

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A/Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la nature et de la vie
Département de biologie physico-chimique



Mémoire de Master

Filière : Science Biologique

Option : Pharmacologie moléculaire

Thème

**Extraction des métabolites secondaires
(composés phénoliques et huiles
essentiels) et évaluation de l'activité
antioxydante chez l'espèce *Juniperus
oxycedrus***

Présenté par :

Mlle GUENDOUZEN Razika

Mlle HADDOUCHE Louiza

Composition du jury

Président Mr S. OUCHEMOUKH. A/Mira Bejaia.

Promoteur Mr S. BOUADAM. A/Mira Bejaia.

Examinatrice Mlle Ait Alli. A/Mira Bejaia.

2015/2016

Remerciements

Le présent document couronne nos études universitaires très riches en enseignements et expériences tant sur le plan du savoir scientifique que de celui de la vie en collectivité. Nous louons Dieu le tout puissant, pour nous avoir prêté force et patience pour l'aboutissement de ce modeste travail.

Nous tenons à remercier très chaleureusement Mr S. BOUADAM et Mme B. BOUADAM - FARHI qui nous ont permis de bénéficier de leur encadrement. Les conseils qu'ils nous ont prodigué, la patience, la disponibilité, la confiance qu'ils nous ont témoignés ont été déterminantes dans la réalisation de notre travail.

Nos vifs remerciements sont adressés à Mr S. OUCHEMOUKH pour avoir l'amabilité d'accepter de présider le jury de soutenance.

Nous exprimons aussi nos meilleurs sentiments de gratitude à Mlle D. AIT-ALI d'avoir accepté de faire part du jury et consacré son temps à la lecture et à la correction de ce manuel.

Nous ne terminerons pas ce mot sans gratifier de nos remerciements nos parents pour leurs contributions, leur soutien et leur patience durant tout notre parcours scolaire.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire, à tous nos proches et ami(e)s, qui nous ont toujours soutenu et encouragé au cours de notre formation.

Je dédie ce modeste travail :

♥ A la mémoire de mon très cher père, que Dieu l'accueille en son vaste paradis.

♥ A l'être le plus cher au monde, ma Mère qui a été toujours présente pour moi et pour l'affection dont elle m'a fait preuve.

♥ A la mémoire de mon grand père, martyr de la révolution.

♥ A mes frères H'moumou, Athmane et Zinedine en leur souhaitant que du bonheur.

♥ A ma soeur Wahiba, en lui souhaitant beaucoup de succès dans sa vie professionnelle.

♥ A ma sœur Nassiha, son mari Rabiâ et leur chouchou Athmane en leur souhaitant que du bonheur dans leur vie conjugale et professionnelle.

♥ A ma sœur Linda et son mari Malek ainsi qu'à leurs enfants Yanis, Ryma, Milissa et la petite Romayssa.

♥ A ma sœur Zouina, son mari Faicel ainsi qu'aux chouchous H'midou et Youdas.

♥ Je dédie également ce modeste travail à mon binôme et chère amie Louiza et sa famille, à mes ami(e)s (Sonia, Djidji, Mounia, Samia, Safia, Fouzia, Azedine, Samir, Fares, Sofiane, Yuba, Hamou)

♥ Enfin je tien à dédier aussi ce mémoire à tous mes camarades de classe, et puis à toutes les

Personnes qui m'estiment.

G. RAZIKA

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction01

Chapitre I : Revue Bibliographique

I-1- Présentation du genre genévrier 03

I-1-1-Description botanique de *Juniperus oxycedrus*.....05

I-1-2-Composition en métabolites secondaires.....06

I-2 Les substances actives des plantes.....09

I-2-1 Polyphénols.....09

I-2-2 Les flavonoïdes.....12

I-2-3 Les tanins.....16

I-3- Les huiles essentielles.....18

I-3-1- Les terpenoïdes..... 19

I-3-2- Composés aromatiques.....20

I-4- Antioxydants.....23

Chapitre II : Matériels et Méthodes

II-1-Matériels et Méthodes.....26

II-1- 1- Présentation de la région d'étude.....26

II-2- Méthodes.....28

| | | |
|-----------|---|----|
| II-2-1- | Etude morphologique..... | 28 |
| II-2-2- | Etude biochimique..... | 28 |
| II-2-2-1- | Extraction des polyphénols..... | 28 |
| II-2-2-2- | Dosage des polyphénols..... | 28 |
| II-2-2-3- | Activités antioxydantes..... | 35 |
| II-2-3- | Extraction de l'huile essentielle de <i>Juniperus oxycedrus</i> | 36 |

Chapitre III : Résultats et discussions

| | | |
|----------------------------------|--|----|
| III-1- | Résultats de la variabilité morphologique | 37 |
| III-1-1- | Variabilité morphologique des aiguilles | 37 |
| III-1-2 - | Variabilité morphologiques des cônes | 38 |
| III-2- | Résultats de la variabilité biochimique..... | 39 |
| III-2-1- | Variabilité au niveau des composés phénoliques | 39 |
| III-2-1-1- | Les polyphénols totaux..... | 39 |
| III-2-1-2- | Flavonoïdes..... | 41 |
| III-2-1-3- | Tanins condensés..... | 42 |
| III-3- | Rendement en huiles essentielles..... | 43 |
| III-4- | Résultats de l'activité antioxydante..... | 44 |
| III-4-1- | Résultats du pouvoir réducteur..... | 44 |
| III-4-2- | Résultats du DPPH..... | 45 |
| Conclusion..... | | 47 |
| Références bibliographiques..... | | 48 |
| Annexes | | |

Je dédie ce mémoire,

♥ *A mes très chers parents pour leur amour, soutien et encouragements durant
toutes mes années d'études, que Dieu les protège,*

♥ *A mes chères frère : Ahmed, Billale et ma chère sœur : Thiziri.*

♥ *A ma meilleure amie : Razika*

♥ *A mes chères tantes et leurs familles*

♥ *A mes chères grandes mères.*

♥ *A mes très chères amies : chacun par son nom.*

♥ *Ainsi qu'à toute ma famille et mes amies.*

H. LOUIZA

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure N° 01 : Répartition du genre <i>juniperus</i> dans le monde..... | 03 |
| Figure N° 02 : Localisation des quatre espèces dans le monde et en Algérie..... | 04 |
| Figure N° 03 : Classification botanique de <i>juniperus oxycedrus L.</i> | 06 |
| Figure N° 04 : Structure de noyau phénol..... | 09 |
| Figure N° 05 : Squelette de base des flavonoïdes..... | 12 |
| Figure N° 06 : Structure chimique des flavonols..... | 13 |
| Figure N° 07 : Structures chimique de certains flavan-3-ols..... | 13 |
| Figure N° 08 : Structure chimique de quelques anthocyanidines courantes..... | 14 |
| Figure N° 09 : Biosynthèse des flavonoïdes | 15 |
| Figure N° 10 : Structure chimique (a) d'un tanin condensé et (b) d'une hydrolysables..... | 16 |
| Figure N° 11 : Structure de l'acide gallique (1) et ellagique (2)..... | 17 |
| Figure N° 12 : Molécule d'isoprène..... | 19 |
| Figure N° 13 : Molécule acyclique : myrcène et Molécule monocyclique : thymol | 19 |
| Figure N° 14 : Molécule bêta-bésabolène..... | 20 |
| Figure N° 15 : Molécule vanilline..... | 20 |
| Figure N° 16 : les principales réaction participant dans la formation d'eau et d'oxygene moleculaire..... | 23 |
| Figure N° 17 : Image satellitaire de la localisation des trois stations d'étude..... | 26 |
| Figure N° 18 : Photos des arbustes de <i>Juniperus oxycedrus</i> | 27 |
| Figure N° 19 : Protocole expérimentale de dosage des phénols totaux..... | 30 |
| Figure N° 20 : Protocole expérimentale de flavonoïdes..... | 32 |
| Figure N° 21 : Protocole expérimentale des tanins..... | 34 |
| Figure N° 22 : Photographie de l'appareil utilisé pour l'hydro-distillation des huiles essentielles..... | 36 |
| Figure N° 23 : Longueur et largeur moyennes des feuilles (écailles) mâles de <i>Juniperus oxycedrus</i> | 37 |
| Figure N° 24 : Longueur et largeur moyennes des feuilles (écailles) femelles de <i>Juniperus oxycedrus</i> | 38 |

| | |
|--|----|
| Figure N° 25 : Longueur et largeur moyennes des cônes femelles (fruits) de <i>Juniperus oxycedrus</i> | 39 |
| Figure N° 26 : Teneurs en polyphénols totaux dans les quatre stations d'étude..... | 40 |
| Figure N° 27 : Teneurs en flavonoïdes dans les quatre stations d'étude..... | 41 |
| Figure N° 28 : Teneurs en tanins condensés dans les quatre stations d'étude..... | 43 |
| Figure N° 29 : Rendement en huiles essentielles dans les quatre stations d'étude..... | 43 |
| Figure N° 30 : Résultats du pouvoir réducteur dans les quatre stations d'étude..... | 45 |
| Figure N° 31 : Résultats de l'activité scavenger du radical DPPH dans les quatre stations d'étude..... | 46 |

Liste des tableaux

| | |
|--|-----|
| Tableau I : Les principaux travaux sur la teneur en composés phénolique (phénols totaux, flavonoïdes et tanins) chez les différentes parties de l'espèce <i>juniperus oxycedrus</i> | .08 |
| Tableau II : Les différentes classes d'acides phénoliques..... | .11 |
| Tableau III : Les activités biologique des composes phénoliques..... | .18 |
| Tableau IV : Activités biologiques des molécules aromatiques selon leurs fonctions chimiques..... | .22 |

Liste des abréviations

ADN: Acide désoxyribonucléique.

Al³⁺ : Chlorure d'aluminium.

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium.

CPG: Chromatographie en phase gazeuse.

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

EAG : Equivalent de l'acide gallique.

EC : Equivalent catéchine.

EQ : Equivalent de la quercétine.

ER : Equivalent rutine.

Fe²⁺ : Ion ferreux.

Fe³⁺ : Ion ferrique.

FeSO₄ : Sulfate ferreux.

GPx : Glutathion peroxydase.

HPLC: High performance liquid chromatography.

H₃PMO₁₂O₄₀: Phosphomolybdique.

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique.

IPP: Isopentanyl perophosphate.

K₃Fe (CN)₆: Fericyanure de potassium.

LDL: Low density lipoprotein.

ROS : espèce réactive d'oxygène.

SOD : Peroxyde dismutase.

Presque tous les produits utilisés par les hommes pour soulager leur maux ont trouvé leur origine dans le végétale. Sans doute aussi ancienne que la conscience humaine, la correspondance entre les plantes les vertus des éléments naturels, à des fins thérapeutiques, est illustrée par cette citation d'Hippocrate (Vers 460, 377 av J.C, « la nature est le médecin des malades » (**Aquaron, 2005**).

Au cours de ces dernières années les résultats des recherches conduit par des spécialistes (médecins, biologistes, pharmaciens, botanistes, agronomes, écologistes et économiste) concourent à démontrer les effets néfastes des médicaments à base de produit chimiques pour l'organisme de l'être humain (**Messaoudi, 2005**), c'est pour cela que ces produits naturels sont très demandés dans le monde, donc il est temps de multiplier nos efforts pour faire évaluer ce domaine « plante médicinale et culture biologique », par l'application des résultats de recherches scientifiques et de techniques appropriées de production et de dosage (**Messaoudi, 2005**).

Depuis 150 ans les plantes médicinales ont fourni à la pharmacie des médicaments très efficaces, cette découverte de nouveaux médicaments s'est effectuée en recherchant les principes actifs de plantes médicinales qui pour la plupart, était des plantes toxique. Ainsi, au cours des dernières décennies le corps médical a pris conscience de l'intérêt thérapeutique des plantes pour soigner efficacement un grand nombre d'affections d'où la plupart d'entre elles n'ont pas attiré l'attention des chercheurs et leurs potentialités thérapeutiques restants a découvrir (**Aquaron, 2005**).

L'utilisation correcte des plantes dans des buts médicaux exige de se documenter au moyen d'ouvrage sérieux, en vue de l'identification correcte des plantes et de la confirmation de leurs propriétés thérapeutiques (**Fouché et al., 2000**).

Les composés phénoliques, les huiles essentielles et autres métabolites secondaire représentent des molécules de fortes valeurs, utilisés dans les industries pharmaceutique cosmétiques et agroalimentaire. Les activités anti oxydantes de ces produits ont été rapportées dans des très nombreux travaux dans le monde (**Bouzouita et al., 2008**).

Les composés phénoliques de *Juniperus oxycedrus* ont fait l'objet de plusieurs chercheurs dont les principales études sont celles de Djeridane et al., 2006 qui ont dosé les

composés phénoliques des parties aériennes de l'espèce *J. oxycedrus* provenant de l'Algérie; les composés phénolique de *J. oxycedrus badia* du Portugal ont été étudié par Tavares et *al.*, (2012) et enfin la plus récente étude effectuée en Turquie est celle de Taviano et *al.* (2013) qui ont quantifié les composés phénoliques dans les cônes de *J. oxycedrus oxycedrus*).

Mais aucune des ces études n'a étudié les facteurs qui peuvent influencer sur les teneurs en composés phénoliques de cette plante.

Est- ce que le sexe et les facteurs environnementaux peuvent vraiment influencer sur la quantité des composés phénoliques et le rendement en huile essentielle ?

C'est l'objectif de notre travail qui consiste à étudier les paramètres morphologiques (biométrie des cônes et des aiguilles) ainsi que les paramètres biochimiques (dosage des composés phénoliques, extraction des huiles essentielle et l'évaluation de l'activité antioxydante des individus mâles et femelles de l'espèce *Juniperus oxycedrus* échantillonnées dans quatre stations d'étude à différentes altitudes.

Donc la présente étude comporte trois parties :

- La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique sur la plante étudiée, la classification, leur composés phénoliques et terpéniques.
- Dans la deuxième partie, qui correspond à la méthodologie, nous présenterons nos stations d'études, notre matériel végétal (les parties du végétale traitées ainsi que les périodes d'échantillonnage) et nous exposerons les différentes méthodes utilisées dans notre partie pratique pour l'extraction et le dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés) , l'extraction des huiles essentielles ainsi que les test de l'activité anti-oxydante (pouvoir réducteur et test de DPPH).
- Nous présenterons et discuterons les résultats obtenus dans la troisième partie de ce travail.
 - Et enfin, nous terminerons par une conclusion générale.

I- PRESENTATION DU GENRE GENEVRIER

La famille de Cupressacées comprend plus de 135 espèces appartenant à 29 genres parmi lesquels le genre *Juniperus* (Akkol et al., 2009). D'après Adams (2011), le *Juniperus*, genre contenant approximativement 68 espèces et 36 variétés, se développe dans l'étendu Eurasiatique (Hémisphère Nord) mis a part quelques espèces qui se trouvent aussi dans l'Hémisphère Sud comme par exemple : *Juniperus procera*. Hochst qui se trouve uniquement le long des montagnes de Rift en Afrique de l'Est (Adams et al., 1993) et les espèces Méditerranéennes comme *Juniperus oxycedrus* L., *Juniperus phoenicea* L. et *Juniperus thurifera* L. qui poussent dans les montagnes de l'Afrique du Nord (Adams et al., 2003) in (Bouadam-Farhi, 2013).

C'est un arbre ou arbrisseau qui peut avoir 5 à 10 mètres de hauteur, il croit à l'état sauvage sur les terres arides pierreuses exposées à la sécheresse très rustiques (Huguette, 2008).

AIRES DE REPARTITION

Le genre *Genévrier* se localise en grande majorité dans l'hémisphère Nord. Quoique *J. procera* de la Section *sabina* se développe au sud le long des montagnes de Rif dans l'Afrique de l'Est (Adams, 2011). La répartition Mondiale du *Juniperus* est illustrée dans la figure n° 1.

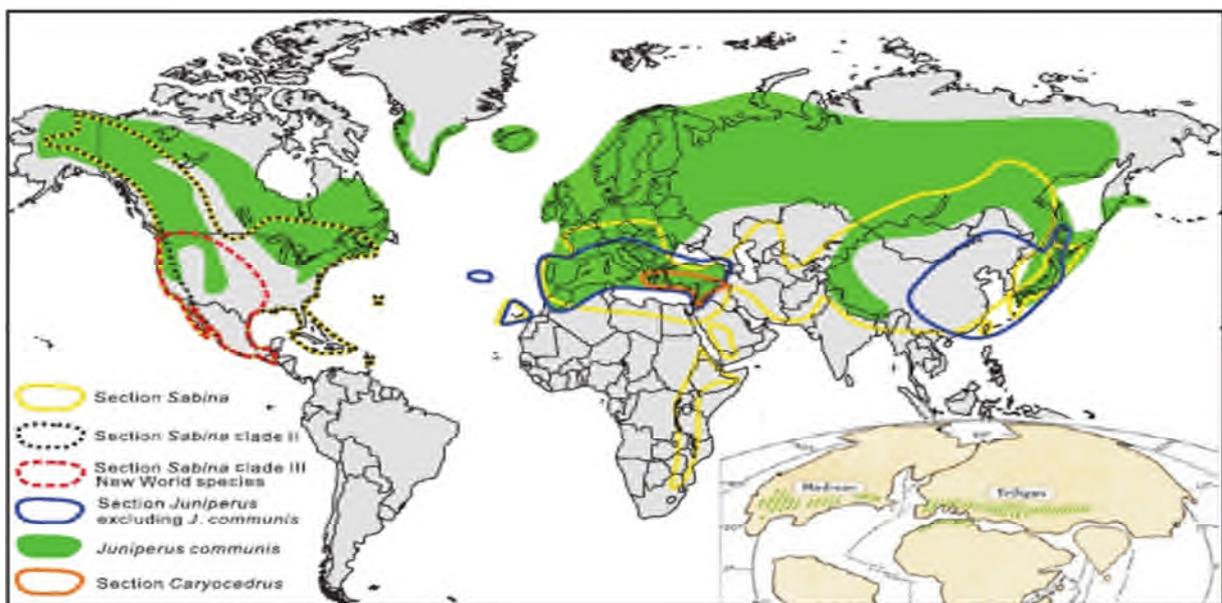


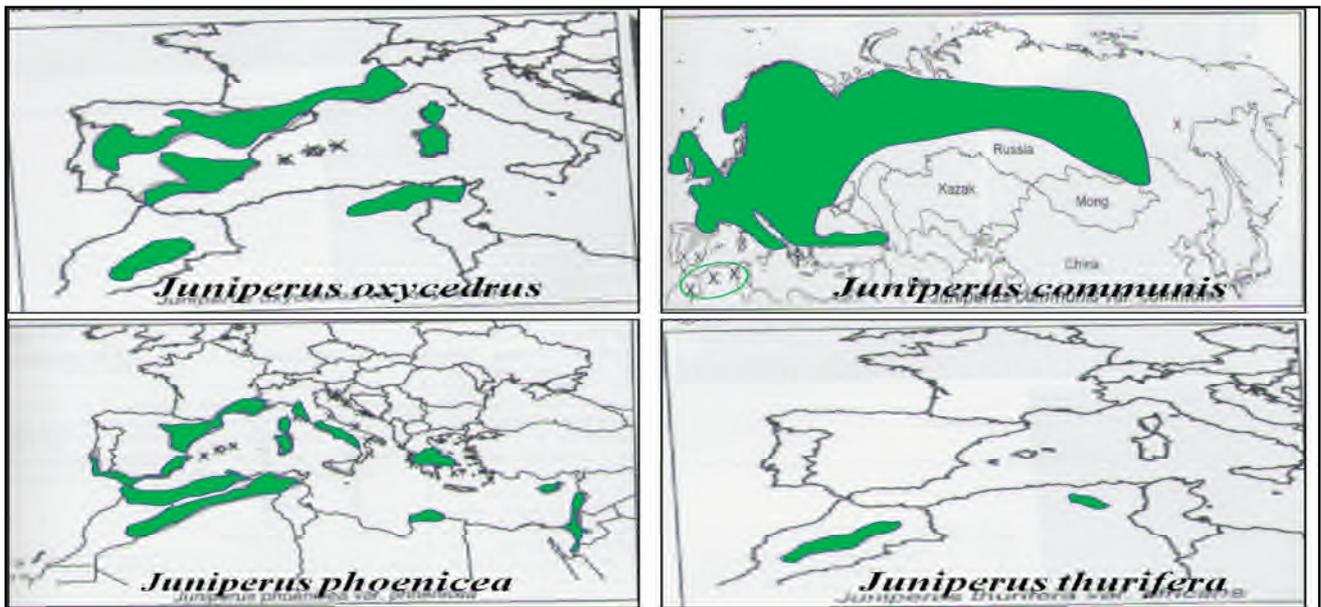
Figure n° 1: Répartition du genre *Juniperus* dans le monde (Mao et al., 2010) in (Bouadam-Farhi, 2013).

LE GENEVRIER EN ALGERIE

Selon **Quezel et Médail (2003)** et **Adams (2011)**, le genre *Juniperus* est représenté en Algérie par deux sections et cinq espèces il s'agit de :

- Section *Juniperus* : *J. oxycedrus* L. (1753) et *J. communis* L. (1753).
- Section *Sabina* : *J. phoenicea* L. (1753) ; *J. thurifera* L. (1753), et *J. sabina* L. (1753)

La localisation de ces espèces à l'échelle Mondiale et en Algérie est illustrée dans la Figure n°2.



**Figure n° 2: Localisation des quatre espèces dans le monde et en Algérie (Adams, 2011)
in (Bouadam-Farhi, 2013).**

LA REPRODUCTION

Le *Juniperus* est une plante dioïque c'est-à-dire que les organes mâles et les organes femelle sont portés par des individus séparés donc elles sont unisexués (**Van bol, 2007**).

Des petites cônes jeunes de quelques millimètres de longueur commencent à apparaître au niveau des extrémités rameaux, ces petites cônes ce sont des fleurs mâles alors que les cônes femelles sont formées d'écailles portant à leur base les ovule, la période favorable pour son fleurissement est entre avril et début juin (**Van bol, 2007**).

Les baies de genévriers sont en fait des cônes appelés galbules comportant des écailles plus ou moins complètement soudées entre elle, qui mûrissent en deux ou trois ans et se couvrent alors d'une couche cireuse, la pruine (Van bol, 2007).

I-1-1- DESCRIPTION BOTANIQUE DE *JUNIPERUS OXYCEDRUS*

Le nom « oxycedrus » provient de deux mots grec « oxys » et « cedros » qui signifient respectueusement aigu et cèdre, c'est-à-dire « cèdre à feuille épineuse » (Garnier et al., 1961).

C'est un arbrisseau ou arbuste dressé de 1 à 8 mètres, à bourgeons écailleux et à ramules obtusément triangulaire, feuilles très étalées, verticillées, toutes linéaires en alène à pointe fine et piquantes articulées, non décurrentes, marquées de deux sillons blanchâtres séparées par nervure médiane en dessus et à carène obtuse et non sillonnées en dessous fleurs dioïques, fruits rouge et luisants à la maturité, assez gros (8 à 10 mètres) (Chaouche, 2013).

Il pousse dans les forêts des régions côtières méditerranéennes (du Maroc à l'Iran) et préfère les endroits pierreux (klimko et al., 2007 ; Mansouri et al., 2010).

NOMS COMMUNS (VERNACULAIRES)

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

SYSTEMATIQUE

Le genévrier oxycèdre appartient à la famille des cupressacées sa position dans le règne végétal est schématisé dans la figure n° 3.



Figure n° 3: Classification botanique de *Juniperus oxycedrus* L. (Ozenda, 2000) in (Bouadam- Farhi, 2013).

I-1-2- COMPOSITION EN METABOLITES SECONDAIRES

Les plantes appartenant au genre *Juniperus* contiennent divers composés tel que les composés phénolique (polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins...) (Innocenti et al., 2007 ; Miceli et al., 2009 ; Taviano et al., 2013) et les terpenoides (huiles essentielles, sesquiterpenoides, diterpénoides, et autres terpènes) (Loizzo et al., 2007 ; Seca et al., 2008 ; Orav et al., 2010 ; Marija et al., 2011).

ACTIVITE BIOLOGIQUE

Les plantes de ce genre ont des activités biologiques : Antioxydantes (Taviano et al., 2013), antiseptiques (Miceli et al., 2009 ; Taviano et al., 2013), antivirales (Sassi et al., 2008), anti-inflammatoires (Akkol et al., 2009 ; Lesjak et al., 2013), nociceptifs (Akkol et

al., 2009), anticancéreux (Kusari *et al.*, 2010), antidiabétiques (Orhan *et al.*, 2012) et neuroprotecteurs (Taravers *et al.*, 2012).

ASPECTS PHARMACOLOGIQUE

Tout genre *Juniperus* possède les mêmes propriétés pharmacologiques (Lafon, 1987), telles que l'anti-hyperglycémie, contre l'obésité, contre la tuberculose, contre la bronchite et contre la pneumonie (Swanston – flatt *et al.*, 1990 ; Sanchez de Medina *et al.*, 1994), il est également utilisé sous forme de décoction pour le traitement des troubles gastrique et comme un analgésique buccal (Fernandez *et al.*, 1996).

Ce genre est aussi utile dans le traitement de psoriasis (Koerfgen, 1964) et la névrose neurasthénique (Jonkov et Naidenov, 1974), il est utilisé en dermatologie humaine et vétérinaire pour traiter l'eczéma chronique et autre maladies de la peau (Bouhlal *et al.*, 1988 ; Tavares *et al.*, 2012).

Les baies du genévrier oxycèdre sont diurétiques stimulantes et vermifuges (Becker *et al.*, 1982). Et aussi vasoconstrictrice, elles sont employées pour soigner les troubles de la circulation (varices, métrorragies et autres troubles de la ménopause) (Bellakhder, 1997 ; Girre 2001), mais c'est surtout pour le traitement des hémorroïdes (affaissement des bourrelets, diminution de la douleur et du flux sanguin (Garnier *et al.*, 1961 ; Becker *et al.*, 1982).

L'insuffisance circulatoire au niveau des membres inférieurs est pareillement combattue en utilisant ces cônes que l'on peut en outre, tenir pour antihémorragiques, antitussives, diurétiques et en même temps efficaces contre l'énurésie des enfants).

Quant aux rameaux, on les considère comme antiseptiques et antispasmodiques (Bellakhder, 1997).

LES COMPOSES PHENOLIQUES DU GENEVRIER OXYCEDRE

Les composés phénoliques des différentes espèces du genre genévrier ont fait l'objet de quelques études, nous présenterons ci-dessous les travaux réalisés sur les polyphénols de l'espèce *Juniperus oxycedrus*. L'analyse qualitative des composés phénoliques dans les extraits de genévrier oxycèdre par la méthode de HPLC (Hight Performance Liquid Chromatography) a permis l'identification de quelques classes de polyphénols où la classe des flavonoïdes est apparue la plus abondante dans cette espèce, elle est fortement représentée

par la quercétine isolé pour la première en 1998 pour **Stassi et al** qui l'ont isolé à partir des extraits de *Juniperus oxycedrus* ssp *macrocarpa* provenant de Grèce. En travaillant sur *Juniperus oxycedrus* ssp *oxycedrus* et *Juniperus oxycedrus* ssp *macrocarpa* de Turquie, **Taviano et al.** (2013) ont identifié l'apigénine. La famille des tanins a été mise en évidence par **Tavares et al.** (2012). Les tanins (catéchine et le procyanidol) trouvés dans les extraits de genévrier oxycèdre ssp *badia* du Portugal, *Juniperus phoenicea* ssp *turbinata*). Quant aux acides phénoliques, on y rencontre en effet, l'acide gallique, l'acide protocatéchine et le tyrosol qui sont isolés chez *Juniperus oxycedrus* ssp *macrocarpa* par **Taviano et al.** (2013).

Outre la caractérisation, la quantification des polyphénols a été aussi abordée par les auteurs cités précédemment et bien d'autres. Nous rapportons dans le tableau n° I, les valeurs obtenues dans les études antérieures sur le dosage des composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes et tanins) chez le genévrier oxycèdre.

Tableau n° I: Les principaux travaux sur la teneur en composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes et tanins) chez les différentes parties de l'espèce *Juniperus oxycedrus*

| Auteurs | Année | Espèce | Organe étudié | Provenance | Quantité en phénols totaux | Quantité en flavonoïdes |
|------------------------|-------|-------------------------------|-----------------|------------|----------------------------|-------------------------|
| Djeridane et al | 2006 | <i>J. oxycedrus</i> | partie aérienne | Algérie | 12,66 mg EAG/g | 3,50 mg ER/g |
| Tavares et al | 2012 | <i>J. oxycedrus badia</i> | feuilles | Portugal | 254 mg EAG/g | ----- |
| Taviano et al | 2013 | <i>J. oxycedrus oxycedrus</i> | cônes | Turquie | 5,14 mg EAG/g | ----- |

I-2- LES SUBSTANCES ACTIVES DES PLANTES

Une plante médicinale et plus précisément une drogue végétale et a la fois produit fini destiné a la consommation et une matière première pour l'obtention de substances actives (Mazari, 2009).

Une grande diversité de substances secondaires comme les huiles essentielles, les flavanes, les tanins, et les anthocyanes, se forment et s'accumulent dans les plantes.

La plupart possédant les hydroxyles sur les noyaux aromatiques, il constitue ce que l'on appelle les composés phénoliques des plantes **Fig (4) (Guignard, 2000).**

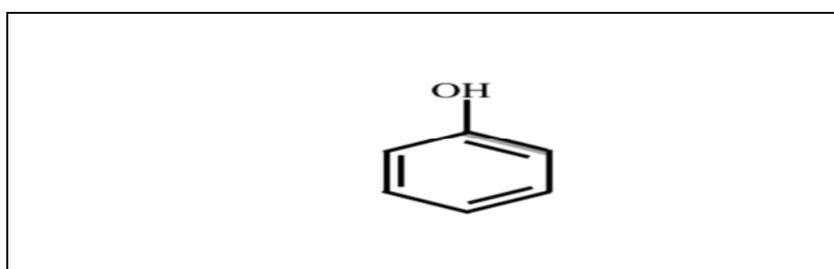


Figure n° 4: Structure de noyau phénol (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

I-2-1- LES POLYPHENOLS

Les polyphénols également dénommés, composés phénoliques sont des molécules spécifique du règne végétale (Guignard, 1979), avec plus de 8000 structures phénoliques présentes dans tous les organes de la plante.

BIOSYNTHESE

Les composés phénoliques résultent bio-génétiquement de deux voies synthétiques principale, la voie de schikimate et acétate. **Fig (5) (Lugasi et al., 2003).**

➤ **Voie de schikimate**

L'acide cinnamique se forme par l'intermédiaire de l'acide schikimique, autrement dit par la voie de schikimate cette voie aussi responsable de la synthèse des acides aminés, parmi ceux-ci, la phénylalanine qui sert directement comme précurseur de l'acide cinnamique (Richter, 1993).

➤ VOIE DES ACETATES

C'est une voie secondaire qui conduit à l'élaboration des composés mixtes, dont les représentants les plus importants sont les flavonoïdes et les tanins, par condensation avec le schikimate (**Guignard, 2000**).

Classification des polyphénols**ACIDES PHENOLIQUES**

Ce sont des composés phénoliques possédant une fonction acide en plus de la fonction phénol.

Ils sont représentés par deux sous classes, les dérivés de l'acide hydroxy-benzoïque et l'acide hydroxy-cinnamique (**Bruneton, 2008**).

• LES ACIDES HYDROXY-BENZOÏQUES

Ces acides sont très connus aussi bien sous forme libre que sous forme combinée à l'état d'esters ou hétérosides (**Skerget et al., 2005 ; Bruneton, 2008**).

Les acides benzoïques incluent l'acide gallique, l'acide protocatéchique, vallique et l'acide syringique qui ont en commun le cycle C6-C1 (**Balasundram et al., 2005**).

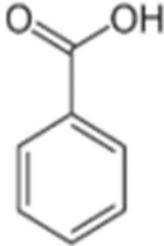
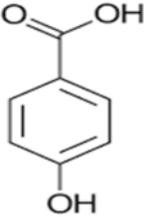
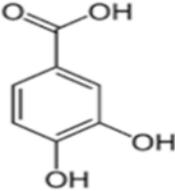
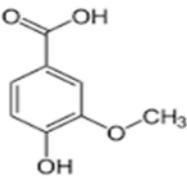
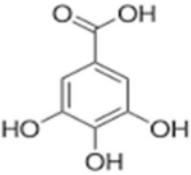
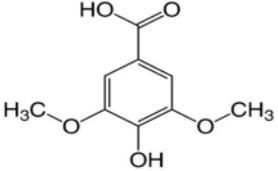
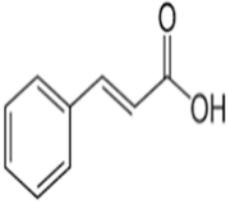
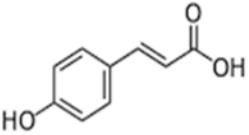
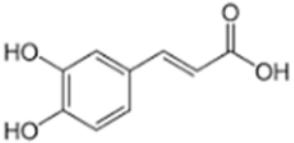
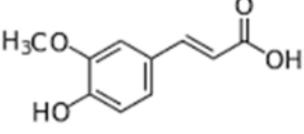
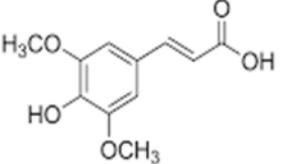
Cette catégorie est abondante dans les végétaux et les aliments notamment les épices, les fraises et les oignons (**Manach et al., 2005**).

• LES ACIDES HYDROXY-CINNAMIQUES

Ces composés ont une distribution très large, rarement libre, ils sont souvent estérifiés et peuvent également être amidifiés ou combinés avec des sucres ou des polyols tels que l'acide quinqué (**Skerget et al., 2005**).

Ils sont étudiés principalement dans le café (particulièrement riche en dérivés cinnamiques). Ce sont des composés aromatiques avec trois carbones latéraux dans la chaîne C6-C3 dont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide coumarique et l'acide sinapique sont les plus connus. Les différentes classes des acides phénoliques sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau n° II: les différentes classes d'acides phénoliques Bravo (1998).

| | Mono-hydroxyles | Di-hydroxyles | Tri- hydroxyles |
|---|---|---|---|
| <p>Acide benzoïque</p>  | <p>Acide p-hydroxybenzoïque</p>  | <p>R=H acide Protocatéchique</p>  <p>R=CH3 acide vanilique</p>  | <p>R1=R3=OH acide gallique</p>  <p>R1=R3=OCH3 acide syringique</p>  |
| <p>Acide cinnamique</p>  | <p>Acide P-coumarique</p>  | <p>R=H acide caféique</p>  <p>R=CH3 acide ferulique</p>  | <p>Acide sinapique</p>  |

I-2-2- LES FLAVONOÏDES

Les flavonoïdes (du latin, flavus : jaune) sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux (Guignard, 1996). Cependant, il compte aussi des composés de couleurs variées ou même incolores (Richter, 1993), ils sont d'une classe de faible poids moléculaire (Lin et al., 2002).

Environ de 4000 flavonoïdes ont été identifiés, ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (Bennick, 2002). Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (Gabor et al., 1988).

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbones constitués de deux noyaux aromatiques et un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6. Fig (6) (Singleton et Rossi, 1965).

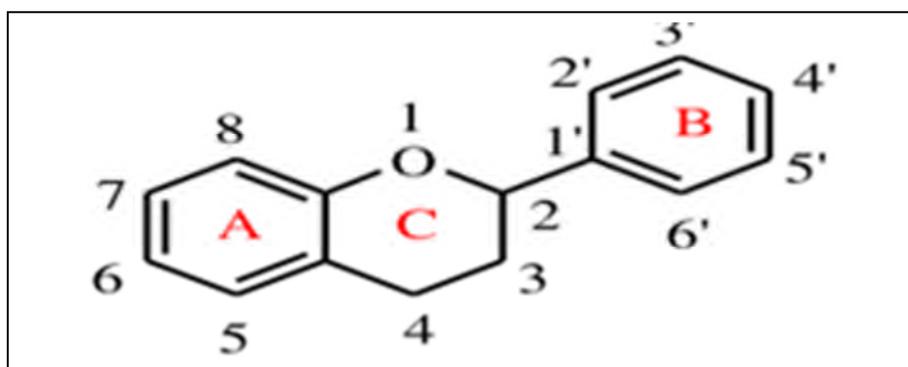


Figure n° 5 : Squelette de base des flavonoïdes (Crozier, 2003).

LA CLASSIFICATION DES FLAVONOÏDES

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes dont les principales sont les flavones, flavanols, les flavane-3-ols et les anthocyanidines. La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en positions 4, 5 et 7. Ces substances existent sous forme de glycoside (Chira et al., 2008).

- **FLAVONES**

Sont caractérisés par la présence d'un groupement carbonyle en position 4 (Achat, 2005).

• FLAVONOLS

Ces composés se différencient des flavones par la présence d'un OH en C3 (**Heller et al., 1998**). Leurs principaux représentant sont la quercitine, kaempférol et la rutine. Les sources les plus riches sont les oignons (**Hertog et al., 1992 ; Manach, 1998**), poireau, le chou et les baies telles que les cassis (**Hakkinen et al., 1999**), il existe aussi dans le thé. **Fig (7)**.

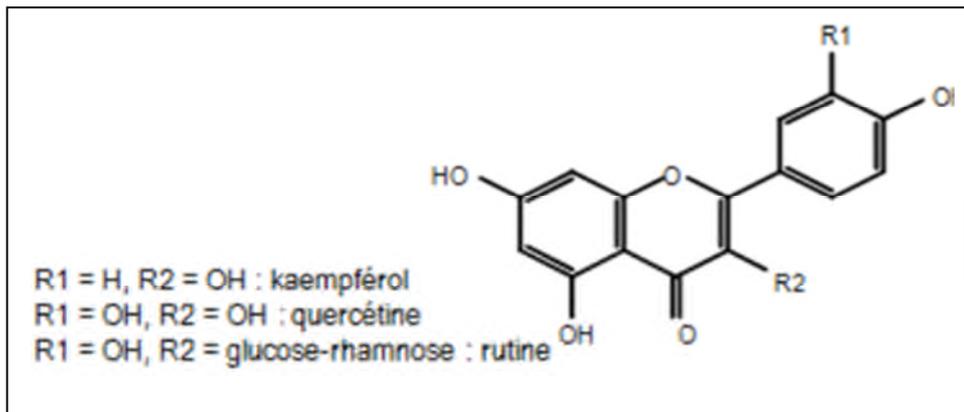


Figure n° 6 : Structure chimique des flavonols (**Crosier, 2003**).

• FLAVANE-3-OLS

Les flavane-3-ols ou dérivés de catéchine sont la catégorie de flavonoïdes la plus complexe (**Achat, 2013**). Les catéchines sont présentes dans le chocolat, le thé et dans les fruits comme l'abricot. **Fig (8)** (**Arts et al., 2000**).

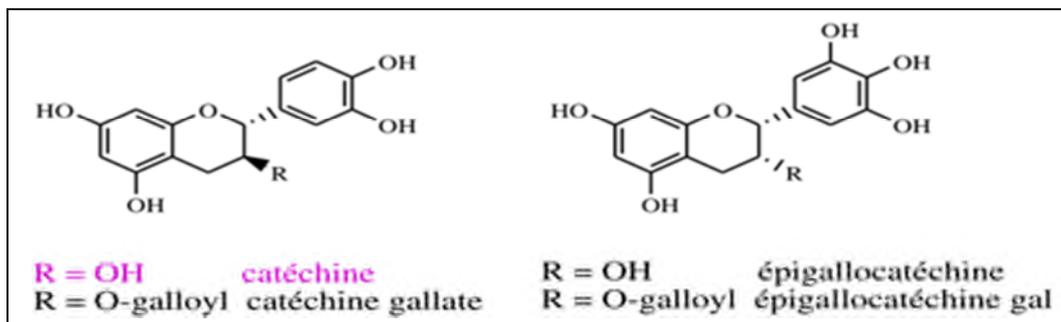


Figure n° 7 : Structures chimiques de certains flavan-3-ols (**Chira et al., 2008**).

- ANTHOCYANIDINES

Ce sont des pigments principalement sous forme de glycoside et hydrosoluble, rouge en milieu acide virant au bleu-violet en milieu neutre ou faiblement alcalin (Kosir *et al.*, 2004), ils colorent généralement les fleurs, les fruits et parfois les feuilles (Paris et Hurabielle, 1981), ils sont présents dans le vin rouge (Mazza *et al.*, 1999) et dans les oignons rouges (Fossen *et al.*, 1996) Fig (9).

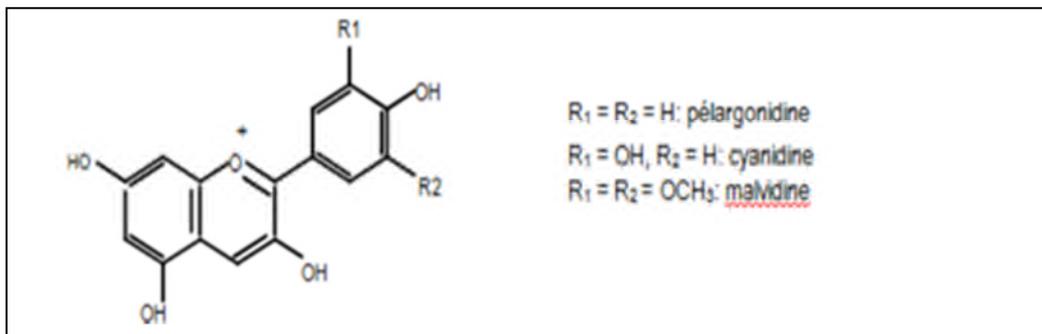


Figure n° 8 : Structure chimique de quelques anthocyanidines courantes (Han *et al.*, 2007).

BIOSYNTHESE DES FLAVONOÏDES

Elle se fait à partir d'un précurseur commun, la 4, 2', 4', 6' tetrahydroxy chalcone. Cette chalcone est métabolisée sous l'action d'une enzyme, la chalcone isomérase, en naringinine. Sur cette dernière agit la flavane synthétase pour donner : apigénine ou le dihydroflavanol, ce dernier en présence de la flavanol synthétase, se métabolisé en kaempférol ou en leucoanthocyanidol, qui semble être le précurseur des flavane 3, 4 ols et anthocyanidols, qui sous l'action de la 3-O-glycosyl transférase, se transforme en anthocyanoside (Mazari, 2009) Fig (10).

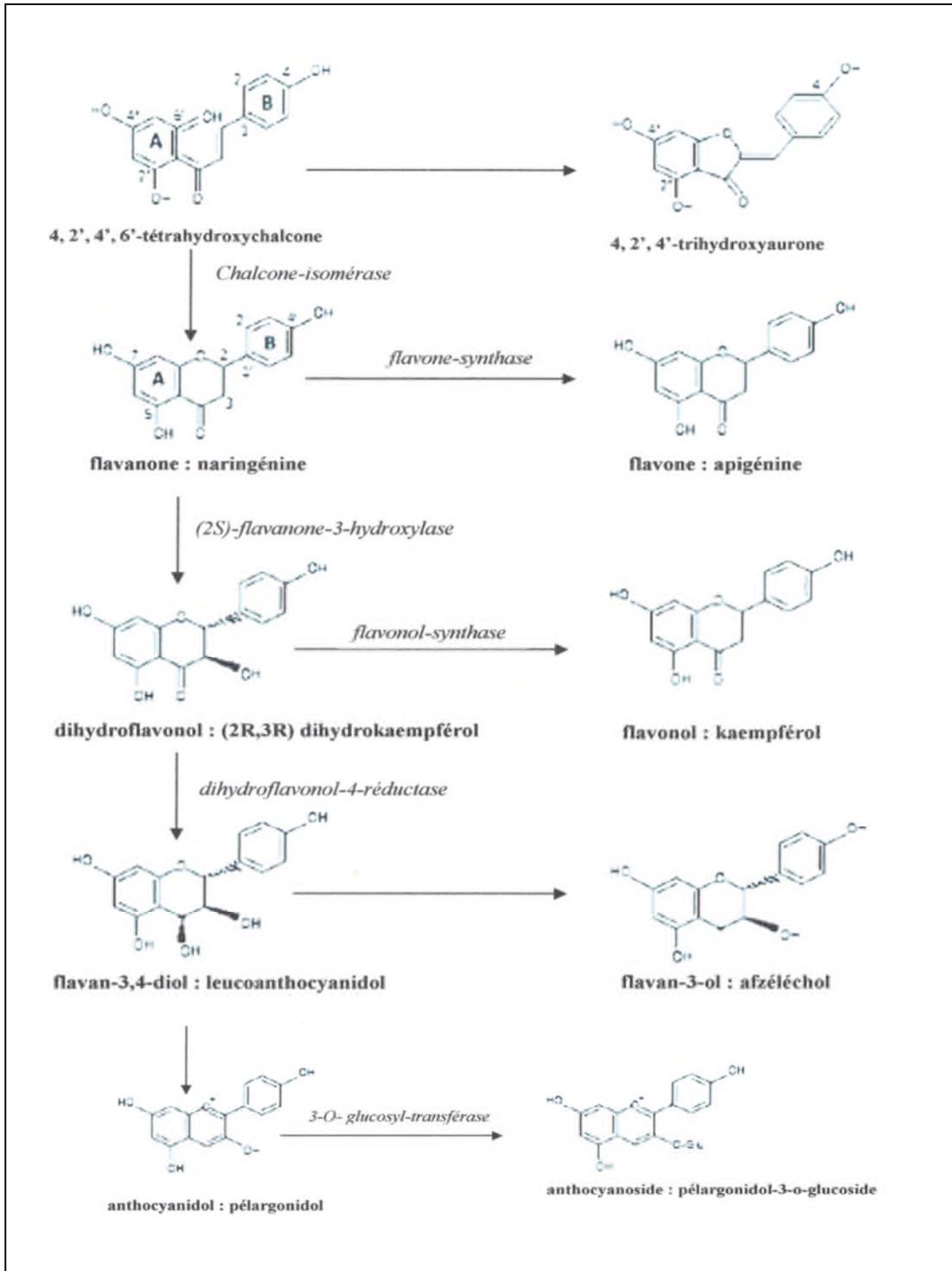


Figure n° 9 : Biosynthèse des flavonoïdes Bruneton (1999).

I-2-3- LES TANINS

Les tanins sont des métabolites secondaires polyphénoliques (**Khambalee et Ree, 2001**), localisés dans les vacuoles (**Aguilera-carbo et al. 2008**). Ils sont caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines (**Paris et Hurabeille, 1981**), cette combinaison se fait par l'intermédiaire de liaison hydrogène entre le groupement NH₂ des protéines et les groupements OH phénoliques des tanins (**Guignard, 1996**).

Ils permettent d'optimiser la valeur nutritive des aliments, ainsi que les qualités organoleptiques des boissons et sont étroitement liées à la fabrication du cuir (**Bernard et Metche, 1980**), ce comportement est à la base des propriétés tannantes qu'ils exercent sur le collagène des animaux, au cours de sa transformation en cuir (**Metche et Girardin, 1980**). La masse moléculaire des tanins est comprise entre 500 et 3000 Da (**Bruneton, 1999**).

Les tanins sont présents dans une variété de plantes utilisées dans l'alimentation notamment les céréales et les légumineuses (haricot secs, petit pois) et les fruits comme orange, pêche, poire, kaki, fraise et les raisins (**Peronny, 2005**).

Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes : les tanins hydrolysables et tanins condensés **Fig (10)** (**Haslam, 1989 ; Clifford et Scalbert, 2000 ; Santos-buelga et Scalbert, 2000**).

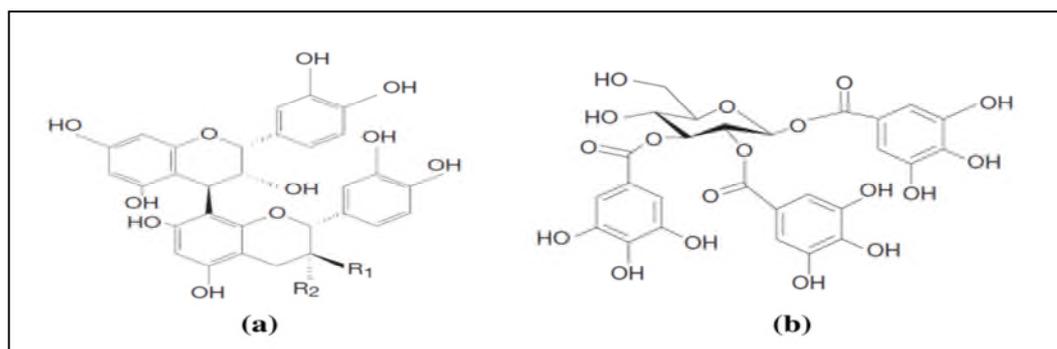


Figure n° 10: Structures chimiques (a) d'un tanin condensé et (b) d'un tanin hydrolysables (**Favier, 2003**).

LES TANINS HYDROLYSABLES

Ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou ses dérivés en particulier l'acide éllagique **Fig (11)** (**Cowan, 1999 ; O'connell et fox, 2001**). Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

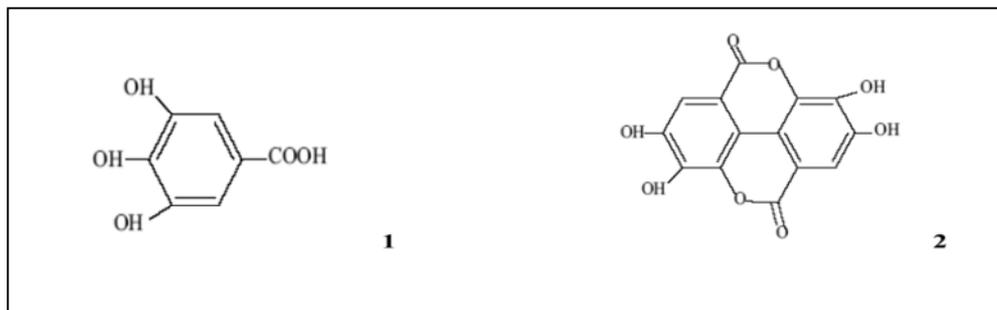


Figure n° 11: Structures de l'acide gallique (1) et ellagique (2) (**Packer, 2001**).

LES TANNINS CONDENSES

Les tannins condensés ou les proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4, C8 et C6 (**Bruyne et al., 1999 ; O'connell et Fox, 2001**).

Ils diffèrent fondamentalement des tannins galliques et ellagiques, ils ne possèdent pas de sucre dans leurs molécules et sont non hydrolysables (**Paris et Hurabielle, 1981**).

ACTIVITES BIOLOGIQUES DES COMPOSES PHENOLIQUES

Tableau n° III: les activités biologiques des composés phénoliques (Bahorun, 1997).

| Polyphénols | Activités |
|---|--|
| Acides phénols (cinnamiques et benzoïques) | Antibactériennes Antifongiques Antioxydants |
| Coumarines | Protectrices vasculaires antioedémateuses |
| Flavonoïdes | Anti tumorales Anti carcinogènes Anti inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Anti oxydantes |
| Anthocyanes | Protectrices capillaroveineux |
| Pronthocyanidines | Effets stabilisants sur le collagène Anti oxydantes Anti tumorales Antifongiques Anti-inflammatoires |
| Tannins galliques et catéchiques | Anti oxydantes |

I-3- HUILES ESSENTIELLES**INTRODUCTION**

Les plantes de façon générale, et les plantes aromatique en particulier, se caractérisent par deux types de métabolismes :

- métabolisme primaire : fournit les constituants de base en quantité élevée les plus importants sont les sucres et leurs dérivés, les lipides et les protéines.

- métabolisme secondaire : produits des métabolites en faible quantité, dont leurs applications dans différents domaines, en particulier à intérêt pharmaceutique et cosmétique, voir nutritionnel, sont de la plus grande importance (**Fekih, 2015**).

Les huiles essentielles sont des assemblages de molécules diverses ayant chacune leurs propriétés particulières (**Franchomme et Penoel, 1990**). Ce sont des principes volatils et odoriférants sécrétés puis excrétés par les plantes aromatiques (**Duraffourd et Lapraz, 2002**), il est nécessaire de les conserver correctement afin qu'elles gardent intacts leurs principes actifs (**Besombes, 2008**).

LOCALISATION DES HUILES ESSENTIELLES

Les huiles essentielles n'existent quasiment que dans les végétaux, elles peuvent être stockées dans tous les organes des plantes aromatiques (les fleurs, les feuilles, fruits, tiges, rhizomes et racines, les graines, le bois et l'écorces) (**Teixeira et al., 2013**).

ROLE DES HUILES ESSENTIELLES POUR LE REGNE VEGETAL

Les plantes aromatiques utilisent les huiles essentielles pour se protéger des virus, la plus parts pensent que c'est une hormone végétale, mais d'autres considèrent que les huiles sont des messagers entre parasites et microbes (**Willem, 2009**).

COMPOSITIONS CHIMIQUES

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique utilisée, il s'agit de groupe des terpenoïdes d'une part et groupe des composés aromatiques dérivés de phényl propane, ce dernier est beaucoup moins fréquent (**Bruneton, 1993**).

I-3-1- LES TERPENOIDES

Les terpénoïdes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leurs squelettes d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbones ($C_5 H_8$). **Fig (12)** reconnue par **Wallach des 1887 in (Lamarti et al., 1994)**.

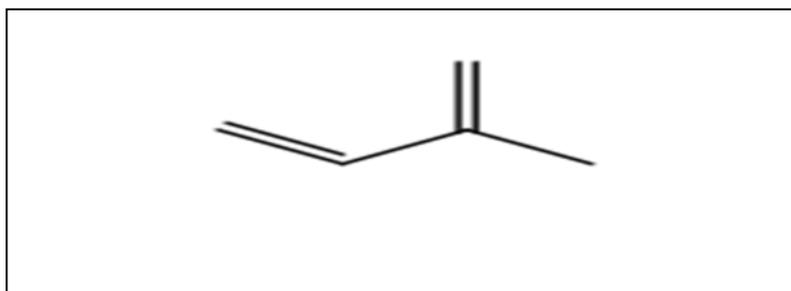


Figure n° 12: Molécule d'isoprène (Nsemi muanda, 2010).

MONOTERPENES

Les composés monoterpènes sont constitués de deux unités isoprène, leur formule chimique brute est $C_{10} H_{16}$ (**Rahal, 2004**). Les carbures sont presque toujours présents, ils sont acycliques **Fig (13)**, monocycliques ou bicycliques **Fig (14)**, ils constituent parfois 90% d'huile essentielle (**Bruneton, 1999**).



Figure n° 13: Acyclique: myrcène et Monocyclique: thymol
(Lucette couderc, 2001).

SESQUITERPENES

Ils comportent trois unités d'isoprène, leur formule est $C_{15} H_{24}$ soit une fois et demi (sesqui) **Fig (15)** la molécule des terpènes (**Belaiche, 1979**).

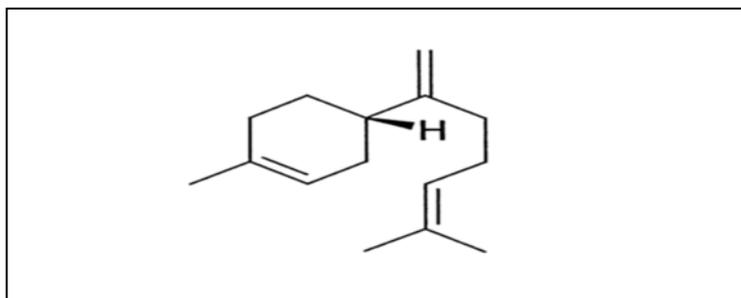


Figure n° 14: Béta-bésabolène (**Lucette couderc, 2001**).

L'allongement de la chaîne (IPP) accroît le nombre de cyclisation possible. Ainsi, plus d'une centaine de squelettes différents ont été décrit.

(IPP) en composés terpéniques dans les trois compartiments: cytoplasme, mitochondries et plastes hydrosoluble ou membranaire.

I-3-2- COMPOSES AROMATIQUES

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques dérivés de phényle propane ($C_6 - C_3$) mais qui sont beaucoup moins fréquents que les terpènes et dont la biogenèse est totalement différente (**Paris et Hurabiellem, 1981**). Un noyau aromatique est couplé à une chaîne de trois carbones. **Fig (16)** (**Bruneton, 1993**).

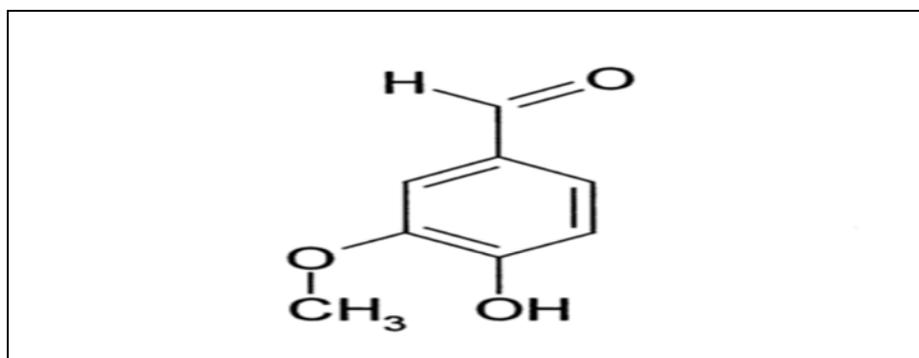


Figure n° 15: La vanilline (**Lucette couderc, 2001**).

ACTIVITES BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques **Tableau (4)**. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactériennes et d'origine fongique contre les dermatophytes **(Chaumont et Leger, 1989)**.

Dans les préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques, antibactériens et antifongiques **(Zambonelli et al., 2004)**.

Dans le domaine phytosanitaire et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes **(Zambonelli et al., 2004)**, et les micro-organismes envahissant les denrées alimentaires **(Mangena et Muyima, 1999)**.

Tableau n° IV: Activités biologiques des molécules aromatiques selon leurs fonctions chimiques (Hernandez-Ochoa, 2005).

| Composés aromatiques | Propriétés |
|---|---|
| Phénols (Carvacrol, Eugénol) | Stimulantes, Toniques, Antiseptiques, Bactéricides, Fongicides, Antivirale, Antiparasitaires, Irritantes. |
| Alcools terpéniques (Géranol, Citronellol) | Anti-inflammatoires, Antiseptiques, Bactéricides, Fongicides, Antivirale, Neurotoxiques. |
| Aldéhydes terpéniques (Citronella, Citral) | Antifongiques, Sporicidas, Toxicité liée a la présence du groupe aldéhyde, Insecticides |
| Ether-oxydes, peroxydes (Cinéol) | Antibactériens, Antifongiques, Insecticides |
| Cétones (Carvone) | Calmantes, Antivirales, Antifongiques, Neurotoxiques, Antiépileptiques |
| Hydrocarbures mono-terpéniques (limonène), sesquiterpènes | Fongistatiques, Bactériostatiques, Insecticides |

I-4- ANTIOXYDANTS

Les antioxydants sont l'ensemble de molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène, ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former des composés stables, en séquestrant le fer libre. Ou en générant du glutathion (Favier, 2003 ; Dan, 2008). De nombreux antioxydants interviennent il s'agit principalement des systèmes enzymatiques et non enzymatiques.

ANTIOXYDANTS ENZYMATIQUES

Cette ligne de défense est constituée principalement de trois enzymes **Fig (16)**: il s'agit du superoxyde dismutase (SOD), la catalase et de glutathion peroxydase (GPx), ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (Djemai zoughlache, 2009).

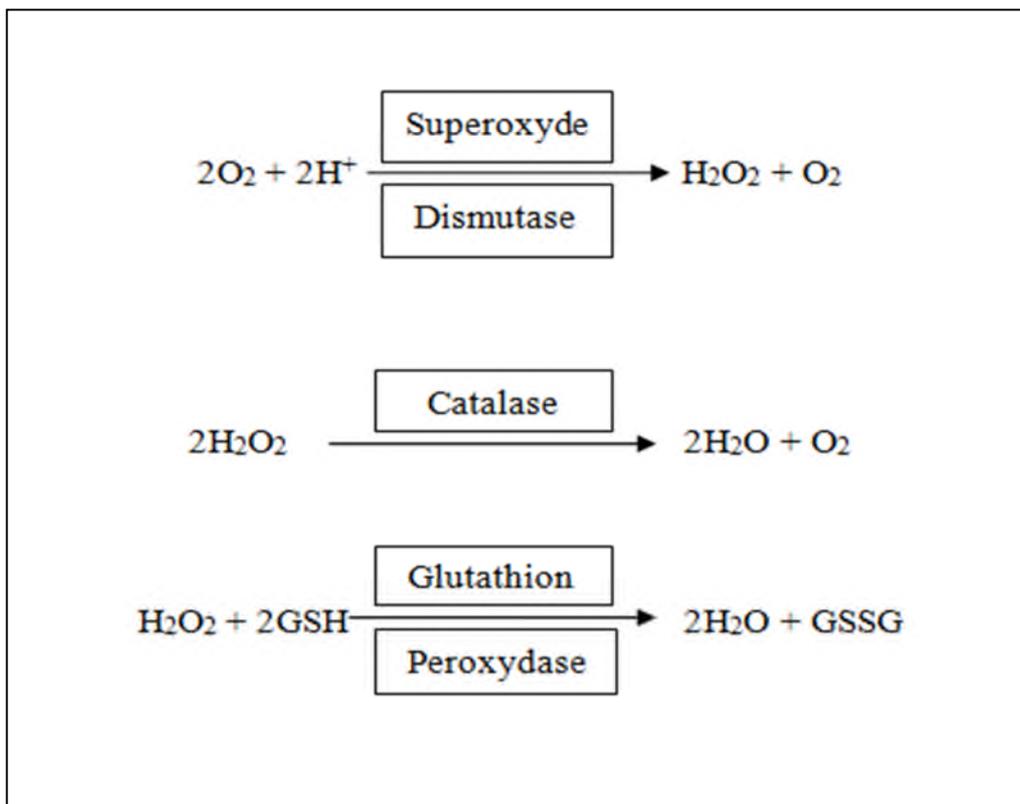


Figure N° 16 : Les principales réactions participant dans la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (Lehucher-Michel *et al.*, 2001).

ANTIOXYDANTS NON ENZYMATIQUES

Ce groupe des antioxydants renferme les protéines de séquestration des métaux qui agissent en diminuant la disponibilité d'agent pro-oxydant, comme Fe^{2+} / Fe^{3+} ou Cu^{2+} / Cu^{+} (exemple: la transferrine, la feraitine, l'albumine, céruloplasmine...etc.).

D'autre part il y'a des molécules a faible poids moléculaire qui agissent soit comme cofacteurs des enzymes citées soit comme antioxydant propre (**Antwerpen, 2006**).

Les antioxydants à action direct sont capable de donner des électrons à l'oxygène radicalaire afin qu'ils puissent le piéger, l'empêcher ainsi d'attaquer les structures biologiques, ils peuvent agir comme agent réducteur capable de passer leurs électrons au ROS et les éliminer (**Kohen et Nyska, 2002**), ces molécules proviennent soit de sources endogène (glutathion, mélatonine, acide urique, la mélanine ...), soit de sources exogènes apportées par l'alimentation (Exemple : les caroténoïdes, la vitamine E, la vitamine C (**Curtay et Robin, 2000**), les composés phénoliques (**Yoo et al., 2008**) et surtout les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins et les coumarines (**Siddhuraju et Becker, 2007**).

- **CAROTENOÏDES**

Sont des pigments liposolubles de couleur jaunes et rouge présent dans les fruits et légumes comme les carottes et les tomates (**Marc et al., 2004**), elles possèdent une propriété anti-oxydante qui s'exerce au travers d'une fonction de filtre de lumière bleue prévenant ainsi la dégénérescence première cause de cécité chez les personnes âgé (**Blumberg, 1997 ; Landrum et al., 1997**).

- **VITAMINE E**

Principale antioxydant liposoluble (**Ré et al., 2005**), il doit être apporté sous les deux formes α et γ en quantité équivalentes, pour assurer la protection de l'oxydation des lipoprotéines et des acides gras insaturés des membranes lipidiques (**Eserbauer et al., 1991**), la vitamine E est abondante dans les germes de blé, les légumes verts, les corps gras, les œufs et les noix.

- **VITAMINE C**

C'est l'antioxydant hydrosoluble majeur efficace contre les radicaux peroxydes, hydroxydes et super-oxyde ainsi que contre le peroxinitrine (**Ré et al., 2005**), il est également

capable de réduire les métaux de transition et donc d'avoir des effets pro-oxydants (**Buettner et Jurkiewicz, 1996 ; Carr et Frei, 1999**). La vitamine C : est abondante dans les agrumes, les fruits rouge, les pommes de terre primeur, les brocolis (**Marc et al., 2004**).

- **COMPOSES PHENOLIQUES**

Ont été ainsi décrits comme étant des antioxydants (**Middleton et al., 2000**). Ils sont en effet capables d'empêcher l'oxydation des LDL (**Leake, 1998 ; Osakabe et al., 2002**).

Selon **Rice-Evens et packer** (2003), la présence d'antioxydants phénolique dans le sang permet de limiter l'infarctus du myocarde, et également protéger l'ADN de la dégradation oxydative (**Feng et al., 2002**).

- **FLAVONOÏDES**

Sont doués d'une activité efficace de piéger les métaux tels que le cuivre et le fer, qui à l'état libre peuvent être à l'origine de la production de radicaux libres (**Puppo, 1992**), le caractère antioxydant des flavonoïdes contribue à la prévention de pathologies telles que les maladies cardiovasculaires (**Cooke, 1998**) et les cancers (**Hertog et al., 1993**).

II-1- MATERIEL ET METHODES

II-1-1- PRESENTATION DE LA REGION D'ETUDE

Nous avons réalisées un échantillonnage au niveau de 04 stations d'étude répartie en 03 régions : Taref (dune et forêt), Jijel (dunes) et Djurdjura (montagnes) selon un gradient altitudinal.

ÉCHANTILLONNAGE

L'échantillonnage a été réalisé au niveau d'une forêt et d'une Dune à Taref durant le mois de Décembre 2015, au niveau du Parc National de Djurdjura durant le mois de Janvier 2016 et au niveau des dunes de Jijel durant le mois de Février 2016. Suivant un échantillonnage aléatoire, 04 individus à raison de 02 mâles et 02 femelles ont été échantillonnés dans chaque station. Les échantillons ont été transportés dans des sacs en plastique étiquetés.

La variabilité morphologique et biochimique des mâles et les femelles provenant dans 04 stations a été étudiée.



Figure n° 17: Image satellitaire de la localisation des quatre stations d'étude (google earth).

MATERIEL VEGETAL : Notre étude a porté uniquement sur les parties aériennes (rameaux et cônes) de l'espèce *Juniperus oxycedrus*.

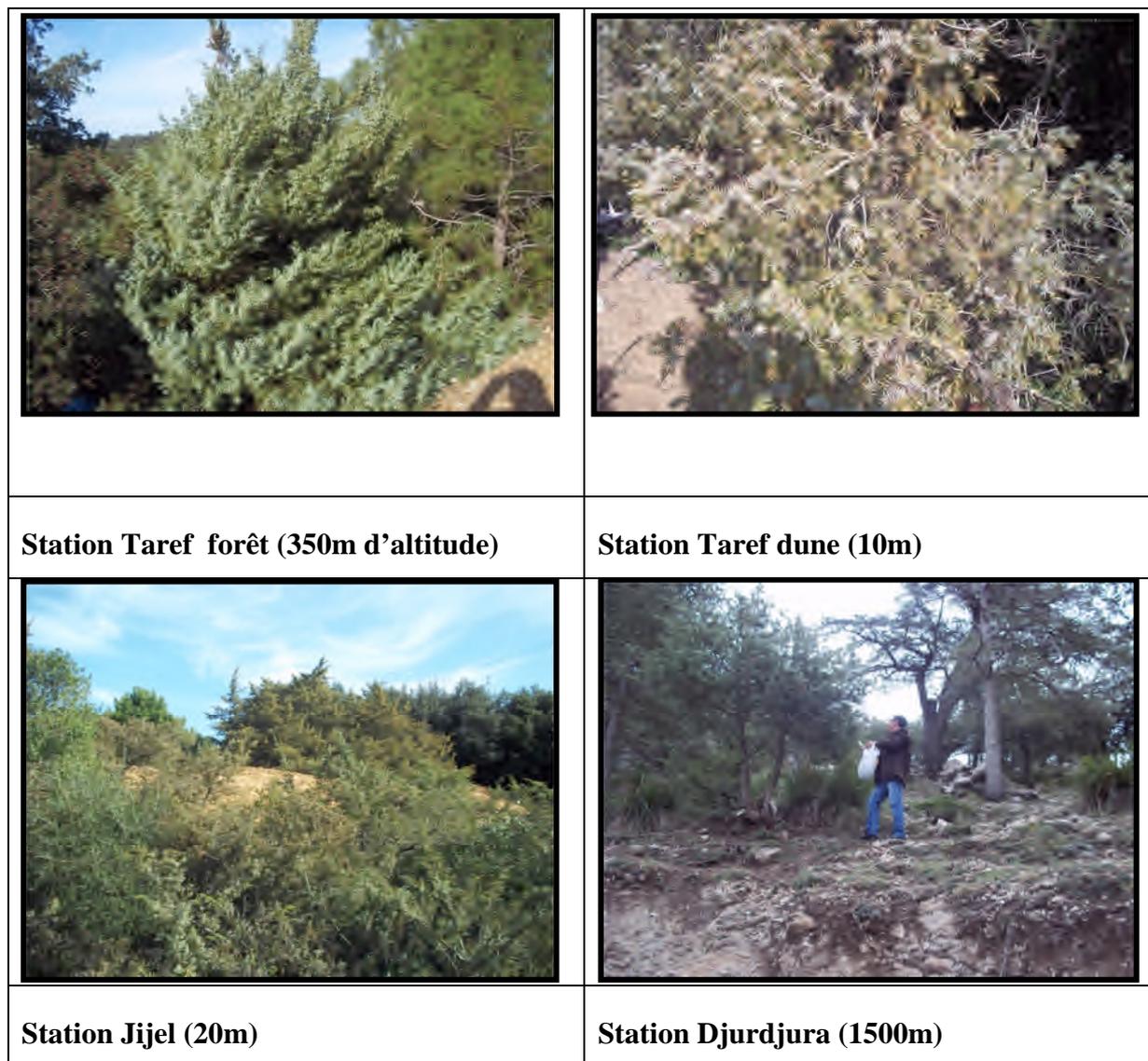


Figure n° 18: Photos des arbustes de *Juniperus oxycedrus* (Photos prises par Bouadam en 2015- 2016).

SECHAGE

Les échantillons sont mis à sécher à l'air libre pendant 20 jours, à l'abri de la lumière.

Le matériel végétal séché est divisé en deux parties, la partie consacrée pour l'extraction des polyphénols est passée dans un broyeur électrique, le broyat est tamisé à

l'aide d'un tamis de 250 μ m de diamètre, la poudre obtenue est conservée dans un flacon opaque.

Le reste est découpé en petits morceaux pour l'extraction des huiles essentielles.

Pour les paramètres morphologiques nous avons procédé directement aux mesures dès l'arrivée des échantillons au laboratoire à partir des échantillons frais.

II-2- METHODES

II-2-1- ETUDE MORPHOLOGIQUE

Les individus provenant des quatre stations d'étude sont soumis à l'analyse morphologique qui a porté sur les cônes femelles et écailles.

La longueur, la largeur des cônes et des écailles ont été mesurées à l'aide d'un pied à coulisse. Afin d'avoir une moyenne représentative, 50 répétitions (50 mesures) ont été effectuées pour chaque échantillon et pour chaque paramètre.

II-2-2- ETUDE BIOCHIMIQUE

Nous avons analysé la teneur en composés phénoliques (Polyphénols totaux, Flavonoïdes et Tanins condensés) ainsi que le rendement des huiles essentielles de 16 individus de *Juniperus oxycedrus* à raison quatre individus par station.

II-2-2-1- EXTRACTION DES POLYPHENOLS

La méthode d'extraction utilisée dans ce travail est celle d'**Oomah et al.** (2010), qui consiste à dissoudre 0,8 g du broyat végétal (feuillage et cônes) dans 32 ml d'éthanol à 96%. Le mélange est agité pendant deux heures à température ambiante suivi d'une centrifugation pendant 10 mn à 6000 tours/mn. Le surnageant est récupéré dans des tubes à essai puis conservé au frais.

II-4-2-2- DOSAGE DES POLYPHENOLS

II-2-2-2-2- DOSAGE DES PHENOLS TOTAUX

PRINCIPE

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre en utilisant l'essai de Folin-Ciocalteu. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de folin-ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et molybdène (MO_8O_{23}). La coloration produite, dont l'absorption maximale est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

PROTOCOLE

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

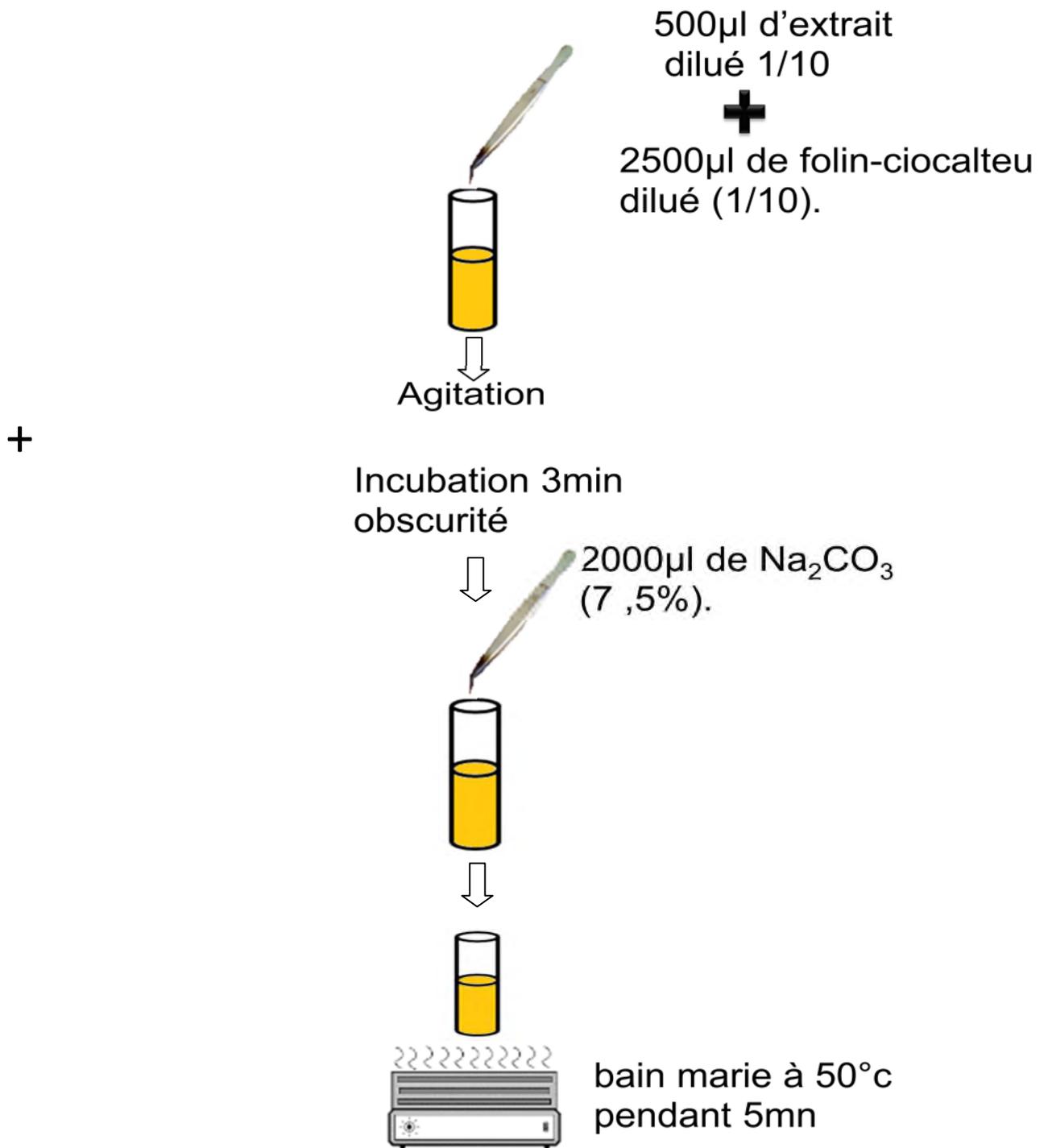
Dans des tubes à essais, on mélange 500 μ l de l'extrait dilué avec 2500 μ l de folin-ciocalteu dilué (1/10). Après agitation, le mélange est incubé pendant 3mn à température ambiante, ensuite, on ajoute 2000 μ l de Na_2CO_3 (7,5%).

Les tubes sont ensuite passés dans un bain marie à 50°C pendant 5mn. Une fois refroidis, l'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 760 nm.

Le blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par 500 μ l d'éthanol **Fig (19)**.

EXPRESSION DES RESULTATS

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



L'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 760 nm

Le balnc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par l'éthanol.

Figure n° 19: Protocole expérimental de dosage des phénols totaux.

DOSAGE DES FLAVONOÏDES

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**).

PROTOCOLE

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

Dans des tubes à essai, on mélange 1000 μ l d'extrait dilué avec 1000 μ 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 blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par 1000 μ l d'éthanol **Fig (20)**.

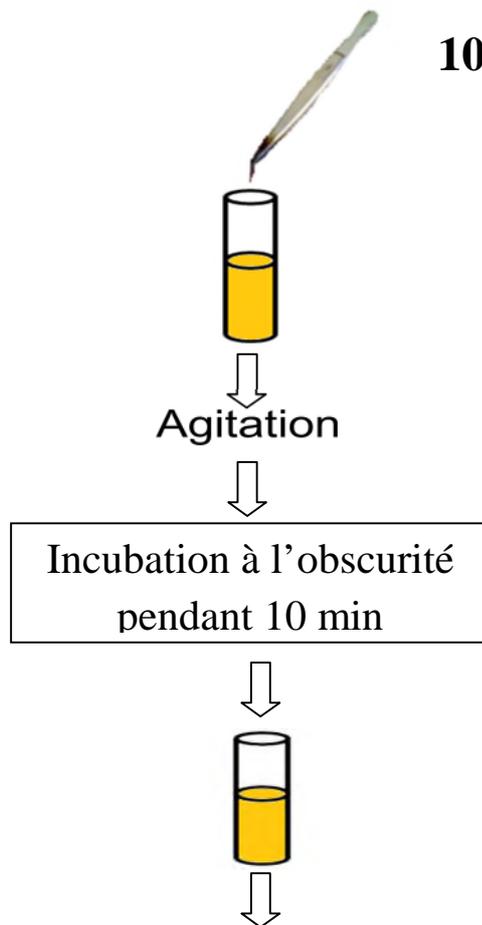
EXPRESSION DES RESULTATS

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

1000µl d'extrait dilué 1/10

+

1000µl d'AlCl₃ dilué 2%



Lecture à 430nm

Le balnc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par l'éthanol.

Figure n° 20: Protocole expérimental de flavonoïdes.

DOSAGE DES TANINS CONDENSES

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**).

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 $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2, 12 \text{H}_2\text{O}$ 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 balnc est préparé de la même façon en remplaçant l'extrait par 500 µl d'éthanol **Fig (21)**.

EXPRESSION DES RESULTATS

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⁻¹ cm⁻¹.

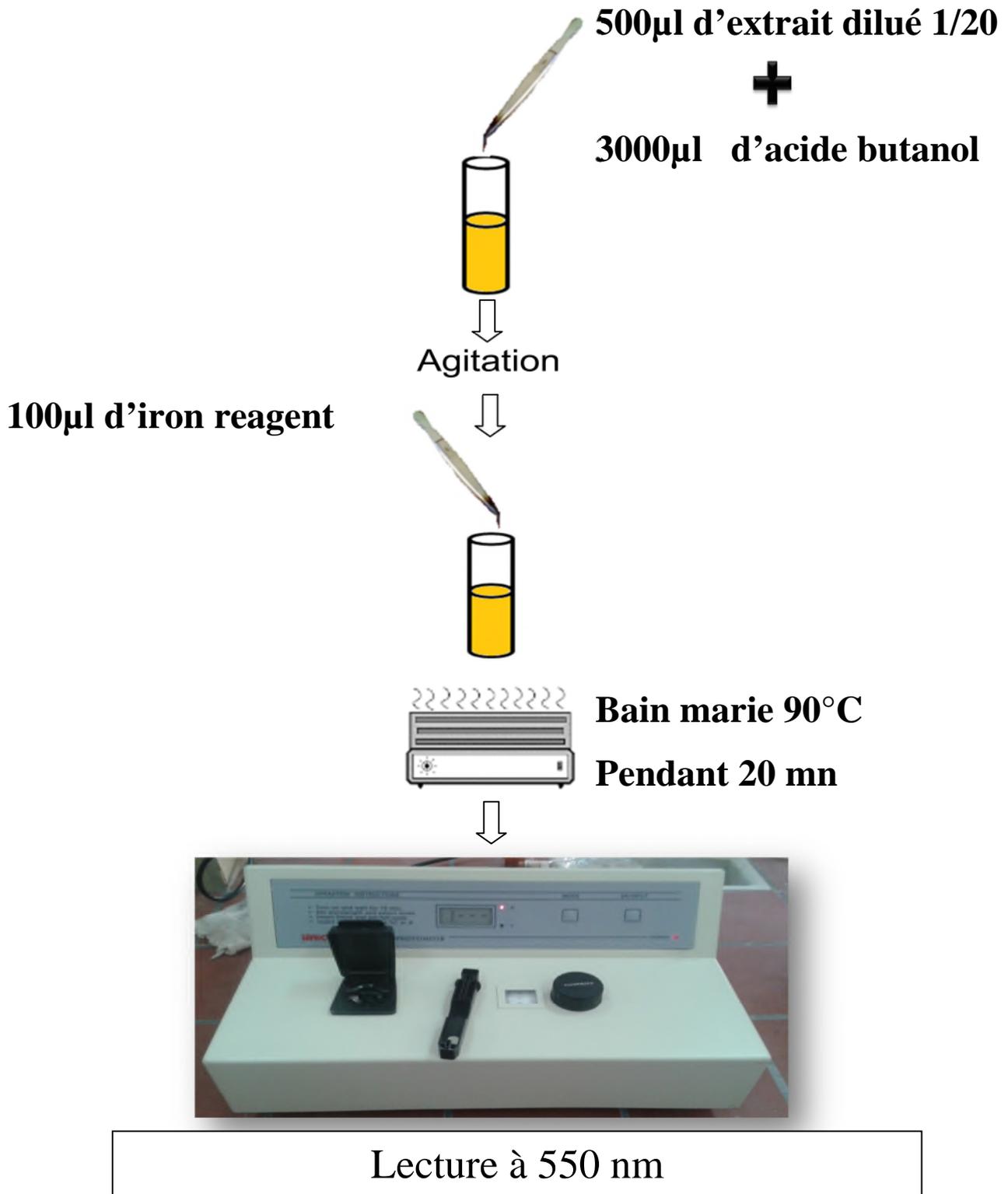
La loi de Beer-lambert: $A = \epsilon \cdot l \cdot c$ est employée pour déterminer les concentrations en tanins condensés

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

Avec

- **C**: la concentration de proanthocyanidines en mg/ml ;

- ϵ : coefficient d'extinction molaire de la cyanidine en $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$;
- M_m : masse molaire de la cyanidine (égale à $287,24 \text{ g/mol}$) ;
- l : largeur de la cuve en cm (égale à 1 cm).
- A : l'absorbance de l'échantillon.



Le balnc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par l'éthanol.

Figure n° 21: Protocol expérimental des tanins.

II-2-2-3- ACTIVITES ANTIOXYDANTES

POUVOIR REDUCTEUR

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

Le volume d'**1ml** de l'extrait est mélangé avec **2,5 ml** du tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) et **2,5 ml** de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) à 1%. Le mélange est incubé dans un bain marie pendant 20min à 50°C. **2,5 ml** de cette solution sont mélangés avec **2,5 ml** d'acide trichloracétique (TCA) à 10%, puis centrifugés 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 ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) à 0,1%. L'absorbance du mélange ainsi obtenu est mesurée à 700 nm après 10 min d'incubation à température ambiante.

L'acide ascorbique est utilisé pour la préparation de la courbe standard pour quantifier l'activité réductrice (**annexe III**)

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

TEST DE DPPH

L'effet scavenger des extraits éthanoliques de *Juniperus oxycedrus* vis-à-vis du radical DPPH est évalué selon la méthode décrite par Chun et al. (2005). Un volume de 1900 μl de la solution de DPPH (0.24mM) est mélangé avec 100 μl des solutions d'extraits. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm. Le pourcentage de l'activité anti-radicalaire est calculé selon l'équation suivante :

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

Avec

A_b : Absorbance du témoin

A_E : Absorbance de l'échantillon

II-2-2-3- EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE *JUNIPERUS OXYCEDRUS* :

L'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* est extraite par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger, l'extraction a duré 3h30. Dans un ballon, une quantité de 120 g d'un mélange des rameaux et des cônes secs est macérée avec 500 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 végétale à traiter **Belyagoubi** (2006).

$$R_{HE} = (M_{HE} / M_S) \cdot 100$$

R : Rendement en extrait fixe en %

MHE : Quantité d'extrait récupéré (le poids de l'huile essentielle) en g

Ms : Quantité de matière végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g.

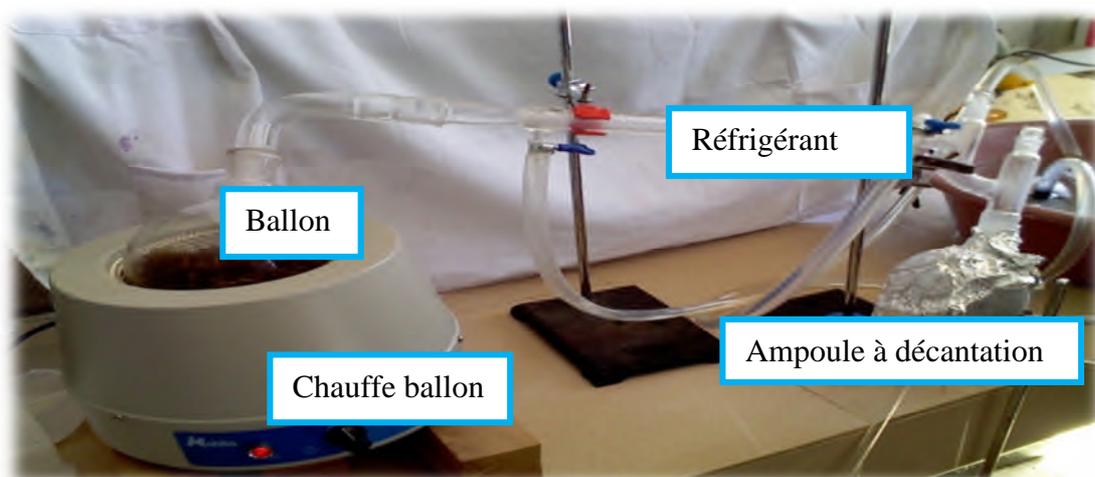


Figure n° 22: Photographie de l'appareil utilisé pour l'hydrodistillation des huiles essentielles (Photo prise par Bouadam en 2013).

III-1- RESULTATS DE LA VARIABILITE MORPHOLOGIQUE :

Notre étude a permis de réaliser une comparaison morphologique entre les plantes de *Juniperus oxycedrus* en provenance de quatre stations que nous avons retenues pour effectuer notre échantillonnage, nous avons mesuré les paramètres suivants:

- La longueur et la largeur des aiguilles (écailles ou feuilles).
- La longueur et la largeur des cônes (fruit ou galbules).

III-1-1- VARIABILITE MORPHOLOGIQUE DES AIGUILLES

Nous avons pris 50 aiguilles de chaque échantillon et 50 cônes pour chaque échantillon femelle, nous avons mesuré leur longueur et leur largeur et calculé la moyenne des 50 de chaque échantillon. Les résultats des mesures sont exposés dans les figures ci-dessus.

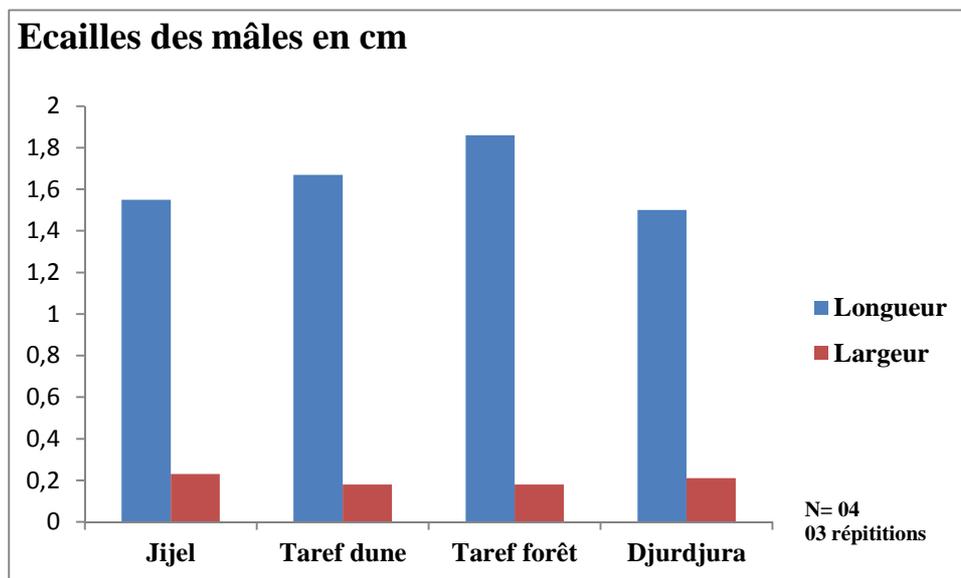


Figure n° 23 : Longueur et largeur moyennes des feuilles (écailles) mâles de *Juniperus oxycedrus*

Les figures n° 23 et 24 : montrent que la longueur des aiguilles change d'une station à une autre quelque soit le sexe des plantes, les feuilles les plus longues sont rencontrées dans la station de Taref forêt avec une moyenne de 1,86cm pour les mâles et 1,81cm pour les aiguilles des femelles. Dans la station de Taref dune on constate des feuilles moins longues que Taref forêt avec une moyenne de 1,65cm pour les mâles et 1,49cm pour les femelles. On trouve la station de Jijel en troisième position avec une moyenne de 1,55cm pour les mâles et 1,48cm pour les femelles. Et en fin la station de Djurdjura occupe la dernière position avec une moyenne de 1,45cm pour les mâles et 1,47cm pour les femelles. La morphologie des feuilles

est déterminée par l'interaction des facteurs génétiques (intrinsèques) de la plantes et les facteurs environnementaux (Podsdek, 2007 ; Falleh et al., 2008), ceci expliquerait pourquoi les feuilles sont plus longues dans les stations de Taref forêt, Taref dunes et Jijel où les conditions climatiques et édaphiques sont plus propices à la croissance que dans la station de Djurdjura où il fait très froid pendant la période hivernale et où le sol est peu profond.

En revanche, la largeur des feuilles ne fluctue que légèrement selon les stations et le sexe, et présente une valeur proche de 0.2cm pour les quatre zones d'étude.

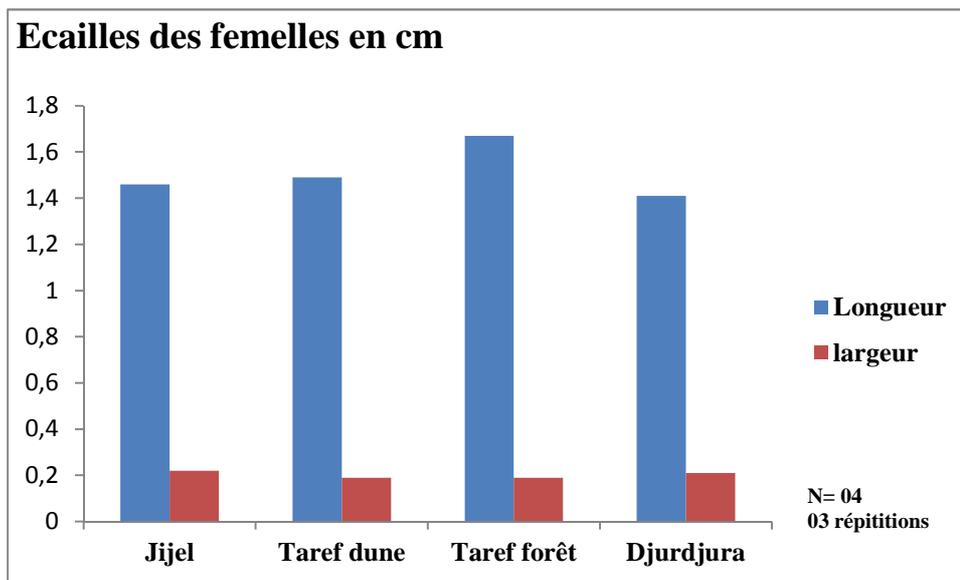


Figure n° 24: Longueur et largeur moyennes des feuilles (écailles) femelles de *Juniperus oxycedrus*

Les résultats obtenus sont en adéquation avec ceux de **Lebreton et al.** (1998) en France et en Turquie, ainsi que les résultats obtenus par de **Farjon** (2005) qui a travaillé sur les plantes originaires de plusieurs régions du monde in **Klimko et al.** (2007).

III-1-2- VARIABILITE MORPHOLOGIQUES DES CONES

Comme il est indiqué dans la figure n° 25, les fruits ou les cônes de la station de Taref dune sont les plus volumineux avec une longueur moyenne de 1.45cm et une largeur moyenne de 1.21cm. Ensuite, viennent les cônes de la station de Jijel avec des dimensions légèrement inférieures, vu que les deux stations sont caractérisées par des conditions similaires. Les galbules de la station de Taref forêt, avec une longueur moyenne de 1,14cm et une largeur moyenne de 1,01cm, se classent en troisième position. Et en dernière position on trouve les cônes de la station de Djurdjura avec une longueur de 0,96cm et d'une largeur de 0,89cm vu

que les conditions climatiques sont dures en hiver où les montagnes sont couvertes de neige pendant une longue période. Ces résultats corroborent ceux obtenus par **Juan et al.** (2003), qui ont trouvés des valeurs comparables et surtout la même tendance, à savoir les cônes les plus volumineuses sont récoltées au niveau des dunes côtières puis le volume des galbules diminue avec l'altitude.

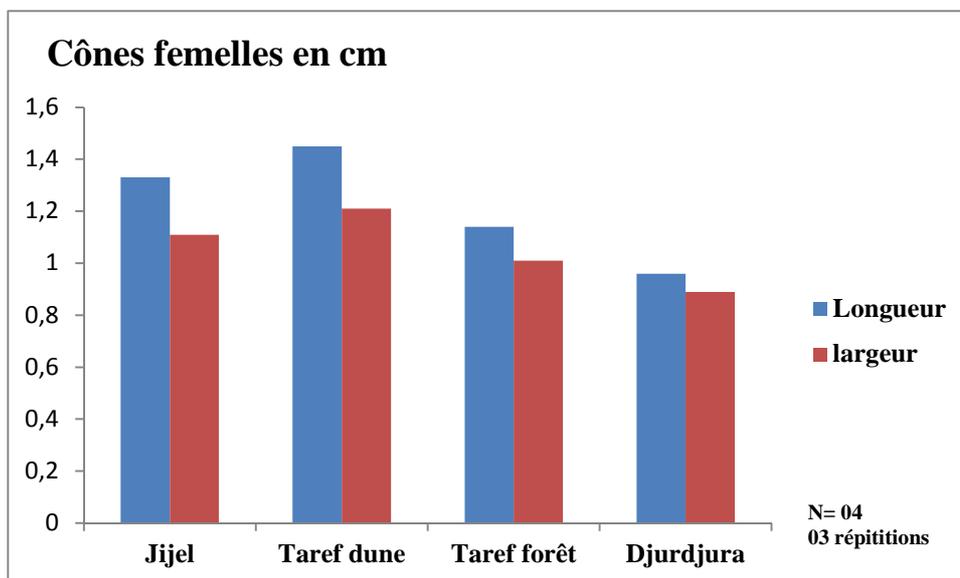


Figure n° 25 : Longueur et largeur moyennes des cônes femelles (fruits) de *Juniperus oxycedrus*

III-2- RESULTATS DE LA VARIABILITE BIOCHIMIQUE

III-2-1- VARIABILITE AU NIVEAU DES COMPOSES PHENOLIQUES

III-2-1-1- LES POLYPHENOLS TOTAUX

Les résultats des dosages quantitatifs des polyphénols totaux réalisés sur les échantillons en provenance des différentes stations (Jijel, Taref dune, Taref forêt et Djurdjura) sont présentés sous forme d'histogrammes en comparant entre les individus mâle et femelles selon les stations.

➤ STATION JIJEL

La Figure n° 26, montre les concentrations en composés phénoliques pour la station de Jijel, on remarque que les concentrations en polyphénols totaux sont plus élevées chez les individus du sexe mâle qui présentent une concentration de 81,18 mg EAG /g ms par rapport aux individus de sexe femelle qui ont fourni 69,50 mg EAG /g ms.

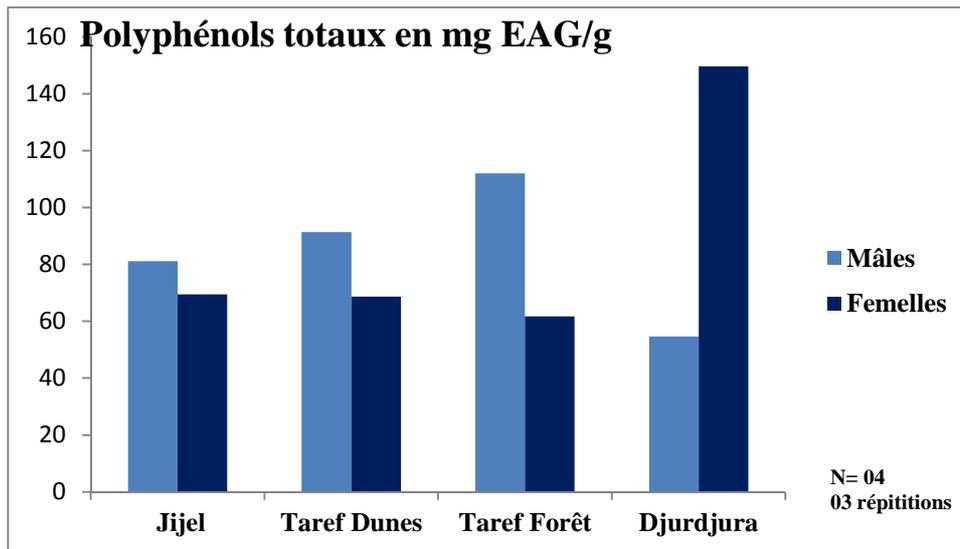


Figure n° 26 : Teneurs en polyphénols totaux dans les quatre stations d'étude

➤ STATION TAREF DUNE

Avec une valeur de 91,34 mg EAG /g ms, les échantillons mâles collectés de la station de Taref dune ont présenté les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux par rapport aux femelles qui ont produit 68,65 mg EAG /g ms (Figure n° 26).

➤ LA STATION TAREF FORET

Les résultats du dosage des polyphénols totaux présentés dans la figure n° 26 indiquent que la concentration moyenne la plus élevée (111,99 mg EAG /g ms) est enregistrée au niveau des extraits éthanoliques des rameaux des mâles. La concentration des femelles de cette station est évaluée à 61,71 mg EAG /g ms.

➤ STATION DJURDJURA

Pour la station de Djurdjura, c'est les plantes femelles qui ont enregistré les valeurs les plus élevées avec une concentration moyenne de 74,78 mg EAG /g ms, quant aux mâles ont fourni uniquement 65,81 mg EAG /g ms (Figure n° 26).

La comparaison des résultats obtenus dans les quatre stations a révélé que les échantillons mâles collectés dans la station Taref forêt ont fourni les concentrations en polyphénols totaux les plus élevées suivis de ceux de la station Taref dunes, puis les échantillons provenant de la station Jijel et enfin ceux récoltés de la station Djurdjura. Ce résultat pourrait être expliqué par l'effet de l'altitude. En effet, l'altitude influe sur la température et sur le rayonnement solaire incident, et ces trois facteurs combinés peuvent

avoir une influence conséquente sur le métabolisme de la plante et sur la production des métabolites secondaires. Quant à la disparité observée entre les individus mâles et femelles, elle peut s'expliquer par le niveau de la composition de la matière végétale; la poudre obtenue à partir des pieds femelles, en plus des ramilles (petits rameaux) et des aiguilles (feuilles), elle contient des cônes (fruits), ces derniers contiennent moins de composés phénoliques et seraient plutôt riches en huiles essentielles. Nous signalons le fait qu'au Djurdjura (haute montagne), ce sont les pieds femelles qui enregistrent les taux les plus élevés et non pas les plantes mâles comme c'est le cas pour les autres stations. Les résultats d'autres auteurs ayant travaillé sur la même espèce montrent des teneurs très disparates en fonction des régions du monde et en fonction des organes de la plante. Les teneurs varient de 12.66 mg EAG/g trouvés par **Djeridane et al.** (2006) qui ont analysé la partie aérienne de la plante en Algérie à 254 mg EAG/g au niveau des feuilles au Portugal **Tavares et al.** (2013). Alors que **Taviano et al.** (2012) ont indiqué la valeur de 5.14 mg EAG/g au niveau des cônes.

III-2-1-2- FLAVONOÏDES

Nos résultats de dosage pour les échantillons récoltés à Jijel, montrent que les teneurs en flavonoïdes trouvées dans les extraits mâles sont plus élevées (8,61 mg EQ/g ms) par rapport à celles fournies par les femelles (6,69 mg EQ/ g ms) (Figure n° 27).

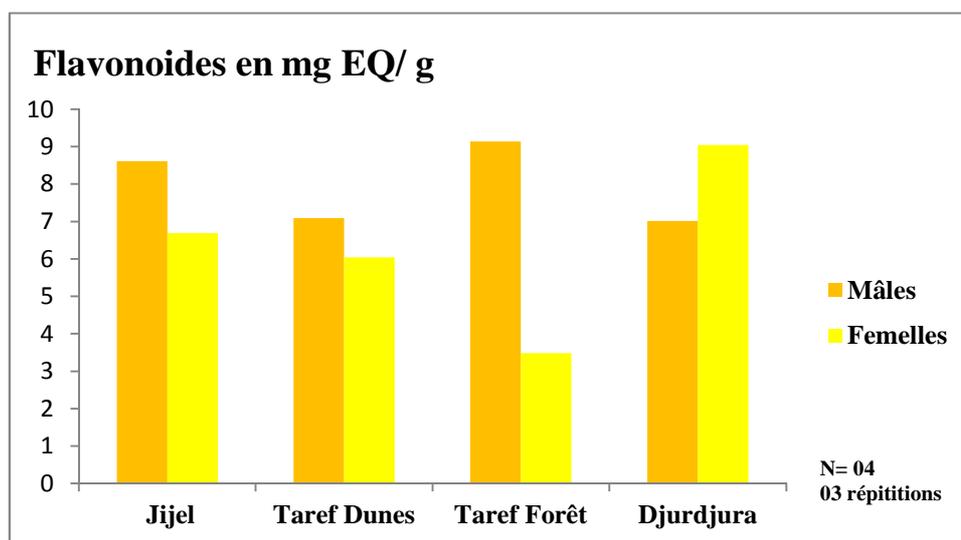


Figure n° 27 : Teneurs en flavonoïdes dans les quatre stations d'étude

Les résultats du dosage des flavonoïdes dans les extraits des mâles collectés dans les deux stations Taref dune et Taref forêt sont exprimés dans la figure n° 26, cette dernière montre que les mâles sont riches en flavonoïdes dans les deux stations (7,09 mg EQ/g ms et 9,14 mg EQ/g ms) respectivement par rapport aux femelles avec une valeur de 6,04 mg EQ/ g ms pour la station Taref dunes et 3,48 mg EQ/g ms pour les femelles de la station de Taref forêt.

Les résultats de dosage des flavonoïdes trouvés dans les extraits des échantillons provenant de la station de Djurdjura montrent que ce sont les extraits femelles qui produisent plus de flavonoïdes (09,04 mg EAG/ g ms) en comparaison avec les extraits des rameaux mâles (07,01 mg EAG/ g ms) (Figure n° 27)

En résumé, les teneurs en flavonoïdes sont importantes dans les extraits des mâles dans l'ordre décroissant suivant : Taref forêt > Jijel > Taref dune > Djurdjura avec respectivement les valeurs suivantes : 9,14 > 8,61 > 7,09 > 7,01 mg EQ/ g ms. Quant aux concentrations enregistrées par le dosage des extraits des individus femelles, c'est la station de Djurdjura qui enregistre la valeur la plus élevée (9,04 mg EQ/ g ms), suivie par la station de Jijel (6,69 mg EQ/ g ms), puis la station de Taref dune avec une teneur égale 6,04 mg EG/ g ms, et enfin les extraits de la station Taref forêt qui ont fourni 3,48 mg EQ/ g ms.

III-2-1-3- TANINS CONDENSES

Les résultats du dosage des tanins condensés sont mentionnés dans la figure n° 28, qui indique que les concentrations les plus élevées sont enregistrées chez les extraits mâles et ce pour les trois stations Taref forêt, Taref dune et Jijel, et avec respectivement les concentrations moyennes suivantes: 0,108 mg Eqc/g ms ; 0,095 mg Eqc/g ms ; 0,064 mg Eqc/g ms. La plus faible concentration est enregistrée dans les extraits mâles collectés dans la station de Djurdjura (0,006 mg Eqc/ g ms). Par ailleurs, les extraits femelles de cette dernière station enregistrent la valeur la plus élevée (0,098 mg Eqc/g ms), suivie de ceux de la station Taref dune (0,065 mg Eqc/g ms), puis de la station Taref forêt (0,055 mg Eqc/g ms) et enfin les extraits femelles de la station de Jijel avec une concentration égale à 0,037 mg Eqc/g ms.

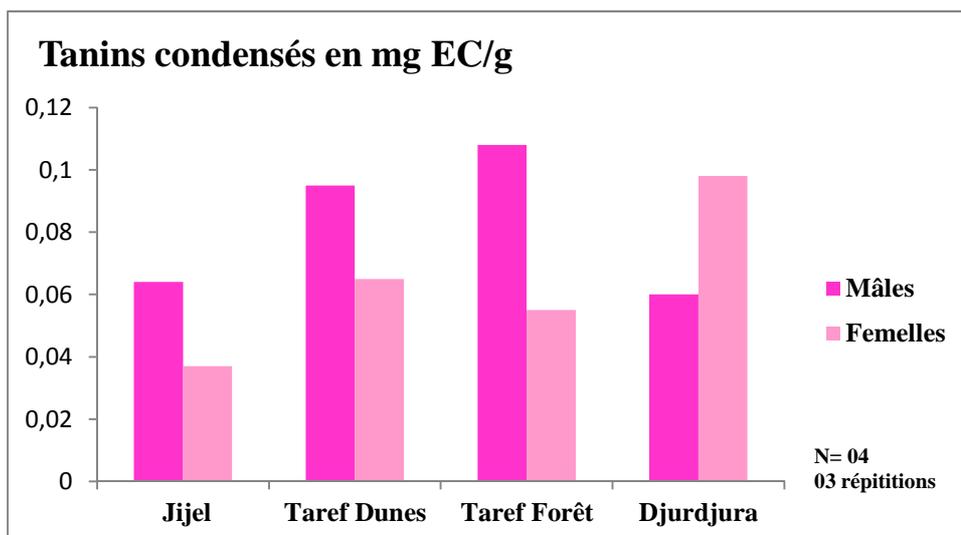


Figure n° 28 : Teneurs en tanins condensés dans les quatre stations d'étude

III-3- RENDEMENT EN HUILES ESSENTIELLES

Les résultats de rendement en huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* sont indiqués dans la figure ci dessous.

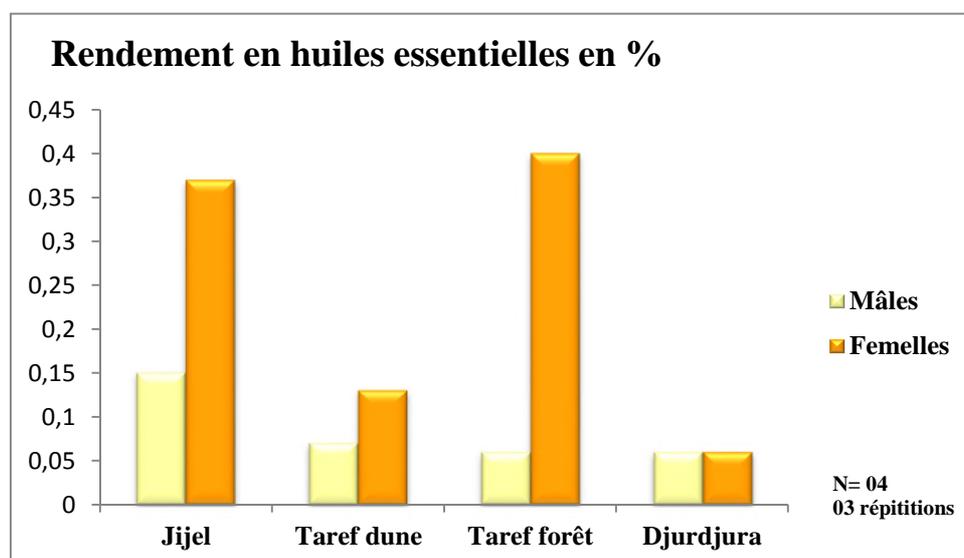


Figure n° 29 : Rendement en huiles essentielles dans les quatre stations d'étude

De la figure n° 29, nos résultats indiquent que les rendements en huiles essentielles dans les quatre stations sont plus importants chez les femelles, avec une moyenne comprise entre 0,06% et 0,37%. Quant aux mâles, le rendement le plus élevé est enregistré au niveau de la station de Jijel avec la valeur de 0,15%. Cette différence en rendement entre les échantillons mâles et les échantillons femelles peut s'expliquer par la présence des cônes

(fruits) riches en huile essentielle chez les femelles et leur absence chez les mâles. En opposant nos résultats des rendements en huiles volatiles avec les travaux déjà publiés, on observe que nos valeurs se rapprochent des autres auteurs, par exemple **Boti et al.**(2006) qui ont travaillé sur le genévrier oxycèdre en Corse, ont quantifié un rendement de 0.04–0.26% au niveau des feuilles et 0.28–1.53% au niveau des cônes. Des résultats similaires (0.21%) ont été signalés par **Amri et al.** (2011) en Tunisie. **Adams et al.** (1999) confirment des taux comparables variant entre 0.20 à 0.42%.

III-4- RESULTATS DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

III-4-1- RESULTATS DU POUVOIR REDUCTEUR

La capacité de donation d'électron dans une réaction d'oxydo-réduction peut être aussi utilisée dans la mesure de l'activité antioxydante d'un composé. Cette capacité de donation d'électron est appelée pouvoir réducteur.

L'expression de nos résultats montre que les extraits mâles des stations Taref forêt, Taref dune et Jijel présentent respectivement une meilleure activité réductrice (64,23 mg/ms; 58,67 mg/ms; 50,18 mg/ms) par rapport à ceux du sexe femelle avec des moyennes respectivement 27,79 mg/ms ; 42,31 mg/ms et 34,06 mg/ms. Par contre, dans la station de Djurdjura, c'est les extraits femelles qui présentent une forte réduction (68,67 mg/ms) par rapport à ceux des mâles (37,79 mg/ms) (Figure n° 30).

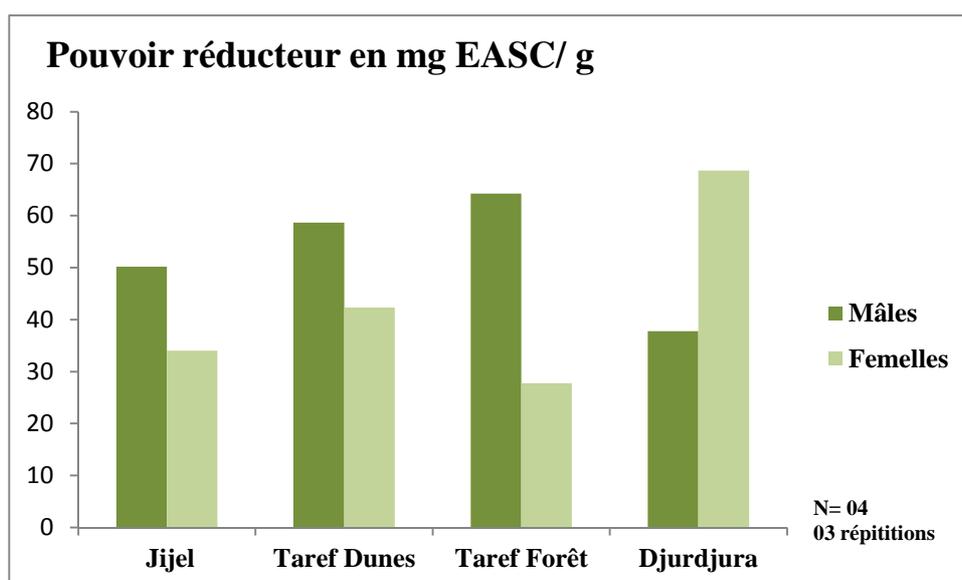


Figure n° 30 : Résultats du pouvoir réducteur dans les quatre stations d'étude

La méthode utilisée pour mesurer le pouvoir réducteur des extraits de *Juniperus oxycedrus* est celle de la réduction directe de $\text{Fe}^{3+}(\text{CN})_6$ en une forme ferreuse $\text{Fe}^{2+}(\text{CN})_6$ qui est déterminée par la détection spectrophotométrique du complexe $(\text{Fe}^{3+})_4[\text{Fe}^{2+}(\text{CN})_6]_3$ ayant une forte absorption à 700 nm **Le et al.** (2007), cette réduction est suivie par le changement de la couleur jaune du milieu réactionnel en vert dont l'intensité est en fonction du pouvoir réducteur de l'échantillon.

Les résultats s'expliquent par la teneur élevée en composé phénolique dans les extraits éthanolique des mâles pour la station de Taref forêt et dans les extraits éthanoliques des femelles pour la station de Djurdjura.

III-4-2- RESULTATS DU DPPH :

L'activité anti oxydante d'un composé correspond à sa capacité de résister à l'oxydation. Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité anti oxydante par piégeage de radicaux différents. La méthode qu'on a suivie est le radical libre DPPH (Diphényl, Picrylhydrazyle) **Sharma Om et al.** (2009).

L'activité de piégeage du radical DPPH pour les stations sont indiqués dans la figure suivante :

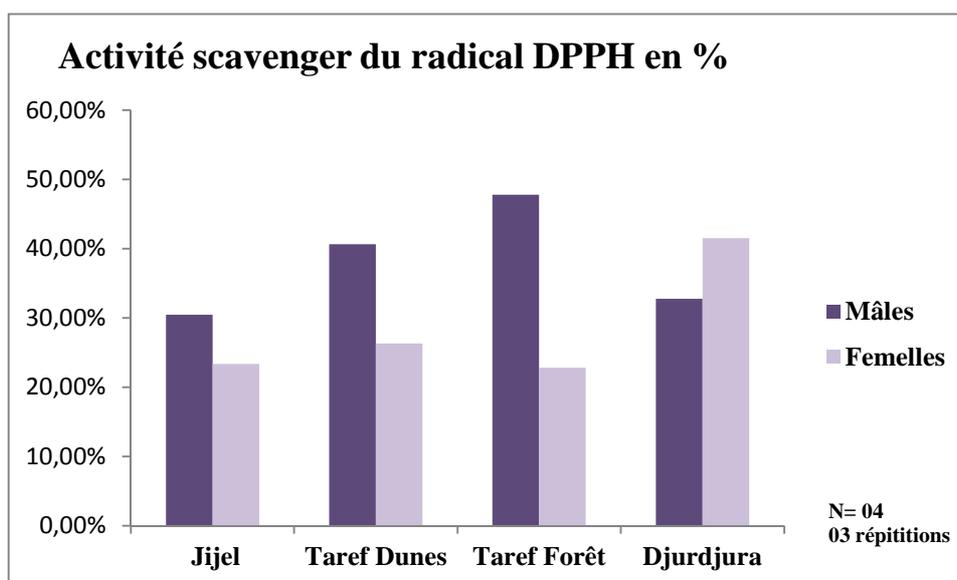


Figure n° 31: Résultats de l'activité scavenger du radical DPPH dans les quatre stations d'étude

D'après les résultats obtenus dans la figure ci-dessus on remarque que les mâles des trois stations (Jijel, Taref dune et Taref foêt) ont une activité antioxydante plus élevée par rapport à celles des femelle, mais c'est l'inverse pour la station de Djurjura qui a une activité plus élevée chez les femelle.

Notre étude consiste à quantifier les métabolites secondaires (composés phénoliques et huiles essentielles) et l'étude de leurs activités antioxydantes chez l'espèce *Juniperus oxycedrus* émanant de quatre stations à différentes altitudes.

L'objectif de notre travail est de comparer les rendements en métabolites secondaires entre les individus mâles et femelles des quatre stations.

Pour la variabilité morphologique, nos résultats ont montré que les individus issus des stations de basses altitudes (Taref dunes, Taref foret et Jijel) présentent les aiguilles et les cônes les plus longues et les plus larges par rapport à ceux collectés dans la station de Djurdjura (haute altitude).

Quant aux dosages des composés phénoliques, les résultats de notre travail ont révélé que les individus mâles enregistrent les teneurs les plus élevées dans les stations de basses altitudes, contrairement à la station de Djurdjura où les individus femelles produisent les fortes valeurs. Les résultats suivent la même tendance pour le pouvoir réducteur et l'activité de piégeage du radical DPPH.

Concernant les résultats du rendement en huiles essentielles, ce sont les individus femelles qui fournissent les pourcentages les plus élevés par rapport aux mâles et ce quelque soit l'altitude de la station.

Ce travail n'est qu'une étude préliminaire phytochimique de *Juniperus oxycedrus*. Il est souhaitable de compléter ce travail afin de confirmer ces premiers résultats par:

- Un échantillonnage plus large (nombre important d'individus et au cours de toute l'année) ;
- L'étude qualitative des extraits éthanoliques par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ainsi que la caractérisation des huiles essentielles par GC/MS, afin de pousser les résultats phytochimiques au niveau moléculaire;
- En fin l'étude des activités biologiques notamment l'activité antibactérienne pour les extraits éthanoliques et les huiles essentielles.

A

- ❖ **Achat S. (2005).** Etude des interactions protéines/polyphénols. Etude de cas: extraits d'une plante médicinale «*Salvia officinalis*». Mémoire de magister : p 69.
- ❖ **Achat S. (2013).** Polyphenol de l'alimentation, extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques BE JAIA.
- ❖ **Adams R. P., Demek T., Abulfatih H. A. (1993).** RADP DNA fingerprints and terpenoids: clues to past migration of *Juniperus* in Arabia and east Africa. *Theor Appl Genet.* **87**: 22-26.
- ❖ **Adams R.P., Altarejos J., Fernandez C. and Camacho A. (1999).** The Leaf Essential Oils and Taxonomy of *Juniperus oxycedrus* L.subsp. *oxycedrus*, subs. *Badia* (H.Gay) Debeaux And subsp.*macrocarpa* (Sibth. And Sm.) Ball. *Journal of Essential Oils Research* .**11**: 167-172.
- ❖ **Adams R.P., Pandey R.N., Leverenz J.W., Dignard N., Hoegh K. and Thorfinnson, T. (2003).** Pan-Arctic variation in *Juniperus communis*: history biogeography based on DNA fingerprinting. *Biochem. Syst. Ecol.* **31**:181–192.
- ❖ **Adams R.P. (2011).** *Junipers of the World: the genus Juniperus*, 3rd edition, Vancouver Trafford Publishing, Canada. p 426.
- ❖ **Aguilera-Carbo A., Augur C., Prado-Barragan L. A., Favela-Torres E., Aguilar C N. (2008).** Microbial production of ellagic acid and biodégradation of ellagitannins. *Applied Microbiology and Biotechnology.* **78**: 189-199.
- ❖ **Akkol EK, Güvenç A, Yesilada E. (2009).** Comparative study on the antinociceptive and anti-inflammatory activities of five *Juniperus* taxa. *Journal of Ethnopharmacology*, **125**(2): 330-336.
- ❖ **Amri I., L.Hamrouni L., Hanana M. and Jamoussi B. (2011).** Chemical Composition of *Juniperus oxycedrus* L. subsp *macrocarpa* Essential Oil and Study of Their Herbicidal Effects on Germination and Seedling Growth of Weeds. *Asian Journal of Applied Sciences* **53**: 23-28.
- ❖ **Antwerpen P-V. (2006).** Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique : Ciblage du système myeloperoxydase /peroxyde d'hydrogène /chlorure. Thèse de Doctorat .Université libre de Bruxelles. p122.
- ❖ **Aquaron, M. (2005).** Relation entre l'homme et les plantes médicinales .<<<http://www.hominidé.com>
- ❖ **Arts I.C.W., Van de Putte B., Hollman P.C.H. (2000).** Catechin contents of foods commonly consumed in the Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods and processed foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **48**: 1746-1751.

- ❖ **Arts I.C.W, Van de Putte B., Hollman P.C.H. (2000).** Catechin contents of foods commonly consumed in the Netherlands. 2. Tea, Wine, Fruit juices and chocolate milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **48**: 1752-1757.

B

- ❖ **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J.C. et 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.
- ❖ **Bahorum T. (1997).** Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d'approvisionnement potentielle Food and Agricultural Research council Mauritias pp 83-94.
- ❖ **Balasundram N., Sundram K. et Samman S. (2005).** Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. **99** : 191–203.
- ❖ **Becker M., Picard J.-F., Tim bal J. (1982).** Larousse des arbres et arbustes. Librairie Larousse, 151-152 et 194-195.
- ❖ **Belaiche .P (1979).** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Ed. Maloine Tome 1 pp 123.
- ❖ **Bellakhder J. (1997).** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ed: Ibis press Paris, P 272
- ❖ **Belyagoubi, L.M. (2006).** Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration de céréales. Thèse magister en Biologie. Faculté des Sciences de la nature, Université de Tlemcen. p115.
- ❖ **Bennick, A. (2002).** Interaction of plant polyphenols withsalivary proteins. *Crit Rev Oral Boil Med*, **2**: 184-196.
- ❖ **Bernard, M ; Metche, M. (1980).** Polymères végétaux (Biochimie Appliquée). Paris: 252-253.
- ❖ **Besombes C. (2008).** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro thermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées, Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, p.289.
- ❖ **Blumberg J. (1997).** Nutritional Needs of seniors. *Journal of the American College of Nutrition*, **16** (6), 517-523.

- ❖ **Boizot, N. et Charpentier, J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. INRA Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, *Laboratoire d'Analyses Biochimiques*.**18**: 79-82.
- ❖ **Boti J. B. Bighelli A. Cavaleiro C. Salgueiro L. and Casanova1 J. (2006).** Chemical variability of *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* berry and leaf oils from Corsica, analysed by combination of GC, GC-MS and ¹³C-NMR. *Flavour and Fragrance. Journal* **21**: 268-273.
- ❖ **Bouadam B. Farhi (2013).** Caractérisation morphologique et biochimique de l'espèce *Juniperus Sabina L.* au niveau du parc National de Djurdjura, Algérie. Mémoire de Magister en Sciences de la Nature. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université A/Mira de Bejaia. P 75.
- ❖ **Bouhlal K, Meynadier JM, Peyron JL, Peyron L, Marion JP, Bonetti G, Meynadier J. (1988).** Le cade en dermatology. *Parfums, Cosmétiques et Aromes*, **83**: 73-82.
- ❖ **Bouzouita,N ., Kachouri ,F.,Ben halima ,M.,chaabouni,MM.(2008)** . composition chimique et activité anti oxydante,antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de juniperus phoenicea .société chimique de Tunisie. 119_125
- ❖ **Bravo L. (1998).** polyphenols; dietary source, métabolisme, and nutritional significance. *Nutrition*, **56** : 317-333.
- ❖ **Bruneton J. (1993).**- pharmacognosie phytochimie plantes médicinales –Tec & Doc, Lavoisier, Paris, p 915.
- ❖ **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie-Phytochimie, Plantes médicinales. Techniques et documentation. Lavoisier 3ème édition, Paris.
- ❖ **Bruneton J. (2008).** Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. p 198-260.
- ❖ **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 4ème édition Tec & doc, p.567-592, ISBN: 978-2-7430-1188-8.
- ❖ **Bruyne T., Pieters L., Deelstra H. et Vlietink A. (1999).** Condensed vegetable tannins: Biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical Systematic and Ecology*. **27**: 445-459.
- ❖ **Buettner G. R., Jurkiewicz B. A. (1996).** Catalytic metals, ascorbate and free radicals: combinations to avoid. *Radiat. Res.*, **145**: 532-41.

C

- ❖ **Carr A., Frei B. (1999).** Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FA SEB J.*, **13** : 1007-24.
- ❖ **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.
- ❖ **Chaouch T .M. (2013).** Contribution a l'étude des activités anti oxydantes et anti microbiennes des extraits de quelques plantes médicinal. *TLEMCEN*
- ❖ **Chaumont J.P., Leger D. (1989).** Propriétés antifongiques de quelques phénols et de composés chimiquement très voisin. Relation structure —activité. *Plant Med. Phylo.*, **23**(2), 124-126.
- ❖ **Chira K., Such J., Saucier C., Teissèdre L. (2008).** Les polyphénols du raisin. Ed : Springer. **6**: 75-82.
- ❖ **Chun, S. S., Vattem, D.A., Lin, Y.T., Shetty, K. (2005).** Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochemistry* **40**: 809-816.
- ❖ **Clifford M., Scalbert A. (2000).** Ellagitannins-nature, occurrence and dietary burden. *Sei. FoodAgric.*, **80** : 1118-1 125
- ❖ **Cooke J. P.; (1998).** Nutraceuticals for Cardiovascular Health. *Am. J. Cardiol.*, **82**(10), 43-46.
- ❖ **Cowan M.M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. **12**: 564-582.
- ❖ **Crozier A. (2003).** Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants" Diet and Health"*. Ed. Goldberg. pp: 27- 48.
- ❖ **Curtay J.-P., Robin J.-M. (2000).** Intérêt des complexes antioxydants. Centre d 'Etude et de Développement de la Nutrithérapie. *Nutrithérapie INFO*. Institut de Phytonutrition.

D

- ❖ **Dan Y. (2008).** Biological functions of antioxidants in plant transformation. *In vitro Cell. Dev. BiolPlant*, **44**:149-161.

- ❖ **Deore, S. L., Khadabadi, S. S., Baviskar, B.A., Khangenbam, R.A., Koli, U.S., Daga, N.P., Gadbail, P.A., and Jain, P.A. (2008).** In vitro antioxidant activity and phenolic content of *Croton caudatum*. *International Journal of Chemistry Technology Research*, **1** (2): 174-176.
- ❖ **Djemai zoughlache. S, (2009).** Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus L.* mémoire de magister en biologie. Université -el hadj lakhder –batna. P23.
- ❖ **Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* **97**: 654-660.
- ❖ **Dohou, N., Yamni, K., Gmira, N. and Idrissi Hassani, L. M. (2004).** Étude de polyphénols des feuilles d'une endémique Ibéro Marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Acta Botanica Malacitana.* **29**: 233-239.
- ❖ **Duraffourd C. et Lapraz J-C. (2002).** Traité de phytothérapie clinique. Ed malonie.Paris.

E

- ❖ **Eserbauer H., DieberRotheneder M., Striegi G., Waeg G. (1991).** Role of Vitamin E in Preventing the Oxidation of Low-Density Lipoprotein. *The American Journal of Ciinical Nutrition*, **53** : 314-321.

F

- ❖ **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M. and Abdelly,C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs, and their biological activities .*C. R. Biologies.* **331**: 372-379.
- ❖ **Favier A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.
- ❖ **Fekih .N. (2015).** Propriétés chimiques et biologique des huiles essentielles de trois espèces du genre pinus poussant en Algérie.
- ❖ **Feng Q., Tori Y., Uchida K., Nakamura Y., Hara Y., Osawa T. (2002).** Black tea polyphenols, theaflavins, prevent cellular DNA damage by inhibiting oxidative stress and supressing cytochrome P450 in cell cultures. *Jornal of Agric Food Chem.*, **50**: 213-220.
- ❖ **Fernández A., Ortuilo I., Martos A., Fernández C. (1996).** Saber y utilizaci3n de plantas en la provincia de Ja3n. Campafia de 1993.

Boletmn de!Instituto de Estudios Giennenses, 161, 199-318.
Flavonoids in Health and Disease, **10** : 253-276.

- ❖ **Fossen T., Andersen O.M., Ovstedal D.O., Pedersen A.T., Raknes A. (1996).** Characteristic anthocyanin pattern from onions and other Allium spp. *Journal of Food Science* **61**: 703-706.
- ❖ **Fouch , J . G ; Marquet, A .and Hambuckers, A.(2000).**les plantes medicinales , de la plante au medicament, observation du monde des plantes .
- ❖ **Franchomme P.et Penoel D. (1990).** L'aromathérapie exactement, encyclopédie de l'utilisation therapeutique des huiles essentielles. Ed jollois. Limoges.

G

- ❖ **Gabor M., Cody V., Middleton E. J., Harborne J. B., Beretz A., Liss A. R. 1988.** Plants Flavonoids in biology and Medecine II. Biochemical, Cellular and Medecinal properlies, New York, pp: 1-15.
- ❖ **Garnier G., Bézanger-Beauquesne L., Debraux G. (1961).** Ressources médicinales de la flore française. Tome 1. Vigot Frères Éditeurs, Paris, 124-133.
- ❖ **Girre L. (2001).** Les plantes et les médicaments, l'origine végétale de nos médicaments. Ed. Ouest France, 100.
- ❖ **Guignard, J.M. (1979).** Abrégé de biochimie végétale, 2eme édition Masson, Paris: 290.
- ❖ **Guingard J.; (1996).** Biochimie végétale. Ed. Lavoisier, Paris. pp : 175-192.
- ❖ **Guignard J.L. (2000).** Les composés aromatiques In : Biochimie végétal. Ed : Dunod. pp : 161-217.

H

- ❖ **Hakkinen S.H., Karenlampi S.O., Heinonen I.M., Mykkanen H.M., Torronen A.R. (1999).** Content of the flavonols quercetin, myricetin and kaempferol in 25 edible berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **47**: 2274-2279.
- ❖ **Han X.H., Hong S.S., Hwang J.S., Lee M.K., Hwang B.Y., Ro J.S. (2007).** Monoamine oxidase inhibitory components from Cayratia japonica. *Archives Pharmacal Research*. **30**: 07-13.

- ❖ **Haslam E. (1989).** Plant polyphenols, Vegetable tannins revisited. University Press, Cambridge. p230.
- ❖ **Heller R., Esnault R., claudes. (1998).** physiologie végétale .1-nutrition .Ed : Dunod, paris. PP: 297-298.
- ❖ **Hernandez Ochoa I. R. (2005).** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « Solvant/Actif » d'origine végétale. Thèse présentée pour obtenir le titre de Docteur de l'Institut National Polytechnique de Toulouse Ecole Doctorale: Spécialité Sciences de procédés des Agroressources.
- ❖ **Hertog M.G.L., Hollman P.C.H., Katan M.B. (1992).** Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in The Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **40**: 2379-2383.
- ❖ **Hertog M. G. L., Hoilman P. C. H., Katan M. B., Kromhoht D. (1993).** Intake of Potentially Anticarcinogenic Flavonoids and Their Determinants in Adults in The Netherlands. *Nutrition and Cancer*, **20** (1), 21-29.
- ❖ **Huguette, M. (2008).** La route des épices, aromatisants, condiments et mélange d'épices Ed : sang de la terre, Paris P 190.

I

- ❖ **Innocenti M, Michelozzi M, Giaccherini C, Ieri F, Vincieri FF, Mulinacci N. (2007).** Flavonoids and Biflavonoids in Tuscan Berries of *Juniperus communis* L.: Detection and Quantitation by HPLC/DAD/ESI/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**(16): 6596-6602.

J

- ❖ **Jonkov S, Naidenov G. (1974).** *Juniper* bath treatment of the neurasthenic neurosis. *Folia Medica (Plovdiv)*, **16**(5-6): 291-296.
- ❖ **Juan R., pastor J., Fernández I. and Diosdado J. C. (2003).** Relationships between mature cone traits and seed viability in *juniperus oxycedrus* l. subsp. *macrocarpa* (sm.) ball (cupressaceae). *Journal of Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* **45**: 69-78

K

- ❖ **Khambalee K et Ree T.R. (2001).** Tannins: Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*, **18**:641-649.

- ❖ **Klimko M, Boratynska K, Montserrat JM, Didukh Y, Romo A, Gomez D, KluzaWieloch M, Marcysiak K, Boratynski A. (2007).** Morphological variation of *Juniperus oxycedrus* subsp. *Oxycedrus* (Cupressaceae) in the Mediterranean region. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, **202(2)**: 133-147.
- ❖ **Koerfgen G. (1964).** On the treatment of psoriasis. *Zeitschrift für Haut- und Geschlechtskrankheiten*, **36**: 254-255.
- ❖ **Kohen R et Nyska A. (2002).** Oxidation of biological systems: Oxidation stress phenomen, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicolo Pathol*, **30**: 620-650.
- ❖ **Košir I-J., Lapornik B., Andrenšek S., Wondra A.,Vrhovšek U et Kidric J. (2004).** Identification of anthocyanins in wines by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. *Analytica Chimica Acta*. **513**: 277-282.
- ❖ **Kusari S, Zuhlke S, Spiteller M. (2010).** Chemometric evaluation of the anticancer prodrug podophyllotoxin and potential therapeutic analogues in *Juniperus* and *Podophyllum* species. *Phytochemical Analysis*, **22(2)**: 128 143.

L

- ❖ **Lafon Casadebaig. J. (1987).** Réalisation d'extraits secs nébulisés et optimisation de formes galéniques d'origine végétale à activité diurétique. Thèse de Doctorat d'état. Montpellier. pp.57-60.
- ❖ **Lamarti A., Badoc A., Deffieux G., et Carde J .P. (1994).** Biogénèse des monoterpènes I-localisation et sécrétion. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, **133**: 69-78.
- ❖ **Landrum J. T., Bone R. A., Joa H., Kilbum M. D., Moore L. L., Sprague K. E. (1997).** A One Year Study of the Macular Pigment: The Effect of 140 Days of a Lutein Supplement. *Exp. Eye Res.*, **65**: 57-62.
- ❖ **Le K., Chiu F. and Ng k. (2007).** Identification and quantification of antioxidants in junipers .*food chemistry*, **102**: 371-376
- ❖ **Leake D. S. (1998).** Effects of Flavonoids on the Oxidation of Low-Density Lipoproteins, in *Flavonoids in Health and Diseases* (Rice-Evans C. and Packer L. eds.). Marcel Dekker, New York. pp: 213-276.
- ❖ **Lebreton, P.(1989) .** Nouvelles données sur la distribution au portugual et en Espagne de sous –especes du genevrier de phénicie (*juniperus phoenicea*). *agronomia lusi.*, **42** :55-62

- ❖ **Lehucher-Michel M-P., Lesgards J-F., Delubac O., Stocker P., Durand P., Prost M. (2001).** Stress oxydant ET pathologies humaines. *Press Med.* **30**: 1076-1081.
- ❖ **Lesjak MM, Beara IN, Orcic DZ, Risti JD, Anackov GT, Bozin BN, Mimica-Duki NM. (2013).** Chemical characterisation and biological effects of *Juniperus foetidissima* Willd. 1806. *LWT - Food Science and Technology*, **53**(2): 530-539.
- ❖ **Lin C.; Chen, C.; Chen, C.;Liang, Y. and lin, J. (2002).** Molecular modeling of flavonoids that inhibits Xanthine oxidase. *Biochemical Research Communications*, **294**: 167-172.
- ❖ **Loizzo M. R., Tundis R., Conforti F., Saab A. M., Statti G. A., 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.
- ❖ **Lucette COUDERC.V. (2001).** Toxicité des huiles essentielles. TOULOUSE
- ❖ **Lugasi A., Hovari J., Sagi K. V., Biro L.; (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegedensis*, **47** : 119-125.

M

- ❖ **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.
- ❖ **Manach C. (1998).** Biodisponibilité des flavonoïdes. Thèse: Clermont-Ferrand: Université Blaise Pascal.
- ❖ **Manach C., Williamson G., Morand C., Scalbert A., Remesy C. (2005).** Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *American Journal of Clinical Nutrition*. **81**: 230S-242S.
- ❖ **Mangena T., Muyima N.Y.O. (1999).** Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *artemisia afra*, *pteronia incana* and *rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Lett. Appli. Microbiol.*, **28**(4): 291-296.
- ❖ **Mansouri N., Satrani B., Ghanmi M., EL Ghadraoui L., Aafi A., and Farah A. (2010),** Valorisation des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* et *Juniperus oxycedrus* du Maroc, *Phytothérapie*, **8** : 166-170.

- ❖ **Mao, K., Hao, G., Liu, J., Adams, R.P. and Milne, R.I. (2010).** Diversification and biogeography of *Juniperus* (Cupressaceae): Variable diversification rates and multiple intercontinental dispersals. *New phytologist*. **188**: 254-272.
- ❖ **Marc F., Davin A., Deglène-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M., Fritsch P. (2004).** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine/Sciences*, **20** : 458-63.
- ❖ **Marija ML, Ivana NB, Dejan ZO, Goran TA, Kristina JB, Marina M, Neda MM. (2011).** *Juniperus sibirica* Burgsdorf. as a novel source of antioxidant and anti-inflammatory agents. *Food Chemistry*, **124**(3): 850-856.
- ❖ **Mazari K. (2009).** L'étude phytochimique et pouvoir anti –microbien de juniperus phonécea L., juniperus oxcedrus L. et cupressus sempervirens L. de la région de Tlemcen
- ❖ **Mazza G., Fukumoto L., Delaquis P., Girard B., Ewert B. (1999).** Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **47**: 4009-40017.
- ❖ **Messaoudi S. (2005).** Les plantes médicinale. Ed, DAR ELFIKR, Tunis : 10.
- ❖ **Metche M. et Giradin M. (1980).** Les tanins des végétaux, cité par: Bernard Monties. les polymères végétaux, polymères pariétaux et alimentaires non azotés. Edition BORDAS, Paris, 254-287.
- ❖ **Miceli N, Trovato A, Dugo P, Cacciola F, Donato P, Marino A, Bellinghieri V, La Barbera TM, Guvenc A-E, Taviano MF. (2009).** Comparative Analysis of Flavonoid Profile, Antioxidant and Antimicrobial Activity of the Berries of *Juniperus communis* L. var. *communis* and *Juniperus communis* L. var. *saxatilis* Pall. from Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **57**(15): 6570 – 6577.
- ❖ **Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T. C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol. Rev.*, **52**: 673-51.

N

- ❖ **Nsem. Muanda. (2010).** Identification de poly phénols, évaluation de leur activité anti oxydante et l'étude de leurs propriétés biologique. France.

O

- ❖ **O'Connell J.E., Fox P.F. (2001).** Signification and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk dairy products: a review. *International Dairy Journal*. **11**(3): 103-120.
- ❖ **Oomah, B.D., Corbé, A. and Balasubramanian, P. (2010).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of bean hulls. *Journal of agricultural and food chemistry*, **58**: 8225-8230.
- ❖ **Orav A, Koel M, Kailas T, Müürisepp M. (2010).** Comparative analysis of the composition of essential oils and supercritical carbon dioxide extracts from the berries and needles of Estonian juniper (*Juniperus communis* L.). *Procedia Chemistry*, **2**(1): 161-167.
- ❖ **Orhan N, Aslan M, Demirci B, Ergun F. (2012).** A bioactivity guided study on the antidiabetic activity of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* L. Leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, **140**(2): 409– 415.
- ❖ **Osakabe N., Yasuda A., Natsume M., Takizawa T., Terao J., Kondo K. (2002).** Catechins and their oligomers linked by C4-C8 bonds are major cacao polyphenols and protect low-density lipoprotein from oxidation in vitro. *Exp. Biol. Med.* (Maywood), **227** :51-6.
- ❖ **Ozenda, P. (2000).** Les végétaux, organisation et diversité biologique. Edition, Dunod, Paris. p315.

P

- ❖ **Packer L. (2001).** Flavonoids and other polyphénols. Ed Academic Press, California, p483.
- ❖ **Paris M., Hurabielle M.; (1981).** Abrégé de matière médicale «Pharmacognosie». Tome 1, Generalities, Morphologies. Ed. Masson, Paris. pp : 256-266.
- ❖ **Peronny S. (2005).** La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta).Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle .Discipline Eco-Ethologie .p151.
- ❖ **Podsdek, A. (2007).** Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT*. **40**:1-11.

- ❖ **Puppo A. (1992).** Effect of Flavonoids on Hydroxyl Radical Formation by Fenton-Type Reactions; Influence of the Iron Chelator. *Phytochemistry*, **31**(1), 85-88.

Q

- ❖ **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.
- ❖ **Quezel P, Santa S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions du centre national de la recherche scientifiques, Paris. Tome IS
- ❖ **Quezel, P., Médail, F. (2003).** Ecologie et biogéographie des forêts méditerranéens. Edition Scientifique et Médicale, Elsevier SAS, Paris. p292.

R

- ❖ **Rahal S. (2004).** Chimie des produits naturels et des êtres vivants. O.P.U. Edition. p.162
- ❖ **Ré D. B., Nafia I., Nieouon A., Kerkerian Le Goff L., Had-Aissouni L. (2005).** Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implications sur la survie neuronale. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, **24** : 502-509.
- ❖ **Ribéreau-Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod. Paris. pp : 173-201.
- ❖ **Rice-Evans C. A., Packer L. (2003).** Flavonoids in health and disease. Eds. Marcel Dekker, New York. pp : 205-231.
- ❖ **Richter G. (1993).** Composés phénoliques in *Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie.* Ed Presse polytechnique et universitaire romande. pp: 317-339.

S

- ❖ **Sanchez de Medina F., Gamez M. J., Jimenez I., Jimenez J., Osuna J. I., Zarzuelo A. (1994).** Hypoglycemic activity of juniper berries. *Planta Medica*, **60** :197-200.
- ❖ **Santos-Buelga C., Scalbert A. (2000).** Proanthocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of Sei. FoodAgric.* **80**:1094-1117.

- ❖ **Sarni-Manchado P. et Cheynier V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Tec & Doc Lavoisier. P: 02-11.
- ❖ **Sassi AB, Harzallah-Skhiri F, Bourgougnon N, Aouni M. (2008).** Antiviral activity of some Tunisian medicinal plants against herpes
- ❖ **Seca AM, Silva AM, Bazzocchi IL, Jimenez IA. (2008).** Diterpene constituents of leaves from, *Juniperus brevifolia*. *Phytochemistry*, **69**(2): 498-505
- ❖ **Senevirathne, M., Kim, S.H., Siriwardhana, N., Ha, J. H., Lee, K.W., and Jeon, Y.J. (2006).** Antioxidant potential of *Ecklonia Cava* on reactive oxygen species scavenging, metal chelating, reducing power and lipid peroxidation inhibition. *Food science and Technology International*, **12**(1): 27-38.
- ❖ **Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Rizner-Hras, A., Simonic, M., Knez, Z. (2005).** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. **89**: 191–198.
- ❖ **Siddhuraju, P., Becker, K. (2007).** The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) seed extracts. *Food Chem*, **101**: 10-19.
- ❖ **Singleton, V. L., Rossi, J. R. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphothungstic acid. *Am. Jornal of Enol. Vitic*, **16**: 144–158.
- ❖ **Stassi, V., Verykokidou, E., Loukis, A and Harvala, C. (1998).** Polyphenolic compounds from the leaves of *Juniper-us oxycedrus* L. subsp. *macrocarpa* (Sm.) Ball. *Journal of Pharmaceutics Acta Helvetiae*. **72**: 311-312.
- ❖ **Swanston-Flatt S. K., Day C., Bailey C. J., Flatt P. R. (1990).** Traditional plant treatments for diabets. Studies in normal and streptozotocin diabetic mice. *Diabetologia*, **33** :462-464.

T

- ❖ **Tavares L, Gordon J, Fortalezasa S, Stewart D, Ricardo BF, Cláudia N. (2012).** The neuroprotective potential of phenolic-enriched fractions from four *Juniperus* species found in Portugal. *Food Chemistry*, **135** (2): 562-570.
- ❖ **Taviano, M.F., Marino, A., Trovato, A. and Bellinghieri, V. (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. *Journal of Food and Chemical Toxicology*, **58**: 22–29.

- ❖ **Teixeira B., Marques A., Ramos C. (2013).** Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products*, **43**: 587–595.
- ❖ **Trabut L. (2006).** Noms indigènes des plantes d’Afrique du Nord. Edition Ibis Press Paris. p. 139.

V

- ❖ **Van Bol J-M. (2007);** jardin des plantes à couleurs, Editeur responsable: secrétaire communal. pp: 68.
- ❖ **Vermerris, W. et Nicholson, R. (2006).** Phenolic Compound Biochemistry. Ed, Springer. pp: 230.

W

- ❖ **Wallach O. (1887).** - Zur Kenntnis der Terpene und ätherischen Oele. – *Justus Lieb. Ann. Chem.*, 238, 78-89.
- ❖ **Willem J.P. (2009).** 60 maux soignés par les huiles essentielles : l’aromathérapie au quotidien pour toute la famille, Les mini pockets de santé. pp : 7-17.

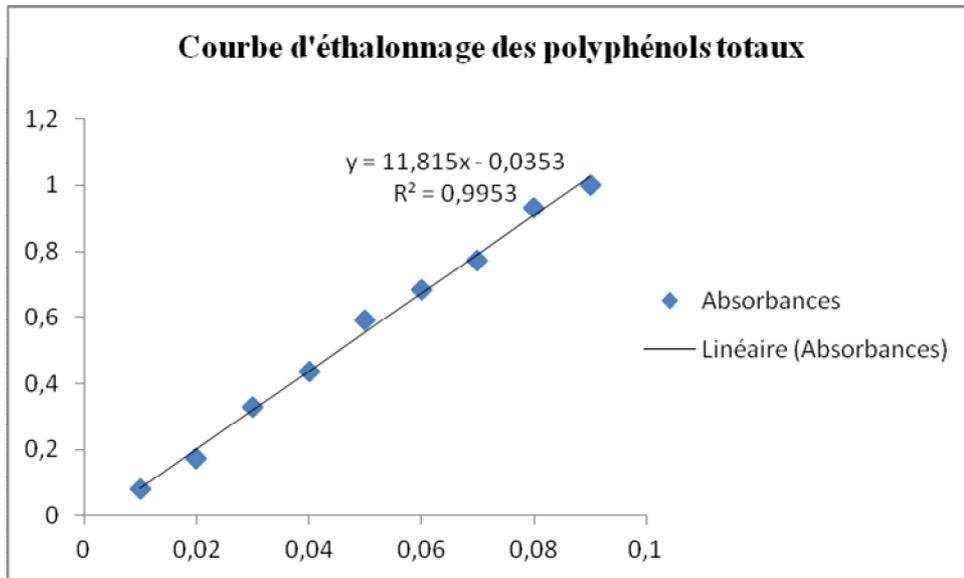
Y

- ❖ **Yoo K-M., Lee C-H., Lee H., Moon B-K., Lee C-Y. (2008).** Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. *Food chemistry*, **106**: 929-936.

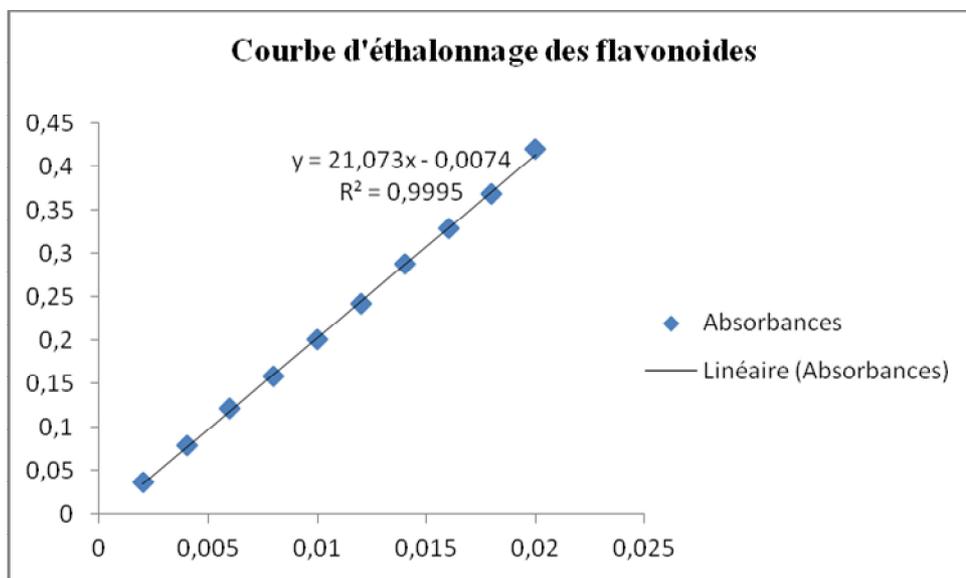
Z

- ❖ **Zambonelli A., D'Aurebo A.Z., Severi A., Benvenuti E., Maggi L., Bianchi A. (2004).** Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of thymus vulgaris L. *Jornal of Essent. Oil Res.*, **16**(1): 69-74.
- ❖ **Zubia, M., Robledo, D. and Freile-Pelegrin, Y. (2007).** Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Appl Phycol*, **19**: 449-458.

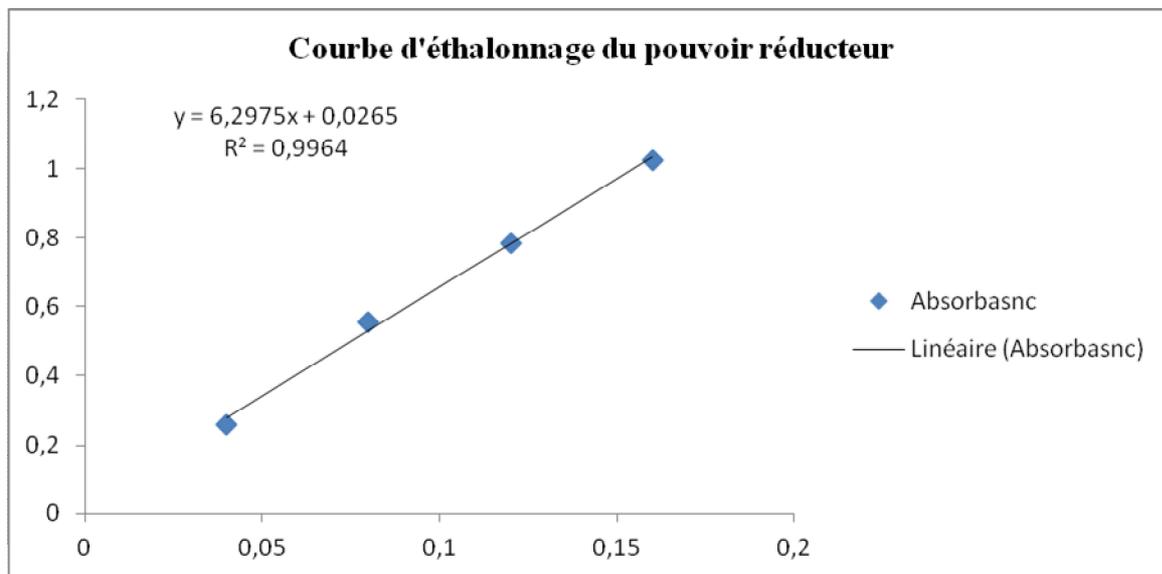
Annexe n° 01 : Courbe d'étalonnage des polyphénols (le standard utilisé est l'A. gallique)



Annexe n° 02 : Courbe d'étalonnage des flavonoides (le standard utilisé est la Quercétine)



Annexe n° 03 : Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur (le standard utilisé est l'A. ascorbique)



Résumé :

Dans cette étude nous avons quantifié les métabolites secondaires (composés phénoliques et huiles essentielles) et étudié leurs activités antioxydantes chez les individus mâles et femelles de l'espèce *Juniperus oxycedrus* provenant de quatre stations à différentes altitudes.

Morphologiquement, les individus issus des stations de basses altitudes (Taref dunes, Taref forêt et Jijel) présentent les aiguilles (1,86cm de longueur, 1,81cm de largeur) et les cônes (1,45cm de longueur, 1,41cm de largeur) les plus longues et les plus larges par rapport aux écailles (1,47cm de longueur, 1,41cm de largeur) et aux cônes (0,96cm de longueur, 0,89cm de largeur) collectés dans la station de Djurdjura (haute altitude). Le dosage des composés phénoliques a révélé que les individus mâles (polyphénols totaux : 81,18mgEAG/gms ; flavonoïdes : 08,34mgEQ/gms et tanins condensés : 0,049mgEC/gms) enregistrent les teneurs les plus élevées dans les stations de basses altitudes, et dans la station de Djurdjura ce sont les individus femelles qui en produisent les fortes valeurs (Polyphénols totaux : 74,78 mg EAG /g ms ; flavonoïdes : 09,05 mg EQ/gms et tanins condensés : 0,049 mgEC/gms). Les résultats suivent la même tendance pour le pouvoir réducteur et l'activité de piégeage du radical DPPH.

Enfin, les individus femelles fournissent les rendements les plus élevées (0, 37%) en huiles essentielles par rapport aux mâles (0,15%) et ce quelque soit l'altitude de la station.

Mots clés : *Juniperus oxycedrus*, morphométrie, composés phénoliques, huile essentielle, effet anti-oxydant.

Summary:

In this study we quantified secondary metabolites (phenolic compounds and essential oils) and studied their antioxidant activity in males and females of the species *Juniperus oxycedrus* from four stations at different altitudes.

Morphologically, individuals from the stations of low altitude (Taref dunes, forest and Taref Jijel) present the needles (1,86cm in length, width 1,81cm) and cones (1,45cm in length, width 1,41cm) longer and wider with respect to the scales (1,47cm length, width 1,41cm) and cones (0,96cm length, width 0,89cm) collected in the Djurdjuran station (high altitude).

The dosage of phenolic compounds revealed that males (total polyphenols: 81,18mgEAG / gms; flavonoids: 08,34mgEQ / gms and condensed tannins: 0,049mgEC / gms) have the highest levels in the stations of lower altitudes, Djurdjura and the station are the female plants that produce high values (total polyphenols: EAG 74.78 mg / g ms; flavonoids: 09.05 mg EQ / gms and condensed tannins: 0.049 MgEC / gms). The results follow the same trend for the reducing power and the trapping activity of DPPH radical.

Finally, the female individuals provide the highest returns (0, 37%) essential oils compared to males (0.15%) and whatever the altitude of the station.

Keywords: *Juniperus oxycedrus*, morphometry, phenolic compounds, essential oil, antioxidant effect.

ملخص :

في هذه الدراسة حسبنا كمية المركبات الثانوية (مركبات الفينول والزيوت العطرية) ودرسنا النشاط المضاد للأوكسدة في الذكور والإناث من الأنواع عرعر شربيني من أربع محطات على ارتفاعات مختلفة.

شكليا: الأفراد من محطات علو منخفض (الكتبان الطارف والغابات والطارف جيجل) تقديم الإبر (1,86 سم في الطول , 1,81 سم في العرض) والفواكه (1,45 cm في الطول، 1,41 cm عرض) لفترة أطول وأوسع فيما يتعلق المقاييس (طول 1,47 cm، العرض 1,41 cm) والفواكه طول 0,96 cm، العرض 0,89 cm) التي تم جمعها في محطة جرجرة علو مرتفع .

كشفت جرعة من المركبات الفينولية أن الذكور (مجموع البوليفينول: 81,18 / mgEAG غرام، فلافونيدات: 08,34 / mgEQ غرام والعفص مكثف: 0,049 / mgEC غرام) وتحتوي على أعلى المستويات في محطات ارتفاعات منخفضة، والمحطة جرجرة، النباتات إناث هي التي تنتج الإناث القيم العالية (مجموع البوليفينول 74.78 EAG : ملغ / غ. فلافونيدات: مكافئ 09.05 ملغ / غ والعفص مكثف: 0.049 / MgEC غرام) . وهنا النتائج تفوق نفس الاتجاه لقوة الحد والنشاط محاصرة من DPPH جذري.

وأخيرا، توفير الأفراد الإناث أعلى العوائد (0,37٪) الزيوت الأساسية مقارنة بالذكور (0,15٪) ومهما كان ارتفاع المحطة.

كلمات البحث : عرعر شربيني، قياس الأشكال، المركبات الفينولية، من الضروري النفط، وتأثير مضاد للأوكسدة .

CAPITRE I

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE II

MATERIELS ET METHODES

CHAPTRE III

RESULTATS ET DISCUSSIONS

