

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة  
UNIVERSITE 20 AOUT 1955-SKIKDA



Faculté des sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

Intitulé

**Etude *in vitro* du potentiel antioxydant des extraits de *Juniperus phoenicea*.**

Présenté par : KETTOUCHE Raouda

LABOUDI Djihane

MEDJANI Mina

MEKSEN Wafa

Membre de jury :

Mme LAOUAR A

Présidente

Université 20 aout 1955 - Skikda

Mme BOUHADDOUDA N

Directrice de mémoire

Université 20 aout 1955 - Skikda

Mme OUAMANE S

Examinatrice

Université 20 aout 1955 - Skikda

Année universitaire 2021/2022



## *Remerciements*

*Avant tout, nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la force, la volonté et la patience d'entamer et de terminer ce travail.*

*Nous tenons à remercier notre encadrante Mme Bouhaddouda Nabila, pour son encadrement, son aide précieuse durant toute la période de travail et sa gentillesse.*

*Nous adressons aussi nos sincères remerciements aux membres de jurys Mme Ouamane S. et Mme Laouar A. pour avoir bien voulu juger notre travail.*

*Nous remercions toutes les ingénieurs des laboratoires de l'université de Skikda où on a effectué ce travail pour leur serviabilité et leur encouragement.*

*Nos remerciements s'étendent également à tous les enseignants de notre département de biologie.*

*Enfin, un grand « merci » se lance vers nos très chers parents qui ont toujours été là pour nous.*



## *Dédicace*

*À ma très chère mère*

*Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier  
comme il se doit, ton affection me couvre, ta bienveillance me  
guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force  
pour affronter les différents obstacles.*

*À mon très cher père*

*Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager,  
que ce travail traduit ma gratitude et mon affection*

*À mes très chers frères Afif et Abderahmane*

*Puisse dieu vous donne santé, bonheur et surtout réussite*

*À ma meilleure amie Bouchra pour les fabuleux moments passés  
ensemble*

*Sans oublier mes collègues de travail Djihane, Wafa et Mina*

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

*Raouda*



## *Dédicace*

*C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde, mes chers parents, tout l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers vous, pour m'avoir comblé d'amour et d'affection, de m'avoir soutenu jusqu'au bout, sans vous je n'aurai jamais pu atteindre mon objectif*

*A mon très cher frère 'HOUSSEM EDDINE' que dieu te protège, t'accorde santé, et plein de bonheur dans ta vie*

*A ma très chère sœur 'FATIMA ZOHRRA' je ne pourrais jamais imaginer la vie sans toi, je n'oublierais jamais ton encouragement et ton soutien le long de mes études.*

*A mon adorable neveu MOHAMED, que dieu le protège et le bénisse.*

*A ma meilleure amie d'enfance, ma complice Wafa, un bonheur de t'avoir dans ma vie.*

*A mes collègues de travail Raouda, Mina et Wafa, en souvenir des bons et mauvais moments passés ensemble durant la réalisation de ce travail.*

*Djihane*



## *Dédicace*

*Je suis heureuse de dédier ce travail à ma chère mère, qui a toujours été avec moi et m'a soutenu, c'est son amour et sa confiance en moi qui m'ont fait atteindre ce niveau.*

*À mon cher père, j'ai toujours souhaité que tu sois avec moi. J'aimerais te rendre fier de moi.*

*À mes frères Mehdi, Djamel El-Din et Walid, qui m'ont toujours soutenu. Qui je sais, seront toujours là pour moi.*

*À mon cher frère Abd el Feteh, j'aimerais que tu sois avec moi. Tu m'as toujours motivé, tu as eu confiance en moi et dans mes choix, J'espère que je t'ai rendu fier de moi.*

*À ma nièce bien-aimée Rayane et à ma chère grand-mère.*

*À tous mes amis, en particulier Djouhaina Rania et Amina, amies les plus proches de mon cœur, merci pour votre soutien et d'être toujours avec moi.*

*À mes collègues de travail Wafa, Raouda et Djihane*

*Enfin, à moi, Merci car je me faisais confiance, j'avais confiance dans mes choix, je n'ai pas hésité et je n'ai pas reculé, Je suis restée fidèle à mes décisions jusqu'à la dernière minute. À la fin, J'ai eu ce que je voulais, merci beaucoup.*

*Mina*



## *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire à mes chers parents, ma raison de vivre pour leur soutien tout au long de mon parcours, leur patience, leur encouragement et surtout leur amour, j'espère que je vous ai rendu fier de moi*

*A mes chers frères Adel, Mohamed réda, Ramzi*

*A ma très chère sœur Ikram, ma confidente*

*A mes chères nièces Tasnime, Israa Nourhane, Jouri*

*A mon neveu Ilyes abd eldjilil*

*A mon cher fiancé qui a toujours été à mes cotés*

*A ma meilleure amie Djihane, je n'oublierai jamais tous les moments passés ensemble*

*A mes collègues de travail Raouda et Mina*

*Wafa*

# Table des matières

Resumés

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

## Introduction

## CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

<b>I</b>	<b>La phytothérapie</b>	3
I.1	Historique	3
I.2	Définition de la phytothérapie	5
I.3	Principes actifs des plantes médicinales	6
I.4	Les avantages et les inconvénients de la phytothérapie	9
<b>II</b>	<b>Les huiles essentielles</b>	10
II.1	Définition	10
II.2	Localisation des huiles essentielles dans la plante	10
II.3	Caractères physico-chimiques	10
II.4	Méthode d'extraction des huiles essentielles	11
II.5	L'activité biologique des huiles essentielles	13
<b>III</b>	<b>Les polyphénols</b>	13
III.1	Définition des composés phénoliques	14
III.2	Classification des polyphénols	14
III.3	Localisation des polyphénols dans la plante	18
III.4	Méthodes d'extraction des polyphénols	18
III.5	Propriétés biologiques des polyphénols	19
<b>IV</b>	<b>Stress oxydant et antioxydants</b>	20
IV.1	Stress oxydant	20
IV.2	Les antioxydants	23

<b>V</b>	<b>Présentation de la plante étudiée</b>	25
V.1	Description Botanique du <i>Juniperus phoenicea</i>	25
V.2	Classification de l'espèce étudiée	27
V.3	La répartition géographique du <i>Juniperus phoenicea</i>	27
V.4	Utilisation de l'espèce étudiée en médecine traditionnelle :	28

## **CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES**

<b>I</b>	<b>Matériel</b>	29
I.1	Matériel végétal	29
I.2	Réactifs chimiques et solvant	31
<b>II</b>	<b>Méthodes</b>	31
II.1	Extraction des huiles essentielles (hydrodistillation)	32
II.2	Extraction des polyphénols totaux	33
II.3	Etude de l'activité antioxydant	37

## **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>I</b>	<b>Extraction des HEs</b>	39
<b>II</b>	<b>Extraction des polyphénols</b>	40
II.1	Dosage des polyphénols totaux	41
II.2	Dosage des flavonoïdes	42
<b>III</b>	<b>Etude de l'activité antioxydante</b>	43
III.1	Méthode DPPH	43
	<b>Conclusion et Perspectives</b>	46
	<b>Références bibliographiques</b>	47

### Résumé

Notre étude a principalement porté sur l'évaluation de la capacité antioxydante d'une plante médicinale appartenant aux plantes méditerranéennes algériennes, à savoir le Genévrier de Phénicie.

L'extraction de l'huile essentielle (HE) par hydrodistillation révèle un rendement de 0,41%. Alors que l'extraction par macération des composés phénoliques des feuilles sèches de *Juniperus phoenicea* a été réalisée par le méthanol à 80% pour obtenir l'extrait brut contenant les phénols totaux, elle a donné un rendement de 25%.

Les dosages montrent que l'extrait brut des feuilles et des cônes du genévrier de Phénicie ne sont pas riches en polyphénols totaux ( $49,23 \pm 0,23$  mg EAG/g d'extrait) ni en flavonoïdes ( $10,12 \pm 0,18$  mg EQ/g d'extrait).

L'activité antioxydante a été estimée à l'aide de la DPPH, ce test de DPPH révèle que l'huile essentielle possède un faible potentiel antioxydant avec un pourcentage d'inhibition maximale de 2,52% à une concentration de 1mg/ml. Alors que l'extrait méthanolique exhibe un pouvoir antioxydant remarquable avec une valeur d'IC<sub>50</sub> égale à 17,11µg/ml.

**Mots clés :** *Juniperus phoenicea*, huile essentielle, extrait méthanolique, polyphénols totaux, flavonoïdes, activité antioxydante, DPPH.

## Abstract

Our study focused on the evaluation of the antioxidant capacity of a medicinal plant belonging to the Algerian Mediterranean plants, namely, Phoenician juniper.

The extraction of the essential oil (EO) by hydrodistillation reveals a yield of 0,41%. While the extraction by maceration of phenolic compounds from dry leaves of *Juniperus phoenicea* was performed by methanol at 80% to obtain the crude extract containing total phenols, it gave a yield of 25%.

The assays show that the crude extract of the leaves and cones of *Juniperus phoenicea* are not rich in total polyphenols ( $49,23 \pm 0,23$  mg EAG /g of extract) nor flavonoids ( $10,12 \pm 0,18$  mg EQ/g).

Antioxidant activity was estimated using DPPH, this DPPH test reveals that the essential oil has a low antioxidant potential with a maximum inhibition percentage of 2,52% at a concentration of 1 mg /ml. while the methanolic extract exhibits a remarkable antioxidant power with an  $IC_{50}$  value equal to  $17,11\mu\text{g/ml}$ .

**Key words:** *Juniperus phoenicea*, essential oil, methanolic extract, total phenolic content, flavonoid content, antioxidant activity, DPPH.

## ملخص

ركزت دراستنا بشكل أساسي على تقييم القدرة المضادة للاكسدة لنبات طبي ينتمي الى نباتات البحر الابيض المتوسط الجزائرية, و هي العرعار الفينيقي.

يكشف استخراج الزيوت الأساسية عن طريق التقطير المائي عن عائد 0,41%. بينما تم استخلاص المركبات الفينولية بالنقع من من لأوراق الجافة لنبات العرعر الفينيقي بنسبة 80% من الميثانول للحصول على المستخلص الخام المحتوي على الفينولات الكلية, فقد أعطت عائد: 25%.

تظهر التحاليل ان المستخلص الخام لأوراق و مخاريط العرعر الفينيقي ليس غني بمجموع البوليفينول الكلي ( $49,23 \pm 0,23$  مجم/ مل من المستخلص) و لا في الفلافونويد ( $10,12 \pm 0,18$  مجم ما يعادل كيرسيتين/ جم) .

تم تقدير النشاط المضاد للاكسدة باستخدام الجذر الحر, يكشف اختبار الجذر الحر هذا ان الزيت العطري يحتوي على إمكانات منخفضة لمضادات الاكسدة مع نسبة تثبيط قصوى تبلغ 2,52% بتركيز 1 مجم/ مل. بينما يظهر المستخلص الميثانولي قوة ملحوظة من مضادات الاكسدة بتركيز الموافق للتثبيط النصفى بقيمة 17,11 ميكروغرام / مل .

**الكلمات المفتاحية :** العرعار الفينيقي ، الزيوت الأساسية, المستخلص الخام ،البوليفينول الكلي , النشاط المضاد للاكسدة , DPPH.

## Liste des abréviations

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

**AND**: Acide désoxyribonucléique.

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

**EAG**: Equilibre acide gallique.

**EQ**: équivalent quercétine.

**ERO** : espèce réactif de l'oxygène.

**FVT** : flavonoïdes totaux.

**HE** : huile essentiel.

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

**JP**: Juniperus phoenicea.

**MS**: Matière sèche.

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

**PI**: pourcentage d'Inhibition.

**PPT** : polyphénols totaux.

**SO** : stress oxydatif.

**SOD**: super oxyde dismutase.

**UV** : ultra violet.

## Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Structure du noyau phenol.	14
02	Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques	15
03	Structure chimiques de quelques dérivés de l'ester.	15
04	Composition chimique du resvératrol.	15
05	Structure chimique du monlignol.	15
06	Représentation des trois types d'alcool.	15
07	Structure chimique du coumarins	16
08	Structure de base des flavonoïdes.	16
09	Structure de flavane.	16
10	Structure de flavanone.	16
11	Structure de flavone.	17
12	Structure de flavonol.	17
13	Structure d'isoflavone.	17
14	Structure d'acide gallique et tanin hydrolysable.	17
15	Structure du tanin condensé.	17
16	Déséquilibre de la balance entre oxydant et antioxydant (SO).	20
17	Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant.	21
18	Origine des espèces réactives de l'oxygène.	22
19	Aspect du genre <i>Juniperus phoenicea</i> .	26
20	Feuilles et fruits de <i>J.phoenicea</i> .	27
21	Les fruits du <i>Juniperus phoenicea</i> .	27
22	La répartition du <i>J. phoenicea</i> dans la région méditerranéenne.	28

23	Carte géographique montrant la région de djamaa.	29
24	Photo originale de la plante fraiche.	30
25	Photo originale de séchage de la plante.	30
26	Photo originale de broyage de la plante dans un moulin.	30
27	Photo originale de la poudre.	30
28	Schéma générale du protocole d'étude expérimentale.	31
29	40 g matière végétal sèche.	32
30	Photo original d'Appareil d'hydrodistillation de type de clévenger.	32
31	Les étapes d'extraction des polyphénols.	34
32	Phénomène d'agitation.	34
33	Photo originale du filtrat obtenu.	34
34	Phénomène de filtration.	34
35	Extrait méthanolique de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> .	34
36	Photo originale des tubes à essai pour dosage du DPPH.	38
37	La variation des rendements entre trois régions différentes.	39
38	La variation des rendements entre trois régions différentes.	40
39	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	41
40	Courbe d'étalonnage de la Quercétine pour le dosage des flavonoïdes.	42
41	PI du DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour l'HE, extrait et vit C du <i>Juniperus phoenicea</i> .	43
42	Histogramme de concentration IC <sub>50</sub> (µg/ml) de chaque région.	44

Liste des tableaux

<b>N</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
01	Paramètre géographique de la région de récolte.	<b>30</b>

# *Introduction*

Depuis l'antiquité, nos ancêtres ont toujours essayé de trouver des solutions efficaces pour traiter certaines maladies, soit due à des infections, soit à des troubles dans l'organisme (infections digestif, urinaire, cutanée, intoxication alimentaire, problèmes respiratoires). Avec le temps et l'évolution des sciences et la disponibilité des matériaux, l'homme a réussi à prouver ses capacités dans le domaine de production chimique des principes actifs (antibiotiques, anti-inflammatoire, anti-cancéreux.), mais le recours aux médicaments a présenté des effets secondaires qui peuvent nuire à la santé et ont montré la résistance des microorganismes face à ces substances thérapeutiques. Ceci a suscité les chercheurs à s'intéresser à la phytothérapie.

Une particularité des plantes supérieures est leur capacité à produire un grand nombre de produits chimiques organiques de grande diversité structurale qui sont les métabolites secondaires. Ces derniers, empêchent l'oxydation des molécules biologiques par les radicaux libres (**Berger, 2006**), en particulier, les composés phénoliques qui sont présents dans la quasi-totalité des plantes et sont retrouvés dans presque toutes les parties de la plante mais aussi les huiles essentielles fortement présentes chez les plantes aromatiques.

Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention de nombreuses pathologies notamment, le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires (**Vârban et al., 2009**).

Les plantes médicinales, considérées comme un élément important dans l'élaboration des médicaments et pour la recherche pharmacologique, sont utilisées comme une matière première pour la fabrication des médicaments (**OMS, 1998**), le médicament végétal constitue le mode de traitement le plus répandu dans le monde entier, 75 % des médicaments trouvés dans les pharmacies, sont d'origine végétale, 25% restant contiennent au moins une substance active d'origine végétale (**Abdeli, 2018**).

Aussi, les antioxydants de synthèse comme le butylhydroxytoluène (BHT), le butylhydroxyanisole (BHA), les gallates de propyle, octyle et de dodécyle, sont inclus dans toutes les formulations alimentaires contenant des corps gras insaturés et parfois aussi dans des phases aqueuses où se trouvent des extraits végétaux riches en oxydases (**Bouhadjra, 2011**).

L'utilisation de ces produits synthétiques avec des concentrations élevées augmente le risque d'intoxication des éléments alimentaires, quasiment à la consommation des antioxydants sous forme de complément cela ne peut pas compenser les bienfaits d'une matière végétale ayant les éléments nécessaires naturellement (**Paulsen et al., 2014**).

Donc l'utilisation des huiles essentielles et des polyphénols présente des avantages sur l'environnement et la santé, où leur importance réside dans le fait qu'ils sont des composés naturels qui ne présentent aucun danger à la consommation (**Ben Miri, 2019**).

L'Algérie avec son climat varié et sa grande superficie possède différentes espèces naturelles désignant un patrimoine phytogénétique très important dans l'équilibre écologique (**Snoussi et al., 2003**). Dans cette intention, nous nous sommes intéressés à l'espèce *Juniperus phoenicea*, une espèce répandue sur l'ensemble du littoral, commune dans les Aurès et l'atlas saharien (**Bouyahyehoui, 2011**).

L'objectif de ce présent travail s'inscrit dans le cadre d'approfondir les connaissances sur l'espèce de *Juniperus phoenicea* et la valoriser en évaluant l'activité antioxydante de son huile essentielle et son extrait méthanolique.

Notre travail est structuré en deux parties, une partie théorique, et une partie expérimentale.

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique présentant :
  - L'historique de la phytothérapie, bienfaits et inconvénients.
  - L'activité et la propriété biologique des huiles essentielles et des polyphénols.
  - Le stress oxydant et les antioxydants.
  - Une description générale de la plante étudiée.
  
- La partie expérimentale est scindée en :
  - Matériels et méthodes utilisés pour la réalisation des différents protocoles (l'extraction des huiles essentielles, des composés phénoliques, leur dosage et l'évaluation de leur activité antioxydante).
  - Présentation et discussion de l'ensemble de résultats obtenus.

A la fin nous terminons par une conclusion générale qui résumera nos résultats obtenus.

# **Chapitre I : Synthèse bibliographique**

### **I La phytothérapie :**

#### **I.1 Historique :**

La phytothérapie est l'une des plus anciennes méthodes utilisées en auto-traitement. Il n'y a pas de civilisation dans laquelle on ne la trouve pas. L'Inde, ou la mère de la phytothérapie telle qu'elle est connue aujourd'hui, a donné plusieurs directives concernant la pharmacopée et les différentes méthodes de son application. En effet, le traitement des plantes, depuis son apparition, est une médecine à part entière, naturelle, puissante et complexe à la fois. Plusieurs considérations sont prises, à savoir : la composition de la plante, ses différentes parties et son utilisation, les méthodes de préparation et la période de sélection. Cet enseignement, toujours vivant aujourd'hui, a été transmis oralement pendant plusieurs siècles, avant d'être écrit vers 1500 av. Quant aux Arabes, aux Latins, aux Grecs, aux Perses et aux Egyptiens, ils tirent leurs connaissances de leurs voyages et de leur pays d'origine (**Verbois, 2015**).

#### **- Babylone et Sumer :**

Des compositions médicinales à base de plantes, telles que le myrte, le chanvre, le pavot, la jusquiame, le thym et le saule, ont été mentionnées par six cents tablettes d'argile à base de plantes datant de 3000 av J-C (**Verbois, 2015**).

#### **- Le monde chinois :**

En Chine, l'origine de la médecine chinoise remonte à trois dynasties régnantes : Xia, Shang et Zhou, vers 2000 av. Il a été développé en parallèle avec la pharmacopée populaire et a été officiellement étudié en 1950. Le groupe de Li Shizhen avec 1892 matériaux médicinaux en témoigne (**Iserin, 2001**).

#### **- Le monde égyptien :**

En 1862, l'une des plus anciennes lettres médicales écrites, le papyrus Ebers (1600 av. J.-C.), a été découverte par Edwin Smith à Louxor. Il se compose de 877 paragraphes, dans lesquels de nombreuses maladies sont décrites, telles que les maladies gynécologiques, les maladies digestives et l'ophtalmologie, en plus des troubles mentaux (tels que la dépression ou la démence), en plus des prescriptions médicales correspondantes. Il mentionne plus de 700 plantes, nous prenons comme exemple : le safran, la myrrhe, l'aloevera, l'encens ... (**Verbois, 2015**).

### - Le monde persan :

Ibn Sina (980-1037) a laissé une empreinte solide sur la pensée médicale arabe et occidentale. Là où il entendait décrire les symptômes de toutes les maladies connues de son temps, y compris la psychiatrie, et où il se préoccupait des moyens de maintenir la santé tout en perpétuant les principes de Galien, et c'est avant tout (**Verbois, 2015**).

### - Le monde gréco-latin :

600 plantes à usage médicinal ont été décrites par Dioscoride dans son ouvrage *De materia medica*. A la recherche d'une cause naturelle qui ne soit plus une cause magique de maladie, Hippocrate va jeter les bases de la médecine scientifique.

La classification des plantes par Théophraste dans son ouvrage *Historia plantarum*, ou encore Celsus, Galien et Pline. Un compte rendu précis des plantes a déjà été donné, ainsi que des ingrédients entrant dans la composition des onguents, parfums, cosmétiques, poudres, de remèdes sont désignés sous les noms suivants : aromata, thumatia, condimenta, theriaca, anodins (d'anodynus), species, ou épices (**Verbois, 2015**).

### - L'inde :

En Inde, depuis des milliers d'années, la médecine ayurvédique a largement prévalu. Là où de nombreuses traditions d'herboristes hindous trouvent leur origine loin dans l'histoire et parmi les ouvrages qui les attestent, le titre *CharakaSamhita*, qui décrit 341 plantes aux vertus curatives ainsi que des remèdes d'origine animale et minérale (**Iserin, 2001**).

Ils ont créé une classification unique et sophistiquée après avoir remarqué les interactions entre la plante, son dosage et les effets secondaires de certains des ingrédients actifs. Pour cette raison, avant d'introduire une plante, ils prennent en compte plusieurs éléments (**Verbois, 2015**) :

- Étudier la valeur thérapeutique de chaque plante afin d'augmenter, de diminuer ou d'équilibrer la douche.
- Prendre en compte l'effet de la plante dès son absorption sur l'organisme.
- Respecter des règles précises et un dosage précis lors de la préparation des soins et des prescriptions en matière de médecine ayurvédique.
- Analyser les combinaisons de produits biochimiques naturels, de saveurs et d'énergie et voyez comment ils affectent l'humeur.

Ce traitement est l'une des plus anciennes médecines traditionnelles encore appliquées à ce jour (**Verbois, 2015**).

### - **Le monde arabe :**

Au Moyen Âge, à la suite de l'épanouissement de la civilisation arabo-islamique, d'excellents médecins et pharmaciens qui furent à l'origine d'importantes découvertes apparurent. Prenons l'exemple d'Avicenne (Ibn Sîna), qui est considéré comme un pionnier de l'aromathérapie grâce à l'invention de la distillation qui permet l'extraction des huiles essentielles (**Erickson, 2000**), et introduisit également l'usage thérapeutique du rite (*Taxusbaccata*) mentionné dans "La loi de la médecine" comme traitement pour le cœur. Il s'agissait de la première utilisation connue d'antagonistes du calcium, qui n'ont été utilisés en Occident que dans les années 1960 (**Tekol, 2007**).

### **I.2 Définition de la phytothérapie :**

Du point de vue linguistique, le terme phytothérapie se divise en deux termes distincts qui sont : « phuton » qui signifie « plante », et « therapeia » qui signifie « traitement » de par leur racine grecque (**Gruffat, 2017**).

La phytothérapie, ou l'utilisation des plantes médicinales pour prévenir ou traiter les maladies, est une médecine traditionnelle basée sur les plantes médicinales. C'est une branche de la médecine complémentaire et alternative ou médecine traditionnelle, qui fait référence aux systèmes de médecine traditionnelle et à diverses formes de médecine indigène (**Ernst, 2001**).

On distingue :

### - **La phytothérapie traditionnelle :**

C'est un concept philosophique ou même une idéologie pour certains, ou une justification trouvée dans l'empirisme pour d'autres, c'est la forme la plus controversée de phytothérapie. Les plantes médicinales sont considérées comme le réservoir thérapeutique le plus important depuis de nombreux siècles. En l'absence d'outils médicaux, un corpus de connaissances s'est constitué par l'observation et par l'expérience. Certaines des propriétés médicinales des plantes ont été mises en évidence dans le cadre d'une approche globale. Car au début du XIXe siècle seuls les principes actifs étaient isolés, alors que jusqu'à cette date les plantes ou parties de plantes étaient utilisées telles quelles, sous réserve de peu de transformations (alcool, infusion, infusion...). En effet, l'approche traditionnelle prend un caractère global et intégré qui l'éloigne aujourd'hui de l'approche scientifique médicale occidentale, plus portée vers la purification, l'isolement des substances et la détermination précise des mécanismes d'action des médicaments sur les récepteurs, cellules ou organes (**Jortie, 2015**).

### - La phytothérapie clinique :

C'est une médecine de terrain dans laquelle le patient vient avant la maladie. Il est important d'avoir une approche globale à la fois du patient et de son environnement afin de déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet (**Moreau, 2003**).

### I.3 Principes actifs des plantes médicinales :

Le principe actif c'est une molécule contenue dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé dans l'industrie pharmaceutique (**Pelt, 1980**).

#### I.3.1 Les métabolites primaires :

Sont des molécules organiques présentes dans toutes les cellules de l'organisme de la plante et qui assurent sa survie. Ils sont impliqués dans sa croissance, son développement et sa reproduction. Ces métabolites comprennent, entre autres, les glucides, les lipides et les acides aminés (**Zhang et al., 2012**).

- Les glucides représentent une source d'énergie notamment au niveau des parois cellulaires (Cellulose).

- Les lipides constituent aussi une source d'énergie présente dans les membranes cellulaires.

- Les acides aminés sont une source primaire de construction des protéines (**Diallo, 2000**).

#### I.3.2 Les métabolites secondaires :

##### I.3.2.1 Définition :

Les métabolites secondaires sont soit des produits finaux ou de déchet du métabolisme primaire, soit des substances de réserve sujettes à une mobilisation redirigée (**Marouf et Reynaud, 2007**). Ces molécules bioactives sont produites à différents endroits de la cellule dans des parties spécifiques de la plante en fonction du stade de développement. Ils varient beaucoup selon les espèces et s'accumulent le plus souvent en faible quantité (**Pathak et al., 1962 ; Zobel et Brown, 1990**).

##### I.3.2.2 Classification des métabolites secondaires :

On distingue trois classes principales :

### I.3.2.2.a Les composés phénoliques :

#### ➤ Définition :

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandues dans le règne végétal. Ils sont présents dans tous les fruits et légumes (**Waksmundzka-Hajnos et Sherma, 2011**), et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques tels que la croissance cellulaire et la formation des racines, la germination des graines et la maturation des fruits (**Boizot et Charpentier, 2006**). Ils rassemblent un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules divisées en plusieurs classes chimiques (**Hennebelle et al., 2004**), des molécules simples telles que les acides phénoliques aux substances hautement polymérisées telles que les tanins (**Dai et Mumper, 2010**). Ils font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

#### ➤ Classification :

Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes : les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignanes et les coumestanes, autres phytoestrogènes, les saponines (triterpénoïdes), les phytostérols et les phytostanols. (**Dacosta, 2003**).

### I.3.2.2.b Les alcaloïdes :

#### ➤ Définition :

Ce sont des substances azotées d'origine le plus souvent végétale. Il n'y a que de rares représentants du règne animal (**Bruneton, 1999**). Ils sont doués, à faible dose, de propriétés pharmacodynamiques remarquables et sont reproductibles par synthèse (**Pengelly, 1996**). Ces substances contiennent presque toujours du carbone, de l'hydrogène, de l'azote, et le plus souvent de l'oxygène (**Kalla, 2012**). Le rôle des alcaloïdes dans les plantes est souvent inconnu, et leur importance dans le métabolisme de la plante n'est pas très bien définie (**Bhat et al., 2005**).

#### ➤ Classification :

##### - Les alcaloïdes vrais :

L'azote inclus dans un hétérocycle (**Guignard, 2000**). Ils sont de nature très réactive et ont une puissante activité biologique. Divers acides aminés tel que la L-phénylalanine/L-tyrosine, la L-ornithine, la L-histidine et la L-lysine sont les principales sources de véritables alcaloïdes. Les vrais alcaloïdes les plus courants trouvés dans la nature sont la cocaïne, la morphine et la quinine (**Dey et al., 2020**).

### - Les proto-alcaloïdes :

Ils ne possèdent pas un azote intra-cyclique (**Guignard, 2000**). Le L-Tryptophane et la L-tyrosine sont les principaux précurseurs de ce type d'alcaloïdes. Les principaux alcaloïdes de ce type sont la yohimbine, la mescaline et l'hordénine (**Dey et al., 2020**).

### - Les pseudo-alcaloïdes :

Ils présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (**Bruneton, 1999**). Les exemples très courants de pseudo-alcaloïdes sont la capsaïcine, la caféine, l'éphédrine (**Dey et al., 2020**).

### I.3.2.2.c Les terpènes :

#### ➤ Définition :

Les terpènes représentent la classe la plus vaste et la plus complète de produits secondaires produits par les plantes. Chez les conifères, les terpènes s'accumulent généralement dans les tissus des aiguilles, surtout en grande quantité dans les trichomes glandulaires de la face supérieure des aiguilles (**Phytochemical Society of Europe, 1991 ; Miller et al., 2005**).

Ces molécules se présentent sous forme d'huiles essentielles, hormones (acide abscissique), pigments (carotène) ou stérols (**Hopkins, 2003**).

#### ➤ Classification :

En fonction du nombre total d'unité spentacarbonés  $(C_5H_8)_n$  ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiènes, on peut faire la classification suivante : (**Guignard et al., 1985**).

- Pour  $n = 2$  : les monoterpènes (C10)
- Pour  $n = 3$  : les sesquiterpènes (C15)
- Pour  $n = 4$  : les diterpènes(C20)
- Pour  $n = 5$  : les sesterpènes (C25)
- Pour  $n = 6$  : les triterpènes (C30)
- Pour  $n = 8$  : les polyterpènes

### I.4 Les avantages et les inconvénients de la phytothérapie :

#### I.4.1 Les avantages :

- Aujourd'hui, avec la baisse constatée de l'efficacité des médicaments comme les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) : progressivement bactéries et virus s'adaptèrent aux médicaments et augmentèrent leur résistance à ceux-ci, les plantes médicinales revinrent sur le devant de la scène (**Paul et al., 2001**).
- La phytothérapie est moins chère que la médecine classique. Cette dernière est rendue plus chère par les technologies de santé modernes, qui sont dans de nombreux cas inappropriées et inapplicables aux besoins urgents des populations des pays en développement (**Adjanohoum et al., 2006**).
- Les huiles essentielles occupaient une place importante dans la vie quotidienne des hommes, du fait des nombreuses utilisations qu'elles en faisaient, comme goût alimentaire ou parfum, et même traitement. De nombreux travaux ont été menés dans ce sens, du fait de l'importance des huiles essentielles dans divers secteurs économiques comme l'industrie des parfums et des cosmétiques, la fabrication de produits alimentaires, pharmaceutiques et plus précisément, la branche de l'aromathérapie qui utilise les propriétés bactéricides et fongicides des huiles essentielles (**Afnor, 2000**).
- L'efficacité de la chimiothérapie est également améliorée ou ses effets secondaires réduits en ajoutant une thérapie physique. Aussi, une fois cette chimiothérapie associée aux herbes, ses posologies sont adaptées. De plus, si le patient est incapable d'accepter ou de tolérer les molécules de synthèse, des médicaments à base de plantes peuvent lui être substitués. Citons par exemple le cas des anti-inflammatoires, des antidépresseurs ou encore des anxiolytiques (**Chabrier, 2010**).

#### I.4.2 Les inconvénients :

- Certaines plantes peuvent être dangereuses voire mortelles, mais elles ne seront jamais prescrites, ou le seront à dose minimale (**Zaghad, 2009 ; Mohammedi, 2013**).
- Apporter la preuve de l'efficacité des plantes n'est pas chose aisée. De plus, il existe de nombreuses herbes qui ne sont pas recommandées pour les enfants et les femmes enceintes en raison du danger qu'elles représentent pour eux (**Baba-Aissa, 1991**).
- Un diagnostic erroné peut être très grave, Cela est dû au fait que la phytothérapie repose sur l'auto-traitement. De plus, les préparations locales ne peuvent pas être conservées longtemps,

car des préparations mal conservées peuvent entraîner un empoisonnement plutôt qu'une guérison (Iserin, 2001 ; Nico, 2003).

## II Les huiles essentielles :

### II.1 Définition :

« Produit odorant, généralement de composition complexe obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (Chimedit, 2012).

### II.2 Localisation des huiles essentielles dans la plante :

Les HEs ne se trouvent principalement que dans les plantes supérieures. Les genres qui peuvent produire les composants des huiles essentielles appartiennent à un nombre limité de familles. (Ex : Lauraceae, Myrtaceae, Poaceae, Apiaceae, Asteraceae, etc.).

Les HEs peuvent s'accumuler non seulement dans les fleurs (orangers, roses, lavande), mais également dans tous les types d'organes végétaux, y compris les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier), l'écorce (canneliers), le bois (bois de rose, camphrier), des racines (vétiver), des rhizomes (curcuma, gingembre), les fruits secs (anis, persil), les graines (muscade) (Chimedit, 2012).

Les HEs sont produites dans le protoplasme cellulaire des plantes aromatiques et représentent les produits du métabolisme cellulaire dit "secondaire". La synthèse et l'accumulation de ces métabolites dans un organe sont associées à la présence de structures histologiques spécialisées qui selon l'espèce botanique peuvent être des cellules sécrétrices, des poches sécrétrices, des poils sécréteurs ou des canaux sécréteurs (Derwich *et al.*, 2010).

### II.3 Caractères physico-chimiques :

#### II.3.1 Propriétés physiques :

- Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiantes dans la plupart des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau.
- Leur point d'ébullition varie de 160° à 240°C.
- Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0,75 à 0,99 (les huiles essentielles de saffran, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions).
- Elles ont un indice de réfraction élevé.

- Elles sont dextrogyres ou lévogyres, rarement inactives sur la lumière polarisée.
- Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels.
- Sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas).
- A température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaunes pâles, il existe, cependant, quelques exceptions, exemple : huile essentielle à azulène de coloration bleue.
- Ce sont des produits stimulants, employés à l'intérieur, comme à l'extérieur du corps, Quelque fois purs, généralement en dissolution dans l'alcool ou un solvant adapté (**Abdelouahid et al., 2010**).

### II.3.2 Composition chimique :

La détermination de la composition chimique a intéressée de nombreux chercheurs et les méthodes d'analyse chimique de plus en plus sophistiquées ont permis d'identifier un très grand nombre de constituants des huiles essentielles.

Les HES sont des mélanges plus ou moins complexes dont les constituants jouent, du point de vue parfum, des rôles d'inégale importance : les uns contribuent puissamment à l'arôme de l'essence, certains participent simplement à l'harmonie du mélange.

Les constituants des HES appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents, d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradés mettant en jeu des constituants non volatils (**Abdelouahid et al., 2010**).

### II.4 Méthode d'extraction des huiles essentielles :

Le choix de la méthode est principalement déterminé par la matière première : son état et ses propriétés d'origine, sa nature même. Les rendements « huile essentielle /matière végétale » varient d'une plante à l'autre : de 150 ppm à plus de 20%.

Ce choix détermine les propriétés de l'huile essentielle, notamment : viscosité, couleur, solubilité, volatilité, enrichissement ou appauvrissement de certains composants, utilisation et application (**Chimedit, 2012**).

#### II.4.1 Hydrodistillation :

Cette méthode consiste à évaporer l'HE en chauffant un mélange d'eau ou d'autres solvants avec la plante, suivie par la liquéfaction des vapeurs dans un condenseur, cette dernière étape peut

s'effectuer sans ou avec retour d'eau dans le ballon. Ce recyclage est dit cohobage et le système conçu pour l'opération est appelé Clevenger (**Fabrocini, 2007**). Les principes volatils sont entraînés par les vapeurs d'eau puis refroidis et enfin séparés de la phase par décantation (**Moro-Buronzo, 2008**)

### II.4.2 Enfleurage :

C'est une méthode complexe, elle n'est plus utilisée sauf pour les fleurs. Celles-ci sont étalées délicatement sur des plaques grasses qui absorberont tout le parfum. Les corps gras vont, ensuite, être épuisés par un solvant. Une fois l'arôme des fleurs absorbé, les fleurs sont remplacées par d'autres fraîches, et ceci jusqu'à saturation du corps gras. Au bout de 24 heures, le corps gras et les HEs sont séparés (**Moro-Buronzo, 2008**).

### II.4.3 Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique :

L'extraction de fluide supercritique est un processus consistant à séparer une composante de l'autre en utilisant les fluides supercritiques au lieu d'un solvant d'extraction. Cette méthode est utilisée pour l'extraction des huiles essentielles, dont 90 % d'extraction est exécutée avec le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) pour plusieurs raisons pratiques.

Cette méthode d'extraction produit un meilleur rendement, un coefficient de diffusion plus élevé et une plus faible viscosité. Néanmoins, cette technique est très coûteuse en raison du prix de l'équipement (**Capuzzo et al., 2013**).

### II.4.4 Extraction assistée par micro-onde :

Cette technique est rapide, économique (pas de solvants) et elle n'est pas thermiquement dangereuse (**Mandal et al., 2007**). **Golmakani et al., 2008** ont utilisé avec succès un four à micro-ondes pour l'extraction des principes actifs des plantes. L'efficacité d'hydrodistillation assistée par micro-ondes dépend fortement de la puissance des microondes utilisés (**Brachet et al., 2002**). Le montage utilisé se rapproche d'un montage d'hydrodistillation classique. Le réacteur contenant seulement le matériel végétal est chauffé par les micro-ondes à l'intérieur du four, les vapeurs sont ensuite entraînées dans le col de cygne avant d'être condensées dans le réfrigérant puis recueillies dans un essencier (**Lucchesi, 2006**).

### II.5 L'activité biologique des huiles essentielles :

#### II.5.1 Sur les plantes :

Le rôle des huiles essentielles dans la physiologie de la plante demeure le plus souvent obscur. Cependant, ils sont susceptibles d'avoir des rôles écologiques.

L'odeur qui s'engage fait l'affaire attractif pour les insectes pollinisateurs (**Deroin, 1988**). Aussi, en règle générale, l'huile est une défense naturelle contre les insectes prédateurs, les ravageurs et les micro-organismes, dans ce dernier cas on parle de « phytoalexines ». Cette toxine n'est pas produite uniquement en cas d'infection, donc n'entre pas dans la composition des huiles essentielles à partir de plante saines (**Mann, 1987**).

#### II.5.2 Sur les animaux :

- ✓ Les effets anti-inflammatoires de l'HE de *Protium strumosum*, *Protium lewellyni* et *Protium grandifolium* ont été décrits (**Siani et al., 1999**). Récemment, des recherches ont montré que les HEs *Chromolaena odorata* et *Mikania cordata*, sont testées positivement pour l'inhibition de la lipoxigénase de soja L-1, un modèle de lipoxigénase humaine (5-LO) impliquée dans le processus inflammatoire (**Bedi et al., 2004**). Puis, dans une autre étude, il a été montré que celles de *Chromolaena odorata* ont montré des effets positifs sur la fonction Prostaglandine H-synthase cyclooxygénase (**Bedi et al., 2010**).
- ✓ L'activité antifongique de nombreuses HEs, dont l'huile de thym, de citronnelle, de cannelle et *Melaleuca alternifolia* a été décrite (**Burt, 2004**).
- ✓ Certaines HEs présentent une activité anti-tumorale et sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers. Les HEs isolées des graines de *Nigella sativa L*, présentent une activité cytotoxique *in vitro* contre différentes lignées tumorales. *In vivo*, elle limite la prolifération des métastases hépatiques et retarde la mort des souris ayant développé des tumeurs P815 (**Mbarek et al., 2007**).
- ✓ D'autres applications médicales ont été explorées. Les travaux d'**Oussou, 2009** ont démontré que l'HE de basilic a la capacité de limiter la formation d'ulcères causés par l'éthanol. Une étude de **Monti et al., 2002** a montré que les HEs facilitent la pénétration transdermique des substances médicamenteuses lipophiles, telles que l'œstradiol. Les polyphénols :

Parmi les métabolites secondaires produits par les plantes et qui marquent de façon générale une espèce, une famille, ou un genre de plante, on a les polyphénols : ils permettent de déterminer une taxonomie chimique (Donatien, 2009). Ce sont un groupe important de substances naturelles présent dans le règne végétal (Mehinagic et al., 2011) responsable de diverses actions tels que la protection de la plante contre les pathogènes et le rayonnement ultraviolet (UV), la contribution à la coloration des fleurs et fruits et aussi l'austérité des plantes (Ghnimi, 2015).

### II.6 Définition des composés phénoliques :

Les composés phénoliques font intervenir des monophénols, des diphénols et des polyphénols, leurs molécules contiennent respectivement un, deux ou plusieurs groupes fonctionnels phénoliques (Ghnimi, 2015).

La notion « polyphenol » désigne l'ensemble de substances hydrosolubles qui possèdent un cycle aromatique portant plusieurs groupements hydroxyles (Macheix, 1996), autrement dit l'existence d'un groupement phénol polyhydroxylé (Ghnimi, 2015).

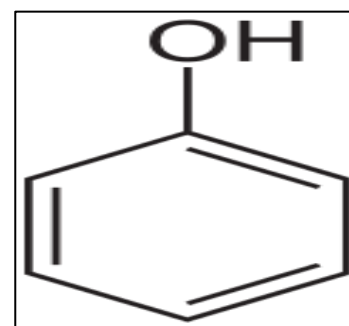


Figure 01 : structure du noyau phénol

### II.7 Classification des polyphénols :

Les polyphénols et selon leur diversité structurale sont subdivisés en plusieurs catégories qui se diffèrent, premièrement, par la complexité du squelette de base en allant d'un simple composé en C5 à des formes hautement polymérisés, ensuite par les degrés d'hydroxylation, d'oxydation, finalement par les liaisons de ces molécules de bases avec d'autres molécules telle que les glucides, les lipides et les protéines (Vauzour, 2004).

Selon Boubekri, (2014) les polyphénols sont subdivisés en deux grands groupes :

#### II.7.1 Les non flavonoïdes :

Les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les lignines et les coumarines (Ghnimi, 2015).

##### II.7.1.1 Les acides phénoliques :

Ce sont les composés qui ne possèdent pas de squelette flavone (Vauzour, 2004), classé en deux principales classes (Muanda, 2010) :

- Les dérivés de l'acide benzoïque qui sont les acides hydroxy benzoïque ( $C_7H_6O_3$ ).

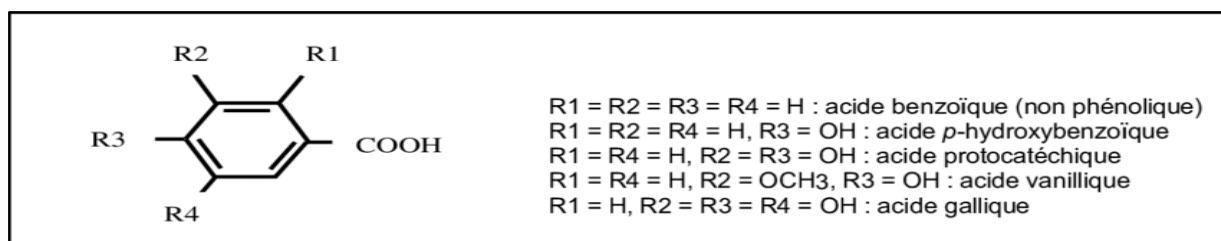


Figure 02 : Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques.

- Les dérivés de l'acide cinnamique qui sont les acides hydroxycinnamiques ( $C_6-C_3$ ).

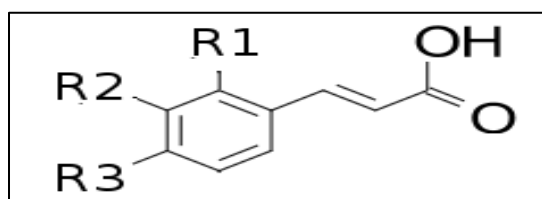


Figure 03 : Structure chimique des dérivés de l'ester hydroxycinnamique

### II.7.1.2 Les stilbènes :

Le resvératrol est l'un des stilbènes et qui se caractérise par son effet anticancéreux (Muanda, 2010).

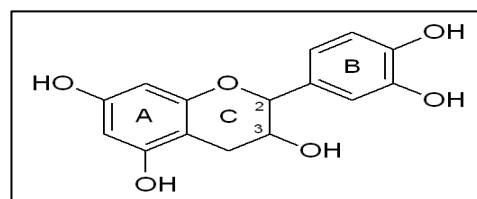


Figure 04 : composition chimique du resvératrol.

### II.7.1.3 Lignane et lignine :

Sont dérivé à partir des monolignols (Muanda, 2010), ils sont formés par dimérisation de trois types d'alcools : alcool *p*-coumarique, alcool coniférique et alcool sinapique (Ghnimi, 2015).

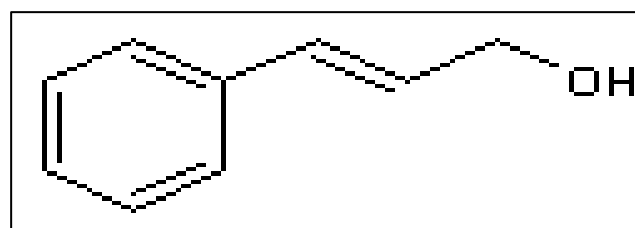


Figure 05 : structure chimique du monlignol.

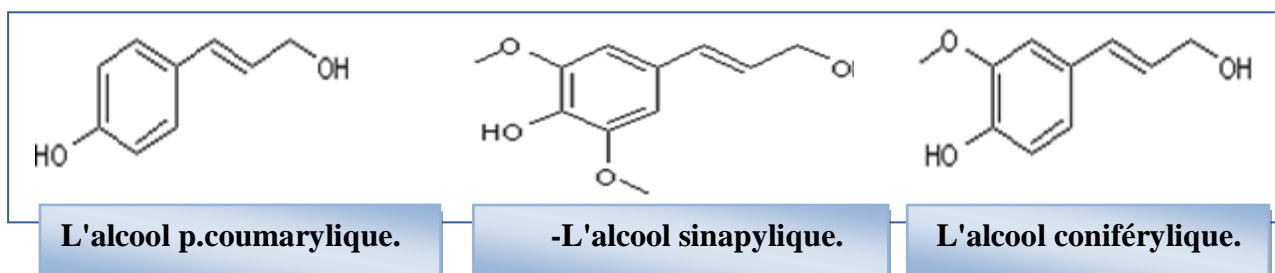


Figure 06 : Représentation des trois types d'alcool

### II.7.1.4 Les coumarines :

Sont ainsi nommés par rapport à leur premier isolement à partir de « *Coumarouna odorata* » en 1820 par Vogel. Ce sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base, Le benzo-2-pyrone (**Muanda, 2010**).

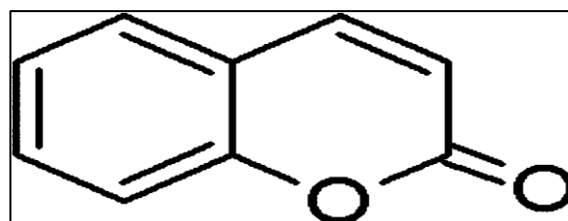


Figure 07 : structure chimique de la coumarine

### II.7.2 Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes correspondent à un important groupe de polyphénols chez les plantes, et sont fréquemment pigmentés responsable de la pigmentation des fruits, fleurs et parfois les feuilles, d'une couleur rouge ou bleu au principe pour les anthocyanes et d'une couleur crème ou jaune clairs pour les flavones et les flavonols (**Bruneton, 1999 ; Ghestem et al., 2001**).

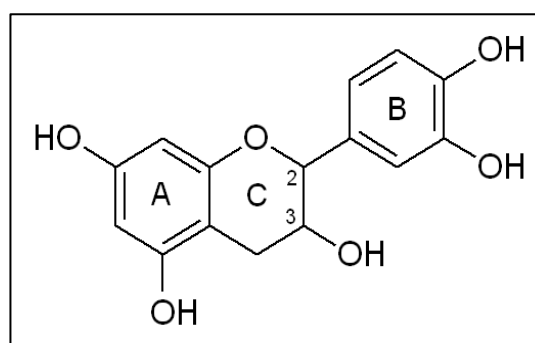


Figure 08 : structure de base des flavonoïdes

**Ghniemi, 2015** les a classés selon degré d'oxydation du noyau pyranique central de leur structure chimique, le noyau B relié à l'hétérocycle C dans les positions 2,3 (**Athamena, 2009**) :

- Le flavonoïde est appelé **Flavane** lorsque l'hétérocycle ne comporte pas de double liaison.
- Si la position 4 de la flavane porte un groupement carbonyle, la flavane est appelé **Flavanone**.
- Si la liaison C2-C3 dans le squelette de la flavanone est insaturée le composé est nommé **Flavone**.
- Si le squelette est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle il est désigné par le nom de **Flavonol**.
- Dans la position 3 : le flavonoïde est désigné par le terme **Isoflavone**

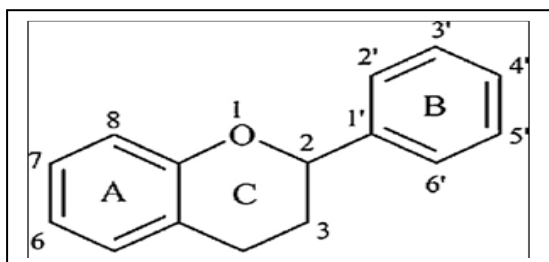


Figure 09 : structure de flavane.

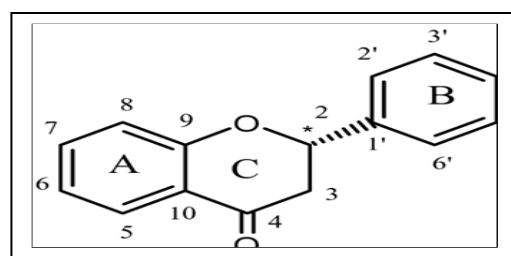
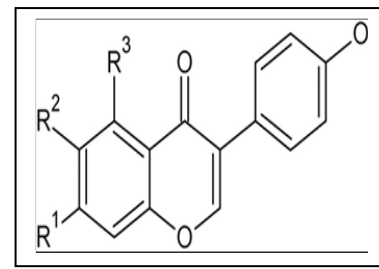
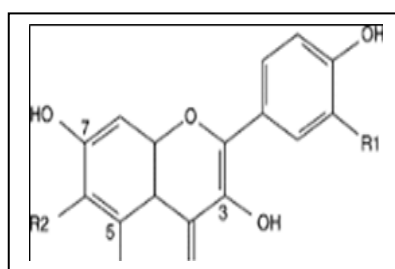
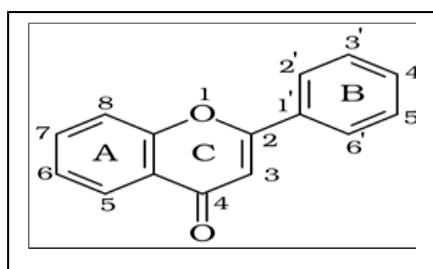


Figure 10 : structure de flavanone

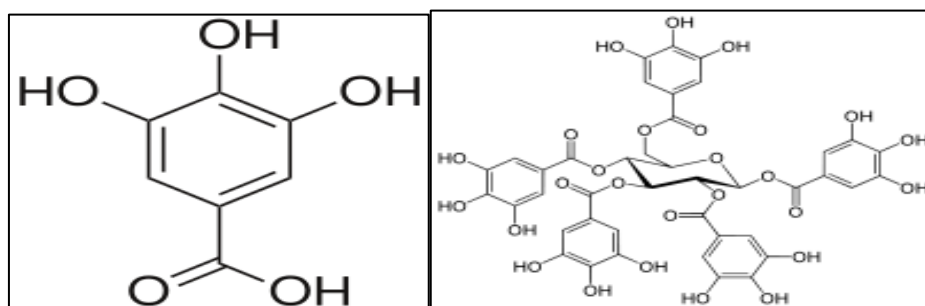


**Figure 11** : structure de flavone. **Figure 12** : structure de flavonol. **Figure 13** : structure d'isoflavone.

### II.7.3 Les tanins :

Les tanins sont des molécules polyphénoliques qui ont le pouvoir tannant sur la peau ce qui la rend inaltérable ; ils sont une catégorie importante localisée dans les vacuoles et qui peut être combiné avec d'autres molécules telles que les protéines d'où leur capacité de tanner le cuir (Achat, 2013 ; Boubekri, 2014).

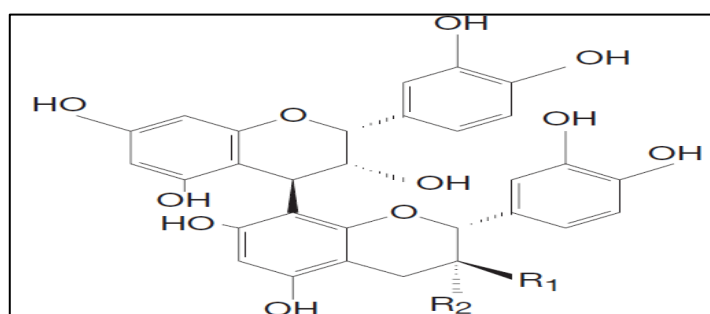
Les tanins sont subdivisés en deux classes les **tanins hydrolysables** (sont des dimères d'acide gallique condensés sur des dérivés glycosyles) et les **tanins condensés** (proanthocyanidines : structure de base le flavan-3-ol ou le flavan-3,4-diol). Ils présentent des capacités antioxydantes, antibactériennes, antifongiques et antivirales (Ghnimi, 2015)



Acide gallique

Tanin hydrolysable

**Figure 14** : structure d'acide gallique et tatin hydrolysable.



**Figure 15** : structure du tanin condensé.

### II.8 Localisation des polyphénols dans la plante :

Les composés phénoliques sont présents chez toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (**Biozot et Charpentier, 2006**).

La biosynthèse des polyphénols se manifeste dans plusieurs organes :

- Les racines synthétisent des coumarines et des flavonones
- Les entrenœuds et les boutons floraux forment des anthocyanes
- Les tissus de tubercules forment des acides-phénols (**Brzowska et Hanower, 1976**).

Leur emplacement dans la plante est presque homogène entre les tiges, les feuilles, les racines et les graines. Au niveau cellulaire, ces molécules sont stockées dans des vacuoles cytoplasmiques, mais seulement dans les cellules périphériques de l'épiderme végétal (**Brzowska et Hanower, 1976**).

### II.9 Méthodes d'extraction des polyphénols :

L'extraction des composés phénoliques des végétaux est un processus de récupération qui indique des conditions telles que la température, le temps, l'exposition à l'oxygène et à la lumière, le pH, le type de solvant (**Charis, 2018**)

#### II.9.1 Extraction par solvant :

Le procédé consiste en une extraction directe de la matière végétale fraîche ou lyophilisée avec un solvant approprié à l'aide d'un extracteur, d'un homogénéisateur ou d'un bain à ultrasons pendant un temps donné (**Charis, 2018**)

##### II.9.1.1 Infusion :

Technique qui se repose sur le fait de laisser la matière végétale trempée dans de l'eau bouillante avec une durée de 10-15min (**Sofowora, 2010**).

##### II.9.1.2 Décoction :

La plante est mise dans de l'eau froide pour libérer les principes actifs des parties dures de la matière végétale (tige, écorce, racine...), puis portée à ébullition pendant une durée de 2-3min jusqu'à 10min (**Pierre et Lis, 2007**).

### II.9.1.3 Macération :

La macération peut se faire dans de l'eau, l'alcool ou du vinaigre (**Anne et Nogaret, 2003**). Elle consiste à faire tremper les plantes dans de l'eau froide ou tiède pendant 10 ou 12 heures.

Les macérations à l'eau ne doivent pas dépasser une douzaine d'heures par risque d'oxydation et de fermentation du liquide (**Pierre et Lis, 2007**).

### II.9.1.4 Extracteur de soxhlet :

L'extraction Soxhlet est largement utilisée pour l'extraction de composés bioactifs de valeur de diverses sources naturelles. La plupart des études visant à étudier de nouvelles méthodes incluent également l'extraction soxhlet comme modèle de comparaison (**Azmir et al., 2013**).

Cette technique est souvent utilisée pour isoler les flavonoïdes d'échantillons solides (**Santos-Buelga et al., 2012**).

### II.9.2 Extraction par ultrason :

Mode d'extraction en continu à contre-courant dans une colonne mécaniquement agitée. Elle a pour but d'améliorer le rendement et la sélectivité de l'extraction par une activation ultrasonore.

Les ultrasons permettent notamment d'accélérer la cinétique en augmentant la diffusion intraparticulaire du soluté recherché (**Lucchesi, 2005**).

### II.9.3 Extraction par microonde :

D'un autre nom les hyperfréquences, le chauffage par micro-ondes. En effet, contrairement aux systèmes de cohobation et de piégeage du mélange de vapeur d'eau, le chauffage par micro-ondes réduit considérablement les délais d'extraction et supprime le besoin d'eau ou de solvant (**Lucchesi, 2005**).

## II.10 Propriétés biologiques des polyphénols :

### II.10.1 Chez les végétaux :

Plusieurs fonctions biologiques dans les plantes assurées par les composés phénoliques sont généralement impliquées dans la défense contre le rayonnement UV ou l'agression par des pathogènes, outre leur implication dans les relations plantes-animaux et/ou plantes microorganismes (**Charis, 2018**). Aussi, ces molécules contribuent dans la conservation des critères de qualité des plantes après leurs récoltes (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) (**Fleuriet et al., 2005**).

### II.10.2 Chez l'humain :

La protection contre les maladies, telles que les tumeurs, les allergies, les inflammations, les infections, est assuré par la capacité des polyphénols et spécifiquement les flavonoïdes, par l'interaction avec des enzymes ou des récepteurs cellulaires, à contrôler leurs activités par leurs propriété antioxydantes (**Fleuriet et al., 2005**). Ces produits naturels ont été utilisés comme des traitements pour des affections tel la maladie d'Alzheimer les maladies du foie et les troubles gastriques. Aussi, des études ont prouvés leurs rôles dans les réponses immunitaires et l'activité antibactérienne, antivirale et antifongique (**Ghnimi, 2015**).

### III Stress oxydant et antioxydants :

#### III.1 Stress oxydant :

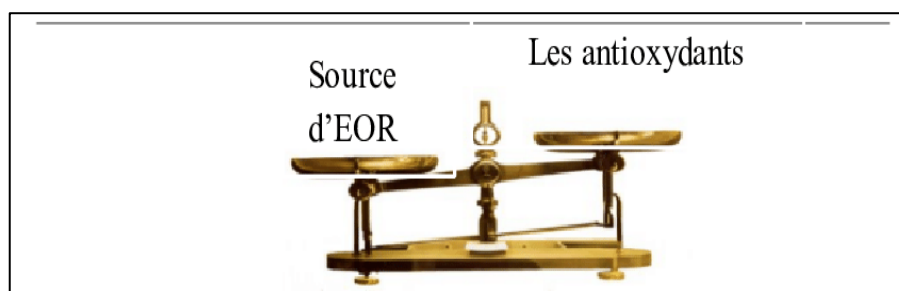
##### III.1.1 Définition :

Le stress oxydatif (SO) est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou l'un de nos tissus lorsqu'ils sont exposés à une production endogène ou exogène de radicaux libres oxygénés dépassant leurs capacités anti-oxydantes (**Favier, 2006**).

**Sies, 1991** a défini la notion de SO comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactives de l'oxygène (ERO), suite à un déséquilibre lié, soit à une production accrue de ces dernières, soit à une diminution de la capacité de défense antioxydant.

##### III.1.2 Origine du stress oxydatif :

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont bénéfiques pour l'organisme à des doses raisonnables. Cette production physiologique est entièrement contrôlée par les systèmes de défense. Dans ces conditions normales, la balance antioxydant/prooxydant est dite en équilibre. Si ce n'est pas le cas, que ce soit en raison d'une carence en antioxydants ou en raison de la surproduction de radicaux, l'augmentation de ces radicaux est appelée « stress oxydatif » (**Favier, 2003**).



**Figure 16** : Déséquilibre de la balance entre oxydant et antioxydant (**Chaouche, 2014**).

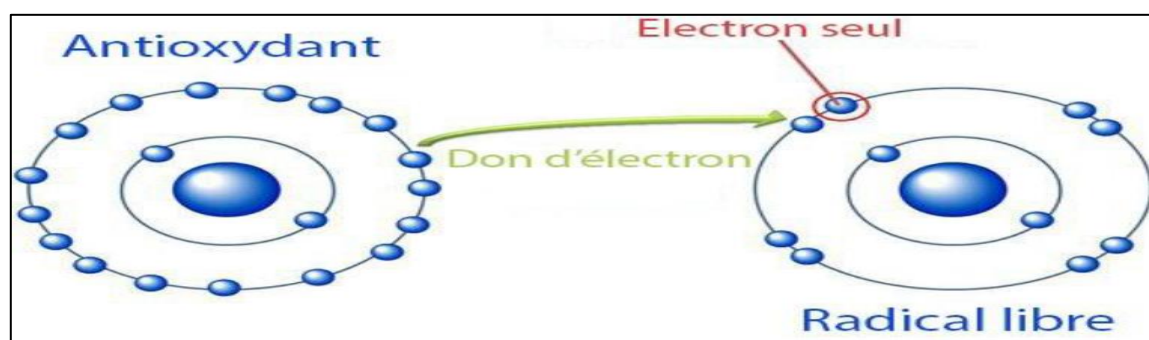
### III.1.3 Radicaux libres :

#### III.1.3.1 Définition :

Un radical libre se définit comme toute molécule ou fragment d'une molécule possédant au moins un électron non apparié (célibataire) sur son orbitale externe. (Tessier *et al.*, 1995).

En raison de l'instabilité énergétique, les radicaux libres ont tendance à revenir immédiatement à un état stable en donnant un électron ou en en prenant un à une autre molécule. Ils ont donc la propriété d'être très réactifs vis-à-vis d'autres molécules, ayant une demi-vie très courte (de la nano à la milliseconde) (Sen *et al.*, 2000).

Ils apparaissent soit lors de la rupture symétrique d'une liaison covalente (fission homolytique) où chaque atome conserve son électron, soit lors d'une réaction redox avec perte ou gain d'un électron d'un composé non radicalaire (Kocchilin-Ramonatxo, 2006). En parcourant la littérature, on remarque souvent un point symbolique à côté d'une abréviation chimique telle que (OH•), ce point désigne les radicaux libres (Scheibmeir *et al.*, 2005).



**Figure 17** : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (Hocine et Gorine, 2017).

#### III.1.3.2 Rôles des radicaux libres :

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils sont une espèce très dangereuse, capable de provoquer un grand nombre de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui à part la phagocytose, ont été découvertes récemment.

Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des

gènes (Favier, 2003), À la production énergétique, au règlement de la croissance des cellules et à la signalisation intracellulaire (Ardestani et Yazdanparast, 2007).

### III.1.3.3 Formes des radicaux libres :

De toutes les espèces de radicaux libres susceptibles de se former dans la cellule, trois groupes sont distingués (Favier, 2003) :

- **Les radicaux libres primaires** sont un groupe de composés de radicaux libres restreints et dérivé de l'oxygène par réduction à un électron tel que l'anion superoxyde  $O_2^{\cdot-}$  et le plus agressif hydroxyle  $OH^{\cdot}$ , ou azote tel que l'oxyde nitrique  $NO^{\cdot}$ . Ils jouent un rôle particulier physiologique.
- **Les radicaux libres secondaires** sont formés par la réaction de radicaux libres primaires avec des composés biochimiques des cellules.
- D'autres espèces dérivées de l'oxygène sont appelées **espèces réactives de l'oxygène**, telles que l'oxygène singulet ( $O_2$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ou le nitroperoxyde ( $ONOOH$ ). Ce ne sont pas des radicaux libres, mais des espèces réactives qui peuvent être des précurseurs de radicaux libres. (Favier, 2003).

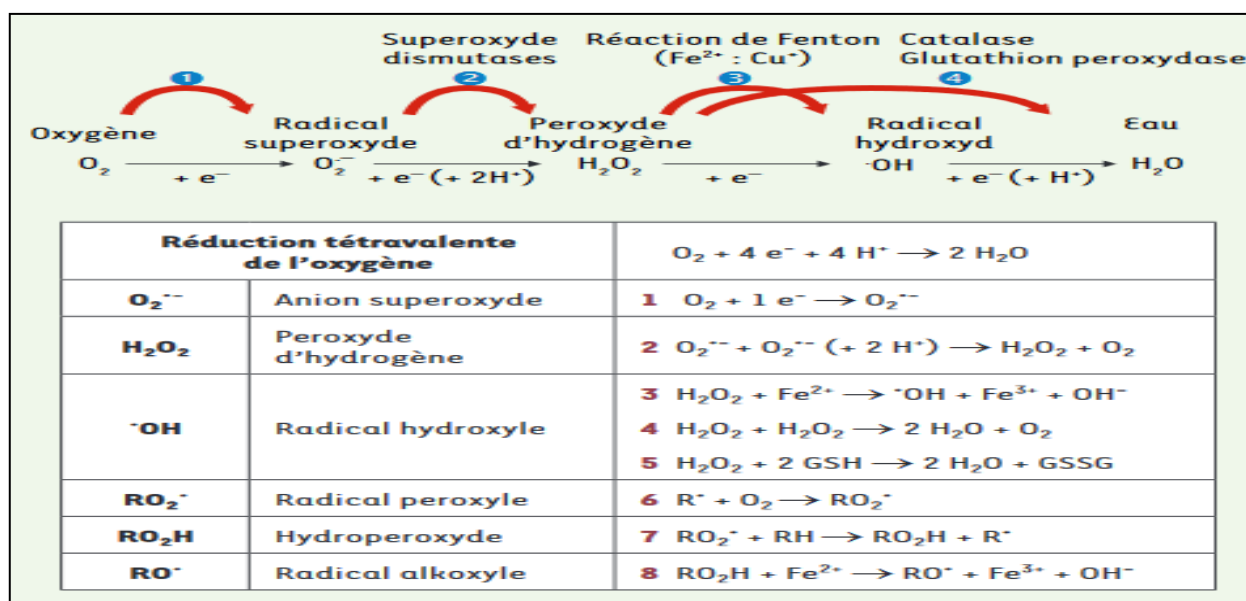


Figure 18 : Origine des espèces réactives de l'oxygène (Camille et Mireille, 2011).

### III.1.4 Implication pathologique du stress oxydatif :

Dans les systèmes vivants, la production de radicaux libres oxygénés est continue. Toutes les molécules biologiques à double liaisons sont particulièrement affectées par les radicaux libres, d'où une très forte réactivité de ces espèces chimiques vis-à-vis des lipides, des protéines et de l'ADN.

C'est pourquoi les radicaux libres ont des effets dans tout le corps, et dans une variété de maladies (**Favier, 2003**).

- Les ERO ont été identifiées comme étant l'agent causal de la perte neuronale dans la maladie d'Alzheimer, l'épilepsie, l'ischémie cérébrale, la commotion cérébrale, la maladie de Parkinson, la sclérose amyotrophique latérale et dans le processus de vieillissement du cerveau en soi (**Carney et Camey, 1994**).
- Il a été reconnu que plus d'une centaine de maladies sont associées aux radicaux libres, ces derniers contribuant au vieillissement cellulaire, à la mutagenèse, à la carcinogenèse, aux maladies coronariennes et autres pathologies cardio-vasculaires, au diabète, à la dystrophie musculaire et à la neurodégénérescence (**Zou et al., 2008**).
- Les mécanismes oxydatifs ont été reconnus pour avoir un rôle important à jouer dans les principales étapes de la carcinogenèse, soit l'initiation, la promotion et la progression du cancer. Puisque le risque de développer un cancer est associé à l'accumulation de dommages oxydatifs à l'ADN, ces derniers ont reçu une attention croissante au cours des dernières années (**Loft et al., 2008**).
- La peroxydation des membranes lipidiques causée par le stress oxydatif peut être très dommageable puisqu'elle altère les propriétés biologiques de la membrane telles le degré de fluidité et peut aussi mener à l'inactivation d'enzymes et de récepteurs liés à la membrane, ce qui risque d'affecter le fonctionnement cellulaire normal et d'augmenter la perméabilité (**Dalle-Donne et al., 2006**) et semble être responsable du développement de nombreuses maladies reliées à l'âge, donc de diverses maladies chroniques (nombreuses maladies pulmonaires, arthritiques et cardio-vasculaires (**Spiteller, 2007**)).
- Une série de rapports montrant une relation positive entre l'âge et l'augmentation du contenu en protéines carbonylées ainsi qu'entre l'âge et la perte de fonctionnalité des enzymes appuie l'hypothèse que l'accumulation de protéines oxydées accélère le processus du vieillissement (**Cao et Cutler, 1995**). Cette accumulation risque fortement d'augmenter le risque de développer une maladie chronique. C'est d'ailleurs le cas de la maladie d'Alzheimer pour laquelle il a été suggéré que les dommages oxydatifs aux protéines soient responsables de la formation des dégénérescences neurofibrillaires, des plaques séniles et de la mort de nombreux neurones au cours du développement de la maladie (**Chevion et al., 2000**).

### III.2 Les antioxydants :

Un antioxydant est une substance qu'on trouve naturellement dans de nombreux éléments, qui à faible concentration peut interagir avec autre substance oxydable à l'air, capable de ralentir ou

d'empêcher les phénomènes d'oxydation en neutralisant les radicaux libres lorsqu'ils sont en excès dans le corps. Cette substance joue un rôle dans la protection des systèmes biologiques contre les réactions néfastes qui peuvent se produire (**Park et al., 2001**).

L'organisme est équipé de plusieurs systèmes de défense « les antioxydants », on en distingue deux familles : **antioxydants endogènes** et **antioxydants exogènes**. (**Defraigne et Pincemai, 2008**).

### III.2.1 Les antioxydants endogènes :

#### III.2.1.1 La superoxyde dismutase (SOD) :

C'est une enzyme des plus performantes dans la défense contre le stress oxydatif. Elle est présente dans tous les organismes vivants, c'est une métalloprotéine c'est à dire, protéine possédant un cofacteur d'ions métalliques. Elle permet la dismutation de l'anion superoxyde en oxygène moléculaire et peroxyde d'hydrogène (**Cloutier, 2009**). 
$$(2 H^+ + 2O_2 \bullet \rightarrow H_2O_2 + O_2)$$

Il existe 3 classes de cette enzyme : *la SOD intracellulaire* (située dans le cytoplasme, espace inter membranaire) dépend essentiellement du cuivre et zinc, *la SOD mitochondriale* (membrane interne de la mitochondrie) dépend du Mn, *la SOD extracellulaire* (matrice extracellulaire) qui est Cu<sup>-</sup> et Zn<sup>-</sup> dépendante (**Hamadi, 2009**).

#### III.2.1.2 La catalase (CAT) :

Enzyme intracellulaire présente presque chez tous les êtres vivant (animaux, bactéries...). Principalement située dans les peroxyosomes, sa fonction est la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène dans les conditions physiologiques (**Hamadi, 2009**). 
$$(2 H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2)$$

#### III.2.1.3 La glutathion peroxydase (GPX) :

Activée par le sélénium, localisée principalement dans le cytoplasme, cette enzyme permet de catalyser la réduction des molécules de peroxyde d'hydrogène utilisant le glutathion réduit (GSH) et donnant de l'hydrogène (**Zerargui, 2015**). 
$$(2 GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2 H_2O)$$

### III.2.2 Les antioxydants exogènes :

Dès l'alimentation (fruits, légumes...) le système antioxydant importe les molécules antioxydantes : vitamine C, vitamine E et les polyphénols en générale (**Haleng et al., 2007**).

#### III.2.2.1 Acide ascorbique (vitamine C) :

L'acide ascorbique ou vitamine C est une vitamine hydrosoluble, fragile à la chaleur, aux ultraviolets et à l'oxygène (**Boubekri, 2014**). La majorité des mammifères produit la vitamine C mais l'homme la reçoit depuis l'alimentation (**Haleng et al., 2007**). Son rôle est d'inhiber la

peroxydation lipidique (Haleng et al., 2007) et de neutraliser les espèces réactives oxygénées (Boubekri, 2014) et aussi de régénérer la vitamine E (Muanda, 2010).

### III.2.2.2 Tocophérol (vitamine E) :

La vitamine E aussi nommée l' $\alpha$ -tocophérol fait partie de la famille des tocophérols qui sont liposolubles (Boubekri, 2014). Elle réagit avec les radicaux peroxydes en formant un radical tocophéryle arrêtant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique (Haleng et al., 2007).

### III.2.2.3 Les polyphénols :

Ces antioxydants naturels trouvés dans les plantes supérieures comestibles ont un pouvoir antioxydant très important. Leurs rôles sont bien déterminés par différentes actions telle le piégeage direct des ERO, l'inhibition des enzymes génératrices d'ERO, la chélation des ions de métaux de transitions (Achat, 2013) comme le fer et le cuivre (Haleng et al., 2007) et l'induction de la biosynthèse d'enzymes antioxydants (Achat, 2013).

## IV Présentation de la plante étudiée :

### IV.1 Description botanique du *Juniperus phoenicea* :

Le genévrier rouge est l'un des arbustes les plus typiques et les plus élégants de la flore méditerranéenne (Lieutaghi, 1969). *Juniperus phoenicea*, communément appelé genévrier de Phénicie, est un arbuste dressé pouvant atteindre jusqu'à 8 à 10 mètre de hauteur possédant un tronc jusqu'à 1 à 2m de diamètre, caractérisé par des feuilles écaillées très petites, persistantes et odorantes, des fruits charnus ressemblant à des baies de couleur rouge à brune à maturation. L'écorce est un brun rougeâtre ou gris clair, épaisse et fissurée, des rameaux minces et ronds comporte des bourgeons nus et des ramilles, cette espèce est dite monoïque rarement dioïque (Abdelli, 2018). Parfois, il possède une morphologie opposée, la racine vers le haut et le tronc vers le bas (Mandin, 2005). Il est présent en populations éparses et souvent isolées (Bouyahyaoui, 2017).



**Figure 19** : Aspect du genre *Juniperus phoenicea* (Abdelli, 2018).

#### IV.1.1 Quelques caractéristiques botaniques du *Juniperus phoenicea* :

- **Feuille :**

Les feuilles sont squamiformes qui s'imbriquent les unes sur les autres sur un rameau, elles sont souvent sous forme de petites écailles (0,7 à 1 mm de long), ovales, obtuses, courbées et, creusées d'un sillon sur le dos, de couleur vert foncé (Jarry, 1993).

- **L'écorce :**

Assez dur, de couleur brun rougeâtre ou gris clair (Jarry, 1993).

- **Fleur :**

Le genévrier rouge est une plante monoïque. Les cônes mâles et les cônes femelles sont situés sur le même pied mais parfois sur des pieds différents, les fleurs mâles sont beaucoup plus nombreuses et plus petites que les fleurs femelles. La floraison a lieu à la fin de l'hiver, au printemps « Février-Avril », produisant des baies arrondies de couleur rouge, noir à maturité (Abdelli, 2018).

- **Fruits :**

Les fruits de genévrier de Phénicie sont de forme globuleux, charnues, ils font généralement 6 à 10 mm de diamètre, dressés sur un court pédoncule, au début ils sont de couleur noirâtres, puis verts ou jaune, à la maturité ils deviennent rouges luisants (Jarry, 1993). La fructaison est automnale (Abdelli, 1993).

- **Graine :**

Chaque fruit contient 3 à 9 graines, aigus, creusées de sillons profonds (Jarry, 1993).



**Figure 20** : Feuilles et fruits de *J. phoenicea* (Nedjimi et al., 2015)



**Figure 21** : Les fruits du *J. phoenicea* (Nedjimi et al., 2015).

#### IV.2 Classification de l'espèce étudiée :

Deux sous espèces sont connues pour *Juniperus phoenicea*, *Juniperus phoenicea* var. *Phoenicea* (se trouvant dans toute l'aire de répartition du genévrier rouge), *Juniperus phoenicea* var. *turbinata* (se trouvant dans les dunes côtières) (Nazik, 2011).

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Spermatophytes*

Sous embranchement : *Gymnospermes*

Ordre : *Pinales*

Famille : *Cupressacées*

Genre : *Juniperus*

Espèce : *Juniperus phoenicea* (Quezel et Santa, 1962).

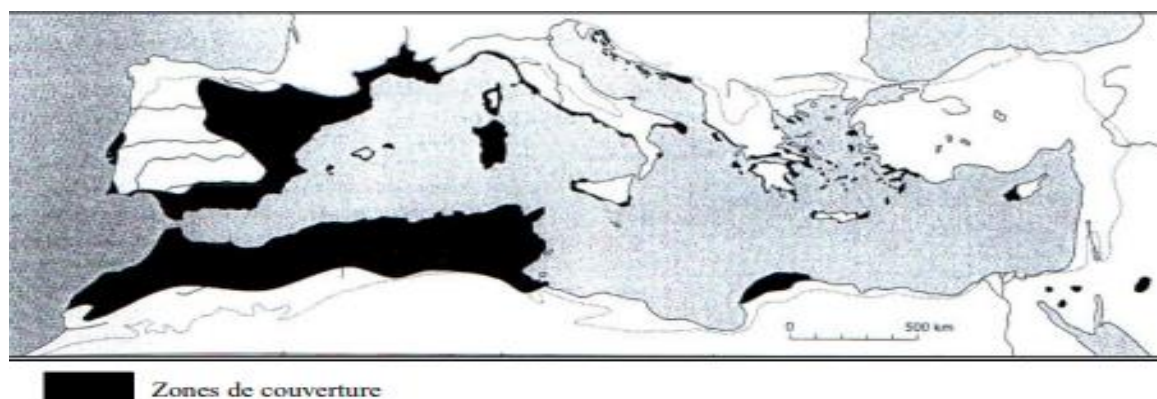
Autre noms : Genévrier de Lycie, Genévrier de Phénicie, Genévrier rouge Cèdre de Lycie, Mourven, Lycien (Rameau et al., 2008).

Nom locale : العرعار

#### IV.3 La répartition géographique du *Juniperus phoenicea* :

##### IV.3.1 Dans le monde :

Le genévrier rouge présente une large distribution (Nedjimi et al., 2015). Cette espèce a deux habitats principaux, les sables littoraux et les hauts plateaux et montagnes de l'intérieur. C'est une espèce dont l'aire de répartition couvre toute la méditerranée, des îles Canaries aux montagnes de l'Atlas en Afrique (Algérie, Maroc et Tunisie) en passant par la côte atlantique du Portugal à l'ouest, jusqu'à la Jordanie et l'Arabie Saoudite à l'Est. Cet arbre se développe principalement à basse altitude, près de la côte, où l'altitude ne dépasse pas 2000 m (Adam et al., 2009).



**Figure 22** : La répartition du *Juniperus phoenicea* dans la région méditerranéenne (**Abdelli, 2018**)

#### **IV.3.2 En Algérie :**

Le genévrier de Phénicie est répandu sur l'ensemble du littoral (**Bouyahyaoui, 2017**), sur les dunes maritimes, les côtes de Barbarie, dans les collines et dans les montagnes les plus sèches. Il est commun dans les Aurès et l'atlas saharien notamment Djelfa et Boussaâda, où il trouve sa grande extension. Il occupe environ 227.000 ha de la superficie forestière de l'Algérie (**Louni, 1994**).

Au côté du cèdre il constitue une couverture végétale dans les montagnes des Aurès particulièrement dans les régions de Maafa, beni fodhala (**Abdelli, 2018**).

#### **IV.4 Utilisation de l'espèce étudiée en médecine traditionnelle :**

L'usage du genévrier est reconnu depuis longtemps, et se caractérise par des différents modes d'administration à usage interne et externe (**Bouyahyaoui, 2017**).

Le genévrier de Phénicie est parmi les plantes aromatiques qui sont largement utilisées en médecine traditionnelle, chaque partie de cette plante est utilisée pour traiter certaines maladies :

- Les feuilles de *Juniperus phoenicea* sont utilisées pour traiter le diabète, la diarrhée et les rhumatismes.
- Ses fruits séchés sous forme d'une poudre peuvent soigner les abcès et les brûlures de la peau.
- Ses cônes, et surtout les jeunes pousses, préparées sous forme d'infusions, peuvent traiter les troubles digestifs et les troubles d'estomac.
- De plus cette plante a un effet diurétique et peut traiter toute inflammation et infection touchant le système urinaire (**Nazik, 2011**).

# *Chapitre II : Matériel et Méthodes*

Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire de la biochimie du département des sciences de la nature et de la vie, université 20 aout 1955, Skikda.

### I Matériel :

#### I.1 Matériel végétal :

- **Critères de choix de la plante :**

Nous avons choisi cette plante sur la base de recherches approfondies sur sa valeur thérapeutique, et après avoir interrogé des personnes ayant une expérience en phytothérapie sur l'utilisation de cette herbe. Cette plante est largement utilisée à Skikda pour ses pouvoirs curatifs et cicatrisants.

Les critères de sélection dans notre étude sont liés aux éléments suivants :

- Son utilisation dans la médecine traditionnelle pour traiter les troubles digestifs, les infections des voies urinaires et certains problèmes de peau, en plus d'être antibactérienne.
- Sa richesse en substances aromatiques avec un rendement satisfaisant.

- **Récolte et préparation de la plante :**

Le matériel biologique utilisé est la plante *Juniperus phoenicea* récoltée au mois de février 2022 dans la région de djamaa (wilaya d'El oued). Elle a été identifiée par Dr. Sakhraoui Noura, Maître de conférences au département de Biologie, université de Skikda.



Figure 23 : Carte géographique montrant la région de djamaa.

Tableau 01 : Paramètres géographiques de la région de récolte (Web 1)

Région	Altitude	Latitude	Longitude	Climat
Djamaa	28 m	33.5314 33° 31' 53'' Nord	5.99098 5° 59' 28'' Est	Désertique sec et chaud.

La plante est broyée en poudre après séchage à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 15 jours. La poudre a été recueillie dans un récipient en verre hermétique jusqu'à utilisation ultérieure.



Figure 24 : Photo originale de la Plante fraîche.



Figure 25 : Photo originale de séchage de la plante.



Figure 27 : photo originale de la poudre.



Figure 26 : Photo originale de broyage De la plante dans un

**I.1.1 Matériels de laboratoire :**

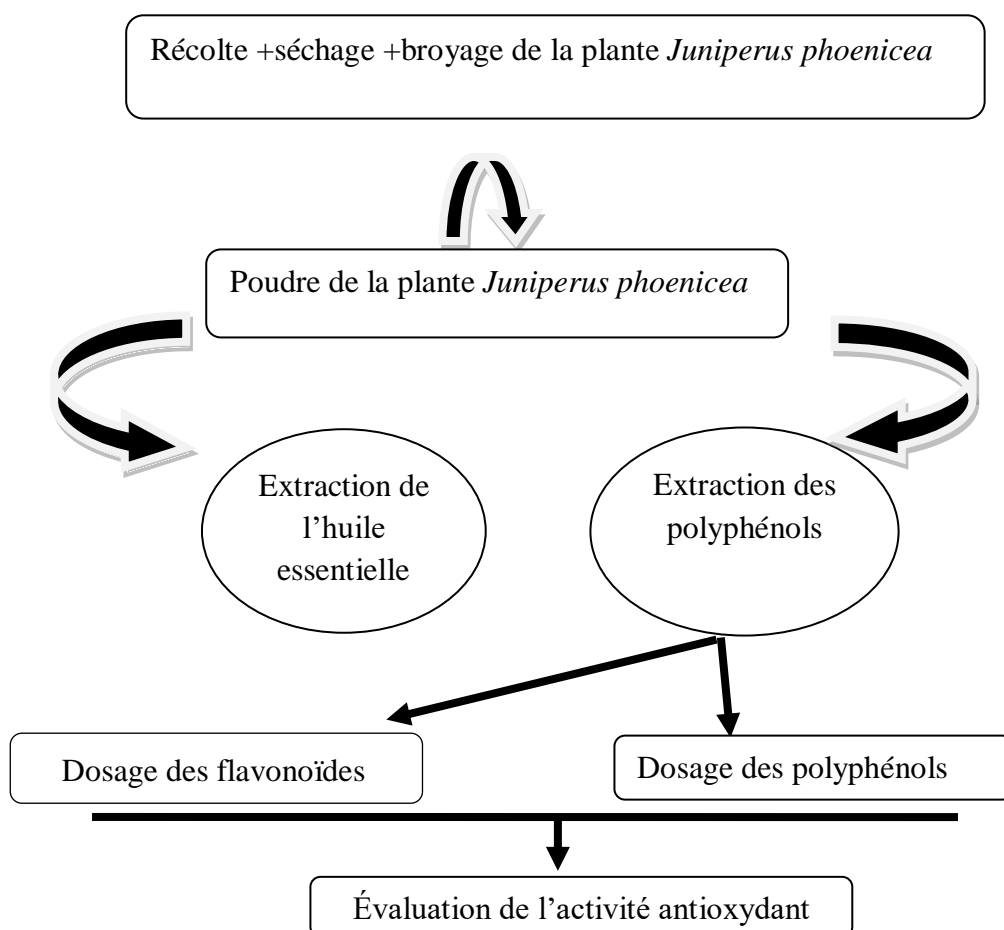
Spectrophotomètre, étuve, balance, agitateur mécanique, broyeur, réfrigérateur, micropipette, verrerie.

**I.2 Réactifs chimiques et solvants :**

Le méthanol, Chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) ; acide phosphotungstique phosphomolybdique (réactif de folin) ; le carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) ; solution de carbonate de sodium à 20% ; l'acide *gallique* (acide 3, 4,5-Trihydroxybenzoïque), Vit C, DPPH.

**II Méthodes :**

La méthode de travail suivi dans ce mémoire est résumée comme suit :



**Figure 28 :** schéma générale du protocole d'étude expérimentale.

### II.1 Extraction des huiles essentielles (hydrodistillation) :

L'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* est extraite par le procédé d'hydrodistillation, grâce à un appareil de type Clevenger qui est constitué d'un chauffe ballon qui permet la distribution homogène de la chaleur dans le ballon, un ballon en verre pyrex où l'on place la matière végétale séchée et l'eau distillée et une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant).

#### II.1.1 Principe :

L'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (Bruneton, 1999).

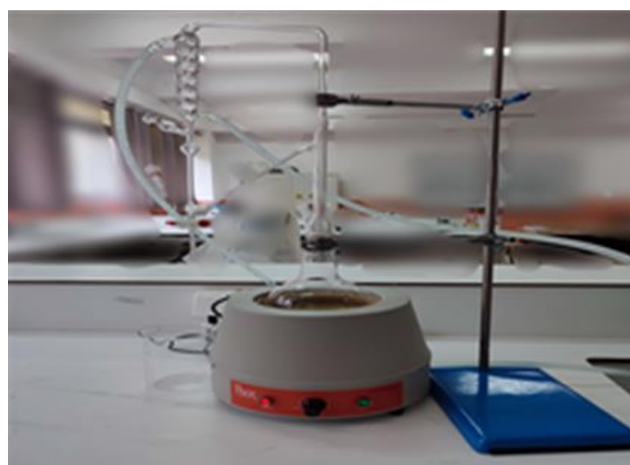
#### II.1.2 Mode opératoire :

80 g des parties aériennes séchées de la plante sont introduits dans un ballon monocol de 1 L, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements lors de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition à l'aide du chauffe ballon pendant 2 h. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans un collecteur. L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière.

L'huile ainsi obtenue est récupérée par décantation puis conservée dans des flacons opaques bien scellés à température basse (4 à 5°C).



**Figure 29** : 40 g matière végétal sèche



**Figure 30** : Photo originale d'Appareil d'hydrodistillation de type de clévenger.

### II.1.3 Calcul du rendement :

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction et la masse de la matière végétale utilisée (AFNOR, 1986).

Le rendement (R) est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante :

$$R = P_h / P_p \times 100$$

Où,  $P_h$ : poids de l'huile essentielle en g.

$P_p$ : poids de la plante en g.

### II.2 Extraction des polyphénols :

#### II.2.1 Principe :

L'extraction des polyphénols totaux est basée sur l'utilisation des solvants organiques « macération ». Afin d'avoir une solution bien riche en composés phénoliques, le méthanol reste le meilleur solvant d'extraction avec l'eau (Bonnaillie et al., 2012).

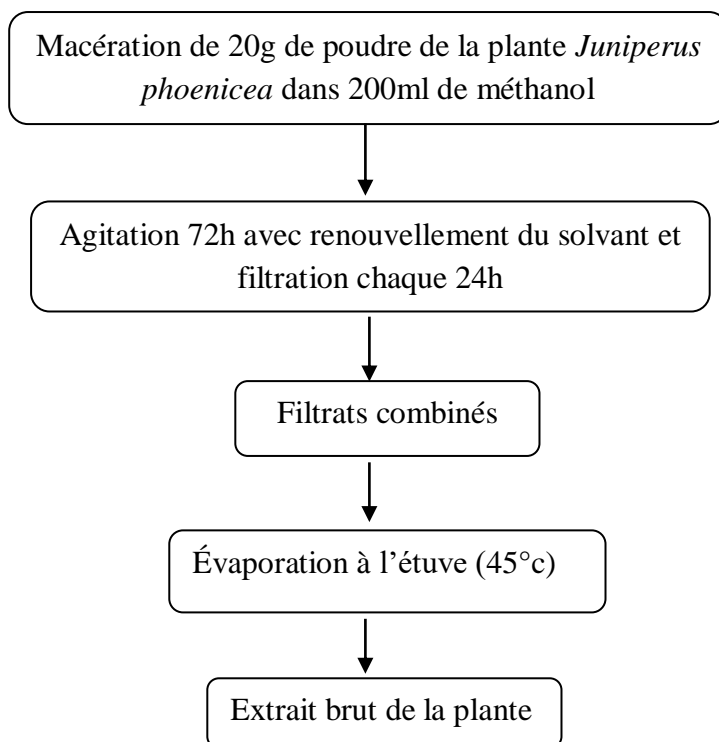
#### II.2.2 Mode opératoire :

L'extraction des polyphénols totaux à partir des feuilles sèches de *Juniperus phoenicea* a été faite par une macération dans une solution hydro-méthanolique à 80%.

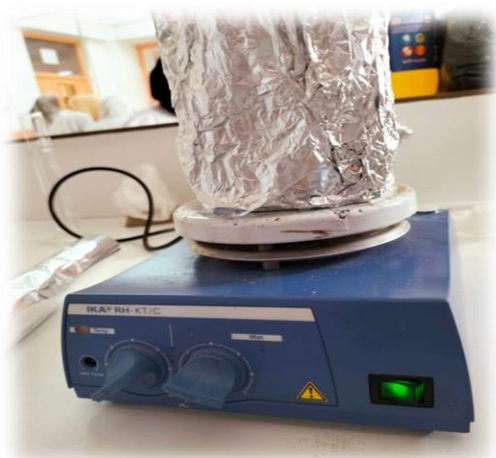
Une quantité de 20 g de matière sèche finement broyée est macérée dans un volume de 200 ml de méthanol/eau. Le rapport matériel végétal / solvant étant de (1/10 g/ml) (Marston et Hotsmann, 2006). Le mélange est conservé à température ambiante sous agitation pendant 72h, avec renouvellement du solvant chaque 24h pour permettre une meilleure extraction des composés phénoliques.

Après filtration à l'aide d'un papier filtre (Watman n°1) et un entonnoir, les filtrats combinés sont soumis à une évaporation en utilisant un cristalliseur et une étuve à une température de 45°C pendant une semaine afin d'éliminer le maximum de solvant et de concentrer l'extrait.

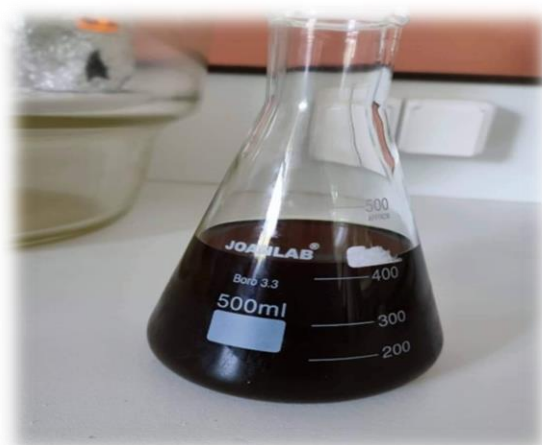
Les substances obtenues sous forme visqueuse sont stockées dans des boîtes de pétri en verre à +4°C jusqu'à utilisation ultérieure.



**Figure 31** : les étapes d'extraction des polyphénols



**Figure 32** : phénomène d'agitation



**Figure 33** : Photo originale du filtrat obtenu.



**Figure 34** : phénomène de filtration.



**Figure 35** : extrait méthanolique de *Juniperus phoenicea*

### II.2.3 Détermination du rendement R :

Le rendement en extrait méthanolique (R) est le rapport entre la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g et la masse sèche de l'échantillon végétal en g (Falleh et al., 2002)

Il est calculé par la formule suivante :

$$R = (P_1 - P_2 / P_3) \times 100$$

$P_1$  : poids du cristalliseur après évaporation en g.

$P_2$  : poids du cristalliseur vide avant évaporation en g.

$P_3$  : poids de la plante en g.

### II.2.4 Analyse quantitative de l'extrait brut

#### II.2.4.1 Dosage des phénols totaux :

##### ➤ Principe :

Selon la méthode colorimétrique, la teneur phénolique totale est déterminée avec un spectrophotomètre en utilisant le réactif de folin ciocalteu, qui est un acide de couleur jaune, il est constitué par un mélange de deux acides, d'acide phosphotungstique et l'acide phosphomolybdique.

Lors de l'oxydation des polyphénols, le mélange d'acide phosphotungstique et l'acide phosphomolybdique est réduit, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et molybdène, ce dosage repose sur la quantification de concentration totale de groupement fonctionnel (groupement hydroxyle) présent dans l'extrait végétal. L'absorbance est mesurée à 760nm (Ali rachedi, 2018). L'intensité de la couleur, donc l'absorption, est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés et présents dans les extraits végétaux (Boizot et charpentier, 2006).

##### ➤ Mode opératoire :

Le taux de polyphénols des extraits méthanoliques est déterminé par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (Slinkard et Singleton, 1977).

En premier lieu, 100 µl de solution d'extrait contenant 1mg d'extrait végétal sec sont placés dans une fiole jaugée. 46 ml d'eau distillée et 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu sont ajoutés, suivi de l'ajout de 3ml d'une solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 2%.

Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 2 heures avec agitation intermittente. L'absorbance est mesurée à 760 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique avec des concentrations allant de 1000 µg à 0 µg/ml.

Les teneurs en polyphénols totaux sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g extrait). Les tests sont réalisés en triplicata.

### II.2.4.2 Dosage des flavonoïdes :

#### ➤ Principe :

Le dosage des flavonoïdes totaux est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  avec lequel ils forment des complexes acides stables soit avec le carbonyle (C=O) en position C-4, soit avec le groupe hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. Par ailleurs,  $AlCl_3$  peut également former des complexes acides labiles avec les groupements orthodihydroxyles éventuellement présents sur le noyau A et/ou B des flavonoïdes (**Chang et al., 2002**).

#### ➤ Mode opératoire :

La détermination des flavonoïdes est effectuée par la méthode du trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) (**Bahorun et al., 1996**). Dans des tubes à essai, on mélange 1 ml de solution méthanolique avec 1 ml de solution d' $AlCl_3$  (2%). Après 15 min d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, la lecture des absorbances est faite à 430 nm contre un blanc préparé en mélangeant 1ml de méthanol avec 1ml de solution  $AlCl_3$ .

La concentration des flavonoïdes est calculée à partir de l'équation de régression d'une courbe d'étalonnage de la quercétine réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant des concentrations allant de 1000 µg à 0 µg/ml.

Les résultats du dosage sont exprimés en mg équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g extrait). Les tests sont réalisés en triplicata.

### II.3 Etude de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits méthanoliques de *Juniperus phoenicea* est étudiée quantitativement par le piégeage du radical DPPH.

#### II.3.1 Principe :

Le test de piégeage du radical libre DPPH est une méthode largement utilisée dans l'étude de l'activité antioxydante. Le DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. La présence de ces radicaux DPPH donne lieu à une coloration violette foncée de la solution, qui absorbe aux environs de 517 nm. La réduction des radicaux DPPH par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution (Atoui et al., 2005).

#### II.3.2 Mode opératoire :

##### a. Préparation de la solution mère :

- La solution mère d'huile essentielle est préparée par solubilisation de 8 mg (10 µl) d'HE dans 2 ml de méthanol (c'est à dire à une concentration de 4 mg/ ml).
- La solution mère d'extrait est préparée par solubilisation de 4 mg d'extrait dans 2 ml de méthanol (c'est-à-dire 2 mg/ml).
- Nous effectuons une série de 8 dilutions en progression géométrique à raison de 2 pour obtenir des concentrations allant de 1000 µg/ml à 7.81 µg/ml.

##### b. Préparation de la solution DPPH :

La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol.

##### c. Protocol :

La capacité des huiles essentielles et des extraits des deux plantes à piéger le radical libre DPPH est évalué en utilisant la méthode décrite par Lopez-Lutz et al., 2008.

100 µl des solutions d'HE ou extrait sont ajoutés à 2 ml de solution de DPPH.

Pour le contrôle négatif (le blanc), nous avons mélangé 100 µl du méthanol avec 2 ml de solution DPPH. Le mélange (extrait ou HE + Méthanol) est laissé à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante et la décoloration a été mesurée par rapport au contrôle négatif par un spectrophotomètre à 517nm.

L'inhibition du radical libre DPPH par l'acide ascorbique a été également analysée dans les mêmes conditions pour comparaison.

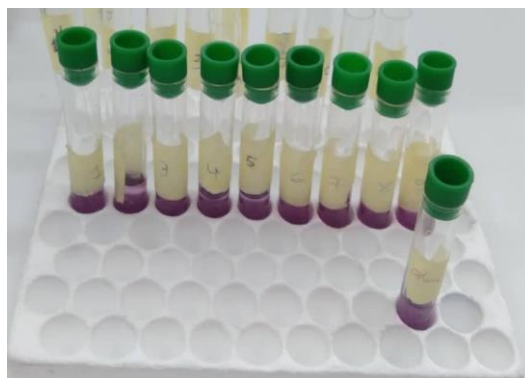


Figure 36 : photo originale des tubes à essai pour dosage du DPPH.

### II.3.3 Expression des résultats :

- Les résultats sont la moyenne de deux essais  $\pm$  écart type.
- L'activité antioxydante est exprimée comme le pourcentage d'inhibition calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Activité Antioxydante (\%)} = 100 \times [(A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle}]$$

Où, A contrôle : représente l'absorbance du contrôle négatif et  
A échantillon : représente l'absorbance de l'huile essentielle, de l'extrait méthanolique ou de la vitamine C.

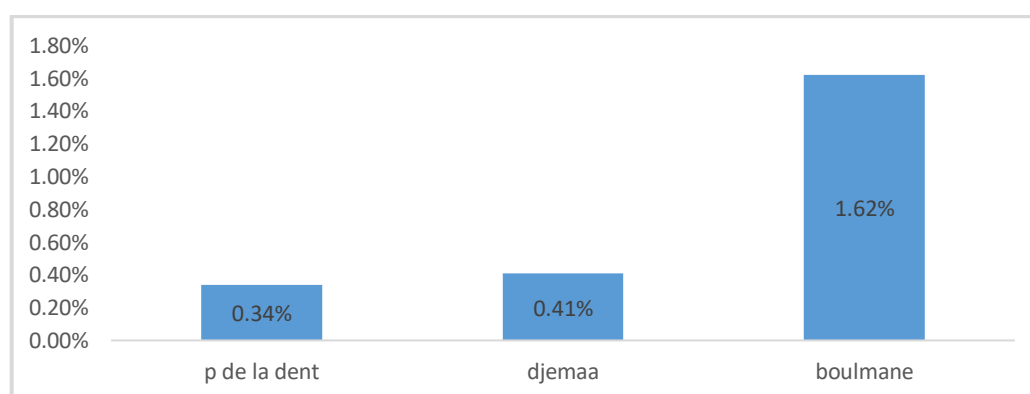
- La concentration inhibitrice (IC<sub>50</sub>) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Elle est calculée à partir du graphe de l'activité antioxydante (en %) en fonction des différentes concentrations des extraits testés.  
Une faible valeur d'IC<sub>50</sub> indique une forte capacité de l'extrait à agir comme piègeur du DPPH.

# *Chapitre III : Résultats et Discussion*

## I Extraction des HEs :

Le *Juniperus phoenicea* est l'une des plantes aromatiques contenant des huiles essentielles. Afin de connaître la quantité d'HE dans cette plante, nous l'avons extrait par le procédé d'hydrodistillation. L'huile obtenue est un liquide visqueux transparent avec un goût piquant et une odeur fortement aromatique.

Le rendement en HE est estimé à **0,41%**, révélant sa pauvreté en molécules actives. Ce rendement est bas comparé à celui trouvé par **Derwich E. et al., 2010** pour la même espèce poussant au Maroc dans la région de Boulmane (1,62%). Par ailleurs, un rendement inférieur au notre (0.34%) est enregistré pour la même espèce collectée à Bejaia dans la station de Pic de la dent au niveau du Parc National de Gouraya par **Amalou et Mouhoubi., 2014**.



**Figure 37** : la variation des rendements entre trois régions différentes.

Le rendement en huile essentielle dépend de la saison de récolte (**Sivropoulou et al., 1997**), car durant les mois à basses températures et de courtes photopériodes, on assiste à une réduction évidente de la production des composés volatils (**Boira et Blanquer, 1998**). Ceci explique le rendement élevé en huile essentielle obtenue au Maroc, et c'est dû au fait que notre récolte a eu lieu au mois de février, alors qu'au Maroc elle était au mois de mars qui est la période de floraison de cette plante, et il est évident que le rendement en huile sera important pendant cette période. (**Ennajar et al., 2007**).

Aussi cette variabilité est due à la différence du climat, la région de la station de Pic de la dent (à Bejaia) possède un climat sub-humide (**Office National Météorologique Algérien, 2005**) Contrairement à la région de djamaa qui a un climat désertique chaud et sec. Ceci expliquerait pourquoi nous obtenons un rendement supérieur à celui obtenu à Bejaïa.

D'après **Fluck, 1963 ; Powell et Adams, 1973 et Adams et al., 1992**, la quantité et la qualité des huiles volatiles reflètent l'influence des variables génétiques ainsi que celle des facteurs climatiques et des conditions édaphiques.

### II Extraction des polyphénols :

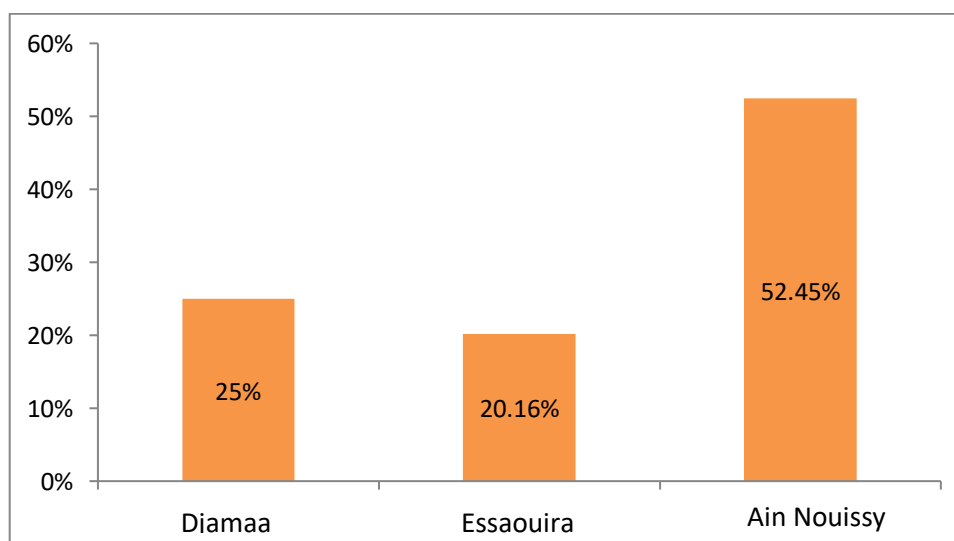
L'extraction des composés phénoliques est réalisée par la macération de la plante *Juniperus phoenicea* dans le méthanol, après filtration et l'obtention du filtrat, il a été évaporé dans l'étuve pour avoir à la fin un extrait méthanolique visqueux de couleur marronné et d'une odeur assez évidente.

#### ❖ Rendement des polyphénols :

Le rendement d'extrait *J. phoenicea* est estimé à **25%**, cela explique sa richesse en composés phénoliques.

Ce rendement est supérieur à celui trouvé par **El jemli, 2020** qui a été de l'ordre de 20,16% au Maroc dans la région Essaouira sachant que la période de récolte est la même (mois de février), cela peut être influencé par rapport à la variation géographique, écologique, l'âge de la plante et des facteurs génétiques (**Athamena, 2009**).

L'étude faite par **Amara, 2019** sur la plante collectée dans la région d'Ain Nouissy wilaya de Mostaganem, a présenté un rendement de 52,45%, nettement supérieur à celui de notre étude. Ce qui est expliqué par la variance des méthodes d'extraction et le solvant utilisé (méthanol pour nous, éthanol pour leur étude). Ces paramètres sont des facteurs qui ont un effet remarquable sur les rendements des extraits des plantes, qui varie aussi selon la composition chimiques et l'aspect physique de la matière végétale (**Lee et al., 2003**).



**Figure 38 :** Histogramme des variations des rendements de trois régions différentes.

## II.1 Dosage des polyphénols totaux :

### ○ Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux :

La teneur en polyphénols totaux est déterminée par la méthode colorimétrique, en utilisant le réactif « Follin Ciocalteu », cette courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant l'acide gallique qui est le standard le plus souvent utilisé.

La formule de régression linéaire de cette courbe est de

$y = 0.568 x + 0.049$  avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,998$  (figure 39).

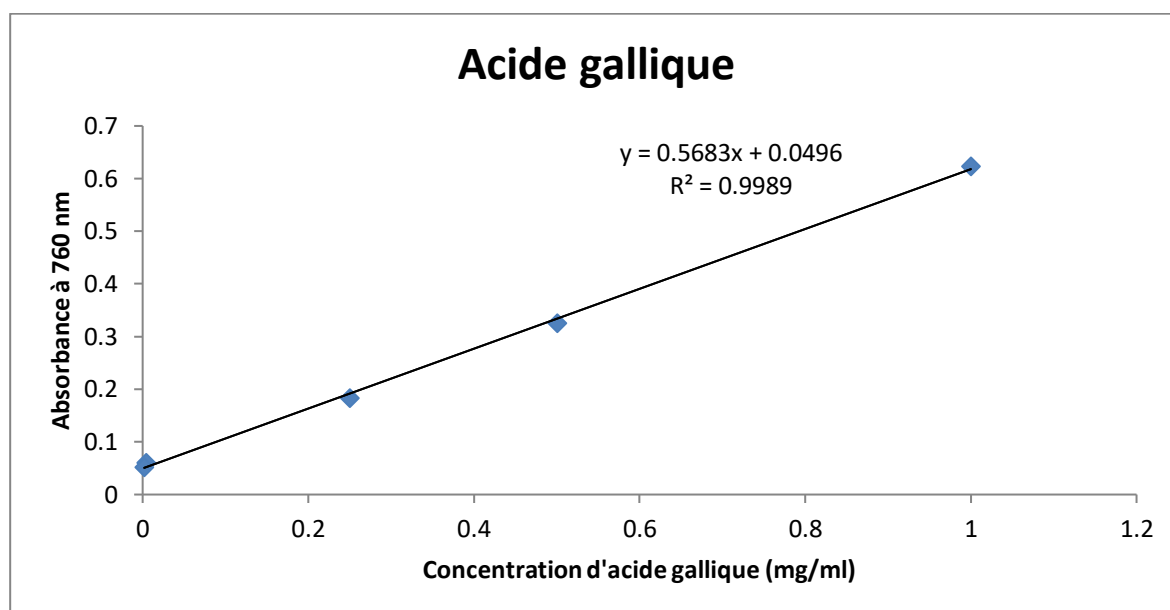


Figure 39 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

### ○ Le résultat du dosage :

Le taux de polyphénols contenu dans l'extrait méthanolique de *Juniperus phoenicea* est : **49,23 ± 0.23 mg EAG/g extrait.**

Dans une étude faite par **Soltani et al., 2017** sur la teneur des composés phénoliques des feuilles de genévrier de Phénicie du Maroc, ils indiquent une teneur en polyphénols importante, de l'ordre de 114,00 mg EAG/g.

Alors que l'étude menée par **Hayouni et al., 2007**, qui ont testé deux méthodes d'extraction qui sont la macération et la méthode de Soxhlet, avec différents solvants d'extraction comme le méthanol et l'acétate d'éthyle sur l'espèce de *Juniperus phoenicea* récoltée en Tunisie, a démontré que la quantité des composés phénoliques est entre 66 et 202 mg GAE/ g d'extrait.

Généralement, la teneur en polyphénols d'un extrait dépend du solvant utilisé, la méthode d'extraction utilisée, des facteurs biologiques (génotype...) et des conditions environnementales comme le rayonnement U.V, la température...etc. (Hayouni et al., 2007).

### II.2 Dosage des flavonoïdes :

#### ○ Droite d'étalonnage de la quercétine :

Les différentes concentrations des flavonoïdes sont calculées à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine, La formule de la régression linéaire de cette courbe est de :

$$y = 29.151x + 0.051 \text{ avec un facteur de corrélation } R^2 = 0.9938.$$

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine par un gramme de matière sèche (mg EQ/g ms).

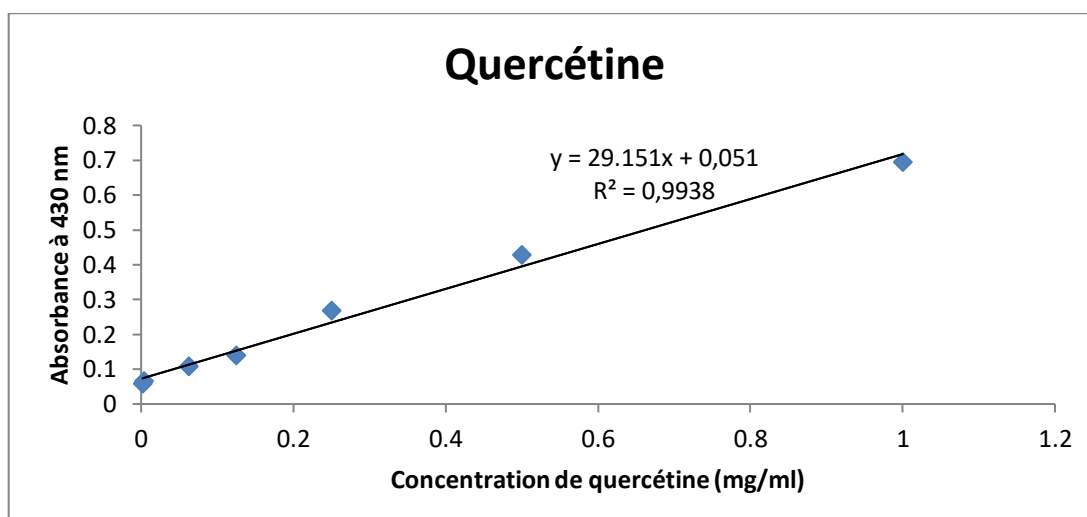


Figure 40 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes

#### ○ Résultat de dosage des flavonoïdes :

Après le dosage des composés phénoliques totaux, nous avons effectué la quantification des flavonoïdes qui constituent une partie intégrante des polyphénols totaux. Le résultat obtenu nous indique une teneur en flavonoïdes égale à **10.12±0.18 mg EQ/ g extrait**. Cette teneur reste très faible par rapport à celle trouvée dans d'autres travaux scientifiques.

**Amalou et Mouhoubi, 2014** ont rapporté une teneur en flavonoïdes, de la même plante issue du parc biologique de Gouraya à Bejaia, égale à 16.52 mg EQ /g extrait.

Egalement, **Keskes et al., 2014** ont analysé la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique de genévrier de Phénicie issu du Maroc et ont rapporté une valeur de 176 mg EQ/g et qui est nettement plus élevée que celle obtenue dans cette étude.

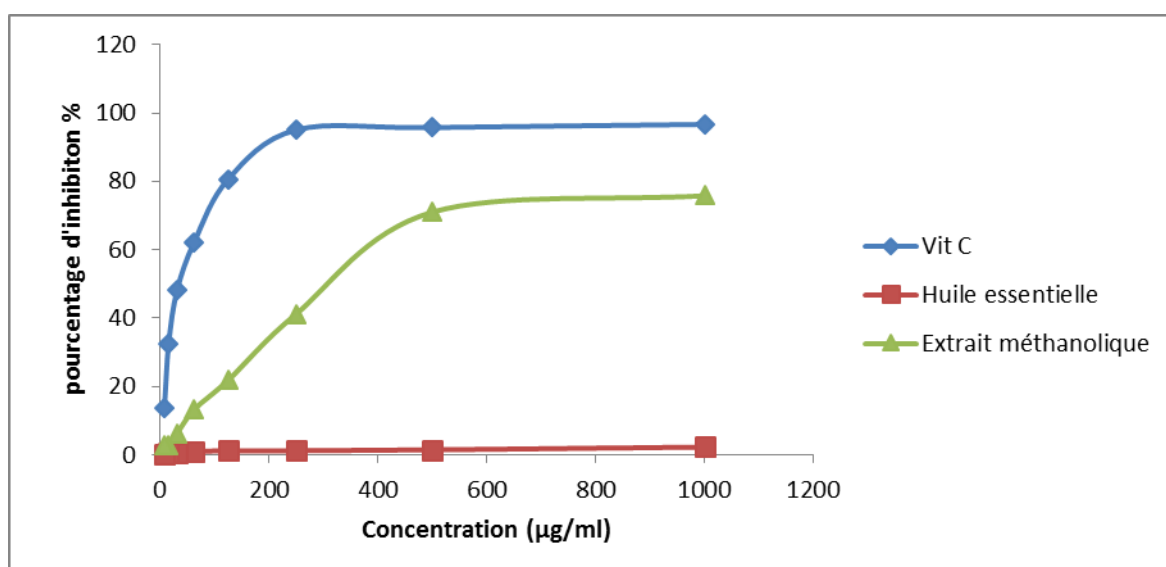
Cette différence de résultat peut être due à la zone géographique d'où la plante est récoltée car ces auteurs ont travaillé avec des plantes de la même espèce et qui sont issues de différentes zones.

### III Etude de l'activité antioxydante :

#### III.1 Méthode DPPH :

La mesure de l'absorbance a été réalisée à 517 nm, et a permis d'évaluer la capacité de l'huile essentielle du *Juniperus phoenicea* à piéger le radical libre DPPH à différentes concentrations.

Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes du pourcentage d'activité antiradicalaire pour chaque extrait de la plante et celui de la vitamine C. D'après les résultats représentés dans la **figure 41**, on peut constater que l'activité antiradicalaire est dose dépendante car elle est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos échantillons.



**Figure 41** : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour l'huile essentielle, extrait méthanolique du *Juniperus phoenicea* et la vitamine C.

- ❖ Cette figure qui présente le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations, montre que notre HE présente un pourcentage d'inhibition maximal de **2.25 %** à une concentration de **1000 µg/ml**. Ce qui fait que nous n'avons pas pu déterminer les valeurs de  $IC_{50}$  recherchées, il est clair qu'elle ne présente pas de pouvoir antioxydant important.

Une étude faite par **Abdelli, (2018)** sur trois huiles essentielles des feuilles sèches, feuilles fraîches et les baies du *Juniperus phoenicea* récoltés à l'ouest algérien (Mostaghanem) montre que le pourcentage d'inhibition varie de façon proportionnelle aux concentrations utilisées. A la plus

grande concentration (5000  $\mu\text{g/ml}$ ), l'huile des feuilles sèches a donné un pourcentage d'inhibition de 25.52%.

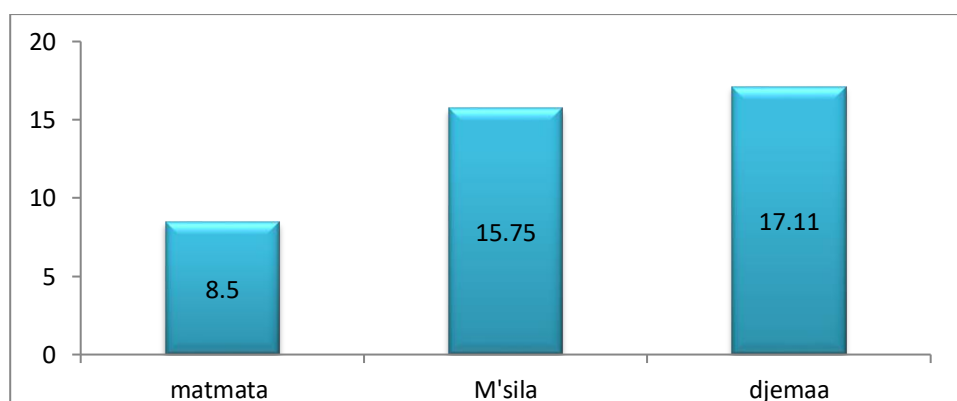
Par comparaison avec l'étude menée par **Satrani et al., 2015**, sur l'activité antioxydante des huiles essentielles de trois espèces du genévrier marocains, le résultat de calcul du pourcentage d'inhibition est de 64.19%, qui est nettement supérieur à nos résultats, ce qui confirme un faible potentiel antioxydant de l'HE de notre espèce étudiée.

- ❖ Le dosage de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Juniperus phoenicea* a permis d'obtenir un pourcentage d'inhibition maximale de **75,81%** à une concentration de **1mg/ml**.

L' $\text{IC}_{50}$  est un paramètre qui définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% du radical DPPH. Plus la valeur d' $\text{IC}_{50}$  est petite, plus l'activité antioxydante est grande (**Khoudali et al., 2014**). L' $\text{IC}_{50}$  est calculé par régression linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'extrait.

La valeur d' $\text{IC}_{50}$  pour l'extrait méthanolique est égale à **17,11 $\mu\text{g/ml}$** , cela veut dire que l'extrait présente quand même une activité antioxydante remarquable.

Cependant, comparé avec l'acide ascorbique qui est utilisé comme un antioxydant standard dont l' $\text{IC}_{50}$  est de l'ordre de 6,35 $\mu\text{g/ml}$ , la capacité antioxydante de l'extrait méthanolique reste moindre.



**Figure 42** : histogramme de concentration  $\text{IC}_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) de chaque région.

**Ennajjar, 2009** avec son étude sur l'extrait méthanolique de *Juniperus phoenicea* récolté dans la région de Matmata (Tunisie) en mois d'Octobre a démontré une  $\text{IC}_{50}$  de 8,5  $\mu\text{g/ml}$  qui est inférieure à celle trouvée dans notre étude, sachant que la région de Djamaa (notre région de récolte) et la région de Matmata ont les mêmes caractéristiques géographiques, donc la variation de ces

valeurs peuvent être influencés par la saison de récolte où la plante subit des changements dans sa composition chimique (**Lee et al., 2003**).

Néanmoins, une autre étude sur cette plante issue de la région de M'sila a montré une activité antioxydante similaire à la nôtre puisque l'IC50 rapportée s'élève à 15,75µg/ml (**Brahimi, 2017**)

D'après ces résultats, nous constatons un écart important entre l'activité antioxydante de l'HE et de l'extrait méthanolique de notre plante. En effet, l'HE présente un faible pouvoir antioxydant par rapport à l'extrait méthanolique qui présente une activité antioxydante remarquable. Cet écart est probablement dû à l'effet du séchage de la matière végétale, car l'activité antioxydante des extraits au solvant est profondément modifiée après le séchage de la matière végétale, mais cette modification n'a pas la même évolution dans le cas de l'HE (**Dabire et al., 2011**).

Nous constatons que l'évaluation de l'activité antioxydante varie considérablement d'une étude à une autre, elle dépend de la composition chimique, la concentration et la structure des molécules dotées de propriétés antioxydantes, mais aussi de la nature de la matière végétale, les méthodes d'extraction et la température. Il est donc nécessaire de préciser qu'il n'y a pas de système parfait qui évalue la « vraie » activité antioxydante d'un seul composé ou d'un mélange complexe (**Miguel et al., 2007**).

## ***Conclusion et perspectives***

Les plantes sont de véritables usines chimiques, elles ne cessent de nous étonner encore et encore par la richesse des constituants qu'elles fabriquent, elles représentent une source inépuisable de substances et de composés bioactifs naturels.

Ce travail a porté sur l'extraction de l'HE ainsi que l'extraction et le dosage des polyphénols et des flavonoïdes de la partie aérienne d'une espèce médicinale endémique de l'Afrique du Nord « *Juniperus phoenicea* », ainsi que l'évaluation de leur activité antioxydante.

Dans un premier temps, l'extraction d'HE et des polyphénols a donné un rendement de 0.41% et de 25% respectivement.

La détermination de la teneur en polyphénols totaux de l'extrait méthanolique a montré que cette plante est pauvre en polyphénols totaux et renferme une teneur faible de  $49.23 \pm 0.23$  mg EAG/g extrait. Concernant les flavonoïdes totaux, les résultats ont montré que cette plante représentait une faible teneur en flavonoïdes de l'ordre de :  $10.12 \pm 0.18$  mg EQ/g.

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique et de l'HE a été réalisée par le test de piégeage de radical libre DPPH. Cette évaluation montre que : l'extrait de cette plante présente un bon potentiel antioxydant avec une  $IC_{50}$  de  $17.11 \mu\text{g/ml}$  mais qui reste moins important que celui de l'acide ascorbique ( $IC_{50} = 6.35 \mu\text{g/ml}$ ) ; l'HE de cette plante présente un faible pouvoir antioxydant avec un pourcentage d'inhibition maximal de 2.25%.

À travers ces résultats, nous constatons que *Juniperus phoenicea* présente un pouvoir antioxydant plus ou moins important.

### **En perspectives :**

Ce travail n'est qu'une première étape d'étude dans la valorisation de cette espèce, il convient de compléter ces premiers résultats par :

- L'étude qualitative d'extrait méthanolique par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) afin de pousser les résultats au niveau moléculaire.
- Cette étude peut être approfondie par d'autres études afin d'évaluer l'activité antibactérienne et de réaliser des tests *in vitro* et/ou *in vivo* pour évaluer certaines activités thérapeutiques (activités anti-inflammatoires, activités antitumorales... etc.).
- Il serait aussi intéressant, à travers de futures études, d'identifier les molécules biologiquement actives dans l'extrait sec de cette plante, pour la fabrication de médicaments et d'investiguer de nouveaux traitements.

## *Références bibliographiques*

**Abdelli W., (2018).** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de doctorat, université de mostaghanem, Algérie.

**Abdelouahid D., Bekhechi C., (2010).** Les huiles Essentielles. Ed. Office des publications universitaires.I.S.B. N :978.9961.0.1394.6, p 17-18.

**Achat S., (2013).** Polyphénols de l'alimentation : Extraction, Pouvoir antioxydant et Interaction avec des ions métalliques. Thèse doctorat. Université d'avignon, Bejaia.

**Adams R. P., Thappa R. K., Agarwal S. G., Kapahi B. K., Sarin Y. K., (1992).** The volatile leaf oils of *Juniperus semiglobosa* Regel from India compared with *J. excelsa* M.- Bieb. from Greece. *J. Essent. Oil Res.*, 4(2): 143-149.

**Adams R.P., Rumeu B., Nogales M., Fontinha S.S., (2009).** Geographic variation and systematics of *Juniperus phoenicea* L. from Madeira and the Canary Islands: Analyses of leaf volatile oils. *Phytologia*, 91(1), 40-53.

**Adjanooum E., Adjakidje V., Ahyi M.R.A(2016).** Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en république populaire du Bénin, médecine traditionnelle et pharmacopée, ACCT.

**Afnor., (2000).** Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 1. Échantillonnage et méthodes d'analyses. Afnor, Paris (438p).

**Ali rachedi F., Meraghni S., Touaibia N., Sabrina M., (2018).** Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea sub.Maritima L* , Bulletin de la société Royale des science de Liège , Vol .87 , p.13-21.

**Amalou N., Mouhoubi E., (2014).** Caractérisation biologique et biochimique du Genévrier (*Juniperus phoenicea*) au niveau du Parc National de Gouraya à Bejaïa.

**Anne-Sophie Nogaret-Ehrhart., (2003).** La Phytothérapie se soigner par les plantes groupe eyrolles, ISBN 2-7081-3531-7. Suisse. P: 25-30.

**Ardestani A., Yazdanparast R., (2007).** Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chem.* 104 : 21-29.

**Association française de normalisation (AFNOR), (1986).** Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles ». 2-ème éd. Ed AFNOR, Paris.

**Athamena,S., (2009).** Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminum cyminum* et les feuilles des *Rosemarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Thèse de magister. Université El-hadjlakhdar. Batna

**Atoui A.K ; Mansouri A ; Boskou G ; Kefalas P., (2005).** Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*; 89: 27-36.

**Azmir J., Zaidul I.S.M., Rahman M.M., Sharif K.M., Mohamed A., Sahena F., Jahurul M.H.A., Ghafoor K., Norulaini N.A.N., Omar A.K.M., (2013).** Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. *Journal of Food Engineering* 117,426–436.

**Baba-Aïssa F., (1991).** Les plantes médicinales en Algérie. Coédition Bouchéne et Ad-diwan; Alger.

**Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Vasseur J., Gazin J.C., Pinkas M., Luyckx M., Gazin M., (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimforschung*, 46 (11): 1086-1089.

**Barel S., Segal R. &Yashphe J., (1991).** The antimicrobial activity of the essential oil from *Achillea fragrantissima*. *Journal of Ethnopharmacology*. 33: 187-191.

**Bedi G., Tonzibo Z.F., Chalchat J.C. & N'Guessan Y.T., (2003).** Composition chimique des huiles essentielles de *Chromolaena odorata* L. King Robinson (Asteraceae) Abidjan Côte d'Ivoire. *Journal de la Société Ouest Africaine de Chimie*. 11 : 29-37.

**Bedi G., Tonzibo Z.F., Chopard C. &N'Guessan Y.T., (2004).** Etude des effets antidouleurs des huiles essentielles de *Chromolaena odorata* et de *Mikania cordata*, par action sur la Lipoxygénase L-1 de soja. *Physical Chemical News*. 15: 124-127

**Bedi G., Tonzibo Z.F., Oussou K.R., Chopard C., Mahy J.P. &N'Guessan Y.T. (2010).** Effect of essential oil of *Chromolaena odorata* (Asteracea) from Ivory coast, on cyclooxygenase function of prostaglandine-H synthase activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 4(8): 535-538.

**Ben Miri Y.,(2019).** Etude du potentiel antifongique, antiaflatoxinogène et antioxydant de certaines huiles essentielles et leur efficacité dans le système alimentaire. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri. Tizi-ouzou.

- Berger M. M., (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des Connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20: 48-53.
- Bhat S. V., Nagasampagi, B. A., Sivakumar M., (2005).** *Chemistry of Natural Products*. Narosa, New Delhi, India, Ch. 4, 237.
- Boira H. and Blanquer A., (1998).** Environmmtal factors affecting chemical variability of essential oil in *Thymus piperella L.* *Biochem. Syst. Ecol.* 26, 8116-822.
- Boizot N. & Charpentier J.P., (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le cahier des techniques de l'INRA*. pp: 79-82.
- Bonnaillie C, Salacs M, Vassiliova E, Saykova,I., (2012).** Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea L.*). *Revue de génie industriel*. Vol. 7. pp. 35-45
- Boubekri C., (2014).** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse doctorat. Université Mohamed Khider, Biskra.
- Bouhadjra, K, (2011).** Étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. Thèse de magister. Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou.
- Bouyahyaoui A., (2017).** Contribution à la valorisation des substances naturelles : Etude des huiles essentielles des Cupressacées de la région de l'Atlas algérien. Thèse de doctorat, Université de Mostaganem, Algérie
- Brachet A., Christen P. and Veuthey J.L., (2002).** Focused microwave-assisted extraction of cocaine and benzoylecgonine from coca leaves. *PhytochemicalAnalysis*. 13:162-169.
- Brahimi S.,(2017).** Contribution à l'évaluation de l'effet toxique et thérapeutique des plantes médicinales : *juniperus phoenicea, olea europaea* et *urtica dioica*. Mémoire master. universite akli mohand oulhadj. Bouira.
- Bruneton J.,(1999).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 3ème édition. Edition tec & doc, Paris, pp783-823.
- Bruneton J., (1999).** "Pharmacognosie, Plantes médicinales", Ed. Lavoisier, Techniques et documentation, Paris, 405.

- Brzozowka J., Hanower, P., (1976).** Sur les composés phénoliques des végétaux et leur rapport avec un déficit hydrique chez des cotonniers. *Annale de l'université d'Abidjan*, 12 :65-87.
- Burt S., (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food and Microbiology*. 94: 223-253.
- Camille Migdal, Mireille Serres., (2011).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/sciences ; 27* : 405-12.
- Candan F., Unlu M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sokemen A. & Akpulat H.A.,(2003).** Antioxydant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achilla millefolium subsp. Millefolium Afan.* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 87: 215-220.
- Capuzzo A., Maffei M.E., Occhipinti A., (2013).** Supercritical fluid extraction of plant flavors and fragrances. *Molecules*.18:7194-7238.
- Carney I M &Camey AM., (1994).** Role of protein oxidation in aging and in age-associated neurodegenerative diseases. *Life Sei* 55, 2097-2103.
- Chabrier J,Y., (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. *Pharmacie : Université Henri Poincare - Nancy 1 : Nancy* (183p).
- Chang C., Yang M., Wen H. & Chern J., (2002).** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Analysis*, 10, 178-182.
- Chaouche T.M., (2014).** Etude des activités antioxydante et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales, Analyse par HPLC-SM les extraits les plus actifs. Thèse doctorat. Université abou bekr belkaid, Tlemcen.
- Charis M., (2018).** Polyphenols :properties, recovery and applications. Food waste recovery group. Austria.
- Chenni M., (2010).** Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinal : *Bryonia dioica Jacq.* Mémoire magister. Université d'oran es- senia.
- Chiba Y., Shimada A., Kumagai N., Yoshikawa K., Ishii S., Furukawa A., Takei S., Sakura M., Kawamura N & Hosokawa M., (2008).** The Senescence-accelerated Mouse (SAM): A Higher Oxidative Stress and Age-dependent Degenerative Diseases Model. *Neuroehem Res*.
- Chimedit., (2012).** Guide de la chimie du végétal et des agro-ressources. Paris. 352 P.

- Cloutier A., (2009).** Effet neuroprotecteurs et modulation du système antioxydant dans le cerveau par l'acide linoléique conjugué, Mémoire pour l'obtention de grade de maître ès science, université de Québec , INRS institut Armand Frappier , Québec , Canada.
- Dabire C., Nebie R. H. C., Belanger A., Nacro M., & Sib F. S., (2011).** Effet du séchage de la matière végétale sur la composition chimique de l'huile essentielle et l'activité antioxydante d'extraits de *Ocimum basilicum L.* International Journal of Biological and Chemical Sciences, 5(3).
- Dacosta E., (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris, 317p.
- Dai J. and Mumper R J., (2010).** Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propreties. Molecules, 15(10): 7313-52.
- De Sousa A.C., Alviano D.S., Blank AF., Alves P.B., Aliano C.S., Gattass C.R., (2004).** *Melissa officinalis L.* essential oil: antitumoral and antioxydant activities. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 56: 677-681.
- Deroin T., (1988).** Biologie florale d'une annonacea introduite en Cote d'Ivoire : *Cananga* diagnosis and epidimiology of fungal infections. 36(1), p247-259.
- Derwich E., Benziane Z., & Boukir, A., (2010).** Chemical composition of leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* and evaluation of its antibacterial activity. Int J Agric Biol, 12(2), 199-204.
- Derwich, E., Benziane, Z., Taouil, R., Senhadji, O., Touzani, M. A., (2010).** Comparative Study of The Chimical Composition of The Leaves Volatil Oil of *Juniperus phoenicea L* and *Juniperus oxycedrus*, Middl-East J. Res,5(5): 416-424.
- Dey P., Kundu A., Kumar A., Gupta M., Lee B. M., Bhakta T., ... & Kim H. S., (2020).** Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). In Recent Advances in Natural Products Analysis (pp. 505-567). Elsevier.
- Diallo D., (2000).** Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them : *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), Diospyros., Thèse de doctorat, Lausanne., 148-176.
- Donatien K., (2009).** Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes : extraction, identification d'alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse doctorat. Université paulverlaine de metz –upv-m. France.

**Ennajar M., Romdhane M., & Abderrabba M., (2007).** Influence de la période de récolte sur la teneur et la composition de l'huile essentielle du Genevrier de Phénicie ( *Juniperus phoenicea* L.).

**Ennajar, M., Bouajila, J., Lebrihi, A., Mathieu, F., Abderraba, M., Raies, A et Romdhane, M.,(2009).** Chemical Composition and Antimicrobial and Antioxidant Activities of Essential Oils and Various Extracts of *Juniperus phoenicea* L. (Cupressaceae). Journal of food science, Vol. 74.

**Erickson M., (2000).** Healing with Aromatherapy, McGraw-Hill Professional, p. 204.

**Ernst E., (2001).** A primer of complementary and alternative medicine commonly used by cancer patients. Med J Aust 174: 88–92.

**Fabrocini V.C., (2007).** Comment se soigner avec L'AROMATHERAPIE et guérir : agitation, anxiété, allergie, asthme, déprime, insomnie, lombalgie, mal de dos, migraines, palpitations, etc. Ed. de vecchi.4-17.

**Favier A., (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, 11-12, 108-115.

**Favier A., (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. Ann Pharm Fr. 64: 390-396.

**Fleuriet A., Macheix J., Jay-Allemand C., (2005).** les composés phénoliques des végétaux. un exemple de métabolites secondaires d'importance économique

**Fluck H., (1963).** Chemical Plant Taxonomy. Ed. T. Swain. Academic press, New York, 543p

**Fouché J.G., Marquet A. et Hambukers A. (2008).** Les plantes médicinales : de la plante au médicament. Conception et réalisation.

**Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M., (2001).** Le préparateur en pharmacie dossier 2ème Ed TEC&DOC. Paris. pp275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).

**Ghni W., (2015).** Etude phytochimique de l'extrait de deux euphorbiacées : *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété antioxydant et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase. Thèse doctorat. Université de Lorraine, Bizerte.

**Gruffat X., (2017).** Définition de la phytothérapie .Disponible sur :<https://www.creapharma.ch/phytotherapie.htm>.

**Guignard J. L., (2000).** Biochimie végétale. 2ème édition. Edition Dunod, Paris, pp 198-207.

**Guignard J.L., Cosson. et Henry M., (1985).** Abrégé de phytochimie, Masson et cie, Paris, 154-174.

**Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M and Abdely C., (2008).** Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities. Compt. Rend. Biol. Vol. 331. pp. 372-379

**Haleng J.,Pincemail J.,Defraigne J,O.,Charlier C.,Chapelle,J,P.,(2007).**le stress oxydant. Rev Med Liege 62: 10: 628-638

**Hamadi N., ( 2010).** Effet du resveratrol sur les défenses antioxydants chez les rats rendus diabétiques par l'injection de la streptozotocine , thèse de magistère ,Université Mentouri Constantine, Constantine , Algérie.

**Hayouni E-A.,Abdrabba M.,Bouix.M.,Hamdi.M.,(2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quererus coccifera* L and *Juniperus phoenicea* L fruit extracts Food chemistry , Vol.10.pp.10-16.

**Hennebelle T., Sahpaz S. et Bailleul F., (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothér, 1. pp : 3-6.

**Hocine F.M., GORINE M.A.,(2017).** Évaluation de l'exposition au plomb et cadmium et impact sur quelques paramètres du statut oxydant/antioxydant chez les ouvriers exposes aux fumes de soudage. Mémoire master. Université Abou bekr belkaid, Tlemcen.

**Hopkins W.G., (2003).** Physiologie végétale. Ed.Boeck et Lancier SA, Paris, 514 p.

Interaction avec des ions métalliques. Thèse doctorat. Université d'avignon, Bejaia

**Iserin P.,(2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème édition. Londres : Larousse.

**Jarry C ., (1993).** Deux genévriers toxiques, *Juniperus Sabina*, et *Juniperus phoenicea* L , these pour l'obtention de diplôme de docteur en pharmacie , université de Limoges , France.

**Jortie S., (2015).** La phytothérapie, une discipline entre passé et futur : de l'herboristerie aux Pharmacies dédiées au naturel, thèse, université Bordeaux 2 p : 21-22.

**Kalla A., (2012).** Étude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien.

- Keskes H., Mnafigui k., Haden k., Damak M., Allouche N., (2014).** In vitro anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant proprieties of *Juniperus phoenicea* L. Leaves from Tunisia. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, Vol. 4. Pp. 649-655
- Kocchilin-Ramonatxo C., (2006).** Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation or another way for nutrition in respiratory diseases. Nutrition clinique et métabolique, 20, 165-177. doi: 10.1016/j.nupar.2006.10.178.
- Lee K .W., Kim Y. J., Lee H. J et Lee C. Y., (2003).** Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. J. Agric. FoodChem , 51 : 7292-7295.
- Lieutaghi P., (1969).** Le livre des arbres , arbustes et arbrisseaux ,Pierre Morel.
- Loft S., Moller P., Cooke MS., Rozalski R &Olinski R., (2008).** Antioxidant vitamins and cancer risk: is oxidative damage to DNA a relevant biomarker? Eur J Nutr 47 Suppl 2, 19-28.
- Lopez-Lutz D.S., Alviano, D.S., Alviano, C.P., & Kolodziejczyk, P., (2008).** Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of artemisia essential oils. Phytochemistry 69:1732-1738.
- Louni D., (1994).**Les forêts algériennes. Forêt Méditerranéenne, 1, 59-63p
- Lucchesi ME., (2005).** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université de la reunion. France.
- Lucchesi M.E ., (2006).** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à L'extraction des Huiles Essentielles. Thèse de Doctorat. 16-59.
- Mandal V., Mohan Y., Hemalatha S. (2007).** Microwave-assisted extraction-An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. Pharmacognosy Reviews. 1(1):7-18.
- Mandin J –P, (2005).** Découverte de très vieux genevriers de phénicie( *Juniperus phoenicea* L .) dans les gorges de l'Ardèche ( France) .France .53-62.
- Mann J., (1987).** Secondarymetabolism. ClarendonPress, Oxford, 374 p.
- Marouf A., Reynaud J., (2007).** La Botanique de A à Z, 1662 définitions, Dunod, paris. P: 69.
- Marston A., Hosttmann K., (2006).** Separation and Quantification of Flavonoids. Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications. Taylors and Francis: 1-36.

**Martin S., Andriantsitohaina R., (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. 51: 304-315.

**Mbarek L.A., Mouse H.A., Elabbadi N., Bensalah M., Gamouh A., Aboufatima R0., Benharref A., Chait A., Kamal M., Dalal A., Zyad A., (2007).** Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts. *Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research*. 40: 839-847.

**MEHANI M., (2015).** Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Eucalyptus camendulensis dans la région d'Ouargla, thèse doctorat. Université de KASDI Merbah, Ouargla.

**Mehinagic E., Bourles E. Et Jourjon F. (2011).** Composés des fruits d'intérêt nutritionnel: impact des procédés de transformation sur les polyphénols. *Arboriculture*. 43 (6): 364–368.

**Miguel M.G., Costa L.A., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G., (2007).** Assessment of the antioxidant ability of *Thymus albicans*, *Th. Mastichina*, *Th. Camphoratus* and *Th. Carnosus* essential oils by TBARS and micellar model systems. *Natural Product Communications (special edition)*, 2, 399-406p.

**Miller B., Lufiani L.M., Ralph S., Bohlmann J., (2005).** Insect-Induced Conifer Defense. White Pine Weevil and Methyl Jasmonate Induce Traumatic Resinosis, de Novo Formed Volatile Emissions, and Accumulation of Terpenoid Synthase and Putative Octadecanoid Pathway Transcripts in Sitka Spruce. *Plant Physiology*, 137.

**Mohammedi Z., (2013).** Etude Phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud-ouest de l'Algérie. *Substances naturelles, activités biologiques et synthèses*. Université ABOU BERK BELKAID, Tlemcen, p : 170.

**Monti D., Chetoni P., Burgalassi S., Najarro M0, Saetton M.F. & Boldrini E., (2002).** Effect of different terpene-containing essential oils on permeation of estradiol through hairless mouse skin. *International Journal of Pharmaceutics*, 237: 209-214.

**Moreau B., (2003).** Maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie.

**Moro - Buronzo A., (2008).** Grand guide des huiles essentielles : Santé, Beauté, Bien- Etre, Hachette pratique. 14.

**Muanda F.N., (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse doctorat université Paul Verlaine de Metz. France.

**Nazik M., Satrani B.,Ghanmi M., ElGhadraoui L.,Guedira A., AafiA., (2011).**composition chimique , activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Juniperus Communis* du Maroc .bulletin de la societé royale des science de liege , Vol, 80 , p.791-805.

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

**Nico V.,(2003).** Encyclopédie des plantes médicinales et aromatiques. Paris : Maxi livres.

**Office National Météorologique Algérien.,(2005).** Données climatiques de la station météorologique de Béjaïa (documents interne).

**Oussou K.R., (2009).** Etude chimique et activité biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan, 241p.

**Park P. J., Jung W. K., Nam K.S., Shahidi F. and Kim S. K. (2001).** Purification and characterization of antioxidative peptides from proteinhydrolysate of lecithin-free egg yolk. Journal of the American oilChemists Society, 78 (6), 651-656.

**Pathak M. A., Farrington D. J. and Fitzpatrick T. B., (1962).** The presently known distribution of furocoumarins (psoralens) in plants. Journal of investigative Dermatology, 39: 225-299.

**Paul I., Masson., Restellini J.P., (2001).** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation et soins, Larousse.

**Paulsen G., Cumming K., Holden G., Hallen J., Ronnestad B., Sveen O., Skaug A, Paur I,Bastani N., Ostgaard H., Buer , C., Midttun M, Freuchen F, Wiig H, Ulseth E, Garthe I, Blomhoff, R., Benestad, H., Raastad T., (2013).** Vitamin C and E supplementation hampers cellular adaptation to endurance training in humans: a double-blind randomized controlled trial. *al.* J.267419.

**Pelt J. M., (1980).** Les drogues, leur histoire et leurs effets. Édition Doin, Paris, 221 p.

**Pengelly A., (1996).** "Constituent of medicinal plants ", 2ème Ed. SunflowerHerbals, p77-99.

- Phytochemical Society of Europe., (1991).** Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids: Oxford science publications, British.
- Pierre et Lis., (2007).** Secrets des plantes. Editions Artemis, Paris 1: 463
- Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K. and Defraigne J.O., (2002).** Physiological action of antioxidantdefences. Nutrition Clinique et Métabolisme, 16, 233-239.
- Powell R.A., Adams R.P., (1973).** Seasonal variation in the volatile terpenoids of *Juniperus scopulorum* (Cupressaceae). Am. J. Bot., 60:1041-1051.
- Q Zhang. K De Oliveira Vigier S. Royer J. François., (2012).** Deep eutectic solvents : syntheses, properhes and applications, Chem. Soc. Rev. 41 (2012) 7108-7146.
- Quezel P., Santa S., (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, Paris, 636p
- Rameau J.-C., Mansion D., Dume G., (2008).** Flore forestière française : guide écologique illustré. Région méditerranéenne. Forêt privée française, Volume 3, 2426p
- Santos-Buelga,c ., Alvarez-Suarez J.M., Giampieri F., González Paramás A.M., Damiani E., Astolfi P., Martinez-Sanchez F., Bompadre S., Quiles J.L., Battino M., (2012).** Food and Chemical Toxicology :Phenolics from monofloral honeys protect human erythrocyte membranes against oxidative damage.espagne: virgili,santLlorens. Pages 1171-1816
- Satrani B., Ghanmi M., Mansouri M., Amusant N., (2015).** Antioxidant properties of essential oils extracted from three species of moroccan junipers. Environmental Science : An Indian Journal, 11 (7), pp.239-247.
- Scheibmeir H.D., Christensen K., Whitaker S.H., Jegaethesan J., Clancy R., Pierce J.D., (2005).** A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. Intensive and Critical Care Nursing, 21(1), 24-28. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.iccn.2004.07.007>Login.
- Sen C. K., Packer L., Hanninen O., (2000).** Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise. Amsterdam: Elsevier, 3-53.
- Siani A.C, Ramos M.F, Menezes-de-Lima O.J.R, Ribeiro-dos-Santos R, Fernando-Ferreira E., Soares R.O., Rosas E.C., Susunaga G.S., Guimarae A.C., Zoghbi M.G.&Henriques M.G.C., (1999).** Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from leaves and resin of *Protium*. Journal of Ethnopharmacology. 66:57-69.

**Sies H., (1991).** Oxidative stress: from basic research to clinical application. Am J Med. 1991, 91,31-38.

**Sivropoulou A., Nikobu C., Papanikolaou E., Kokkini S., Lanaras T., & Arsenakis, M., (1997).** Antimicrobial, cytotoxic and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45 (8), 3197–3201

**Slinkard K. & Singleton V.L., (1977).** Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. Am. J. Enol. Viticult. 28: 49–55.

**Sofowora., (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique. Karthala, Economie et Développement. Paris : 384.Solanummelongena par des techniques électrochimiques. Thèse doctorat. Université Mohamed Khider, Biskra.

**Soltani Y., Ali-Bouzi M., Toumi F., Benyamina A., (2017).** Activités antioxydantes des extraits de trois organes de *Juniperus phoenicea* L de l’ouest algérien. Phytothérapie. Lavoisier SAS 2017.

**Spiteller G., (2007).** The important role of lipid peroxidation processes in aging and age dependent diseases. Mol Biotechnol37, 5-12. stabilité oxydative de l’huile d’olive vierge. Thèse de magister. Université Mouloud Mammeri. Tizi-ouzou.

**Tekol Y., (2007).** The medieval physician Avicenna used an herbal calcium channel blocker, *Taxusbaccata* L. Phytotherapy Research. 21(7): p. 701-702.

**Tessier F., Marconnet P., (1995).** Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. Science and Sports, 10: 1-13.

**Unlu M., Daferera D., Donmez E., Polissiou M., Tepe B. & Sokmen A., (2002).** Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of *Achilla setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae). Journal of Ethnopharmacology. 83: 117-121

**Vârban D.I., Duda M., Vârban R., Muntean S., (2009).** Research Concerning the Organic Technology for *Satureja Hortensis* L. Culture Bulletin UASVM Agriculture, 66(2):225- 229.

**Vauzour D. M., (2004).** Étude des propriétés biologiques des constituants des vins de champagne. Thèse doctorat. Université Montpellier1. France

**Verbois S., (2015).** Tour d'horizon historique. In la phytothérapie. 61, bd Saim-Germain 75240 Paris Cedex OS : Éditions Eyrolles, p21-p27.

**Waksmundzka-hajnos M. and Sherma J., (2011).** High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical ience. Chromatographic Science Series, 102: 477-478.

**Zaghad N., (2009).** Polyphénolique deux plantes médicinale d'intérêt économique (*thymus vulgaris*, *rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Biotechnologie végétale, université mentouri Constantine, p :130.

**Zerargui,. F., (2015).** Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis L.* et caractérisation des substances bioactives, thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Sétif , Algérie.

**Zobel A. M. and Brown S. A., (1990).** Dermatitis-inducing furanocoumarins on leaf surfaces of eight species of *Rutaceous* and *Umelliferous* plants. Journal of ChemicalEcology 16, 3: 693-700.

**Zou Y., QianZ L, Li Y., Kim MM., Lee SH & Kim SK., (2008).** Antioxidant Effects of Phlorotannins Isolated from *Ishigeokamurae* in Free Radical Mediated Oxidative Systems. J Agric Food Chem.

### Sites Web :

**Web 1 :** <https://fr.db-city.com/Alg%C3%A9rie--El-Oued--Djamaa--Djamaa>).