

*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-chimique  
Filière : Biochimie  
Option : Biochimie appliquée



Réf :.....

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

## **MASTER**

### *Thème*

**Extraction des composés phénoliques et  
des huiles essentielles de l'espèce  
*Juniperus oxycedrus* et évaluation de ses  
activités antioxydante et antibactérienne**

Présenté par :

*M<sup>elle</sup> Ourari nassima et M<sup>elle</sup> Ider sabiha*

Soutenu le : **19 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

Mme Kara-kendi S.  
Mr Bouadam S.  
Mr Basli A.

MAA  
MAA  
MCA

Présidente  
Encadreur  
Examineur

**Année universitaire : 2016 / 2017**

## *Remerciements*

En premier lieu, on remercie Allah le tous puissant de nous avoir donné le courage et la santé pour réaliser ce travail

On tient à exprimer nos profonds remerciements et nos vives reconnaissances à notre promoteur M<sup>r</sup> Bouadam S. et son épouse M<sup>me</sup> Bouadam-Farhi B. pour leurs conseils toujours avisés, pour leurs idées et leur disponibilité. On les remercie également pour le temps qu'ils ont consacré à notre travail ainsi que leurs qualités relationnelles et humaines et leurs soutiens moral et leurs encouragements notamment dans les moments les plus difficiles.

On réserve une attention toute particulière à M<sup>me</sup> Kara-kendi S. qui nous a fait l'honneur de présider le jury et M<sup>r</sup> Basli A. qui a accepté d'examiner ce modeste travail.

On remercie vivement M<sup>me</sup> Benachour enseignante dans le département de Microbiologie pour son amabilité et son aide précieuse, son accueil et le travail réalisé au sein de laboratoire Microbiologie.

A nos parents, merci pour votre soutien inconditionnel et votre croyance en nous. Vous nous avez donné l'envie de faire des études, les moyens pour réussir ainsi que le courage pour faire et finir ce travail.

Nous sommes aussi reconnaissantes envers nos enseignants et nos camarades de promotion. Merci à tous ceux qui nous ont aidés par un sourire, un mot, une attention. Tout simplement un grand merci pour tous ceux qui ont contribué à la réussite de ce travail.

*Nassima et Sabiha.*

# Dédicaces

## *Je dédie ce travail :*

*A mes très chers grands parents et parents*

*Source d'amour et d'agrément inépuisable*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand amour, mon estime, ma vive gratitude, mon intime attachement et ma profonde affection.*

*Je ne saurais et je ne pourrais vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi et ce que vous faites jusqu'à présent.*

*Qu'ALLAH vous protège pour moi.*

*A mes chères frères et sœurs Said, Idris, Rosa, Nadira et*

*son mari Farouk*

*A mes chers oncles et tantes et leurs familles*

*A mes chers cousins et cousines*

*A tous mes amis*

*Qu'ALLAH vous assiste et vous réserve une vie pleine de succès et de bonheur.*

*A la mémoire de mon oncle et ma tante que dieu les accueille dans son vaste paradis*

*Nassima.*

## **Dédicaces**

### **Je dédie ce modeste travail:**

- A mon très cher père Ali, pour ses encouragements et son soutien.
- A l'amour de ma vie ma chère mère Ouardia, que dieu me la protège.
  - A mon très cher frère Zahir et son adorable épouse Nawal.
  - A mes frères Omar et Hocine.
- A mes chères soeurs et leurs maris: malika et son mari soufian, Lila et son mari Karim, Nadia et son mari lounas et a mes anges adorés Saida, Farida.
  - A ma collègue Nassima ainsi que sa famille.
- A mes amies Nouria, Fahima, Sabrina, Lyakout, Samira, Bahia, Hanane, Lamia et à tous ceux qui me sont chers.
  - A toute la promotion biochimie appliquée 2016-2017.
- A toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail de près ou de loin et ont tout fait pour que ça réussisse.

**Sabiha**

## Liste des figures

<b>Figure 01:</b> Répartition du genre <i>Juniperus</i> dans le monde.....	04
<b>Figure 02:</b> <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	05
<b>Figure 03:</b> Structures chimiques (a) d'un tanin hydrolysable et (b) d'un tanin condensé.....	09
<b>Figure 04:</b> La structure chimique de l'isoprène.....	10
<b>Figure 05:</b> La structure chimique de quelques composés aromatique.....	11
<b>Figure 06:</b> Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques.....	14
<b>Figure 07 :</b> Arbustes de Genévrier oxycedre.....	16
<b>Figure 08:</b> Appareil d'hydrodistillation (Clevenger).....	20
<b>Figure 09:</b> Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	22
<b>Figure 10:</b> Teneurs en phénols totaux de l'espèce <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	24
<b>Figure 11:</b> Teneurs en flavonoïdes de l'espèce <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	25
<b>Figure 12:</b> Teneurs en tanins condensés de l'espèce <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	26
<b>Figure 13:</b> Rendement en huiles essentielles de l'espèce <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	27
<b>Figure 14:</b> Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i> par la méthode FRAP.....	28
<b>Figure 15:</b> Réaction de Fenton.....	29
<b>Figure 16:</b> Activité antiradicalaire des extraits des rameaux mâles et femelles de <i>J. oxycedrus</i> et des standards l'acide ascorbique et l'acide gallique.....	30
<b>Figure 17:</b> Activité antiradicalaire des extraits des cônes femelles de <i>J. oxycedrus</i> et du standard quercétine.....	30
<b>Figure 18:</b> Zones d'inhibitions effectuées par les extraits de <i>J. oxycedrus</i> sur la souche bactérienne <i>S. aureus</i> par la méthode des puits.....	32
<b>Figure 19:</b> Zones d'inhibitions effectuées par les extraits de <i>J. oxycedrus</i> sur la souche bactérienne <i>S. aureus</i> par la méthode de diffusion en disque.....	32

## Liste des tableaux

<b>Tableaux I:</b> Classification botanique de <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	05
<b>Tableaux II:</b> Principales classes des composés phénoliques.....	08
<b>Tableaux III:</b> Principaux composants dominants dans les huiles essentielles de <i>Juniperus oxycedrus</i> rapporté dans différents travaux.....	12
<b>Tableaux IV:</b> Rendement en HE de <i>Juniperus oxycedrus</i> dans différents régions.....	27
<b>Tableaux V:</b> Diamètres des zones d'inhibitions (DD en millimètre) de la souche bactérienne <i>Staphylococcus aureus</i> provoqués par les extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	31
<b>Tableaux VI:</b> Coefficients de corrélation entre l'activité antioxydante et les composés phénoliques.....	33

## Liste des abréviations

ADN: Acide désoxyribonucléique.

Al<sup>3+</sup>: Chlorure d'aluminium.

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

ANOVA: Analyse de la variance à sens unique.

DPPH: 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

EA ASC: Equivalent de l'acide ascorbique.

EAG: Equivalent de l'acide gallique.

EC: équivalent catéchine.

ERO : espèces réactives de l'oxygène.

EQ: Equivalent quercétine.

Fe<sup>2+</sup>: Ion ferreux.

Fe<sup>3+</sup>: Ion ferrique.

FeSO<sub>4</sub>: Sulfate ferreux.

FRAP: Ferric reducing-antioxidant power.

GC-MS: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub> : Phosphomolybdique.

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

HE: Huiles essentielles.

HPLC: Chromatographie liquide à haute performance.

IC<sub>50</sub>: Concentration providing 50% inhibition.

*J. oxycedrus*: *Juniperus oxycedrus*.

K<sub>3</sub>Fe (CN) <sub>6</sub>: Fericyanure de potassium.

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: Carbonate de disodium.

SD: standard deviations.

UFC: Unité Faisant Colonie.

UV: Ultra violet.

## Sommaire

<b>Introduction Général .....</b>	<b>1</b>
-----------------------------------	----------

### **Chapitre I: Revue bibliographique**

I.1. Généralités sur les plantes médicinales .....	3
--	---

I.2. Genévrier.....	3
---------------------	---

I.2.1. Espèce <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	4
--	---

I.2.1.1. Taxonomie et description botanique .....	5
---	---

I.3. Métabolites secondaires des plantes .....	5
--	---

I.3.1. Composés phénoliques .....	6
-----------------------------------	---

I.3.1.1. Voies de biosynthèses des composés phénoliques .....	6
---	---

I.3.1.2. Classifications des composés phénoliques .....	6
---	---

I.3.2. Huiles essentielles .....	10
----------------------------------	----

I.3.2.1. Composition chimique des huiles essentielles .....	10
---	----

I.4. Métabolites secondaires de <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	11
--	----

I.4.1. Les composés phénoliques .....	11
---------------------------------------	----

I.4.2. Les huiles essentielles .....	12
--------------------------------------	----

I.5. Oxydants et antioxydants.....	13
------------------------------------	----

I.5.1. Radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène (ERO) .....	13
--	----

I.5.2. Stress oxydant.....	13
----------------------------	----

I.5.3. Conséquences du stress oxydative .....	13
---	----

I.5.4. Activité antioxydante .....	14
------------------------------------	----

I.5.5. Mécanismes antioxydants généraux des composés phénoliques .....	15
--	----

I.6. Activités antimicrobiennes des composés phénoliques.....	15
---	----

## **Chapitre II: Matériels et méthodes**

II.1. Matériel végétal .....	16
II.1.1. Séchage et broyage.....	16
II.2. Méthodologie.....	16
II.2.1. Extraction des composés phénoliques.....	17
II.2.2. Dosage des composés phénoliques .....	17
II.2.2.1. Dosage des phénols totaux .....	17
II.2.2.2. Dosage des flavonoïdes .....	18
II.2.2.3. Dosage des tanins condensés.....	19
II.2.3. Extraction de l'huile essentielle de <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	20
II.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante et antiradicalaire .....	21
II.2.4.1. Test de réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power) .....	21
II.2.4.2. Piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).....	21
II.2.5. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	22
II.2.5.1. Souche bactérienne .....	22
II.2.5.2. Méthode de diffusion en disque.....	23
II.2.5.3. Méthode des puits.....	23
II.3. Étude statistique.....	23

## **Chapitre III: Résultats et discussion**

III.1. Teneurs en composés phénoliques .....	24
III.1.1. Teneurs en phénols totaux .....	24
III.1.2. Teneurs en flavonoïdes .....	25
III.1.3. Teneurs en tanins condensés.....	26
III.2. Rendement en huiles essentielles .....	27
III.3. Evaluation de l'activité antioxydante et antiradicalaire.....	28
III.3.1. Pouvoir réducteur de fer (FRAP).....	28
<b>III.3.2. Piégeage du radical DPPH' .....</b>	<b>29</b>
III.4. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	31
III.5. Corrélation entre l'activité antioxydante, les composés phénoliques....	32
Conclusion et perspectives .....	34
<b>Références bibliographique.....</b>	<b>36</b>

# Introduction Générale

### **Introduction générale**

Depuis de nombreuses années, les plantes médicinales jouent un rôle important dans la médecine et la pharmacologie. Aujourd'hui, on estime qu'environ 80% de la population mondiale repose sur des préparations botaniques comme médicaments pour répondre à leurs besoins de santé (**Ogbera et al., 2010**).

Une grande partie des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes et antimicrobiennes d'origine végétale (les vitamines, les caroténoïdes et les polyphénols), pour remplacer celles de synthèse en raison des risques toxicologiques potentiels (**Athamena et al., 2010**). En effet, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé (**Koechlin-Ramonatxo et al., 2006**).

Différentes espèces de genévrier ont été utilisées dans la médecine traditionnelle depuis des siècles comme des diurétiques, des remèdes pour l'indigestion et comme une ressource de goudron (**Medini et al., 2009**). *Juniperus oxycedrus* est l'une des espèces du genre *Juniperus* de la famille des Cupressacées. Ce sont des arbustes ou petits arbres très appréciés pour leurs richesses en huile essentielle et pour ses composants biologiquement actifs, largement utilisés dans la médecine traditionnelle (**Adams, 1998**).

Au cours de ces dernières années, le genre genévrier notamment l'espèce *Juniperus oxycedrus* a fait l'objet de plusieurs études. Des études phytochimiques portées sur les taxons de *Juniperus* ont démontré la présence d'une grande diversité de métabolites secondaires avec une variété d'effets pharmacologiques (**Moreno et al., 1998**).

Cependant, de nombreuses études dans la littérature ont rapporté la composition en huiles essentielles du genévrier oxycèdre extraites à partir des feuilles (**Alan et al., 2016 ; Angioni et al., 2003 ; Liorens-Molina et al., 2016**), des baies (**Loizzo et al., 2007 ; Alan et al., 2016 ; Liorens-Molina et al., 2016**), des rameaux (**Mansouri et al., 2010 ; Alan et al., 2016**) et de la partie aérienne (**Derwich et Chabir 2011**).

Dans le monde, plusieurs travaux sont élaborés sur les activités biologiques de cette espèce, on cite principalement ceux de (**Taviano et al., 2013 ; Karaman et al., 2003 ; Orhan et al., 2011 ; El Jemli et al., 2016**). En Algérie les études ont été faites sur les aiguilles (**Chaouche et al., 2013**) l'écorces de la racine (**Chaouche et al., 2013 ; Chaouche et al., 2014**) et la partie aérienne (**Djeridane et al., 2006**).

Malgré cette masse d'études sur l'espèce, à notre connaissance, il n'ya pas d'études qui ont été réalisées sur les extraits mâles et femelles de *J. oxycedrus* en Algérie. Alors c'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail qui a pour problématique de rechercher des éventuelles différences phytochimiques entre les deux sexes de l'espèce d'une part et entre les parties du même sexe d'autre part, afin de compléter les données préexistantes sur l'espèce en Algérie.

L'objectif de notre étude est de quantifier les composés phénoliques et les huiles essentielles, ainsi que de comparer et d'évaluer *in vitro*, l'activité antioxydante (le test de DPPH et la méthode FRAP) et l'activité antimicrobienne (par la méthode de diffusion des disques et la méthode des puits) des extraits des rameaux mâles, rameaux et cônes femelles de *Juniperus oxycedrus* recueillis dans la région de Taref en Algérie.

Notre travail est organisé en trois chapitres principaux, dont le premier est celui de recherches bibliographiques qui résume les différentes familles des composés phénoliques, ainsi que les principaux travaux réalisés sur l'espèce *Juniperus oxycedrus*.

Dans le chapitre matériels et méthodes sont présentés les différentes méthodes d'extraction et les protocoles utilisés dans les dosages et l'évaluation des activités biologiques testées dans ce travail.

Les résultats issus de ce travail sont présentés et discutés dans le chapitre résultats et discussions.

En fin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus, et dans laquelle quelques perspectives sont proposées.

# Chapitre I

## Revue bibliographique

### **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 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**).

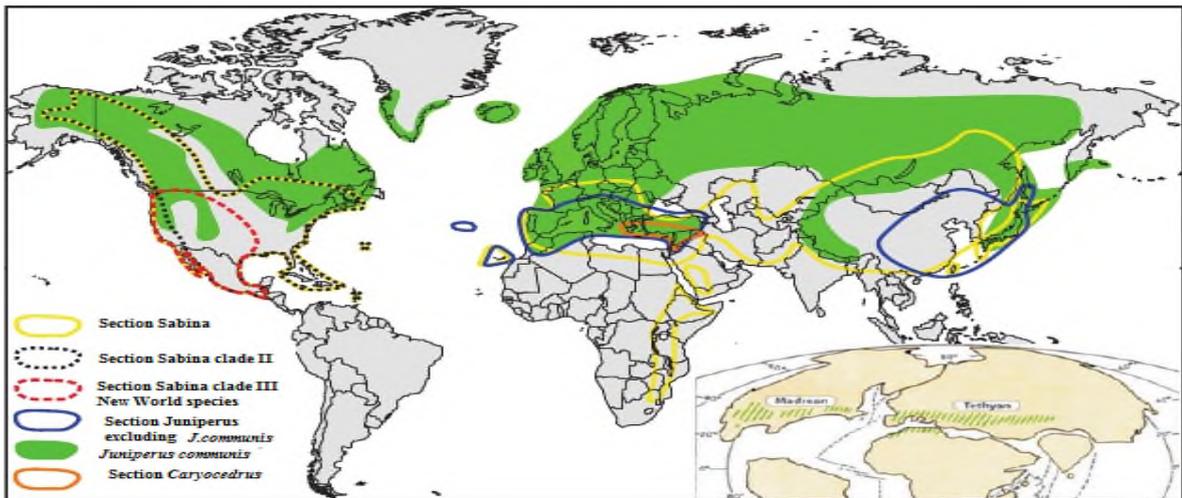
Ces dernières années, divers métabolites secondaires des végétaux ont été largement étudiés comme source d'agents médicinaux contre diverses infections. Les classes importantes de ce groupe de composés comprennent les alcaloïdes, les composés phénoliques et les huiles essentielles. Ces substances ou 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. Genévrier**

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 antioxydantes (**Grûnwald et Jancke, 2004**). Il est aussi employé pour soulager la dysenterie, l'hémorragie, l'arthrite rhumatoïdale et les douleurs menstruelles (**Seca et Silva, 2006**).

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**).

Le genre *Juniperus* comprend environ 68 espèces. Il est représenté par trois sections: *caryocedrus*, *oxycedrus* et *sabina* qui présentent une large répartition géographique dans le monde (Figure 1) (**Adams, 2011**).



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

### I.2.1. Espèce *Juniperus oxycedrus*

*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*.

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).

### I.2.1.1. 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 I.

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

Règne:	Plantes
Embranchement:	Spermaphytes
Sous-embranchement:	Gymnospermes
Classe:	Conifères
Ordre:	Coniférales
Famille :	Cupressacées
Genre :	<i>Juniperus</i>
Espèce :	<i>Juniperus oxycedrus</i>



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

### I.3. Métabolites secondaires des plantes

Les métabolites secondaires sont des composés chimiques synthétisés par les plantes (composés phytochimiques), qui ne participent pas directement aux processus de base de la cellule vivante, mais leurs rôles dans les plantes semblent être principalement liés à la défense (Newman et Cragg, 2012). Ces composés secondaires contiennent des groupes

chimiques variés (terpènes, alcaloïdes, composés phénoliques ...), qui sont répartis inégalement chez les végétaux (**Macheix et al., 2005**).

Les métabolites secondaires sont la source des produits pharmaceutiques, des additifs alimentaires, des arômes et d'autres matériaux industriels (**Jian Zhaoa et al., 2005**). Ils exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement et ils assurent des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores, etc.) et abiotiques (UV, température, etc.) (**Bourgaud et al., 2001**). Ils sont également utilisés comme des hormones sexuelles; des agents de transport du métal; des agents de symbiose entre plantes et microbes, nématodes, insectes et animaux supérieurs (**Newman et Cragg, 2012**).

### **I.3.1. Composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont l'une des principales classes de métabolites secondaires, ils constituent une famille de molécules organiques regroupant un vaste ensemble de substances chimiques qui comprennent au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants, ils peuvent aller de molécules simples de faible poids moléculaire à des composés hautement polymérisés comme les tanins (**Mehinagic et al., 2011**).

#### **I.3.1.1. Voies de biosynthèses des composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont principalement synthétisés à partir des hydrates de carbone via la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate, celles de l'acide shikimique qui est à l'origine de la formation de la phénylalanine et de la tyrosine dont la désamination de ces acides aminés conduit aux acides hydroxycinnamiques (**Cheyrier et al., 1997**). Les flavonoïdes dérivent à la fois du *p-coumaroyl* CoA et de l'enchaînement de trois maillons acétate (apportés sous forme de malonyl-CoA) (Annexe 1) (**Macheix, 1996**).

#### **I.3.1.2. Classifications des composés phénoliques**

Les composés phénoliques peuvent être classés sur la base de leur:

- ❖ Structure chimique (la nature de leur squelette carboné, le nombre, l'arrangement des atomes de carbone et la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique);
- ❖ Composition (contenant de l'azote, de sucres ou non);
- ❖ Solubilité dans divers solvants;
- ❖ La voie par laquelle ils sont synthétisés. Mais ils sont généralement classés en fonction de cette dernière (**Tiwari et Rrana, 2015**).

**a. Phénols simples**

Ce sont des dérivés en C6 du noyau benzénique, rares à l'état naturel, ils sont issus de la décarboxylation de l'acide shikimique. On trouve parmi les phénols simples le pyrocatechol, le phloroglucinol et l'hydroquinol (Tableau II) (**Jian Zhaoa, 2005**).

**b. Acides phénoliques****Acides hydroxybenzoïques**

Les acides hydroxybenzoïques présentent une structure en C6-C1 (Tableau II), composés d'un noyau benzénique sur lequel vient s'attacher une chaîne aliphatique à un carbone. Ils sont produits par la voie shikimate. Ces composés sont universellement distribués dans le règne végétal, on trouve l'acides gallique, protocatechuique, vanillique et syringique (**Crozier et al., 2006**).

**Acides hydroxycinnamiques**

Les acides hydroxycinnamiques sont une sorte de phénols non flavonoïdes caractérisés par la structure C6-C3 (Tableau II). Ces composés sont abondants dans les plantes et sont utilisés à la fois dans les stratégies structurelles et chimiques de défense des plantes (**Price et al., 1997**).

**c. Coumarines**

Ce sont des lactones des acides 2-hydroxy-Z-cinnamiques (C6-C3) (Tableau II), dans les plantes, ces composés peuvent se produire dans les couches de graines, les fruits, les fleurs, les racines, les feuilles, les tiges, bien qu'en général la plus grande concentration se trouve dans les fruits et les fleurs. Ils sont divisés en coumarines simples et complexes (furocoumarines et pyranocoumarines) (**Jian Zhaoa, 2005**).

**d. Stilbènes**

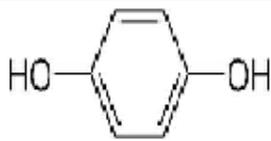
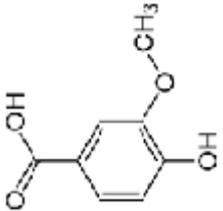
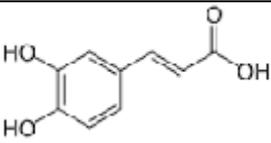
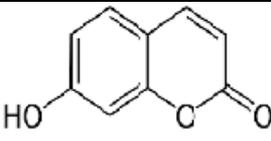
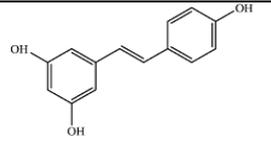
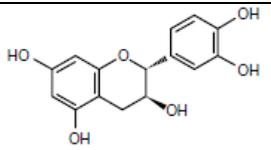
Les stilbènes sont des composés phénoliques qui ont une structure C6-C2-C6 (Tableau II), avec deux noyaux benzéniques reliés par un pont éthylène. Ils sont produits par les plantes en réponse à des attaques fongiques, bactériennes ou virales. Ils sont présents dans les bryophytes, les ptéridophytes, les gymnospermes et les angiospermes (**Landrault et al., 2002**).

## e. Flavonoïdes

L'ensemble des flavonoïdes sont de structure générale en C15 (C6-C3-C6) (Tableau II), constituent une énorme classe de composés phénoliques naturels. Ils sont présents dans la plupart des tissus végétaux, souvent dans les vacuoles, ils peuvent se produire sous forme de monomères, de dimères et d'oligomères supérieurs (Macheix *et al.*, 2005).

Les flavonoïdes forment un ensemble de composés qui effectuent une large gamme de fonctions (Ex: protègent les plantes contre l'irradiation UV-B). Les flavonoïdes sont constitués de divers groupes de métabolites qui comprennent les chalcones, les auronnes, les flavanones, les isoflavones, les flavones, les flavonols, les flavane-3,4-diols (leucoanthocyanidines), les flavane-3-ol et les anthocyanidines (Annexe2) (chira *et al.*, 2008).

Tableau II: Principales classes des composés phénoliques (Mehinagic *et al.*, 2011).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule
C6	Phénols simples	hydroquinol	
C6-C1	Acide hydroxybenzoïques	acide vanillique	
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	acides caféique	
	Coumarines	Ombelliférone	
C6-C2-C6	Stilbénoides	Trans-resvératrol	
C6-C3-C6	Flavonoïdes	cathéchine	

## f. Tannins

Les tannins sont des composés phénoliques d'origine végétale, qui partagent la capacité de tanner les protéines. Ils sont souvent difficiles à dégrader, ils constituent 1 à 4% de l'humus et ils sont surtout recyclés par les champignons (Hopkins, 2003).

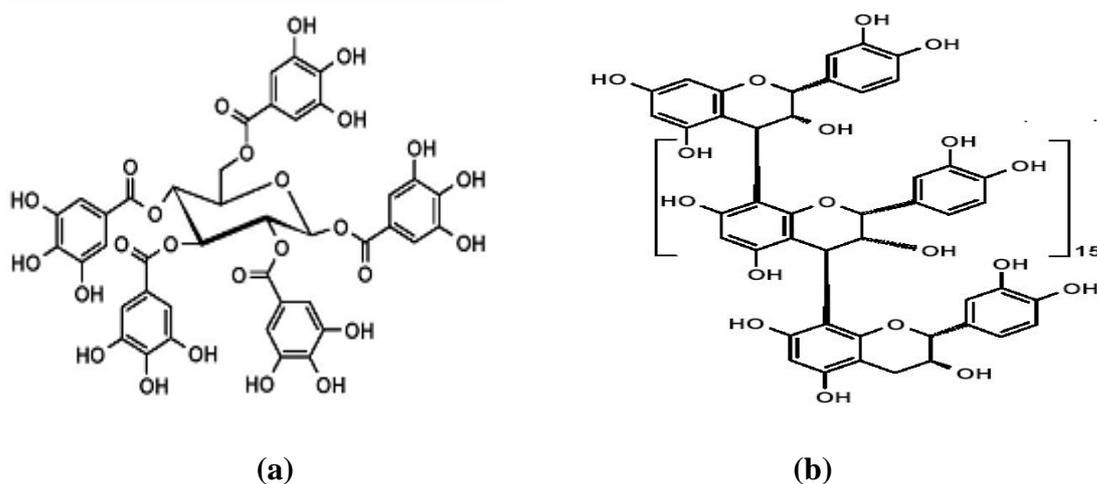
On distingue essentiellement deux familles chimiques:

- **Tanins hydrolysables**

Sont des phénols liés à un résidu sucré par un lien ester (donc hydrolysable), la structure de base des tanins hydrolysables est constituée d'un glucide habituellement le glucose, dont un radical hydroxyle forme une liaison ester avec l'acide gallique. Les résidus d'acide gallique se lient entre eux pour former un grand polymère réticulé (Figure 3) (Hopkins, 2003).

- **Tanins condensés**

Sont des oligomères de flavane-3-ol (éventuellement de flavane-3,4-diols) dérivés de la catéchine ou de ses nombreux isomères, reliées par des liaisons fortes carbone-carbone contrairement aux tanins hydrolysables, Ils sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader (Figure 3) (Macheix et al., 2005).



**Figure 3:** Structures chimiques (a) d'un tanin hydrolysable et (b) d'un tanin condensé (Macheix et al., 2005).

### I.3.2. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont un mélange de constituants volatils lipophiles, elles sont obtenues à partir de diverses parties des plantes, telles que les graines, les bourgeons, les feuilles, les racines, les fruits, les rhizomes, les écorces et les fleurs (**Sadgrove et Jones, 2015**). Elles sont localisées dans le cytoplasme de certaines cellules végétales, à savoir les poils sécréteurs, les cellules épidermiques, les cellules sécrétrices internes et les poches sécrétrices (**Dhifi et al., 2016**).

Les huiles essentielles sont solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles fixes, mais insolubles dans l'eau. Ces huiles volatiles sont généralement liquides et incolores à température ambiante (**Dhifi et al., 2016**). Elles sont largement utilisées dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique, la parfumerie, et aussi l'aromathérapie. Elles ont d'innombrables activités biologiques, y compris antivirales, antibactériennes, Antiparasitaires, anti-inflammatoire, insecticides, antifongiques, anticarcinogènes, antioxydants et antimutagènes (**Hassan et al., 2016**).

#### I.3.2.1. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels très complexes de différentes constituants chimiques. Cependant, ces constituants peuvent être regroupés en deux grands groupes chimiques en fonction de leurs origines biogénétiques bien distinctes, il y a le groupe des terpénoïdes et celui des composés aromatiques (**Pichersky et al., 2006**).

##### a. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes sont en général très nettement dominants dans les huiles essentielles et les plus rencontrés sont les monoterpènes (C10) et les sesquiterpènes (C15). Leurs structures sont obtenues à partir de la combinaison de deux ou trois unités isoprène (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) (Figure 4) (**Bakkali et al., 2008**).

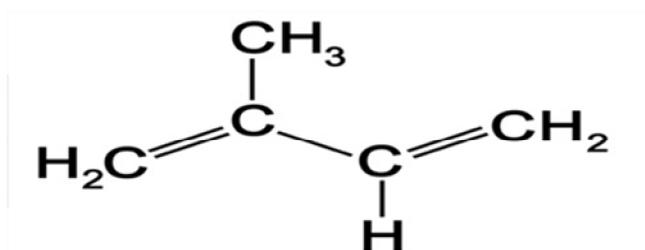


Figure 4: Structure chimique de l'isoprène (**Bakkali et al., 2008**).

## b. Composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane (C6-C3) sont beaucoup moins fréquents que les terpénoïde (ex: Eugénol). Ce sont très souvent des allyles et des propénylphénols, parfois des aldéhydes. On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en (C6-C1) comme la vanilline (Figure 5) (Betts, 2001).

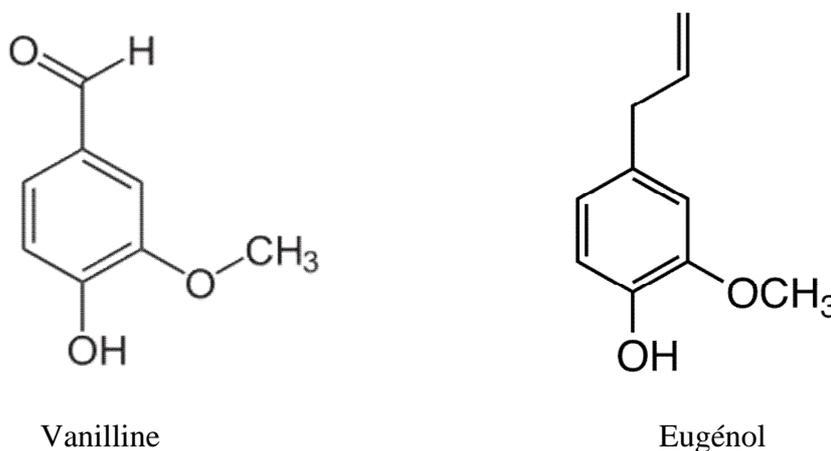


Figure 5: Structure chimique de quelques composées aromatique (Bakkali et al., 2008).

## I.4. Métabolites secondaires de *Juniperus oxycedrus*

### I.4.1. Composés phénoliques

L'étude réalisée par Lesjak et al., en 2014 sur les feuilles et les cônes femelles de *J. oxycedrus* L. subsp. *Macrocarpa*, récoltée dans la République de Croatie, leur a permis de distinguer différentes composées comme la rutine, la catéchine, la quercitrine, l'épicatéchine et l'amentoflavone. Chaouche et al., (2014) rapportent que l'écorce de racine de *Juniperus oxycedrus* récoltée en Algérie est une source riche en composés phénoliques tels que les oligomères de la proanthocyanidine, l'hexose de la quercétine, la quercitrine et le glucoside de la dysamnetine qui sont considérés comme des antioxydants naturel précieux.

En 2013, Taviano et al., ont comparé la composition chimique des baies mûres de *J. oxycedrus* L. subsp. *Oxycedrus* et *J. oxycedrus* L. subsp. *Macrocarpa*, recueillis dans différentes régions de Turquie. Ils ont trouvés que la teneur totale en composés phénolique était environ trois fois plus élevée chez subsp. *macrocarpa* ( $17,89 \pm 0,23$  mg/g d'extrait) que chez subsp. *oxycedrus* ( $5,14 \pm 0,06$  mg/g d'extrait). L'analyse HPLC a révélé une

présence de sept composés phénoliques comme la rutine, l’hypolaetin-7-pentoside, l’apigénine, le cupressoflavone, l’amentoflavone, le biflavone, le metil-biflavone.

**I.4.2. Les huiles essentielles**

Nous avons synthétisé et reporté dans le tableau III les différentes études antérieures réalisées sur la composition chimique des huiles essentielles de différentes parties de *Juniperus oxycedrus* (feuilles, baies, bois et rameaux) dans différents pays.

**Tableau III:** Principaux composants dominants dans les huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* rapporté dans différents travaux.

Pays	Partie de la plante	Composition en huiles essentielles	Auteurs
Maroc	Rameaux	$\alpha$ -pinène (52,13 %) Limonène (7.32%)	(Mansouri et al., 2010)
Turquie	Feuilles	Oxyde de manoyle (32,8%) Oxyde decaryophyllène(11,9%)	(Alan et al., 2016)
	Baies	Myrcène (44,6%), Pinène (19,9%) Germacrène D (15,5%)	
	Rameaux	Oxyde de caryophyllène (16,8%)	
Maroc	Feuilles	$\alpha$ -Pinene (31.25%) Sabinenne(5.21%) Limonène (5.02%)	(Derwich et Chabir, 2011)
Algérie (Djelfa)	Feuilles	transpinocarveol (7,0%) cis-verbenol (6,3%) manoyle Oxyde (6,0%).	(Dop et al., 2006)
Liban	bois	$\delta$ -Cadinene (14,5%) cis-thujopsène (9,2%) $\alpha$ -amurolène (4,9%)	(Loizzo et al., 2007)
	baies	$\alpha$ -Pinene (27.4%) $\beta$ -Myrcene (18.9%) $\alpha$ –Phellandrene(7.1%)	

Espagne	Feuilles	$\alpha$ -Pinene (53.2%) $\delta$ -3-Carene (3.6%) Limonène (3.1%)	(Llorens-Molina et <i>al.</i> , 2016)
---------	----------	--	---------------------------------------

## I.5. Oxydants et antioxydants

### I.5.1. Radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un ou plusieurs électrons non apparié sur l'orbitale externe, qui lui confère une grande réactivité et une durée de vie extrêmement courte (**Novelli, 1997**).

L'appellation ERO inclut les radicaux libres de l'oxygène : anion superoxyde ( $O_2^\bullet$ ), radical hydroxyle ( $OH^\bullet$ ) mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) (Annexe 3) (**Haleng et al., 2007**).

### I.5.2. Stress oxydant

La formation des radicaux est une conséquence normale de métabolisme aérobie chez l'homme, la notion de stress oxydant est définie comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactives de l'oxygène (ERO), suite à un déséquilibre lié, soit à une production accrue d'ERO, soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante (**Sies, 1991**).

Les sources de stress oxydant peuvent avoir diverses origines endogènes et exogènes tel que le mode de vie, l'environnement et les mécanismes biochimiques qui augmentent de façon anormale la production des ERO et favorisent une baisse de la capacité antioxydante dans l'organisme. En outre, le stress oxydant n'est pas une maladie en soi, mais il constitue un terrain favorable au développement de pathologies diverses. Ce qui a fait des espèces réactives d'oxygène une entité mortelle pour l'humanité (**Magder, 2006**).

### I.5.3. Conséquences du stress oxydatif

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes des molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides). L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est une cible majeure des ERO. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN, mais aussi avec ses bases puriques et

pyrimidiques. L'attaque des radicaux libres au sein des doubles liaisons lipidiques membranaires, induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane, altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information. Les ERO sont capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les EOR sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques (**Haleng et al., 2007**).

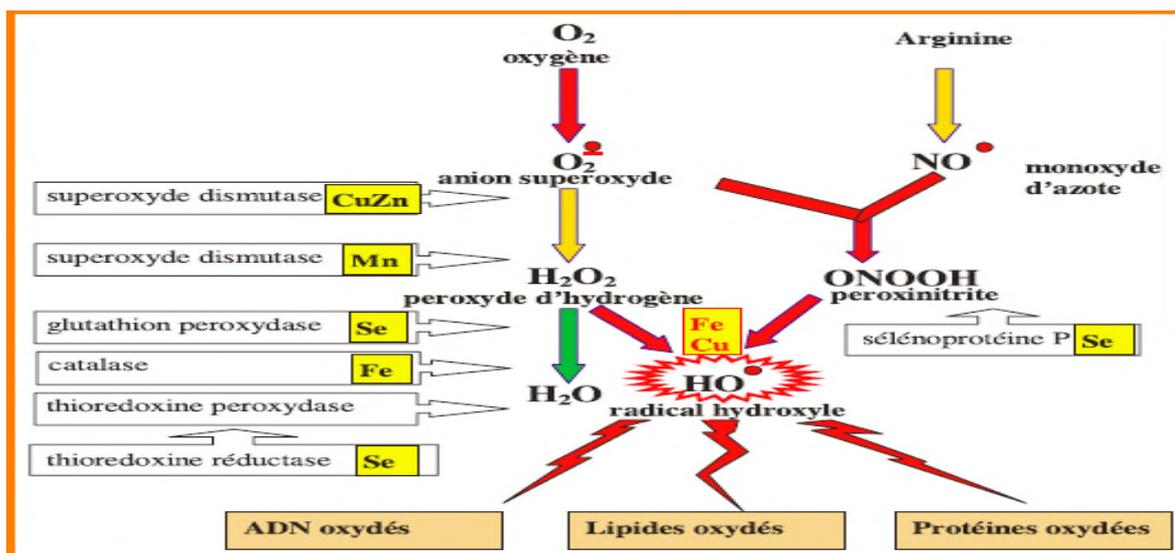
Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant: mutation, carcinogenèse, malformation des foetus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés (**Favier, 2003**).

#### **I.5.4. Activité antioxydante**

Pour se protéger des effets délétères des ERO, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. On distingue deux sources d'antioxydants :

-L'une est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydants (Figure 6) (**Haleng et al., 2007**).

-L'autre est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, glutathion et en polyphénols (**Anderson et al., 2001**).



**Figure 6:** Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003).

### I.5.5. Mécanismes antioxydants généraux des composés phénoliques

L'activité antioxydante des composés phénoliques est due à leurs propriétés redox élevées et à leur structure chimique qui peuvent être responsables de la neutralisation des radicaux libres (Zheng et Wang, 2001). Les groupes hydroxyles phénoliques sont des donneurs d'hydrogène. Après interaction des ces groupes avec l'espèce réactive, une forme radicalaire de l'antioxydant est produite, ayant une stabilité chimique beaucoup plus grande que le radical initial. L'interaction de ces groupes avec les  $\pi$ -électrons du cycle benzénique donne aux molécules des propriétés particulières, notamment la capacité de générer des radicaux libres où le radical est stabilisé par délocalisation (Parr et Bolwell, 2002).

La capacité antioxydante des composés phénoliques est également attribuée à leur capacité à chélater les ions métalliques impliqués dans la production des radicaux libres (Yang et al., 2001).

Les structures des composés phénoliques ont souvent le potentiel d'interagir fortement avec les protéines, en raison de leurs cycles benzénoïdes hydrophobes et du potentiel de liaison hydrogène des groupes hydroxyle phénoliques. Ceci donne aux composés phénoliques la capacité d'agir en tant qu'antioxydants en raison de leur capacité à inhiber certaines enzymes impliquées dans la génération de radicaux, telles que diverses isoformes du cytochrome P450, les lipoxygénases, la cyclooxygénase et la xanthine oxydase (Cos et al., 1988).

**I.6. Activités antimicrobiennes des composés phénoliques**

Les composés phénoliques possèdent des activités antibactériennes, antifongiques et antivirales potentielles (**Baydar et al., 2006**). Leurs principales cibles dans la cellule microbienne sont les adhésines, les polypeptides et les enzymes membranaires (**Cowan, 1999**). Ils sont capables de supprimer un certain nombre de facteurs de virulence microbienne tels que : l'inhibition de la formation de biofilm et la neutralisation des toxines bactériennes) (**Daglia, 2012**).

Les propriétés antimicrobiennes de certaines classes de composés phénoliques ont été proposées soit pour développer de nouveaux conservateurs alimentaires (**Rodriguez Vaquero et al., 2010**) en raison de la pression croissante des consommateurs sur l'industrie alimentaire pour éviter les conservateurs synthétiques, ou pour développer des thérapies novatrices pour le traitement de diverses infections microbiennes (**Jayaraman et al., 2010**).

# Chapitre II

## Matériels et méthodes

### II.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes (rameaux mâles, rameaux et cônes femelles) de la plante *Juniperus oxycedrus*, récoltée dans la région de Taref (l'est d'Algérie) à une altitude de 17 m, durant le mois de Février 2017. Les échantillons ont été transportés dans des sacs en plastique étiquetés.



**Figure 7:** Arbustes de genévrier oxycède (Photos prises par Mr Bouadam en Février 2017).

#### II.1.1. Séchage et broyage

Les échantillons sont divisés en deux parties, la partie consacrée à l'extraction des polyphénols est séchée à l'étuve ( $T^{\circ} = 47^{\circ}\text{C}$ ) pendant 5 jours, puis passée dans un broyeur électrique, le broyat est tamisé à l'aide d'un tamis de  $250\mu\text{m}$  de diamètre, la poudre obtenue est conservée dans un flacon opaque.

L'autre partie est découpée en petits morceaux puis séchée à l'air libre pendant 20 jours, à l'abri de la lumière. Cette partie est réservée pour l'extraction des huiles essentielles

### II.2. Méthodologie

Notre étude a porté sur l'analyse de la teneur en composés phénoliques (Phénols totaux, Flavonoïdes et Tanins condensés), le rendement en huiles essentielles ainsi que l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques de l'espèce *Juniperus oxycedrus*.

**II.2.1. Extraction des composés phénoliques**

La méthode d'extraction utilisée dans ce travail est celle d'**Oomah (2010)**, qui consiste à dissoudre 0,8 g du broyat végétal (rameaux et cônes) dans 32 ml d'éthanol à 96%.

Les mélanges sont agités sur un agitateur magnétique pendant deux heures à température ambiante, puis ils sont centrifugés pendant 10 mn à 6000 tours/mn. Après filtration du surnageant, les filtrats éthanoliques sont récupérés dans des tubes à essai puis conservés au réfrigérateur.

**II.2.2. Dosage des composés phénoliques****II.2.2.1. Dosage des phénols totaux****a. Principe**

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée par dosage colorimétrique avec un spectrophotomètre. Le réactif utilisé est le Folin-Ciocalteu, qui est un mélange de complexes de l'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif. Elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

**b. Protocole**

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode décrite par **Skerget et al. (2005)**:

Dans des tubes à essais, on mélange 500µl de l'extrait dilué avec 2500 µl de folin-ciocalteu dilué (1/10). Après agitation, le mélange est incubé pendant 3mn à température ambiante, ensuite, on ajoute 2000 µl de  $Na_2CO_3$  (7,5%). Les tubes sont ensuite placés dans un bain marie à 50°C pendant 5mn. Une fois refroidis, l'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 760 nm. Le témoin est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par 500µl d'éthanol.

L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans la méthode au Folin-Ciocalteu (Maisuthisakul et al., 2008). Le taux des phénols totaux, examinés dans les extraits de *Juniperus oxycedrus* est déterminé à partir de l'équation standard de la courbe d'étalonnage d'acide gallique:  $Y = 11,75X - 0,033$  ;  $R^2 = 0,987$  (Annexe 5).

### **II.2.2.2. Dosage des flavonoïdes**

#### **a. Principe**

La formation d'un complexe jaunâtre, lors de l'ajout du chlorure d'aluminium, est due à la fixation des ions  $Al^{3+}$  sur les atomes d'oxygène, présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. La quantité des flavonoïdes dans un extrait devrait être déterminée selon 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).

#### **b. Protocole**

Le dosage des flavonoïdes totaux a été fait selon la méthode de Chang et al., (2002), Le protocole de dosage est le suivant:

Dans des tubes à essai, on mélange 1000 $\mu$ l d'extrait dilué avec 1000  $\mu$ l de solution d' $AlCl_3$  (2%). Après 10 mn d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, la lecture des absorbances est faite à 430 nm. Le témoin est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par 1000  $\mu$ l d'éthanol.

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par la quercétine à différentes concentrations (0,01-0,08mg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon (Annexe 5).

### **II.2.2.3. Dosage des tanins condensés**

#### **a. Principe**

Les tanins sont des polymères caractérisés par la présence d'un nombre suffisant de groupe hydroxyphénoliques permettant des combinaisons plus stables avec les protéines et

alcaloïdes. Ces composés sont généralement amorphes, solubles dans l'eau et insolubles dans les solvants organiques apolaires (Quettier-Deleu et al., 2000).

### b. Protocole

La méthode de n- butanol est utilisée pour le dosage des tanins condensés (Dohou et al., 2004), selon les étapes suivantes:

On mélange 3000 µl de n-butanol avec 500 µl d'extrait dilué, le mélange est agité pendant une minute, puis on ajoute 100 µl de 2 % de la solution [FeNH<sub>4</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, 12 H<sub>2</sub>O] préparée dans du HCl 2N. Après agitation, l'ensemble est mis au bain marie à 90°C pendant 20 min. Les absorbances sont lues à 550 nm. Le témoin est préparé de la même façon en remplaçant l'extrait par 500 µl d'éthanol.

Selon Vermerris et Nicholson (2006), la concentration de proanthocyanidines est exprimée en équivalent de la cyanidine. Le coefficient d'extinction molaire «ε» qui est utilisé pour convertir les valeurs d'absorption en concentrations est égal à 34700 L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>. La loi de Beer-Lambert:  $A = \epsilon \cdot l \cdot c$  est employée pour déterminer les concentrations en tanins condensés.

$$C = \frac{A \cdot M_m}{\epsilon \cdot l} \quad (\text{mg/ml})$$

Avec:

- **C**: la concentration de proanthocyanidines en mg/ml ;
- **ε**: coefficient d'extinction molaire de la cyanidine en L mol<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>;
- **M<sub>m</sub>** : masse molaire de la cyanidine (égale à 287,24g/mol) ;
- **l**: largeur de la cuve en cm (égale à 1 cm).
- **A**: l'absorbance de l'échantillon.

### II.2.3. Extraction des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus*

L'extraction des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* a été effectuée par la technique d'hydrodistillation sur un appareil de type Clevenger, l'extraction a duré 3h30 min. Dans un ballon, une quantité de 95 g de matière sèche (rameaux mâles, rameaux et cônes femelles) est macérée dans 400 ml d'eau distillée pendant 24 heures. Le ballon est porté à l'ébullition, les vapeurs d'eau contenant des gouttelettes d'huile sont condensées

dans un réfrigérant puis récupérés dans une ampoule à décantation, après une nuit de décantation, les huiles se séparent de l'eau par différence de densité.

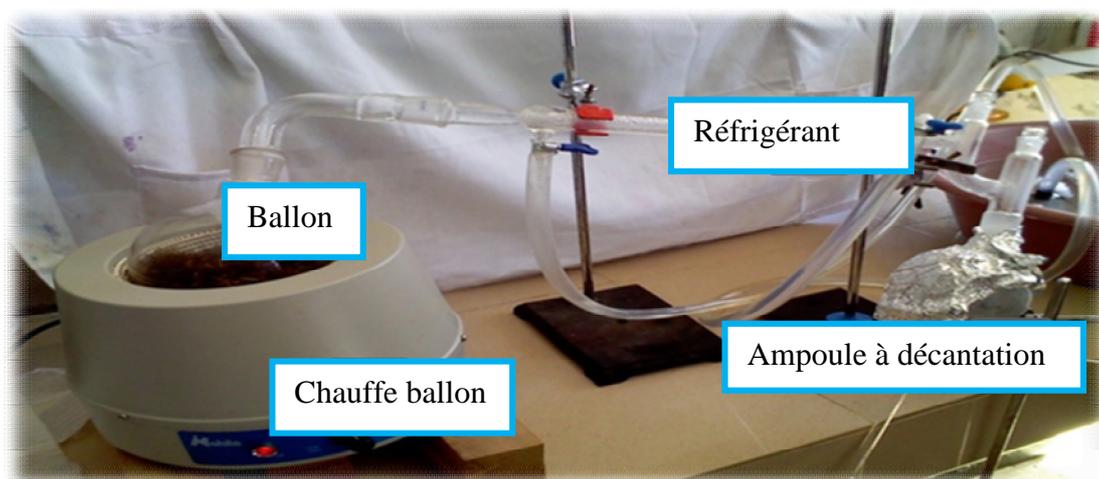
Le calcul du rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse de matière végétal traitée (Clevenger, 1928).

$$R_{HE} = (M_{HE} / M_s). 100$$

**R** : Rendement en extrait (%).

**M<sub>HE</sub>** : Quantité d'extrait récupéré (le poids de l'huile essentielle) en g

**M<sub>s</sub>** : Quantité de matière végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g.



**Figure 8:** Appareil d'hydrodistillation (Clevenger) (Photo prise par Mr Bouadam en 2013).

## II.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante et antiradicalaire

### II.2.4.1. Test de réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)

Dans cet essai, la couleur jaune de la solution vire au vert ou au bleu par la conversion du complexe Fe<sup>3+</sup> ferricyanure au fer ferreux Fe<sup>2+</sup> par les antioxydants présents dans l'extrait végétal. Le pouvoir réducteur est étudié en utilisant la méthode décrite par (Zubia *et al.*, 2007).

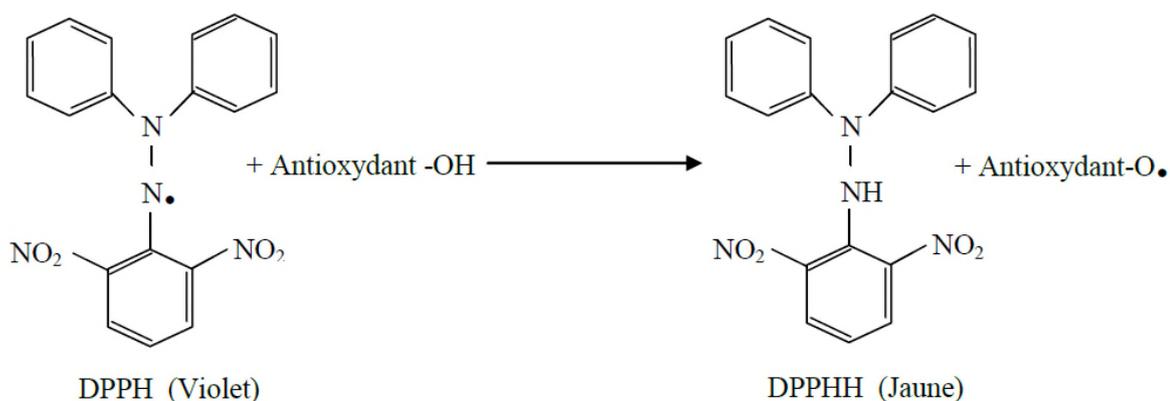
1ml d'extrait est mélangé avec 2,5 ml du tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium ( $K_3Fe(CN)_6$ ) à 1%. Le mélange est incubé dans un bain marie pendant 20min à 50°C. 2,5 ml de cette solution est mélangée avec 2,5 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10%, puis l'ensemble est centrifugé pendant 10 min. Dans un tube à essais, une fraction de 2,5 ml à partir du surnageant est mélangé avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml chlorure ferrique ( $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ) à 0,1%. L'absorbance du mélange ainsi obtenu est mesurée à 700 nm après 10 min d'incubation à température ambiante.

La concentration des composés réducteurs (antioxydants) examinée dans les extraits de *Juniperus oxycedrus* est déterminée à partir de l'équation standard de la courbe d'étalonnage d'acide ascorbique:  $y = 9,3x - 0,0429$   $R^2 = 0,9425$  (Annexe 5).

#### II.2.4.2. Piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

##### a. Principe

Le principe de ce test se résume en la capacité de l'extrait à réduire le radical libre DPPH de couleur violette foncée, qui se transforme en coloration jaunâtre (après réduction). Cette décoloration est mesurable par spectrophotométrie (Figure 8) (Brand-Williams et al., 1995).



**Figure 9:** Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Brand-Williams et al., 1995).

##### b. Protocole

Le test de DPPH a été réalisé suivant la méthode décrite par Bektas et al. (2005) modifiée. Une série de concentration d'extrait et des standards (quercétine, acide gallique, acide ascorbique) sont préparée dans l'éthanol, 800 µl de chacune sont ajoutés à 03 ml d'une solution éthanolique de DPPH (0,004%). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm.

L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I %) a été calculée de la manière suivante:

$$I \% = [(A \text{ témoin} - A \text{ échantillon}) / A \text{ témoin}] \times 100.$$

Une courbe des concentrations de l'extrait en fonction de I % a été tracée. Les valeurs de l'IC50 (la concentration du substrat qui cause une inhibition de 50% de l'activité de DPPH) ont été déterminées en utilisant le logiciel (Graph Pad Prism V 6.00).

## **II.2.5. Evaluation de l'activité antibactérienne**

### **II.2.5.1. Souche bactérienne**

Des colonies de *Staphylococcus aureus* sont isolées à partir d'un aliment, ont été transférées dans des tubes contenant de l'eau distillée stérile afin d'avoir une suspension bactérienne ( $10^8$  UFC/ml). Ces souches standardisées nous ont été gracieusement fournies par M<sup>me</sup> BENACHOUR du laboratoire de Microbiologie.

Dans la présente étude, nous avons testé l'activité antibactérienne des extraits de *J. oxycedrus* par deux méthodes (des disques et des puits).

### **II.2.5.2. Méthode de diffusion en disque**

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits préparés, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé. Le principe de cette méthode est d'imbiber des disques de papier Whatman n°1 de 6 mm de diamètre avec les substances à tester. Les disques ont été imbibés dans différentes solutions mères des extraits dissous dans l'éthanol. Un disque imbibé dans l'éthanol a été employé en tant que contrôle négatif. Ensuite, les disques sont déposés à la surface d'un milieu, gélose Muller-Hinton, écouvillonné par une suspension bactérienne. A la fin de la durée d'incubation (24h) à 37 C°, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés (Lesjak et al., 2014).

### **II.2.5.3. Méthode des puits**

La procédure suivie est celle d'Ismail et al., (2008), L'ensemencement de la suspension bactérienne de 1 mL est réalisé en surface du milieu Mueller Hinton préalablement coulé dans des boîtes Pétri. Après 15 mn, des puits ont été découpés à l'aide de pipettes Pasteur. Le fond des puits est obturé par une goutte de gélose Mueller Hinton

pour limiter la diffusion des extraits sous la gélose. Ensuite, 100 µl d'extrait sont versés dans chaque puits. Après diffusion, les cultures sont incubées dans l'étuve à la température de 37 °C pendant 24 h. Les zones d'inhibitions sont mesurées à l'aide d'un pied à coulisse. Le diamètre du puits (8 mm) n'est pas inclus dans les résultats.

### **II.3. Étude statistique**

Les expériences ont été réalisées en cinq répétitions pour les trois extraits (rameaux mâles, rameaux et cônes femelles). Les résultats du dosage composés phénoliques et les activités biologiques testés sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD. Une analyse unidirectionnelle de variance (ANOVA) a été effectuée avec le logiciel «Statistica» sur les résultats de notre étude. Une différence des extraits de *Juniperus oxycedrus* a été considérée comme statistiquement très hautement significative lorsque  $p < 0,001$ . L'analyse de corrélation de l'activité antioxydante par rapport à la teneur des composés phénoliques a été réalisée en utilisant le programme statistique élémentaire et programme EXCEL.

# Chapitre III

## Résultats et discussion

*Chapitre III*  
*Résultats et discussion*

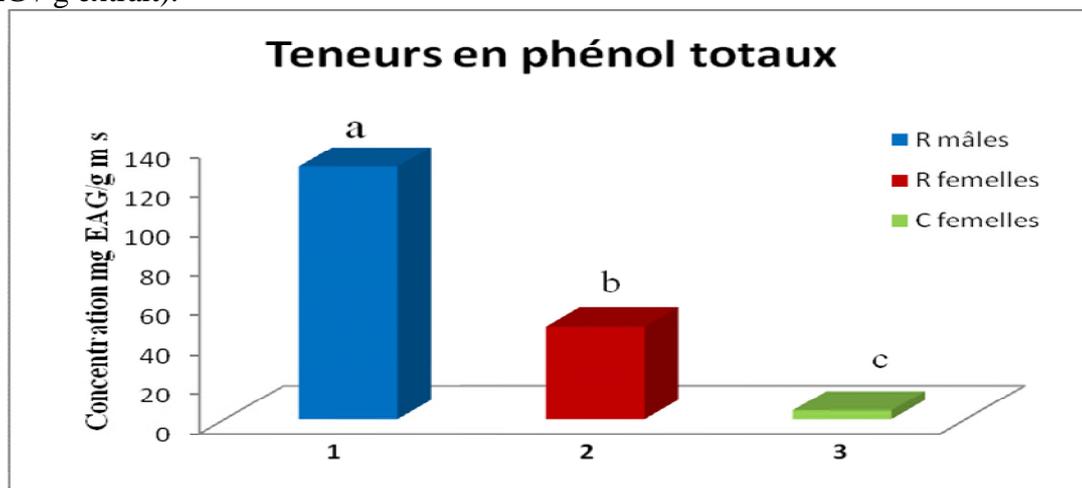
### III.1. Teneurs en composés phénoliques

#### III.1.1. Teneurs en phénols totaux

L'analyse statistique par le test ANOVA a révélée une différence significative entre les teneurs en phénols totaux des extraits de *Juniperus oxycedrus* (sexe mâle et femelle). La teneur en phénols totaux la plus élevée est détectée au niveau des extraits des rameaux mâles ( $128,88 \pm 7.92$  mg EAG/ g ms), suivie de ceux des rameaux femelles ( $74.24 \pm 5.46$  mg EAG/ g ms) et la concentration la moins élevée est observée chez les cônes femelles ( $4.47 \pm 0.22$  mg EAG/ g ms) (figure 10).

La comparaison de ces résultats avec les données antérieurement publiées par **Chaouche et al., (2013)**, qui ont travaillé sur les aiguilles et les écorces des racines de *Juniperus oxycedrus* de Tlemcen, a montré que la teneur en phénol totaux dans les rameaux mâles est comparable à la teneur des aiguilles ( $133,08 \pm 4,1$  mg EAG/ g ms), ainsi les concentrations des extraits des rameaux femelles sont proches de celles des écorces des racines ( $76,2 \pm 2,8$  mg EAG) de la même espèce issue de Tlemcen (**Chaouche et al., 2014**).

Les résultats de cette étude diffèrent de ceux obtenus par **Orhan et al., (2011)** qui ont travaillé sur les extraits des feuilles de *J. oxycedrus subsp. Oxycedrus* de la Turquie ( $206,19 \pm 9,04$  mg EAG/g ms) et de ceux trouvé par **Chaouche et al., (2013)** qui ont dosé les extraits de l'écorce des racines de la même sous espèce à Tlemcen ( $53,2 \pm 2,2$  mg EAG /g ms). La concentration des cônes est proche de celle trouvée par **Taviano et al., (2013)** qui ont travaillé sur les extraits de la même espèce récoltée en Turquie ( $5,14 \pm 0,06$  mg EAG / g extrait).

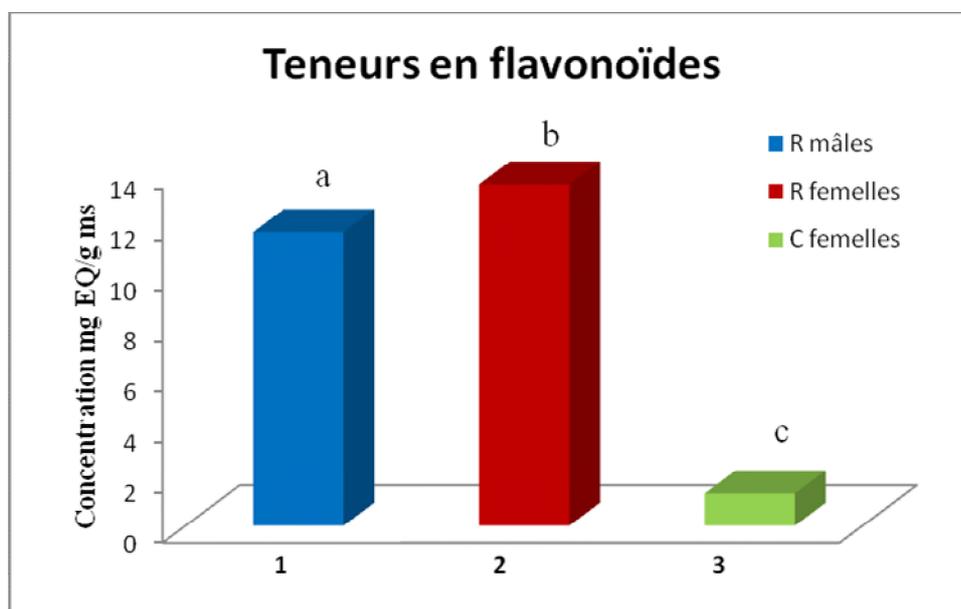


**Figure 10:** Teneurs en phénols totaux de l'espèce *Juniperus oxycedrus* (chaque valeur représente la moyenne de cinq essais  $\pm$  SD).

### III.1.2. Teneurs en flavonoïdes

D'après la Figure 11 et l'analyse statistique par le test ANOVA la teneur en flavonoïdes varie d'un échantillon à un autre. Les rameaux femelles enregistrent la teneur la plus élevée ( $13.5 \pm 1.47$  mg EQ/g ms), suivies des rameaux mâles ( $11.61 \pm 2.05$  mg EQ /g ms), ces teneurs sont inférieurs à ceux trouvés par **Chaouche et al., (2013)** qui ont travaillé sur l'extrait des écorces des racines ( $39,72 \pm 3,2$  mg équivalent catéchine (EC) /g ms) et sur l'extrait des aiguilles ( $61,52 \pm 3,1$  mg EC/g ms) de *Juniperus oxycedrus* de Tlemcen. La plus faible concentration en flavonoïde est mesurée dans les extraits des cônes femelles ( $1.27 \pm 0.01$  mg EQ/g ms) qui est relativement inférieurs à ceux annoncés par **Djeridane et al., (2006)** qui ont analysé la partie aériennes de la même espèce récolté dans la région de Laghouat en Algérie ( $3,50 \pm 0,5$  mg équivalent rutine ER / g ms).

La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation d'extrait (**Chaouche et al., 2014**). Le type de standard utilisé (quercétine, rutine) peut aussi influencer les résultats (**Djeridane et al., 2006**).



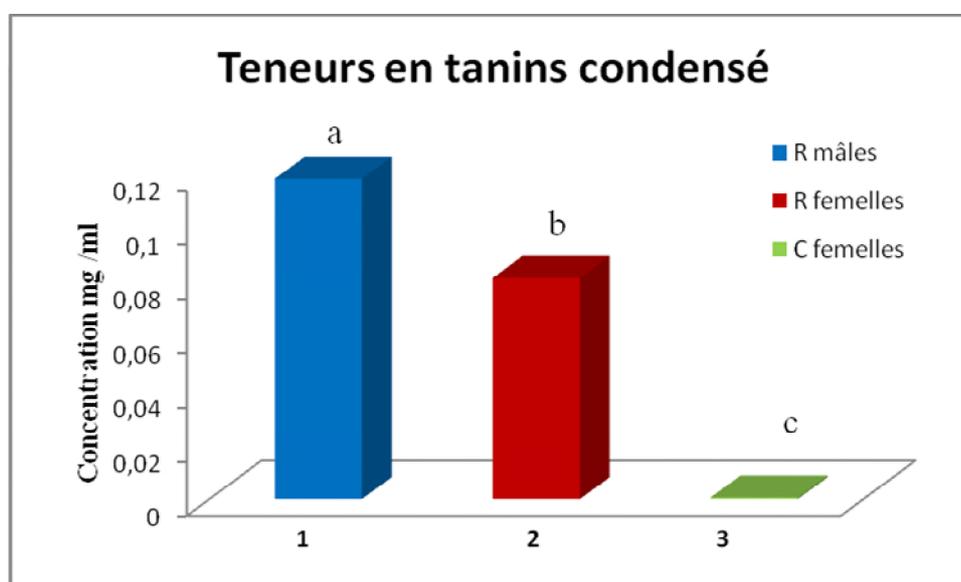
**Figure 11:** Teneurs en flavonoïdes de l'espèce *Juniperus oxycedrus* (chaque valeur représente la moyenne de cinq essais  $\pm$  SD).

### III.1.3. Teneurs en tanins condensés

Les résultats obtenus pour la concentration des tanins condensés sont rapportés dans la figure 12. L'analyse statistique par le test ANOVA a révélée une différence significative entre les teneurs en tanins condensés des extraits de *Juniperus oxycedrus*. Le dosage des rameaux mâles a donné la teneur la plus élevée qui est de  $0,128 \pm 0,002$  mg/ ml par rapport aux rameaux femelles ( $0,082 \pm 0,004$ mg / ml), la concentration la plus faible est enregistrée au niveau des extraits des cônes femelle ( $0,000643 \pm 0,000014$  mg /ml).

Les teneurs en tanins condensés obtenus dans notre étude sont largement inférieurs à ceux de **Chaouche et al., (2013); Chaouche et al., (2014)** qui ont dosés les extraits des aiguilles et de l'écorce de la racine de *J.oxycedrus subsp. oxycedrus* dont ils ont trouvé que la teneur en tanins condensées est de l'ordre de  $9,78 \pm 1,3$  mg EC/ g ms pour les aiguilles et  $31,3 \pm 2,1$  mg EC / g ms pour l'écorce de la racine.

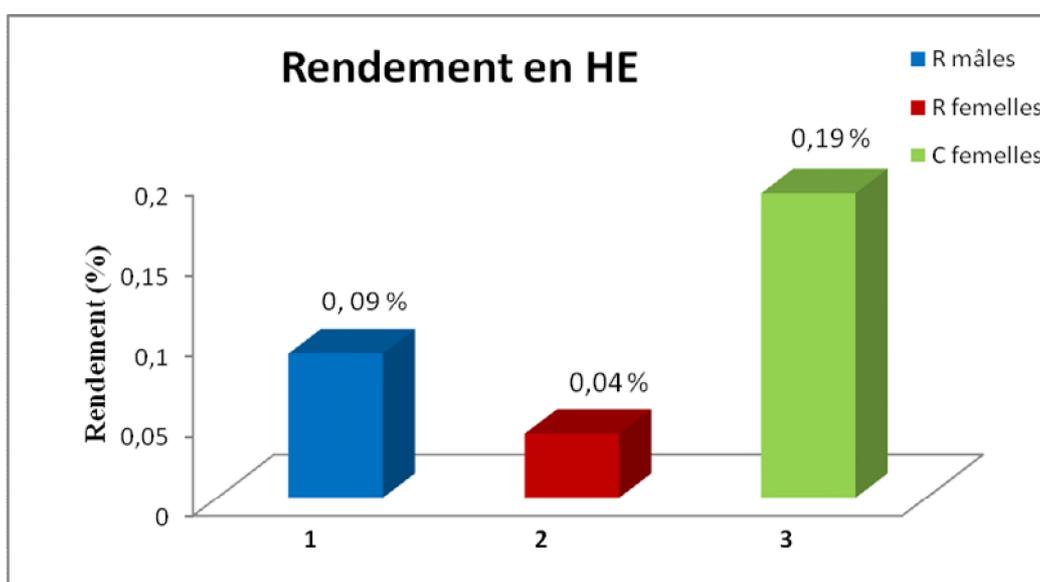
Les teneurs en tanins condensés peuvent varier en raison de plusieurs facteurs tels que: la sensibilité des tanins à plusieurs voie de dégradation (l'oxydation, la lumière...), le stade de maturité des fruits, les conditions climatiques, pédologiques ou le stress généré par la prédation (**Julkumen-Titto, 1985**).



**Figure 12:** Teneurs en tanins condensés de l'espèce *Juniperus oxycedrus* (chaque valeur représente la moyenne de cinq essais  $\pm$  SD).

### III.2. Rendement en huiles essentielles

Les résultats du rendement en huiles essentielles (HE) sont présentés dans la figure 13. Les cônes femelles de *Juniperus oxycedrus* ont fourni un rendement en huiles essentielles d'environ 0,19 % contre seulement 0,04 % et 0,09 % pour les rameaux femelles et ceux des rameaux mâles respectivement. Ce dernier est similaire au rendement trouvée par **Dop et al., (2006)** sur les extraits obtenus à partir des feuilles de la même espèce récoltée dans la région de Djelfa en Algérie (0,1%). Le taux fourni par les cônes femelles est légèrement supérieur à celui obtenu par **Mansouri et al., (2010)** qui ont travaillé sur les rameaux de la même espèce récoltée en Maroc qui est de 0,15 %.



**Figure 13:** Rendement en huiles essentielles de l'espèce *Juniperus oxycedrus*

Il a été constaté que les rendements en huiles essentielles, pour les parties aériennes étudiées (rameaux mâles, rameaux et cônes femelles) sont inférieurs à ceux trouvés par les auteurs cités dans le tableau ci-dessous:

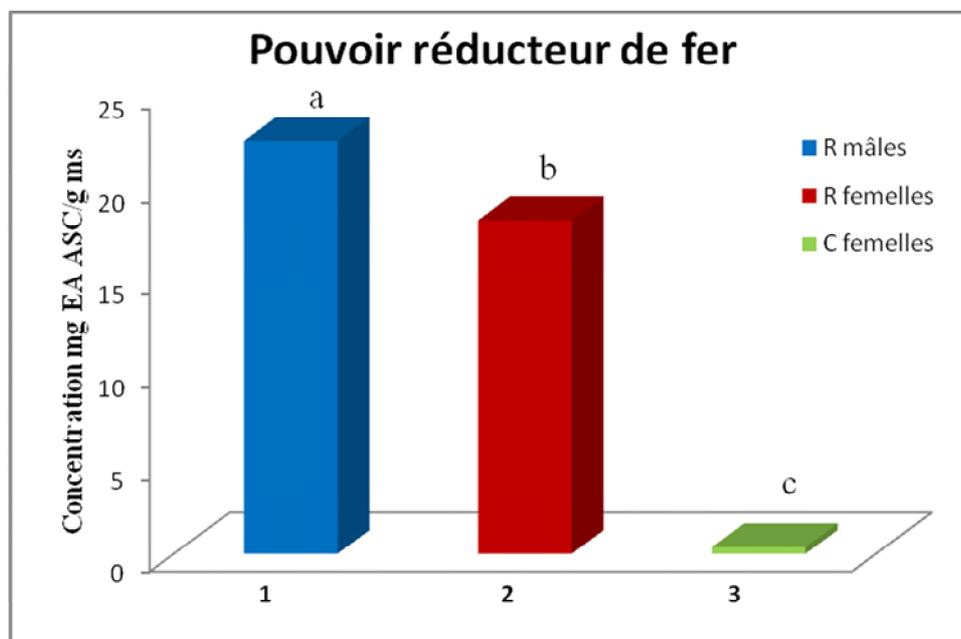
**Tableau IV:** Rendement en Huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* dans différents régions.

Equipes	Loizzo et al.,	Alan et al.,	Derwich et Chabir	Llorens-Molina et al.,
Pays / année	Liban / 2007	Turquie / 2016	Maroc / 2011	Espagne / 2016
Rendement (%)	Baies 0,72 Bois 0,68	Baies 2,12	Partie aérienne 1,66	Baies 0,8 Feuilles 1,2

### III.3. Evaluation de l'activité antioxydante et antiradicalaire

#### III.3.1. Pouvoir réducteur de fer (FRAP)

D'après la Figure 14, tous les extraits de *Juniperus oxycedrus* analysés présentent la capacité de réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ). L'analyse statistique par le test ANOVA a révélé une différence significative entre les concentrations des composés réducteurs des extraits de *Juniperus oxycedrus*. L'extrait des rameaux mâles donne une réduction significative des ions ferriques en ions ferreux qui est de l'ordre de  $22,296 \pm 2,88$  mg EA ASC/g ms, suivi par l'extrait des rameaux femelles ( $18,038 \pm 2,62$  mg EA ASC/g ms), ces résultats peuvent être expliqués par leurs contenus élevés en phénols totaux et en flavonoïdes. Le pouvoir réducteur le plus faible est obtenu dans l'extrait des cônes femelles ( $0,368 \pm 0,13$  mg EA ASC/g ms).



**Figure14:** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Juniperus oxycedrus* par la méthode FRAP (chaque valeur représente la moyenne de cinq essais  $\pm$  SD).

En 2015, Ghedadba *et al.*, déduisent de ce test que les polyphénols notamment les flavonoïdes jouent un rôle très important dans la chélation des métaux de transition impliqués dans la réaction de Fenton (formation de radicaux hydroxyles résultant de la réaction du fer avec le peroxyde d'hydrogène) (Figure 15).

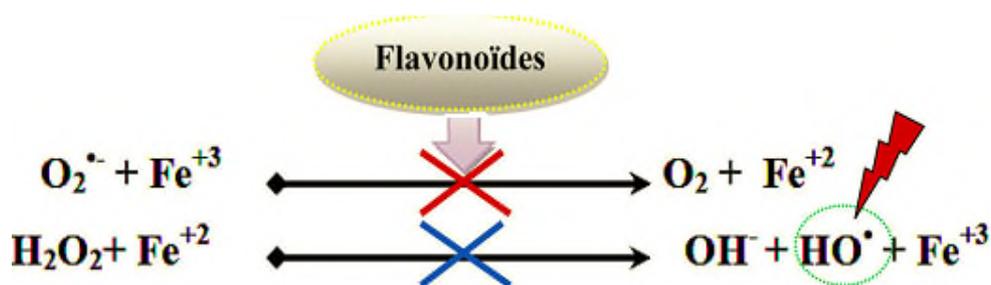


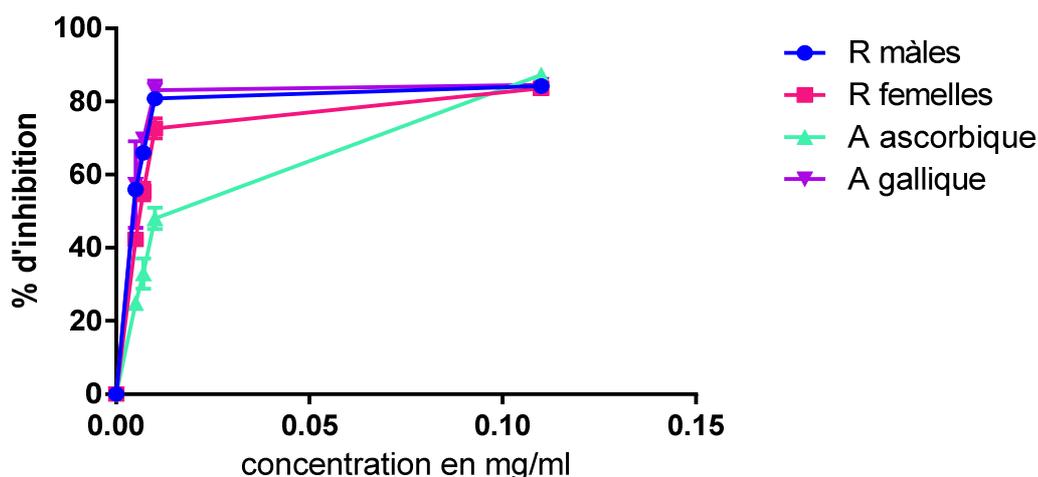
Figure 15: Réaction de Fenton (Ghedadba et al., 2015).

### III.3.2. Piégeage du radical DPPH<sup>•</sup>

D'après les Figures 16 et 17, les extraits de *Juniperus oxycedrus* possèdent une activité antiradicalaire dose dépendante, les différents extraits sont déterminées par leurs IC50. Selon Kadri et al (2011) une valeur plus faible de l'IC50 indique une activité antioxydante plus élevée. Les standards utilisés ont montré une activité antiradicalaire avec des IC50 qui sont de l'ordre de 0,05±0,04 mg/ml pour la quercétine; 0,004±0,001 mg/ml pour l'acide gallique et 0,009±0,001 mg/ml pour l'acide ascorbique.

Pour les deux extraits de *Juniperus oxycedrus*, l'extrait des rameaux mâles présente l'activité antiradicalaire la plus élevée avec une IC50 égale à 0,004±0,0002 mg/ml suivi par l'extrait des rameaux femelles avec une IC50 de 0,005±0,0006 mg/ml. Ces deux activités ne présentent pas une différence significative ni entre elles ni avec le standard l'acide gallique, mais montrent une différence significative avec l'acide ascorbique (figure 16).

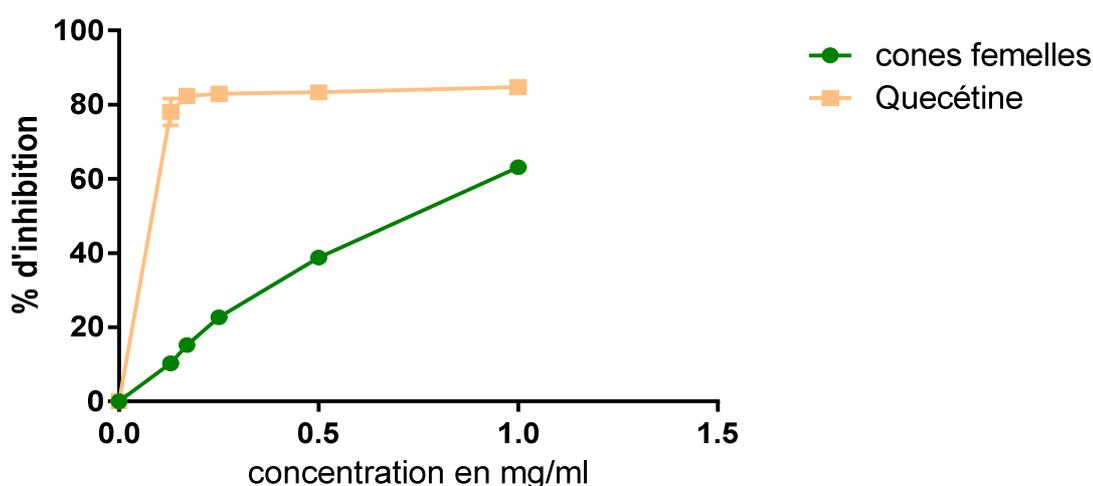
Ces résultats sont en accord avec les travaux menés par chaouche et al., (2013) qui ont testé l'activité antiradicalaire des extraits hydro-méthanolique d'écorces de racines de *Juniperus oxycedrus* avec une IC50 de 2,9 ± 0,2 µg/ ml. Les résultats de cette étude indiquent aussi que les extraits des rameaux mâles et femelles sont plus actifs par rapport aux extraits des aiguilles étudiés par Chaouche et al., (2013) et aux extraits de feuilles étudiés par El Jemli et al., (2016) (IC50 = 10,95 ± 0,7 et 17.91 ± 0.37 µg/ml respectivement).



**Figure 16:** Activité antiradicalaire des extraits des rameaux mâles et femelles de *J. oxycedrus* et des standards l'acide ascorbique et l'acide gallique (chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD).

L'extrait des cônes femelles présente l'activité antiradicalaire la moins élevée avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre de  $0,61 \pm 1,02$  mg/ml, ce résultat est supérieur à celui rapporté par **Taviano et al., (2013)** sur les extrait de *Juniperus oxycedrus* spp. *oxycedrus* de Turquie avec une IC<sub>50</sub> de  $1,84 \pm 0,10$  mg / ml (figure 17).

Cette activité peut être liée aux polyphénols trouvés dans la plante. Selon (**Turkmen et al., 2007**) les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur structures chimiques idéales.



**Figure17:** Activité antiradicalaire des extraits des cônes femelles de *J. oxycedrus* et du standard quercétine (chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD).

### III.4. Evaluation de l'activité antibactérienne

Les résultats de l'activité antibactérienne de nos extraits sont présentés dans le Tableau V, Figure 18 et 19. Les résultats montrent que les extraits issus de la plante *Juniperus oxycedrus* ont un effet inhibiteur sur la croissance de la souche bactérienne *Staphylococcus aureus*. Cependant, la zone d'inhibition maximale est observée chez l'extrait éthanolique des cônes femelles.

Nos résultats sont comparables à ceux trouvés par **Karaman et al., (2003)**, qui ont étudié l'activité antibactérienne des aiguilles de *J. oxycedrus* sur la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* en utilisant la méthode de diffusion en disque, dans laquelle les auteurs ont calculé une zones d'inhibition qui varie de 8 à 11 mm.

L'analyse statistique par le test ANOVA a révélé qu'il n'ya pas une différence significative entre les zones d'inhibitions des extraits par la méthode des puits. Dans la méthode de diffusion en disque l'extrait éthanolique des cônes femelles présente une différence significative par rapport aux extraits des rameaux mâles et femelles.

**Tableau V:** Diamètres des zones d'inhibitions (DD en millimètre) de la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* provoquées par les extraits de *Juniperus oxycedrus*.

	Extraits (DD en mm)			Témoin
	Rameaux mâles	Rameaux femelles	Cônes femelle	Ethanol
Méthode des puits	6,83 ± 0,29	8,33 ± 0,58	8,67 ± 1,15	–
Méthode de diffusion en disque	8.67 ± 0.58	7 ± 1	12 ± 3.46	–

(-) : aucun effet (DD = la moyenne de 3 estimations ± SD).



**Figure18:** Zones d'inhibitions effectuées par les extraits de *J. oxycedrus* sur la souche bactérienne *S. aureus* par la méthode des puits: (1) extrait des rameaux mâles (2) extrait des rameaux femelles (3) extrait des cônes femelles (4) extrait éthanolique.



**Figure19:** Zones d'inhibitions effectuées par les extraits de *J. oxycedrus* sur la souche bactérienne *S. aureus* par la méthode de diffusion en disque: (1) extrait des rameaux mâles (2) extrait des rameaux femelles (3) extrait des cônes femelles (4) extrait éthanolique.

### III.5. Corrélation entre l'activité antioxydante et les composés phénoliques

La teneur en phénols totaux des extraits de *J. oxycedrus* de notre étude présente une corrélation très hautement significative avec les valeurs obtenues lors du dosage des flavonoïdes ( $r = 0,80$ ) et des tanins condensés ( $r = 0,98$ ). Ces résultats montrent que les principales classes des phénols totaux (flavonoïdes et tanins condensés) sont fréquentes dans les composés phénoliques de la plante. En outre une corrélation très hautement significative est constatée entre les flavonoïdes et les tanins condensés ( $r = 0,87$ ) (Annexe 6) (Tableau VI).

Une corrélation très hautement significative est observée entre le pouvoir réducteur (FRAP) et la concentration des phénols totaux; des flavonoïdes et des tanins ( $r = 0,94$ ;  $r = 0,93$ ;  $r = 0,97$ , respectivement) (Annexe 7) (Tableau VI). Alors que l'activité

antiradicalaire de DPPH est fortement corrélée avec les teneurs en phénols totaux; en flavonoïdes et en tanins condensés du genévrier oxycèdre avec les indices de corrélation suivants:  $r = 0,85$  ;  $r = 0,97$ ;  $r = 0,92$ , respectivement. Ces résultats indiquent que les composés phénoliques (les phénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés) contribuent largement dans l'activité antioxydante du genévrier oxycèdre.

Des analyses similaires ont été faite sur les extraits de feuilles de *J. oxycedrus*, *J.thurifera*, *J. phoenicea* et *Tetraclinis articulata* du Maroc, qui ont montré que la teneur en phénols totaux; en flavonoïdes possèdent une forte corrélation avec l'activité de piégeage des radicaux libres (DPPH) ( $r = 0,99$ ;  $r = 0,99$  respectivement) et le pouvoir réducteur de fer ( $r = 0,95$ ;  $r = 0,96$  respectivement) (El Jemli et al., 2016).

L'activité antiradicalaire par FRAP manifeste une corrélation très hautement significatives avec celle du DPPH ( $r = 0,94$ ) (Annexe 7) (Tableau VI). Ce résultat est en accord avec celui obtenu par El Jemli et al. (2016) ( $r = 0,97$ )

**Tableau VI:** Coefficients de corrélation entre l'activité antioxydante et les composés phénolique (P < 0.05 ; P < 0.01 ; P < 0.001).

<b>Variabes</b>	<b>Phénols totaux</b>	<b>Flavonoïdes</b>	<b>Tanins condensés</b>	<b>Pouvoir réducteur</b>	<b>DPPH</b>
<b>Phénols totaux</b>	1.00	$r = 0.80^{***}$	$r = 0.98^{***}$	$r = 0.94^{***}$	$r = 0.85^{***}$
<b>Flavonoïdes</b>	$r = 0.80^{***}$	1.00	$r = 0.87^{***}$	$r = 0.93^{***}$	$r = 0.97^{***}$
<b>Tanins condensés</b>	$r = 0.98^{***}$	$r = 0.87^{***}$	1.00	$r = 0.97^{***}$	$r = 0.92^{***}$
<b>Pouvoir réducteur</b>	$r = 0.94^{***}$	$r = 0.93^{***}$	$r = 0.97^{***}$	1.00	$r = 0.94^{***}$
<b>DPPH</b>	$r = 0.85^{***}$	$r = 0.92^{***}$	$r = 0.92^{***}$	$r = 0.94^{***}$	1.00

(\*\*\* : Corrélation très hautement significative)

# Conclusion et perspectives

### Conclusion et perspectives

Dans le présent travail, nous avons quantifié trois groupes de composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés) et calculé le rendement des huiles essentielles des rameaux mâles, rameaux et cônes femelles de l'espèce *Juniperus oxycedrus* récoltée dans la wilaya de Taref. Aussi des activités biologiques (antioxydante et antimicrobienne) ont été évaluées.

Les résultats obtenus dans notre étude ont montré que les trois parties de la plante étudiées présentent des différences significatives entre elles.

L'extrait éthanolique des rameaux mâles a donné la plus grande valeur en polyphénols totaux et en tanins condensés. Tandis que, l'extrait des rameaux femelles a révélé la valeur la plus élevée en flavonoïdes, par contre les cônes présentent les valeurs les plus faibles en composés phénoliques. L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits par le test de DPPH et la méthode FRAP montre que les extraits des rameaux mâles et rameaux femelles sont les plus actifs.

Les résultats obtenus pour l'activité antibactérienne montrent que la souche *Staphylococcus aureus* est très vulnérable vis-à-vis de tous les extraits éthanoliques de cette plante.

La forte corrélation enregistrée entre la capacité antioxydante et la quantification des composés phénoliques indique que les composés phénoliques contribuent de manière importante aux propriétés antioxydantes de ces extraits végétaux.

A la lumière de ces résultats, on peut considérer que l'espèce *J. oxycedrus* est l'une des sources naturelles de composés antioxydants et antimicrobiens d'importance élevée, qui pourraient être appropriés pour des applications dans différents domaines (la pharmacie, l'industrie alimentaire et la phytothérapie...).

Les résultats obtenus dans ce travail ne constituent qu'une première étape dans la valorisation de cette espèce, des études complémentaires seront nécessaires:

- Étudier chaque extrait séparément, puis analyser et identifier les différents composés qui existent, dont les composés phénoliques par chromatographie liquide à haute performance (HPLC-SP) et la caractérisation chimique des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS).

- Il serait également intéressant de réaliser d'autres études pour évaluer le potentiel antibactérien *in vitro* tel que : la détermination de la concentration minimale inhibitrice et la concentration minimale bactérienne à inhiber.
- Des études plus approfondies *in vivo* sur l'activité antioxydante et antimicrobienne seraient nécessaires dans les années à venir pour mieux comprendre le mécanisme d'action des molécules bioactives de cette plante, leur dose thérapeutique ainsi que leur toxicité. Cela permettrait de préparer des produits pharmaceutiques de grand intérêt thérapeutique.

**Références**

**bibliographique**

## Références bibliographiques

- ❖ **Adams R. P. (1998).** The leaf essential oils and chemotaxonomy of *Juniperus* sect *Juniperus*. *Biochemical Systematics and Ecology*. **26**: 637–645.
- ❖ **Adams R. P. (2011).** Junipers of the World: The Genus *Juniperus*. 3rd edition, *Trafford Publishing, USA*, 426p.
- ❖ **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.
- ❖ **Alan S., Kürkçüoğlu M. and Şener G. (2016).** Composition of the Essential Oils of *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus* Growing in Turkey. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. **13**(3): 300-303.
- ❖ **Anderson K. J., Teuber S. S., Gobeille A., Cremin P., Waterhouse A. L. and Steinberg F. M. (2001).** Walnut polyphenolics inhibit in vitro human plasma and LDL oxidation. Biochemical and molecular action of nutrients. *Journal of Nutrition*. **131**:2837–2842.
- ❖ **Athamena S., Chalghem I., Kassah-Laouar A., Laroui S. et Khebri S. (2010).** Activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal*. **11** (1): 69-81.
- ❖ **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.
- ❖ **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. and Idaomar M. (2008).** Biological effects of essential oils. A review. *Food and Chemical Toxicology*, **46**: 446-475.
- ❖ **Baydar N.G., Sagdic O.O.E.E., Ozkan, G. and Cetin S. (2006).** Determination of antibacterial effects and total phenolic contents of grape (*Vitis vinifera* L.) seed extracts. *International Journal of Food Science and Technology*. **41**: 799–804.
- ❖ **Bektas T., Dimitra D., Atalay S., Munevver S. and Moschos P. (2005).** Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller. *Food Chemistry*, **90**: 333-340.
- ❖ **Betts T.J. (2001).** Chemical characterisation of the different types of volatile oil constituents by various solute retention ratios with the use of conventional and novel commercial gas chromatographic stationary phases. *Journal of Chromatography*. **936**: 33–46.

- ❖ **Boizot N. et Charpentier J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. INRA Amélioration, Génétiques et physiologie Forestières. *Laboratoire d'Analyses biochimiques*. **18**: 79-82.
  
- ❖ **Bouadam-Farhi B. (2013).** Caractérisation morphologique et biochimique de l'espèce *Juniperus sabina* L. au niveau du Parc National de Djurdjura, Algérie. Mémoire de magister en Sciences biologique. Faculté des sciences de la nature et de la vie, université A/Mira de Bejaia. 75p.
  
- ❖ **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.
  
- ❖ **Bourgaud F., Gravot A., Milesi S. and Gontier E. (2001).** Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*. **161**, 839-851.
  
- ❖ **Brand-william W., Cuvelier M.E. and Berset C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, **28**: 25-30.
  
- ❖ **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** (4): 657-670.
  
- ❖ **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.
  
- ❖ **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.
  
- ❖ **Chaouche T. M., Haddouchi F., Atik-Bekara F., Ksouri R., Azzi R., Boucherit Z., Tefiani C. and Larbat R. (2014).** Antioxidant, haemolytic activities and HPLC-DAD-ESI-MSn characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. *Industrial Crops and Products*. **51**: 6-10.
  
- ❖ **Cheyrier V., Fulcrand H., Sarni P. et Moutounet M. (1997).** Application des techniques analytiques à l'étude des composés phénoliques et de leurs réactions au cours de leur vinification. *In vino Analytica Scientia. Analisis*. **25**: 14-44.
  
- ❖ **Chira K., Suh J. H, saucier C. et Teissèdre P. L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *phytothérapie*. **6**: 75-82.
  
- ❖ **Clevenger J.F. (1928).** Apparatus for the determination of volatile oil. *Journal of the American Pharmacists Association*, **17**: 341-346.

- ❖ **Cos P., Ying L., Calomme M., Hu J.P., Cimanga K., Poel B.V., Pieters L., Vlietinck A.J. and 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. *Clinical Microbiology Reviews*. **12** (4): 564-582.
- ❖ **Crozier A., Clifford M.N. and Ashihara H. (2006).** Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet. *Ed Blackwell Publishing Ltd*. 371p.
- ❖ **Daglia M. (2012).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*. **23**:174–181.
- ❖ **Derwich E. And Chabir R. (2011).** Identification of the volatile constituents of the essential oil of *juniperus oxycedrus* (cupressaceae) from the north centre region of morocco. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. **4**: 50-54.
- ❖ **Dhifi W., Bellili S., Jazi S., Bahloul N., and Mnif W. (2016).** Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines*. **3** (4): 25.
- ❖ **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., StockerP. and Vidal N. (2006).** Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. **97**: 654–660.
- ❖ **Dob T., Dahmane D. and Chelghoum C. (2006).** Essential Oil Composition of *Juniperus oxycedrus* Growing in Algeria. *Pharmaceutical Biology*. **44** (5): 1–6.
- ❖ **Dohou N., Yamni K., Gmiri N. and Idrissi Hassani L. M. (2004).** Etude de polyphénols des feuilles d'une endémiques Ibéro Marocaine, *Thymelaea Lythroides* *Acta Botanica Malacitana*. **29**: 233-239.
- ❖ **Dupont F. et Guignand J. L. (2007).** Botanique: Systématique moléculaire. *14eme Edition, Masson, Paris France*. 188 p.
- ❖ **El Jemli M., Kamal R., Marmouzi I, Zerrouki A., Cherrah Y. and Alaoui K. (2016).** Radical-Scavenging Activity and Ferric Reducing Ability of *Juniperus thurifera* (L.), *J. oxycedrus* (L.), *J. phoenicea* (L.) and *Tetraclinis articulata* (L.). *Advances in Pharmacological Sciences*. (6).
- ❖ **Favier A., (2003).** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. P:108-115.

- ❖ **Ghedadba N., Hambaba L., Ayachi A., berkane M.C., Bousselsela H. et Oueld-Mokhtar S. M. (2015).** Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de Marrubium deserti de Noé. *Phytothérapie*. **13**:118-129.
  
- ❖ **Gray A. (1864).** Du genévrier, ses caractères botaniques, Sa composition chimique, Son action physiologique; Application thérapeutique de l'éthérolé de genièvre. *Deuxième édition. Imprimerie de J. Roblot, Rue de Clos*, 534p.
  
- ❖ **Grünwald J. et Jancke C. (2004).** Guide de la phytothérapie. *Editions Marabout*, 416 p.
  
- ❖ **Haleng J., Pincemail J., Defraigne J O., Charlier C. et Chapelle J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue Medical de Liege*. **10**: 628-638.
  
- ❖ **Hassan W., Rehman S., Noreen H., Gul S., Neelofar and Ali N. (2016).** Gas chromatography mass spectrometric (GCMS) analysis of essential oils of medicinal plants. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. **4**(8): 420-437.
  
- ❖ **Heim K.E., Tagliaferro A.R. and Bobilya D.J. (2002).** Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem*. **3**: 572–584.
  
- ❖ **Hopkins W. G. (2003).** Physiologie végétale. *1<sup>er</sup> édition, De Bock & larcier s. a. Bruxelles*. 455p.
  
- ❖ **Ismail H., Lemriss S., Ben Aoun Z., Mhadhebi L., Dellai A., Kacem Y., Boiron P. and Bouraoui A. (2008).** Antifungal activity of aqueous and methanolic extracts from the Mediterranean sea cucumber, *Holothuria polii*. *journal of medical mycology* **18** (1): 23-26.
  
- ❖ **Jayaraman P., Sakharkar M.K., Lim C.S., Tang T.H. and Sakharkar K.R. (2010).** Activity and interactions of antibiotic and phytochemical combinations against *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. *International Journal of biology Science*. **6**:556-568.
  
- ❖ **Jian ZhaoaT., Lawrence C. and Davisb R.V. (2005).** Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*. **23**: 283-333.
  
- ❖ **Julkunen-Titto R. (1985).** Phenolic constituent in the leaves of northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **33**: 213–217.
  
- ❖ **Kadri A., Zarai A. and Békir A. (2011).** Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L essential oil from Tunisia. *African Journal of Biotechnology*. **10**(19): 3908-3914.
  
- ❖ **Klimko M., Boratynska K., Montserrat JM., Didukh Y., Romo A., Gomez D., Kluz-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 of nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. **20**: 165-177.
  - ❖ **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.
  - ❖ **Landrault N., Larronde F. and Delaunay J.C. (2002)**. Levels of stilbene oligomers and astilbin in French varietal wines and in grapes during noble rot development. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. **50**(7): 2046-2052.
  - ❖ **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.
  - ❖ **Llorens-Molina J. A., Vacas S. and Sabater J. (2016)**. Essential oil composition of berries and leaves of *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* L. from two typical substrates of Valencia (Spain). *Natural Volatiles & Essential Oils*. **3**: 23-30.
  - ❖ **Loizzo M. R., Tundis R., Conforti F., Saab A. M., Statti G. A. and Menichini F. (2007)**. Comparative chemical composition, antioxidant and hypoglycaemic activities of *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* L. berry and wood oils from Lebanon. *Food Chemistry*. **105**: 572–578.
  - ❖ **Macheix J.J. (1996)**. Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XXème siècle ? *Acta botanica Gallica*. **143** (6): 473-479.
  - ❖ **Macheix J. J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C. (2005)**. Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes*. 192p.
  - ❖ **Madsen H. L. and Bertelsen G. (1995)**. Spices as antioxidants. *Trends Food Science Technology*. **6**: 271–277.
  - ❖ **Magder S. (2006)**. Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life?. *Critical Care*. **10**:208-216.
  - ❖ **Maisuthisakul P., Pasuk S. and Ritthiruang de J.P. (2008)**. Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Journal of Food composition and Analysis*. **21**: 229-240.

- ❖ **Mansouri N., Satrani B., Ghanmi M., El ghadraoui L., Aafi A. and Farah A. (2010).** Valorisation des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* et de *Juniperus oxycedrus* du Maroc. *Phytothérapie*. **8**: 166–70.
- ❖ **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.
- ❖ **Mehinagic E., Bourles E. Et Jourjon F. (2011).** Composés des fruits d'intérêt nutritionnel: impact des procédés de transformation sur les polyphénols. *Arboriculture*. **43** (6): 364–368.
- ❖ **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.
- ❖ **Moreno L., Bello R., Beltran B., Calatayud S., Promo-Yufer E. and Esplugues J. (1998).** Pharmacological screening of different *Juniperus oxycedrus* L. extracts. *Pharmacology and Toxicology*. **82**: 108–112.
- ❖ **Newman D.J. and Cragg G.M. (2012).** Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*. **75**: 311-335.
- ❖ **Nostro A., Germano M.P., D'Angelo A., Marino A. and Cannatelli M.A. (2000).** Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Letters and Applied Microbiology*. **30**(5): 379-385.
- ❖ **Novelli G. P. (1997).** Role of free radicals in septic shock. *Journal of physiology and pharmacology*.**48**: 517-527.
- ❖ **Ogbera A.O., Dada O., Adeyeye F. and Jewo P.I. (2010).** Complementary and alternative medicine use in diabetes mellitus. *West African Journal Of Medicine*. **29**: 158–162.
- ❖ **Okigbo R. N. and Omodamiro O. D. (2006).** Antimicrobial Effect of leaf extracts of Pigeon Pea (*Cajanus cajan* (L) Millsp) on some human pathogens. *Journal of Herbs,Spices and Medicinal Plants*. **12**(1/2): 117-127.
- ❖ **Oomah B.D., Corbé A. and Balasubramanian P. (2010).** Antioxydant and anti-inflammatory activities of bean hulls. *Journal of agricultural and food chemistry*. **58**: 8225-8230.
- ❖ **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.

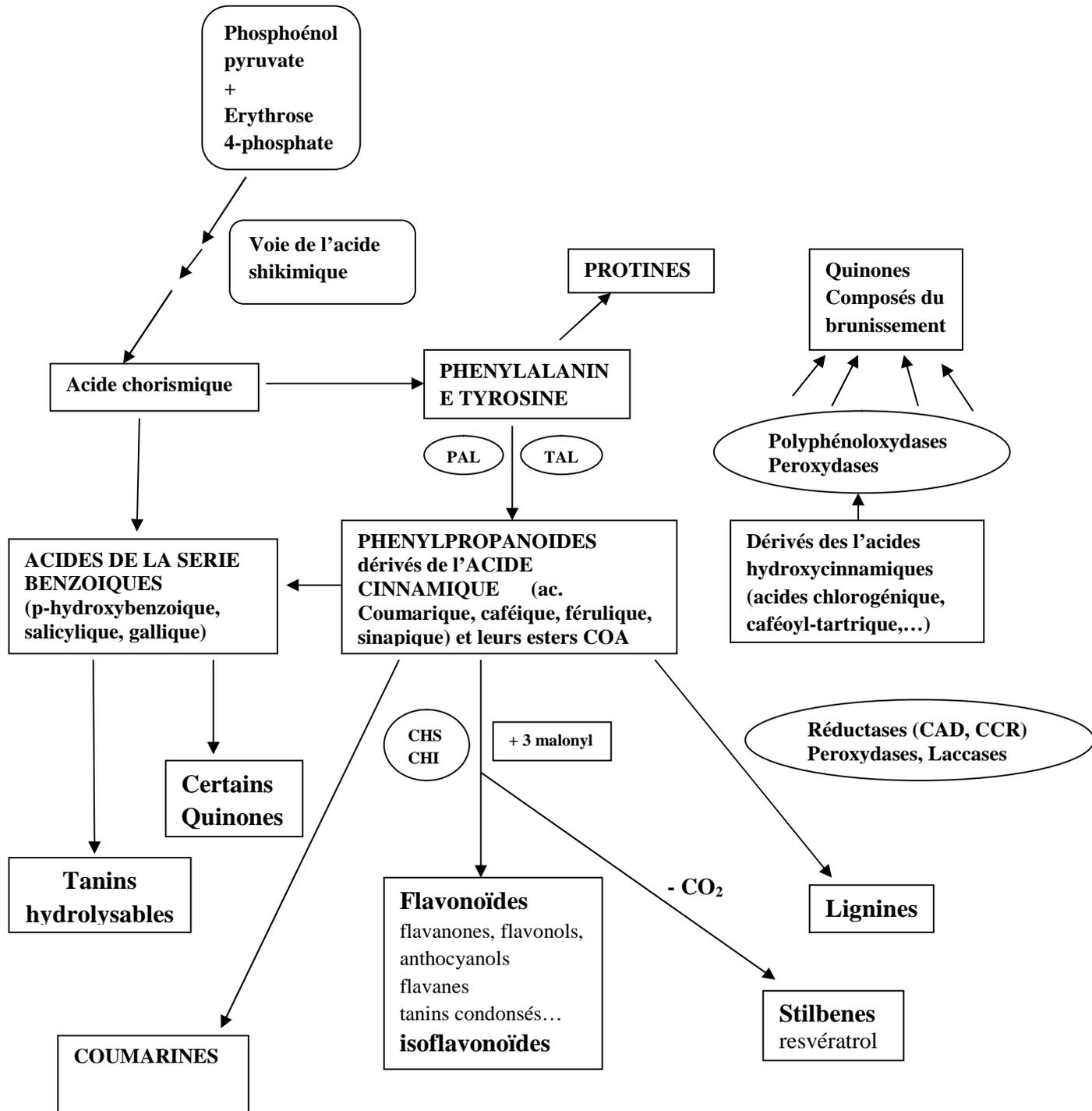
- ❖ **Parr A.J. and Bolwell J.P. (2002).** Phenols in the plant and in man. The potential for, possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Journal of Science Food Agricultural*. **80**: 985-1012.
- ❖ **Pichersky E., Noel J.P and Dudareva N. (2006).** Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. *Science*. **311**: 808–811.
- ❖ **Price K.R., Casuscelli F., Colquhoun, I.J. and Rhodes, M.J.C. (1997).** Hydroxycinnamic acid esters from broccoli florets. *Phytochemistry*. **45**: 1683-1687.
- ❖ **Quettier-Deleu C., Gressier B., Vasseur J., Dine T., Brunet C., Luyckx M., Cazin M., Cazin J.C., Bailleul F. and Trotin F. (2000).** Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*. **72**: 35-42.
- ❖ **Quézel P. et Médial F. (2003).** Ecologie et biogéographie de la forêt du bassin méditerranéen. *Edition scientifiques et médicales Elsevier SAS*. Paris, 571p.
- ❖ **Rodriguez Vaquero M.J., Aredes Fernandez P.A. and Manca de Nadra M.C. (2010).** Strasser de Saad AM: Phenolic compound combinations on *Escherichia coli* viability in a meat system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **58**:6048-6052.
- ❖ **Sadgrove N. and Jones G. (2015).** A Contemporary Introduction to Essential Oils: Chemistry, Bioactivity and Prospects for Australian Agriculture. *Agriculture*. **5**: 48-102.
- ❖ **Sanchez de Medina F., Gamez M. J., Jimenez I., Jimenez J., Osuna J. I. and Zarzuelo. (1994).** Hypoglycemic activity of juniper berries. *Planta Medica*. **60**: 197–200.
- ❖ **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.
- ❖ **Seca ML, Silva AMS. (2006).** The chemical composition of the *Juniperus* genus (1970-2004), recent progress in medicinal plants. *Phytomedicines*. **16**:402–522.
- ❖ **Sies H. (1991).** Oxidative stress: from basic research to clinical application. *American Journal of Medicine*. **91**: 31-38.
- ❖ **Skerget M., Kotnik P., Hadoline M., Rizner-Hras A., Simonic M. and Knez Z. (2005).** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*. **89**: 191-198.
- ❖ **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 phenolic profile, antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities. *Food and Chemical Toxicology*.**58**: 22-29.
- ❖ **Tiwari R. and Rana S. C (2015)**. Plant secondary metabolites. *International journal of engineering research and general science*. **3** (5): 661-670.
  - ❖ **Turkmen N., Velioglu Y. S, Sari F. and Polat, G. (2007)**. Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*. **12**: 484-496.
  - ❖ **Vermerris W. and Nicholson R. (2006)**. Phenolic compound Biochemistry. *Ed, Springer*. 230 p.
  - ❖ **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. and Wang S.Y. (2001)**. 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.

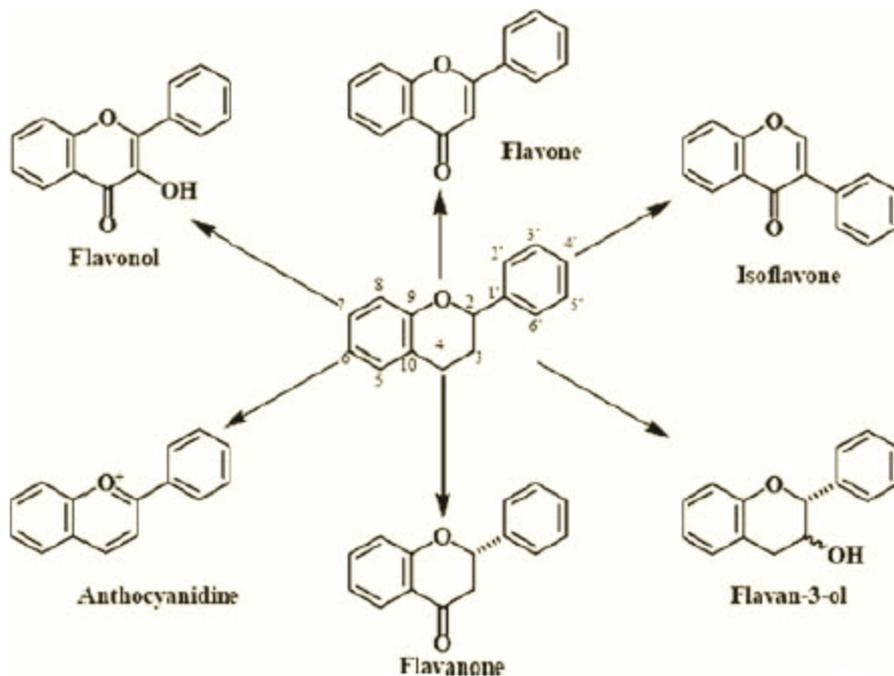
# Annexes

# Annexes

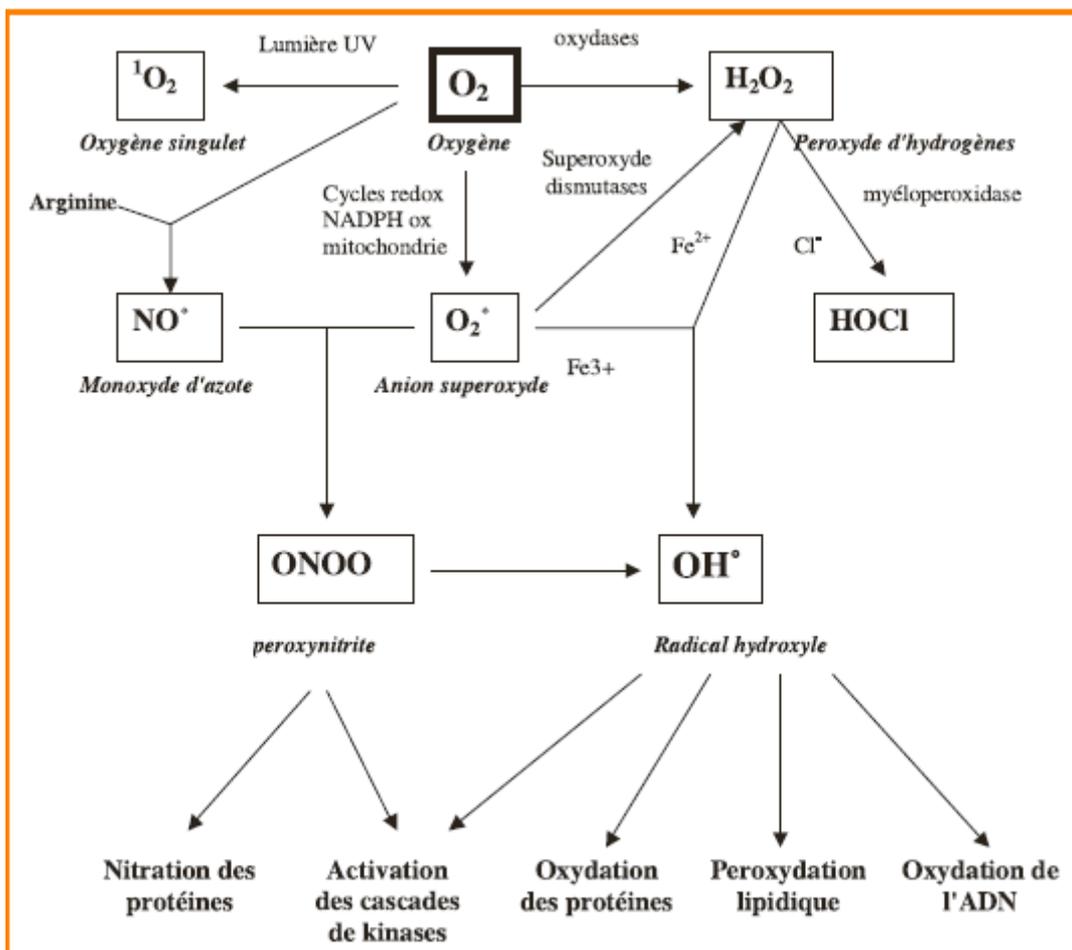
Annexe 1: Les grandes lignes du métabolisme phénolique.



**Annexe 2:** Structures de base des principaux flavonoïdes.



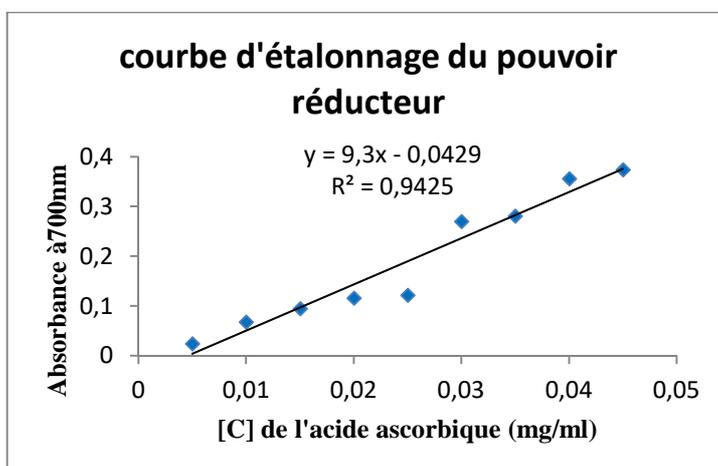
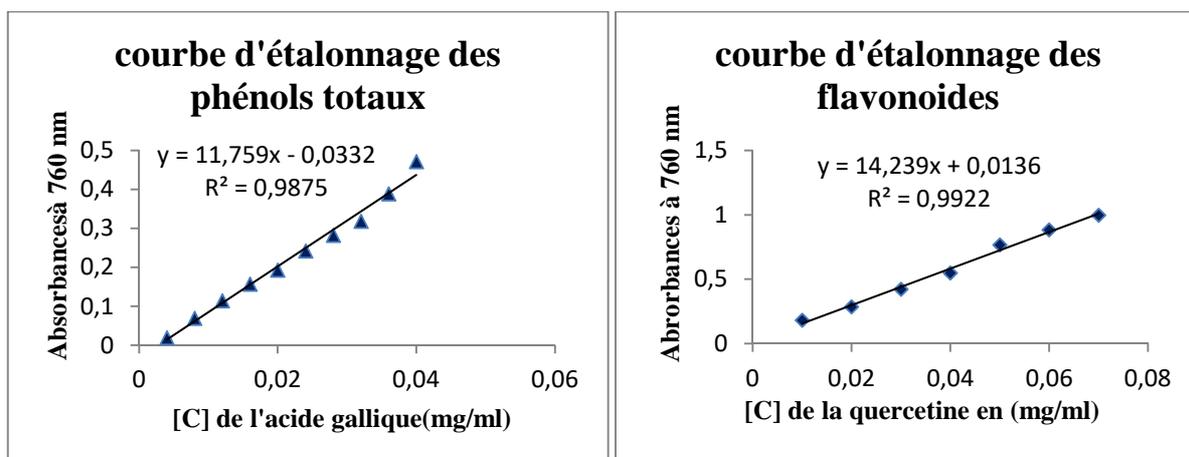
**Annexe 3:** Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactive de l'oxygène impliqué en biologie.



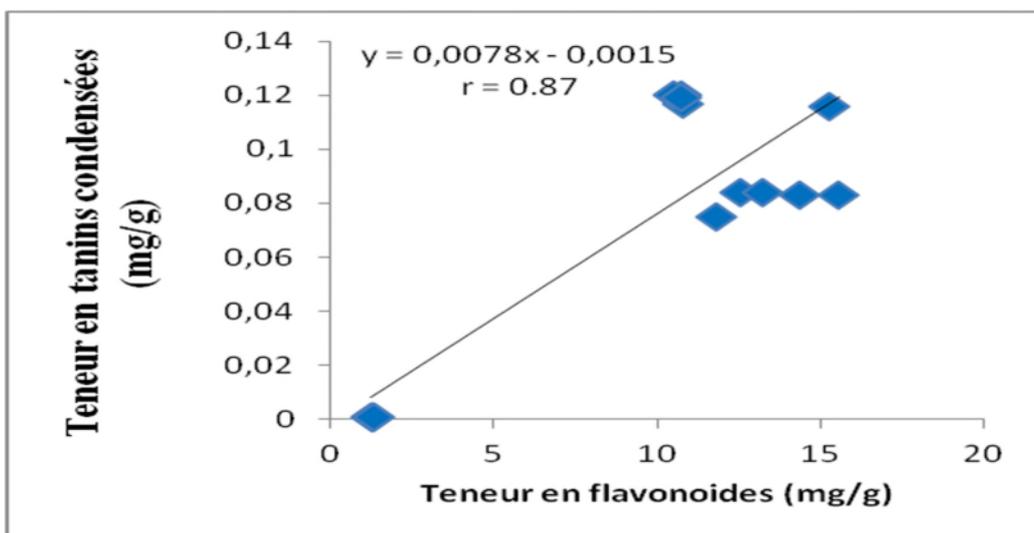
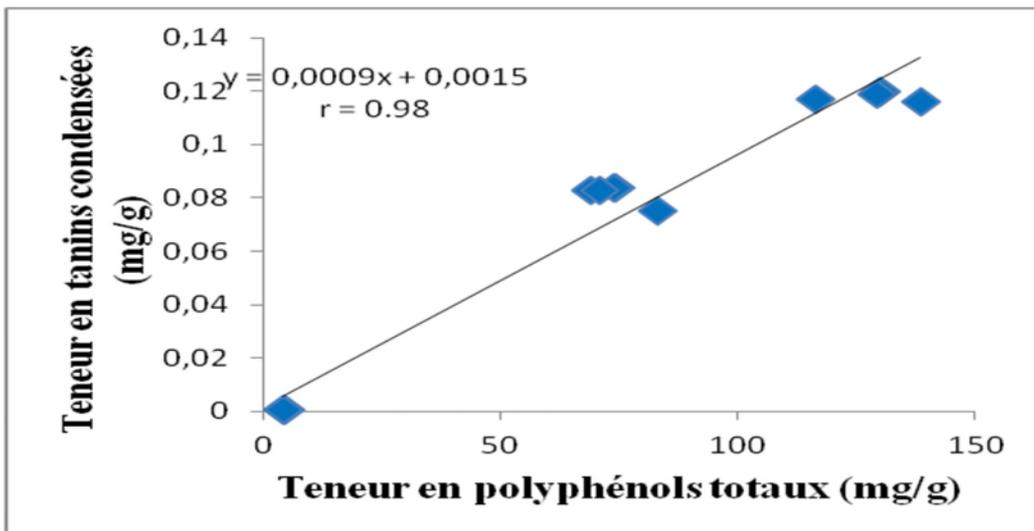
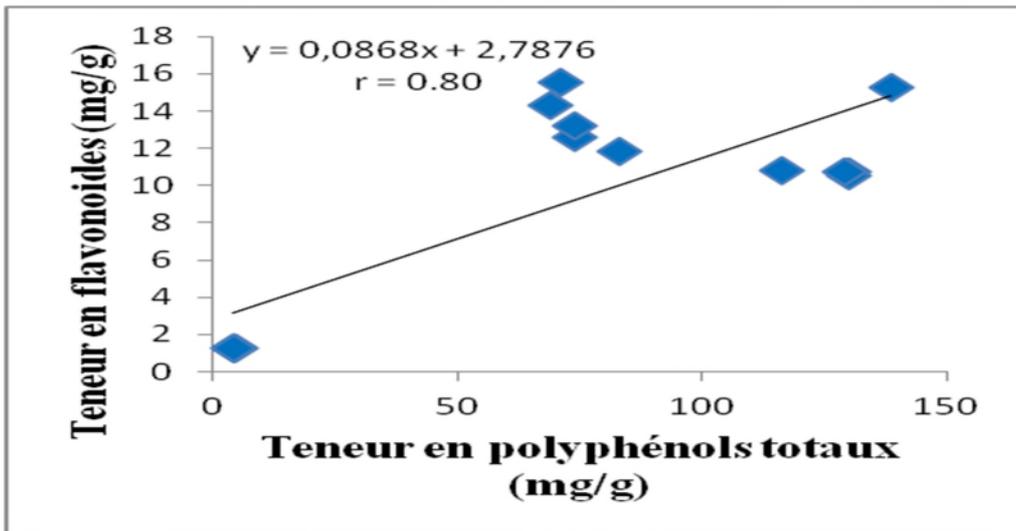
#### Annexe 4: Appareils et matériels utilisé lors de l'expérimentation.

- Ampoule à décanter.
- Ballons (50ml→2000ml) pour le rota-vapeur.
- Etuve.
- Papier filtre.
- Spectrophotomètre UV-visible.
- Balance de précision.
- Agitateur magnétique plaque chauffante.
- Hydro-distillateur (Clevenger).
- Bain-marie thermostat.
- Centrifugeuses.
- Broyeur.
- Vortex.

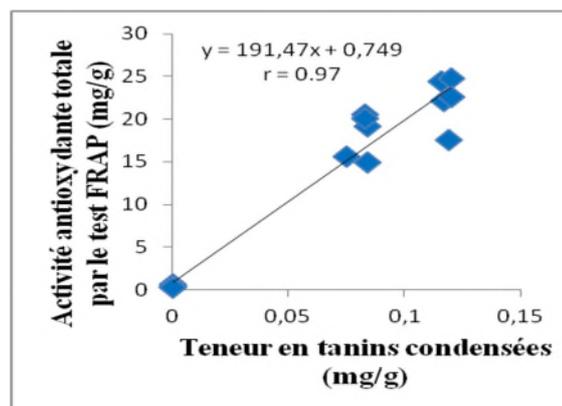
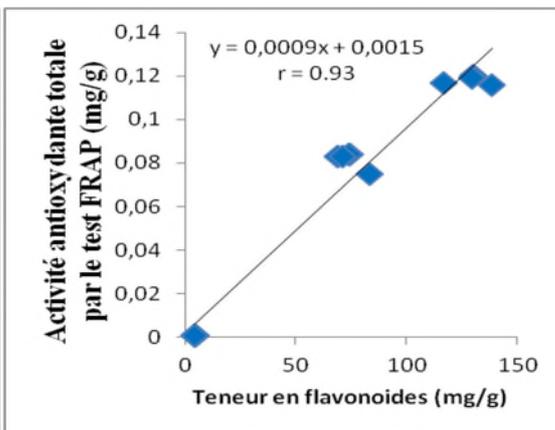
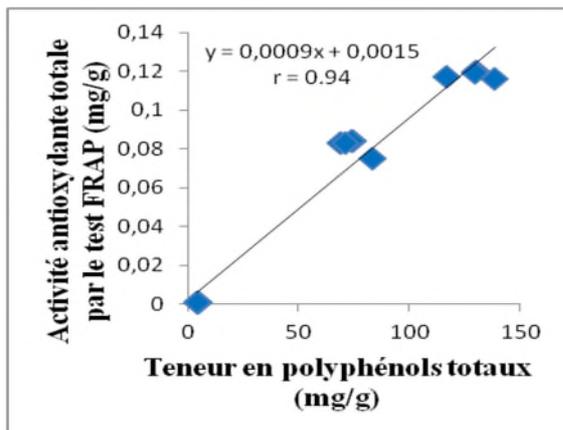
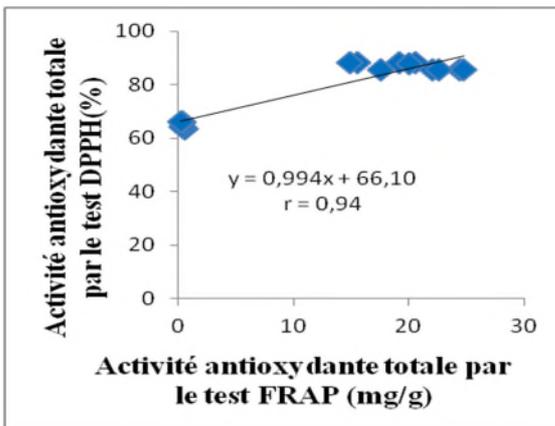
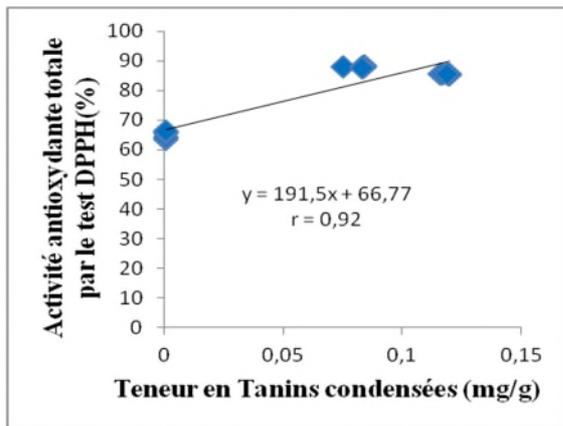
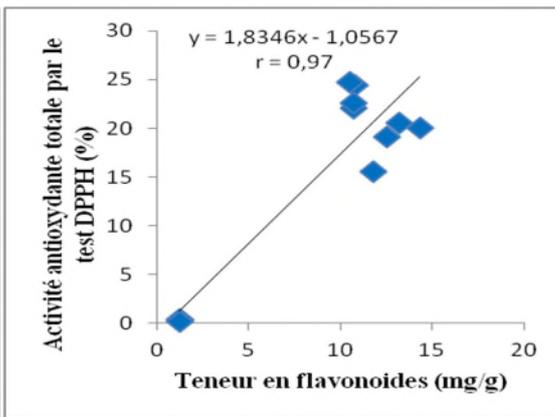
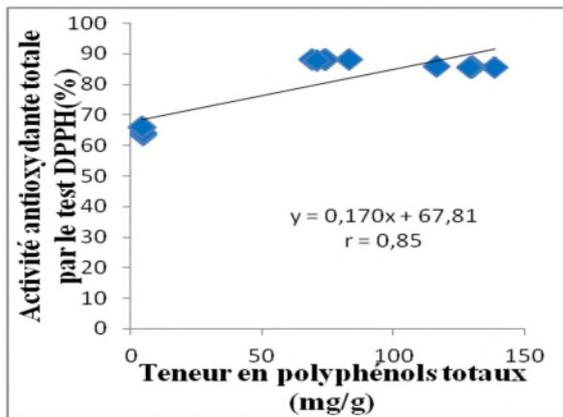
#### Annexe 5: courbe d'étalonnage des composés phénoliques et pouvoir réducteur.



**Annexe 6:** Corrélation entre les composés phénoliques.



**Annexe 7: Corrélation entre l'activité antioxydante et les composés phénoliques.**



# Glossaire

**Carminatives:** Le terme carminatif est associé à toute substance augmentant l'évacuation des gaz intestinaux et de l'estomac, tout en en réduisant le volume. Les aliments carminatifs sont utilisés en phytothérapie pour diminuer les troubles gastriques et soigner la constipation. Ils ont une action très favorable sur les ballonnements.

**Dépurative :** Se disait de tisanes et de médications auxquelles on attribuait la propriété de débarrasser l'organisme de ses toxines et de ses déchets.

**Diurétique :** est une substance qui entraîne une augmentation de la sécrétion urinaire et qui peut être utilisée notamment pour traiter l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque, certains œdèmes, l'hypertension portale ou l'hyperkaliémie

**Tonique :** L'adjectif tonique désigne, dans un contexte de pathologie neurologique, ce qui est en rapport avec la tonicité, le tonus ou le tonisme. Il s'agit d'une posture se caractérisant par une rigidité, une force, une intensité importante des muscles. on parle de spasme tonique ou de convulsion tonique.

**Lactones:** Nom générique des esters, dont le groupe fonctionnel -CO-O- fait partie d'un cycle. (De formule générale  $(CR_2)_n CO-O$ , les lactones se forment à partir des acides-alcools ou des oxydes-phénols, ou encore par oxydation ménagée des cyclanones.

**Bryophytes:** Plante terrestre ou d'eau douce dépourvue de vaisseaux mais pouvant avoir des feuilles et caractérisée par l'importance de la phase à n chromosomes (haplophase) dans le cycle reproductif, telle que les mousses et les hépatiques. (Les bryophytes forment un embranchement).

**Ptéridophytes:** Plante ayant des vaisseaux et une circulation de sève, mais se reproduisant sans fleurs ni graines, telle que les fougères, les prêles, les lycopodes, etc. (Les ptéridophytes, ou cryptogames vasculaires, forment un embranchement divisé en quatre classes que certains auteurs considèrent comme autant d'embranchements distincts).

**Gymnospermes:** Plante à graines (spermaphyte), dont les ovules, puis les graines, sont portés sur des écailles plus ou moins ouvertes et non dans un fruit clos. (Les *gymnospermes* constituent un sous-embranchement, presque uniquement formé, de nos jours, par les conifères : pins, cyprès, genévriers, etc.

**Angiospermes:** Plante à graines dont l'ovule, fécondé par l'intermédiaire d'un tube pollinique, se transforme en un fruit clos. (Les *angiospermes* portent généralement des fleurs typiques. Elles forment un sous-embranchement, s'opposant aux gymnospermes).

**Humus :** Matière colloïdale du sol issue de la décomposition et de la transformation chimique et biologique des débris végétaux. Ensemble des matières organiques se trouvant dans la couche superficielle d'un sol.

## Résumé

Le genévrier oxycèdre appartient à la famille des cupressacées, c'est un arbre aromatique qui se rencontre dans la région méditerranéenne et du Proche-Orient. Cette étude vise à évaluer et à comparer les composés phénoliques, le rendement en huiles essentielles et certaines activités biologiques des extraits éthanoliques de *Juniperus oxycedrus* de la wilaya de Taref. Les résultats ont montré que l'extrait des rameaux mâles présente les teneurs les plus élevées en phénols totaux ( $128,884 \pm 7.92$  mg EAG/ g ms) et en tanins condensés ( $0,128 \pm 0,002$  mg / ml). Cependant la concentration la plus élevée en flavonoïdes est déterminée dans les extraits des rameaux femelles ( $13.5 \pm 1.47$  mg EQ / g ms). L'extraction des huiles essentielles de la plante, accomplie par la technique d'hydrodistillation, a donné un rendement de 0,19 % pour les cônes femelles supérieurs à ceux des rameaux mâles et des rameaux femelles (0,09 % et 0,04 % respectivement). L'activité antioxydante des extraits a été déterminée, *in vitro*, par le test de DPPH et la méthode FRAP. Les trois extraits ont révélé une activité antioxydante significative. Cependant, l'extrait des rameaux mâles enregistre la plus grande capacité de piéger le radical DPPH avec une plus faible valeur d'IC50 ( $0,004 \pm 0,0002$  mg/ ml), et donne une bonne réduction des ions ferriques ( $22,296 \pm 2,88$ mg EAA / g ms). En outre l'activité antibactérienne réalisée sur la souche *S. aureus*, par la méthode de diffusion des disques et la méthode des puits, a montré que les extraits testés sont doués d'activité antibactérienne appréciable. Des corrélations linéaires significatives, entre les différents tests de l'activité antioxydante et la quantification des composés phénoliques, ont été trouvées.

**Mots clés:** *Juniperus oxycedrus*, composés phénoliques, Huiles essentielles, Activité antioxydante, Activité antibactérienne.

## Abstract

The juniper oxycèdre belongs to the cupressaceae family, it is an aromatic tree that is found in the Mediterranean region and the Near East. This study aims to evaluate and compare the phenolic compounds, the yield of essential oils and certain biological activities of the ethanolic extracts of *Juniperus oxycedrus* from the Taref wilaya. The results showed that the male branch extract had the highest total phenol contents ( $128.884 \pm 7.92$  mg EAG / g ms) and condensed tannins ( $0.128 \pm 0.002$  mg / ml). However the highest concentration of flavonoids is determined in the extracts of the female branches ( $13.5 \pm 1.47$  mg EQ / g ms). The extraction of essential oils from the plant, performed by the hydrodistillation technique, gave a yield of 0.19% for female cones greater than those of male and female branches (0.09% and 0.04 % respectively). The antioxidant activity of the extracts was determined, *in vitro*, by the DPPH test and the FRAP method. The three extracts revealed significant antioxidant activity. However, the male branch extract shows the greatest ability to trap DPPH with a lower IC50 value ( $0.004 \pm 0.0002$  mg / ml), and gives a good reduction of ferric ions ( $22.296 \pm 2, 88$  mg EAA / g ms). Moreover, the antibacterial activity carried out on the *S. aureus* strain, by the disk diffusion method and the well method, showed that the extracts tested are endowed with appreciable antibacterial activity. Significant linear correlations between the various tests of antioxidant activity and the quantification of phenolic compounds have been found.

**Keywords:** *Juniperus oxycedrus*, polyphenols, essential oils, Antioxidant activity, antibacterial activity

## ملخص

عرعر شربيني ينتمي إلى عائلة cupressacées هي شجرة عطرية و طبية تنمو في منطقة البحر الأبيض المتوسط والشرق الأوسط. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم ومقارنة المركبات الفينولية، المرودود من الزيوت الأساسية وبعض الأنشطة البيولوجية لمستخلصات الإيثانول من عرعر شربيني الذي تم جلبه من ولاية الطارف. وأظهرت النتائج أن المستخلص من الأغصان الذكرية لديها أعلى محتويات من الفينول الإجمالي ( $128.884 \pm 7.92$  ملغ EAG / غ المادة الجافة) والدباغ المكثف ( $0.128 \pm 0.002$  ملغ / غ المادة الجافة). ومع ذلك، تم تحديد أعلى تركيز الفلافونويدات في مستخلص الأغصان الأنثوية ( $13.5 \pm 1.47$  ملغ EQ / غ المادة الجافة). استخراج الزيوت الأساسية من النبتة عن طريق تقنية التقطير بالبخار، و المرودود الأعلى قدم من طرف الثمار (0.19%) مقارنة مع الأغصان الذكرية والأنثوية (0.09% و 0.04 % على التوالي). وكذا تم تحديد النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات في المختبر من قبل اختبار DPPH وطريقة FRAP حيث أظهرت المستخلصات الثلاث نشاط المضاد للأكسدة. وتبين أن الأغصان الذكرية لديها أعظم قدرة على تثبيط جذر DPPH مع انخفاض قيمة (IC50  $0.004 \pm 0.0002$  ملغ / مل)، ويعطي قوة الارجاع الحديد ( $22,296 \pm 2,88$  ملغ EAA / غ المادة الجافة). بالإضافة إلى ذلك، فإن النشاط المضاد للبكتيريا التي أجريت على *S. aureus* بين أن كل المستخلصات أعطت نشاط مضاد للبكتيريا كبير. تم العثور على ارتباطات خطية ذات دلالة إحصائية بين اختبارات نشاط مضادات الأكسدة وتقدير المركبات الفينولية.

**مفتاح الكلمات :** عرعر شربيني، المركبات الفينولية، الزيوت الأساسية، النشاط المضادة للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيري