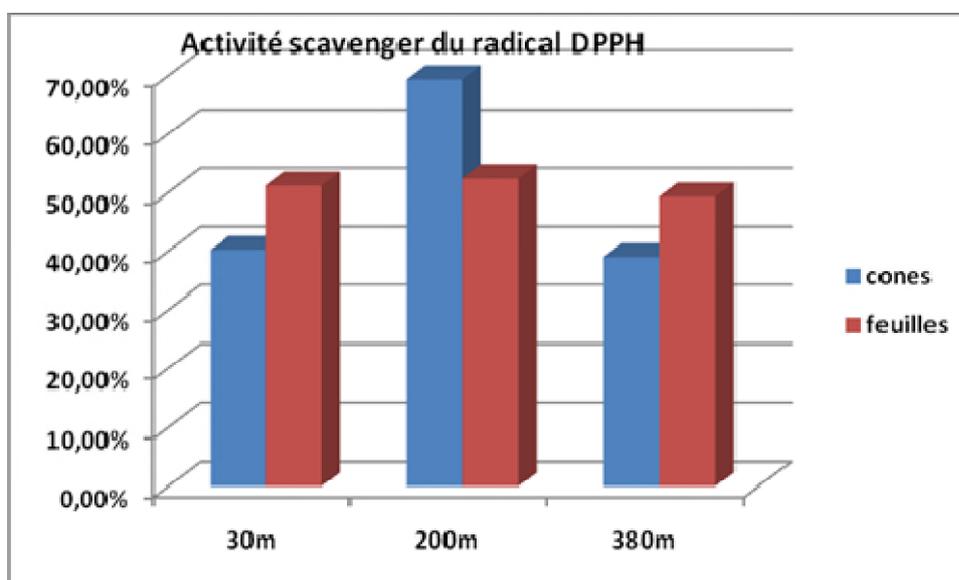


Figure n° 26 : Résultats de l'activité scavenger du radical DPPH des extraits éthanoliques des feuilles et des cônes de *Juniperus phoenicea* prélevés dans la station de Taref à différentes altitudes (30m, 200m ; 380m).

La comparaison de nos résultats aux travaux qui ont été réalisés par **Amalou et Mouhoubi, (2014)** montre que l'activité antioxydant de leurs extraits (36.299% et 34.524%) est inférieure à la notre. La différence peut être expliquée par la région est le période d'échantillonnage.

Conclusion

Notre travail a pour objectif l'étude des métabolites secondaires (composés phénoliques) des cônes et des feuilles de *Juniperus phoenicea* récoltés au niveau de trois altitudes (30m, 200m, 380m) de station de Taref et tester l'activité antioxydant des extraits brutes de la plante.

Nous avons effectué deux extractions: extraction aqueuse et extraction éthanolique, suivies par le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes, puis nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antioxydant des extraits bruts de cette plante. Pour les deux extractions les teneurs en polyphénols totaux des extraits des cônes et des feuilles ont été évaluées par le réactif colorimétrique de folin-ciocalteau et les teneurs en flavonoïdes ont été évaluées par le trichlorure d'aluminium.

A la lumière des résultats obtenus dans cette étude nous pouvons tirer les conclusions suivantes:

Au sujet des solvants des extractions utilisés à savoir l'eau et l'éthanol, ce dernier s'est révélé être le plus efficace. En effet, c'est l'extraction éthanolique qui a donné les teneurs les plus importantes.

A propos des organes de la plante analysés en l'occurrence, les cônes et les feuilles, il s'est avéré que la partie foliaire est la plus riche en composés phénoliques (Polyphénols totaux et flavonoïdes) quelque soit la nature du solvant utilisé et indépendamment de l'endroit de la récolté. Les résultats confirment que la teneur la plus élevée en composés phénoliques des extraits de *Juniperus phoenicea* est constatée dans les extraits éthanoliques de troisième altitude (122,21 mg EAG /g ms) pour feuilles et la deuxième altitude (17,84 mg EAG /g ms) pour les cônes. La quantité la plus importante en flavonoïdes est notée au niveau des extraits éthanolique des feuilles de première altitude (13.55 mg EAG /g ms) et au niveau de deuxième altitude pour les cônes (1 mg EAG /g ms).

Concernant l'évaluation de l'activité antioxydant des extraits qui a été réalisée par deux méthodes à savoir le pouvoir réducteur et le piégeage du radical DPPH, les extraits de *Juniperus phoenicea* exercent une activité antioxydant avérée, la meilleure capacité antioxydant est notée aux niveaux des extraits aqueux de première altitude (30m) pour les

feuilles (131,83 mg EAAsc/gms) et aussi au niveau de première altitude pour les cônes (14,31 mg EAAsc/gms).

En ce qui concerne l'activité scavenger du radical DPPH, les résultats indiquent que la meilleure activité antiradicalaire est enregistrée au niveau des extraits éthanoliques de deuxième altitude (200 m) pour les cônes (69,39%) et aux niveaux des extraits aqueux de troisième altitude (380 m) pour les feuilles (59,19%).

Perspectives

- l'étude des activités biologiques de *Juniperus de phoenicea* notamment l'activité antitumorale et anticancéreuse pour les extraits éthanoliques et aqueux.
- Tester la une extraction ethanolique suivie d'une extraction aqueuse.
- Réaliser une analyse qualitative des composés phénoliques.
- Et pourquoi pas l'étude de l'activité antioxydant in vivo de *juniperus de phoenicea*.

- **Abdelli, W. (2017).** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de doctorat en biologie, Faculté de science de la nature de la vie, université Abdelhamid ibnbadis- Mostaganem.P214.
- **Adams, RP. (1998).** the Leaf Essential Oils and Chemotaxonomy of *Juniperus* Sect. *Juniperus*, *journal of Biochemical systematics and Ecology*. **26**: 637- 645.
- **Adams, R.P., Barrero, A.F., Lara, A. (1996):** Comparisons of the leaf essential oils of *Juniperus phoenicea*, *J. phoenicea* subsp. *eu-mediterranea* Lebr.et Thiv. and *J. phoenicea* var. *turbinata* (Guss) Parl. *J. Essent. Oil Res.* **8**: 367-371.
- **Adams, RP. (2004).** Junipers of the World: The genus *Juniperus*. Trafford Publishing, Vancouver, BC, Canada.
- **Afonso, V., Champy, R. Mitrovic, P Collin, D., Lomri, A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Revue du Rhumatisme*. **74** :636–643.
- **Akrout, A. (1999).** Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). Institut des régions arides, 4119 Médenine- Tunisie.
- **AMALOU, N., MOUHOUBI, E. (2014).** Caractérisation biologique et biochimique du Genévrier (*Juniperus phoenicea*) au niveau du Parc National de Gouraya à Bejaïa. mémoire de master en biologie, faculté SNV. Université A.Mira- Bejaia. P74.
- **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J.C. and Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Journal of Arzneim- Forsch Drug Research*. **46**:1086-1108.
- **Belyagoubi, N. (2011).**Activité antioxydante des extraits des composée phénolique de dix plantes médicinales de l'ouest algérienne. thèse de doctorat en biologie, faculté SNV. Université Aboubakr Belkaid-Tlemcen.P174.
- **Benguerba, A. (2008).** Etude phytochimique et de la phase butanolique de espèce *inula crithmodes.l* .Mémoire de magister en chimie organique, faculté de sciences exactes .université de Constantine.P110.
- **Beta, T., Nam, s.,Dexter, J.E., et Sapirstein, H.D.(2005).** Phenolic content and antioxydants activity of Pearled wheat and Roller-Milled Fractions. *Cereal chem.***82** (4): 390-393.

- **Boizot, N. et Charpentier, J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. INRA Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, *Laboratoire d'Analyses Biochimiques*. **18**: 79-82.
- **Bouadam B. Farhi (2013).** Caractérisation morphologique et biochimique de l'espèce *Juniperus Sabina L.* au niveau du parc National de Djurdjura, Algérie. Mémoire de Magister en Sciences de la Nature. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université A/Mira de Bejaia. P 75.
- **Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.
- **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. 3^{ème} édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.
- **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 4 Ed Lavoisier ; Paris .P1269.
- **Cavaleiroa, C., Rezzib, S., Salgueiroa, L., Bighellib, A., Casanovab, J. Proenc, A., Cunha, A. (2001).** Intraspecific chemical variability of the leaf essential oil of *Juniperus phoenicea var. turbinata* from Portugal. *Journal of Biochemical Systematics and Ecology* .**29**:1175–1183.
- **Chang C. C., Yang M. H., Wen H. M. and Chern J. C. (2002).** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. **10**:178–182.
- **Chun, S. S., Vattem, D.A., Lin, Y.T., Shetty, K. (2005).** Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochemistry* .**40**: 809-816.
- **Cirses, D.A., Kvkdaya, O. and Kilxgstox, D.G .I. (1980).** Plant anticancer agents X. lignans from *juniperus phornicea*. *Journal of Natural products*. **43**:495-477
- **Collin, S., Crouzet, J. (2011).** Polyphénols et procédés. Edition lavoisier, Tech &, DOC, Paris, France. P333.
- **Cos, L., ying, L., calomme, M., Hu, J.P, Cimang, K., Poel, B. V., Pieters, L., Vlietinck A. Jan d Berghe, D.V. (1988).** Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of Natural products*. **61**:71-76.
- **Cowan, M.M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*. **12** (4): 564- 582.

- **Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. (2006).** Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Edt Black well Publishing Ltd.
- **Dacosta, Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Editions Yves Dacosta. Paris.P 317.
- **Deore, S. L., Khadabadi, S. S., Baviskar, B.A., Khangenbam, R.A., Koli, U.S.,Daga, N.P., Gadbail, P.A., and Jain, P.A. (2008).** In vitro antioxidant activity and phenolic content of *Croton caudatum*. *International Journal of Chemistry Technology Research*. **1 (2)**: 174-176.
- **Derwich, E., Benziane, Z., Taouil, R., Senhadji, O. and Touzani, M. (2010).** AComparative Study of The Chimical Composition of The Leaves Volatil Oil of *Juniperus phoenicea* and *Juniperus oxycedrus* . *Middl-East J.Res*. **5(5)**: 416-424.
- **Duranteau, J., Huet, O. (2008).** Dysfonction endothéliale : rôle des radicaux libres Endothelial dysfunction: Involvement of reactive oxygen species.**17** :387-392.
- **Dutot, M., Rambaux L., Warnet, J.M., Rat, P. (2008).** Modulation du stress oxydant par la myrtille riche en polyphénols sur un modèle de cellules humaines de rétine. **10**: 975-980.
- **El-bana, M., Shaltout,K., Khalafallah,A.,and Mosallam,H.(2010).** Ecological status of the Mediterranean *Juniperus phoenicea* L. Relicts in the Desert Mountains of North Sinai, Egypt. *Flora*. **05** :171–178.
- **Favier, A., Goudable, J. (1997).**les radicaux libre oxygéné et antioxydant. *Nutre clin metabol*.**11** :20-115.
- **Favier A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, p108-115.
- **Favier A. (2006).** Stress oxydant : Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann Pharm Fr*. **64**: 390-396.
- **Guendouzen, R., Haddouche, L. (2016).** Extraction des métabolites secondaires (composés phénoliques et huiles essentielles) et évaluation de l'activité antioxydante chez l'espèce *Juniperus oxycedrus*. mémoire de mastère en biologie, faculté SNV. Université A. Mira- Bejaia. P85.
- **Guignard,J. (1996).** Biochimie végétale. Ed. Lavoisier, Paris. P175-192.
- **Havsteen, B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol.Therapeut*. **96**: 67– 202.

- **Hayouni, E.A., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, **10**:10-16.
- **Iserin, P. (2001).** *Encyclopedie des plantes medicinales*. Ed : Larousse Bourdasse .Paris . p.335
- **Kamra, D.N., Agarwal, N., Chaudhary, L.C. (2006).** Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series*. **1293**: 156–163.
- **Keskes, H., Mnafigui, K., Hamden, K., Damak, M. El lfeki, A. and Allouche, N. (2014).** In vitro anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant proprieties of *Juniperus phoenicea* L. leaves from Tunisia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*.**4**: 649-655.
- **Khater, F. (2011).** Identification et validation de nouveaux gènes potentiellement impliqués dans la biosynthèse des composés phénoliques. Thèse de doctorat en biologie, faculté SNV.P203.
- **Lambert, C. (2011).** Étude du rôle des stilbènes dans les défenses de la vigne contre les maladies du bois. Thèse de doctorat en biologie, faculté SNV., université bordeaux 2.P202.
- **Laouar, A., Klibet, F., Bourogaa, E., Beamer, A., Boumendjel, A., Chefrou, A. and Messarah, M. (2017).** Potential antioxidant properties and hepatoprotective effects of *Juniperus phoenicea* berries against CCl4 induced hepatic damage in rats. *Journal of Tropical Medicine*. **10(3)**: 263–269
- **Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K .V., Biro, L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*. **44**: 1393-1395.
- **Maisuthisakul, P., Pasuk, S. and Ritthiruangde, J.P. (2008).** Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Journal of Food Composition and Analysis*. **21**: 229-240.
- **Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remezy, C. and Jimenez, L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *J. Am. Clin. Nutr.* **79** (5): 727-747.
- **Mansouri, N., Satrani, B., Ghanmi, M., El ghadraoui, L. and Aafi, A. (2011).** Étude chimique et biologique des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* ssp. *lycia*

- et *Juniperus phoenicea* ssp. *turbinata* du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **15**(3): 415-424.
- **Marfak, A. (2003).** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat en biologie, faculté SNV, Université de Limoges. P220.
 - **Medini, H., Elaïssi, A., Khouja, M. and Chemli, R. (2013).** Phytochemical screening and antioxidant activity of *Juniperus phoenicea* ssp. *Phoenicea* L. Extracts from two tunisian locations. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences.* **1** (2): 78-82.
 - **Menaceur, F., Benchabane, A., Hazzit, M., Baaliouamer, A. (2013).** Chemical Composition and Antioxidant Activity of Algerian *Juniperus phoenicea* L. *Journal of Biologically Active Products from Nature.* **3** (1):87-96.
 - **Nanacy, T., Agnés, A. (2014).** Colloque viticulture et stress hydrique : impact du stress hydrique sur la qualité de la vendange, exemple des flavonoïdes .INRA SPO.P20.
 - **Nedjimi, B., Beladel, B., Guit, B. (2015).** Multi-element determination in medicinal Juniper tree (*Juniperus phoenicea*) by instrumental neutron activation analysis. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences.***8**:243-246.
 - **Okennedy, R., and Thornes, R.D. (1997).** Coumarins: Biology, Applications and Mode of Action. John Wiley & Sons Inc. New York. N.Y.
 - **Oomah, B.D., Corbé, A. and Balasubramanian, P. (2010).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of bean hulls. *Journal of agricultural and food chemistry,* **58**:8225-8230.
 - **Packer, L. (2001).** Flavonoids and other polyphenols. Ed Academic Press, California. P 483 .
 - **Pincemail, J. Bonjean, K., Cayeux, K. and Defraigne, J.O (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. *Journal of Nutrition clinique et métabolisme .***16** :233–239.
 - **Rangela, M. L., Guerrero-Analcob, J. A., Monribot-Villanueva, J. L., Kiel-Martínez, A. L., Avendaño-Reyes, S., Díaz Abad, J. P., Bonilla-Landab, I., Dávalos-Sotelo, R., Olivares-Romero, J. L. and Angelesc, G. (2018).** Anatomical and chemical characteristics of leaves and branches of *Juniperus*

- deppeana* var. *deppeana* (Cupressaceae): A potential source of raw materials for the perfume and sweet candies industries. *Industrial Crops & Products*. **113**:50-54.
- **Sanguin, H., Mathaux, C., Guibal, F., Prin, Y., Mandin, J.P., Gauquelin, T. and Duponnois, R. (2016).** Ecology of vertical life in harsh environments: The case of mycorrhizal symbiosis with secular cliff climbing trees (*Juniperus phoenicea* L.). *Journal of Arid Environments*. **134**:132-135.
 - **Senevirathne, M., Kim, S.H., Siriwardhana, N., Ha, J. H., Lee, K.W., and Jeon, Y.J. (2006).** Antioxidant potential of *Ecklonia Cava* on reactive oxygen species scavenging, metal chelating, reducing power and lipid peroxidation inhibition. *Food science and Technology International*, **12**(1): 27-38.
 - **Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Rizner-Hras, A., Simonic, M., Knez, Z. (2005).** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. **89**: 191–198.
 - **Soltani, Y., Ali-Bouzidi, M., Toumi, F., Benyamina, A. (2017).** Activités antioxydantes des extraits de trois organes de *Juniperus phoenicea* L. de l'Ouest algérien. *Pharmacognosie*. P1-7.
 - **Yang, C. S., Landau, J.M., Huang, M.T. and Newmark, H. L. (2001).** Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annual review of Nutrition*. **21**:381–406.
 - **Zheng, W., Wang, S.Y. (2011).** Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. **49**:5165-5170.
 - **Zubia, M., Robledo, D. and Freile-Pelegrin, Y. (2007).** Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Applied Phycology*, **19**: 449-458.

Annexe

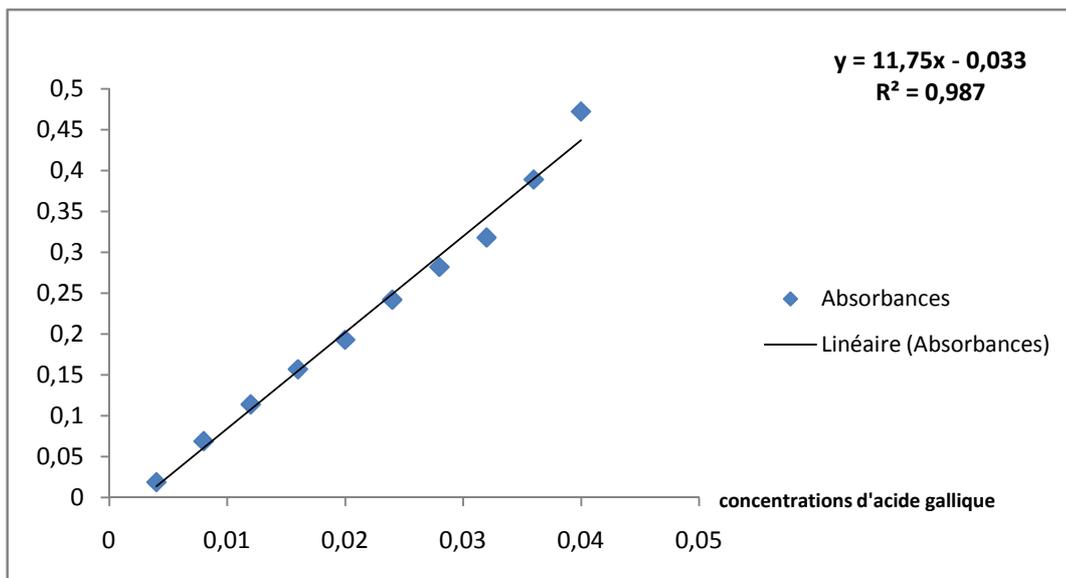


Figure 01 : Courbe d'étalonnage des polyphénols (A. gallique)

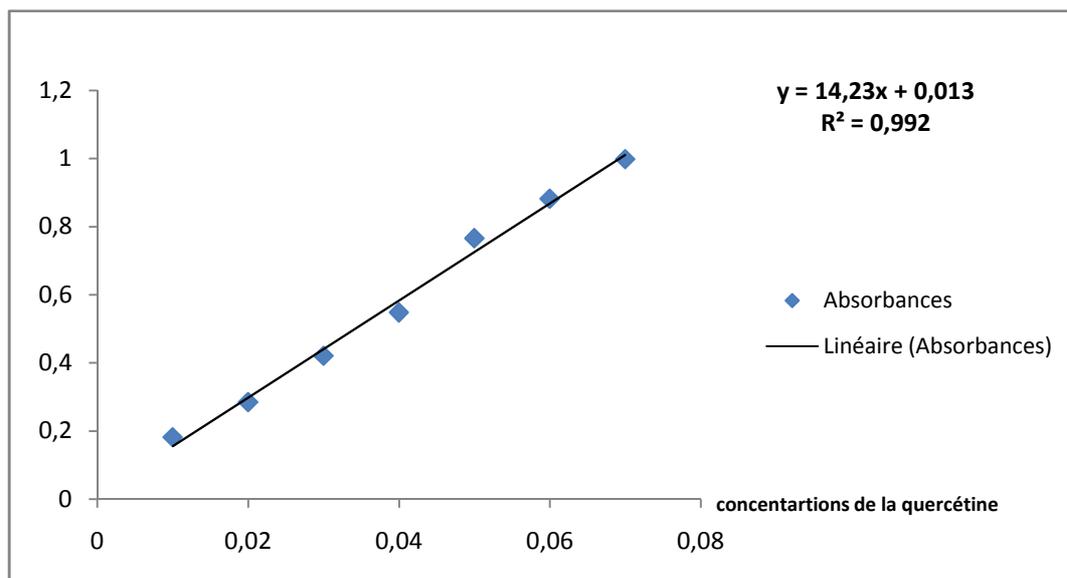


Figure 02 : Courbe d'étalonnage des Flavonoïdes (Quercétine)

Annexe

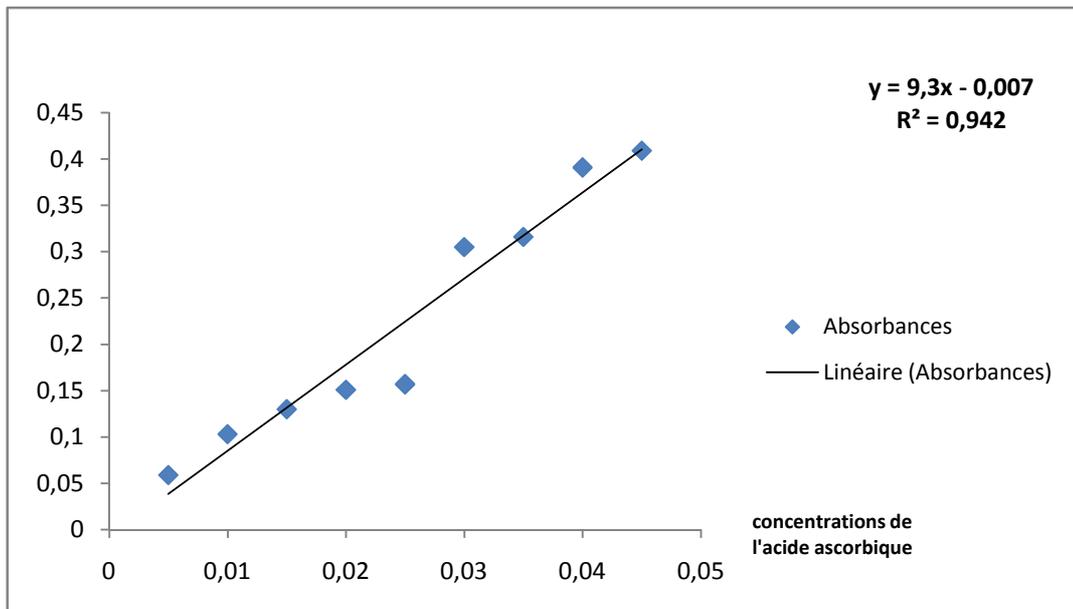


Figure 03 : Courbe d'étalonnage de pouvoir réducteur (A.ascorbique)

Résumé

Les composés phénoliques font actuellement l'objet de plusieurs recherches visant à explorer leur propriété biologique. Le but de cette étude est d'évaluer le pouvoir antioxydant des polyphénols contenus dans les feuilles et les cônes d'espèce de *juniperus phoenicea* après leur l'extraction et leur dosage. Extraction des composés phénoliques des feuilles et des cônes a été faite par deux extraction : l'extraction ethanologique et aqueuse. Ainsi leur l'activité antioxydant est déterminée par l'utilisation de deux méthodes: le pouvoir réducteur et le DPPH. Le dosage indique que l'extraction ethanologique des feuille et des cônes qui a donné les teneurs les plus élevées en polyphénols et en flavonoïdes (122.21mgEAG/gms, 17.84 mgEAG/gms, 13.55 mgEAG/gms, 17.84, 1 mgEAG/gms, 17.84). Les deux tests de l'activité antioxydant (pouvoir réducteur et le DPPH) indique que les extraits des cônes et des feuilles exercent un pouvoir antioxydant. Le Genévrier exerce une activité antioxydante

Mots clés: *Juniperus phoenicea*, polyphénols totaux, flavonoïdes, activité antioxydant.

Abstract

Phenolic compounds are currently the subject of several studies to explore their biological property. The aim of this study is to evaluate the antioxidant potency of the polyphenols contained in the leaves and cones of *juniperus phoenicea* species after their extraction and their determination. Extraction of phenolic compounds from leaves and cones was done by two extraction: ethanolic and aqueous extraction. Thus their antioxidant activity is determined by the use of two methods: reducing power and DPPH. The assay indicates that ethanolic extraction of leaves and cones yielded the highest levels of polyphenols and flavonoids (122.21mgEAG / gms, 17.84 mgEAG / gms, 13.55 mgEAG / gms, 17.84, 1 mgEAG / gms, 17.84). The two tests of the antioxidant activity (reducing power and the DPPH) indicates that the extracts of the cones and the leaves exert an antioxidant power

الملخص

المركبات الفينولية هي حاليا موضوع العديد من الدراسات لاستكشاف مميزاتها البيولوجية. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم فعالية مضادات الأكسدة من مادة البوليفينول الموجودة بالأوراق و الثمار لنوع من العرعر *juniperus phoenicea* بعد استخراجها وتحديدتها. تم استخلاص مركبات الفينول من الأوراق والأقماع بطريقتين: استخراج بالإيثانول والمحلول المائي. وبالتالي يتم تحديد نشاطها المضاد للأكسدة عن طريق استخدام طريقتين: القدرة الأرجاعية و DPPH. يشير الفحص إلى أن الاستخراج الإيثانولي من الأوراق والثمار أسفر عن أعلى مستويات البوليفينول والفلافونويد (122.21 ملغم / الغرام ، 17.84 ملغ / جرام ، 13.55 ملغ / جرام ، 17.84 ، 1 ملغ / جرام ، 17.84). يشير الاختباران النشاطات مضادات الأكسدة (القدرة الأرجاعية و DPPH) إلى أن مستخلصات الثمار والأوراق تمارس قوة مضادة للأكسدة.