

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Projet de fin d'étude

*En vue de l'obtention du diplôme de **Master***

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème

**Étude comparative du pouvoir antioxydant des extraits
phénoliques à partir des feuilles des deux sections du genre
*Juniperus***

Présenté par :

- M^{elle} Lahdeb Fatiha Ahlem.
- M^{elle} Tabti Mariem.

Soutenu publiquement le 13/06/2024 devant les membres de jury :

- Président : Dr. Leboukh Mourad (UATL)
- Promotrice : Dr. Chelghoum Manel (ENSL)
- Examineur : Dr. Tahri Djilali (ENSL)

Année universitaire 2023-2024

Remerciement

Avant toute chose, nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage et la santé pour réaliser ce travail.

Nous remercions, Le chef de laboratoire des sciences fondamentales à l'université de Laghouat Pr. Yousfi Mohamed qui nous a accueilli au niveau de LSF durant toute la période d'apprentissage.

Nos sincères remerciements et notre profonde gratitude sont adressés à notre directrice de mémoire, M^{lle} Chelghoum Manel, Maitre assistante classe B à l'école normale supérieure de Laghouat pour l'attention qu'elle nous a accordé à la direction et à l'accomplissement de ce travail.

Aux membres du jury qui ont bien voulu accepter d'examiner ce travail

Nous remercions également tous ceux qui nous ont aidé dans ce travail d'une manière ou d'une autre, notamment le personnage de laboratoire des sciences fondamentales.

Dédicace

A ma formidable **Maman** : pour son amour, ses prières et son soutien, tous ses sacrifices consentis et ses conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.

A mes chères sœurs, mon soutien dans la vie : **Noussiba, issra**

A mon cher frère : **Mohamed.**

A ma chère famille, en particulier à ma **grand-mère** et mon oncle
Mohamed

A ma chère **tante** qui ne m'a jamais oublié avec ses prières.

A mes chers amis pour leur amour et les beaux souvenirs.

Ahlem

Dédicace

A mes très chers parents, source de vie, d'amour et d'affection

A mon cher époux et à ma deuxième famille, source de soutien et de
confiance.

A mes chers frères et mes soeurs, source de joie et de bonheur.

A toute ma famille, source d'espoir et de motivation.

A Ahlem, chère amie avant d'être binôme.

MERIEM

Sommaire

Sommaire

| | | |
|-----------------|---|----|
| | Remerciement | |
| | Dédicace | |
| | Résumé | |
| | Listes des figures | |
| | Listes des tableaux | |
| | Listes des abréviations | |
| | Introduction..... | 1 |
| I | Synthèse bibliographique..... | |
| I.1 | Présentation de genre <i>Juniperus</i> | 3 |
| I.1.1 | Systématique du genre <i>Juniperus</i> | 3 |
| I.1.2 | L'espèce de <i>Juniperus oxycedrus</i> | 3 |
| I.1.2.1 | Noms vernaculaires..... | 4 |
| I.1.2.2 | Systématique..... | 4 |
| I.1.2.3 | Répartition géographique..... | 5 |
| I.1.2.4 | Utilisation médicinale..... | 5 |
| I.1.3 | L'espèce <i>Juniperus oxycedrus ssp badia</i> | 5 |
| I.1.3.1 | Systématique..... | 5 |
| I.1.4 | L'espèce <i>Juniperus phoenicea L ssp turbinata</i> | 6 |
| I.1.4.1. | Noms vernaculaires | 6 |
| I.1.4.2 | Systématique..... | 7 |
| I.1.4.3. | Répartition géographique..... | 7 |
| I.1.4.4. | Utilisation médicinale..... | 8 |
| I.1.5 | L'espèce de <i>Juniperus communis L</i> | 8 |
| I.1.5.1 | Nom vernaculaires..... | 8 |
| I.1.5.2 | Systématique..... | 9 |
| I.1.5.3 | Répartition géographique..... | 9 |
| I.1.5.4 | Utilisation médicinale..... | 9 |
| I.1.6 | L'espèce <i>Juniperus thurifera L</i> | 10 |
| I.1.6.1 | Nom vernaculaire..... | 10 |
| I.1.6.2 | Systématique..... | 10 |
| I.1.6.3 | Répartition géographique..... | 11 |
| I.1.6.3 | Utilisation médicinale..... | 11 |
| I.2 | Substances actives des plantes étudiées..... | 12 |

| | | |
|-----------|---|----|
| I.2.1 | Les composés phénoliques..... | 12 |
| I.2.2 | Les voies de biosynthèse..... | 12 |
| I.2.3 | La classification..... | 13 |
| I.2.3.1 | Acides phénols..... | 13 |
| I.2.3.2 | Flavonoïdes..... | 14 |
| I.2.3.3 | Tanins..... | 14 |
| I.2.3.4 | Dérivés coumarines..... | 14 |
| I.2.3.5 | Stilbénes..... | 14 |
| I.2.3.6 | Lignines et lignanes..... | 15 |
| I.3 | Stress oxydant et antioxydants..... | 15 |
| I.3.1 | Définition du stress oxydatif..... | 15 |
| I.3.2 | Origines du stress oxydatif..... | 15 |
| I.3.3 | Radicaux libres..... | 15 |
| I.3.4 | Conséquences du stress oxydatif..... | 16 |
| I.3.5 | Les antioxydants naturels et synthétiques..... | 16 |
| I.3.5.1 | Les antioxydants..... | 16 |
| I.3.5.2 | Les antioxydants naturels..... | 17 |
| I.3.5.3 | Les antioxydants synthétiques..... | 17 |
| I.4 | Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante..... | 18 |
| II | Matériels et Méthodes | |
| II.1 | Matériels Végétaux..... | 19 |
| II.1.1 | Collecte..... | 19 |
| II.2 | Extraction des composés phénoliques..... | 20 |
| II.3 | Préparation des combinaisons..... | 22 |
| II.4 | Rendement | 23 |
| II.5 | Dosage des phénols totaux..... | 23 |
| II.5.1 | Mode Opérateur..... | 23 |
| II.6 | Dosage des flavonoïdes | 24 |
| II.6.1 | Mode opératoire | 24 |
| II.7 | Dosage des tannins | 25 |
| II.7.1 | Mode opératoire..... | 26 |
| II.8 | Évaluation du pouvoir antioxydant des extraits phénoliques..... | 26 |
| II.8.1 | Test DPPH:(2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)..... | 26 |
| II.8.1.1 | Mode opératoire | 27 |
| II.8.2 | Test FRAP (Ferric Reducing antioxidant Power)..... | 27 |

| | | |
|-----------------|---|----|
| II.8.2.1 | Mode opératoire | 28 |
| II.8.3 | Test ABTS | 29 |
| II.8.3.1 | Mode opératoire | 29 |
| II.9 | Analyse statistique des données..... | 30 |
| III | Résultats et discussion..... | |
| III.1 | Rendement, contenus des phénols totaux, des flavonoïdes, et des tanins..... | 31 |
| III.2 | Evaluation de la capacité antioxydante des extraits..... | 35 |
| IV | Conclusion et perspectives | 40 |
| V | Références | 42 |
| | Annexe | |

Listes des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1: Photos représentatives de l'espèce <i>Juniperus oxycedrus</i> L (photos originales) | 4 |
| Figure 2:Photo de la sous espèce <i>Juniperus oxycedrus</i> ssp . <i>badia</i> . (photos originales) | 6 |
| Figure 3: Photos représentatives de l'espèce <i>Juniperus phonicea</i> ssp. <i>turbinata</i> . (photos originales). | 7 |
| Figure 4:photos représentatives de l'espèce <i>Juniperus communis</i> L(photos originales)..... | 9 |
| Figure 5:Photo représentative de l'espèce de <i>Juniperus thurifera</i> L..... | 11 |
| Figure 6: Biosynthèse de certains composés phénoliques à partir de la phénylalanine | 13 |
| Figure 7 : Emplacements géographiques des trois sites étudiés (google Map). | 19 |
| Figure 8: La procédure de macération | 20 |
| Figure 9:Evaporateur rotatif..... | 21 |
| Figure 10:Extraction par solvant (purification avec l'acétate d'éthyle) | 21 |
| Figure 11: La phase organique obtenue..... | 22 |
| Figure 12:La courbe d'étalonnage pour l'acide gallique..... | 24 |
| Figure 13 : La courbe d'étalonnage de quercétine..... | 25 |
| Figure 14 : Réactions de condensation de la vanilline avec des tanins. | 25 |
| Figure 15: Courbe d'étalonnage de la catéchine | 26 |
| Figure 16: Courbe du pouvoir antioxydant du standard de référence (acide ascorbique) selon le test DPPH..... | 27 |
| Figure 17: Réaction de réduction du complexe ferrique-tripyridyltriazine à la forme ferreux-tripyridyltriazine en présence d'antioxydants (Benzie et Strain, 1996). | 28 |
| Figure 18 : Courbe d'étalonnage du test FRAP (acide ascorique mmol/l)..... | 28 |
| Figure 19: Courbe d'étalonnage du test ABTS (acide ascorbique mmol/l)..... | 29 |
| Figure 20:Diagramme circulaire comparant les rendements des deux sections de <i>Juniperus</i> | 32 |
| Figure 21: Histogramme comparant les moyennes des teneurs en phénols totaux, flavonoïdes, et tanins entre les deux sections de genre <i>Juniperus</i> | 33 |
| Figure 22 : Graphique bidimensionnel de l'ACP montrant la variation de la composition phytochimique des extraits phénoliques(extraits naturels seuls)..... | 34 |
| Figure 23 : Graphique bidimensionnel de l'ACP montrant la variation de la composition phytochimique des extraits phénoliques(extraits combinés) | 34 |

Figure 24: Graphique bidimensionnel de l'ACP montrant la variation de la composition phytochimique et l'activité antioxydant des extraits phénoliques. (extraits naturels seuls)37

Figure 25: Graphique bidimensionnel de l'ACP montrant la variation de la composition phytochimique et l'activité antioxydant des extraits phénoliques(extraits combines)38

Listes des tableaux

| | |
|---|-------------------------------------|
| Tableau 1: Coordonnées GPS, altitudes et étages bioclimatiques des emplacements géographiques des sites de collecte. | 20 |
| Tableau 2: Différents extraits naturels seuls et combinés des espèces de deux sections..... | 22 |
| Tableau 3:Rendement et teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes, et en tanins des extraits phénoliques purs et combinés des deux sections du genre <i>Juniperus</i> | Error! Bookmark not defined. |
| Tableau 4: Valeurs de l'activité antioxydante des extraits phénoliques (purs et combinés) des deux sections évalués par les trois tests DPPH, FRAP et ABTS). | 36 |

Listes des abréviations

ABTS : Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

ACP : Analyse en Composantes Principales

AlCl₃ : Trichlorure d'Aluminium

Bad : L'espèce de *Juniperus oxycedrus ssp badia*

BHA : Le butylhydroxyanisole

BHT : Le butylhydroxytoluène

Com : L'espèce de *Juniperus communis*

DPPH : 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl

EAG : Équivalent d'acide gallique.

EC : Équivalent de catéchine

EC₅₀ : Efficient Concentration (inhibitrice 50 %).

EOR : Espèces réactives d'oxygénées

EQ : Équivalent de quercétine

FRAP : Pouvoir antioxydant réducteur du fer

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

H₃PMo₁₂O₄₀ : Acidephosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungestique

HCl : Acide chlorhydrique.

Oxy : L'espèce de *Juniperus oxycedrus*

Th : L'espèce de *Juniperus thurifera*

TPTZ : 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine

Tur : L'espèce de *Juniperus phoenicea L ssp turbinata*

INTRODUCTION

Introduction

Les plantes médicinales restent le premier réservoir de nouveaux médicaments, elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on trouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes. L'utilisation des plantes pour se soigner vient essentiellement d'une prise de conscience des malades et de leur désir profond de revenir aux produits naturels et efficaces; possédant de nouvelles propriétés pharmacologiques dues à de nouveaux principes actifs et avec des nombreuses activités biologiques pour traiter à la fois plusieurs affections (**Trad,2020**).

Les plantes médicinales constituent une source inépuisable d'antioxydants dont les polyphénols qui attirent plus l'attention et regroupant une grande variété de composés tels que les flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins, les alcaloïdes et les saponosides. Ces derniers sont des composés capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes. (**Bouchakour et Lalout,2022**).

Les composés phénoliques sont connus pour leurs activités biologiques en relation directe avec la santé de l'être humain. De nombreuses études ont montré leurs rôles antibactériens, anti-inflammatoires, antioxydants, anti-cancérigènes et leurs implications dans la prévention de certaines maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète, l'hypertension, les maladies neurodégénératives, antihémolytiques (**Bouchakour et Lalout,2022**).

Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, de prévenir ou de réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible. Ainsi, les antioxydants servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le stress oxydatif (**Athamena,2020**).

Le stress oxydatif résultant de la génération des radicaux libres est l'une des causes les plus reconnues de nombreuses maladies (le cancer, le diabète, l'hypertension, la maladie d'Alzheimer ... etc). Les scientifiques et les nutritionnistes ont toujours cherché à trouver des composés naturels dotés d'effets anti-oxydants pour réduire les dommages oxydatifs, et remplacer les

Introduction

antioxydants synthétiques en particulier ceux qui ont été déclarés cancérigènes (**Athamena,2020**).

A cet égard, notre étude vise à comparer, pour la première fois, la teneur en phytoconstituants et la capacité antioxydante d'extraits phénoliques bruts et d'autres extraits phénoliques combinés entre les espèces de deux sections du genre *Juniperus*(*Sabina* et *Oxycedrus*) en Algérie.

Ce travail sera réparti en une introduction générale et trois chapitres: Le premier chapitre est relatif à une synthèse bibliographique qui comporte des généralités sur la présentation de différentes espèces du genre *Juniperus*,les composés phénoliques et leur classification et la relation entre les antioxydants et le stress oxydatif.

Dans le deuxième chapitre qui désigne la partie matériel et méthode nous commençons par la présentation du travail expérimental réalisé au laboratoire débutant par la collecte des échantillons, et la description des protocoles expérimentaux adoptés pour l'extraction, le dosage des principaux constituants phénoliques et l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits phénoliques de différentes espèces du genre *Juniperus*.

Le troisième chapitre est consacré pour les résultats obtenus et leurs interprétations suivi par une discussion.

Synthèse bibliographique

Synthèse bibliographique

I.1. Présentation de genre *Juniperus*

Le genre *Juniperus* L. est subdivisé en 3 sections: la section *caryocedrus* représentée par une seule espèce, la section *oxycedrus* qui comprend 11 espèces et la section *sabina* qui comporte les espèces restantes (Roudane, 2021).

En Algérie, on compte 5 espèces de *Juniperus* : *Juniperus oxycedrus* L. et *Juniperus communis* L. de la division *oxycedrus*, *Juniperus sabina* L. *Juniperus phoenicea* L. et *Juniperus thurifera* L. de la division *sabina*. (Farhi et al., 2020).

I.1.1 Systématique du genre *Juniperus*

Selon (Debazac, 1991)

Règne: *Plantae*

Sous règne: Tracheobionta

Division: Coniferophyta (Pinophyta)

Embranchement: Spermaphytes

Sous-embranchement: Gymnospermes

Classe: Coniferopsides (Pinopsida)

Ordre: Pinales

Famille: Cupressacées

Genre: *Juniperus*

I.1.2- L'espèce de *Juniperus oxycedrus* L.

Le nom «oxycedrus» provient de deux mots grecs «oxys» et «cedrus» qui signifient respectivement aigu et cèdre, c'est-à-dire «cèdre à feuilles épineuses» (Mzari, 2009).

Il s'agit d'un arbrisseau de 1 à 9 m de haut, dressé, qui ressemble beaucoup au genévrier commun. (Becker et al, 1982).

Synthèse bibliographique

I.1.2.1-Noms vernaculaires

En Arabe:Taga (Quezel et Santa,1962).

En Français: Cadier, cade, genévrier oxycèdre, petit cèdre, petit cèdre d'Espagne.

En Anglais: Berried cedar, prickly cedar, brown berried juniper, cade oil plant.

I.1.2.2-Systématique

Règne : *Planta*

Embranchement: Spermaphytes

Sous- Embranchement: Gymnospermes

Classe: Conifères

Ordre : Coniférales

Famille: Cupressacées

Genre : *Juniperus*

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



Figure 1:Photos représentatives de l'espèce *Juniperus oxycedrus* (photos originales).

Synthèse bibliographique

I.1.2.3-Répartition géographique

En Algérie, le genévrier s'étend sur environ 290 000 hectares. De plus en plus, il se replie dans l'Atlas Saharien et s'écrase sur le versant sud du Grand-Atlas, en raison du climat désertique, mais surtout de l'influence humaine (**Kerbouche, 2010**).

L'espèce *J.oxycedrus* est couramment observée dans les montagnes de l'Atlas, notamment dans les chaînes de l'Atlas Tellien et l'Atlas Saharien. Elle est également présente dans les régions côtières de l'Algérie, le long de la côte méditerranéenne. Des populations de *J. oxycedrus* ont été trouvées dans des droits comme Oran, Skikda, Annaba et Bejaia(**Quezel et Santa,1962**).

I.1.2.4- Utilisation médicinale

En médecine traditionnelle, cette plante est utilisée dans le traitement de diverses maladies tel que : l'hyperglycémie, l'obésité, la tuberculose, la bronchite, et la pneumonie, Elle est également utilisée sous forme de décoction pour le traitement des troubles gastriques et comme un analgésique buccal (**Mazari,2009**).

Les baies d'oxycèdre du genévrier sont efficaces pour la diurèse, la stimulation et le vermifuge.(**Becker et al., 1982**).

Il a été démontré que les extraits de méthanol et de dichlorométhane des feuilles et des tiges de *J. oxycedrus ssp.oxycedrus* abaissent la tension artérielle chez les rats normotendus (**Bello et al, 1997**), inhibent la réponse à l'histamine, à la sérotonine et à l'acétylcholine cholinergique(**Moreno et al, 1997**).

I.1.3. L'espèce *J. oxycedrus ssp. badia*

Arbre à port plus élevé et pyramidal, à feuilles plus larges (1,2-2mm) et fruits bai-brun. Taille des galbules entre 1,2 et 1,5 cm (1,8 cm), longueur des feuilles entre 1,5 et 2,1 mm de large pour 9 à 20 mm de long, port pyramidal et les branches bien visibles. Distribution générale : Afrique du Nord, et la Péninsule Ibérique(**Marc et Enjalbal, 2013**).

I.1.3.1.Systématique

Règne : *Planta*

Synthèse bibliographique

Embranchement: Spermaphytes

Sous- Embranchement: Gymnospermes

Classe: Conifères

Ordre : Coniférales

Famille: Cupressacées

Genre : *Juniperus*

Espèce: *Juniperus oxycedrus* ssp. *badia* (Quezel et Santa, 1962).



Figure 2:Photo de la sous espèce *J. oxycedrus* ssp *badia*. (photo originale)

I.1.4.L'espèce *Juniperus phoenicea* ssp. *turbinata*

Le nom «*Juniperus*» provient du mot celtique «*Juniperus*» qui signifie âpre, à cause de la saveur des fruits, ou encore de *Junio* et *Pario* c'est à dire l'arbre qui possède à la fois des fruits jeunes et des fruits près de tomber (Mazari, 2009).

I.1.4.1. Noms vernaculaires

En Arabe : Arar (Quezel et Santa, 1962).

Synthèse bibliographique

En Français: Genévrier rouge, genévrier de Phénicie.

EnAnglais: Phoenician cedar, berry bearing cedar. (Aymonin, 1990).

I.1.4.2.Systématique

Règne : *Planta*

Embranchement: Spermaphytes

Sous- Embranchement: Gymnospermes

Classe: Conifères

Ordre: Coniférales

Famille : Cupressacées

Genre: *Juniperus*

Espèce: *Juniperusphoenicea* L.(Quezel et Santa, 1962).



Figure 3: Photos représentatives de l'espèce *Juniperus phoenicea* ssp *turbinata*. (photos originales)

I.1.4.3.Répartition géographique

Synthèse bibliographique

On le rencontre sur le versant saharien du Haut-Atlas et sur le Jbel Sarhro où il recule sous l'action conjuguée de l'homme et du climat. En dépit de sa taille réduite (il dépasse rarement huit mètres), le genévrier de Phénicie joue un rôle important quoique méconnu dans l'économie montagnarde: grand pourvoyeur de bois de feu, de perches de construction, de bois de service; parfois même de fourrage foliaire... Les perchettes de genévrier assemblées en couches tressées forment l'armature des terrasses de terre dans bien des maisons berbères (Menaceur, 2015).

I.1.4.4.- Utilisation médicinale

Cette espèce est très utilisée en médecine traditionnelle. Les feuilles sont utilisées pour soigner le diabète, contre les maladies broncho-pulmonaires et comme un diurétique. Le mélange des feuilles et cônes a été utilisé comme un hypoglycémiant oral la diarrhée et le rhumatisme alors que les fruits séchés et réduits en poudre peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès (Menaceur, 2015).

I.1.5. L'espèce de *Juniperus communis* L

Le *Juniperus communis*, est la seule espèce de *Juniperus* présente dans les deux hémisphères (Adams, 1998). Le Genévrier commun est une espèce dioïque qui possède des aiguilles piquantes (Quezel et Medail, 2003). Elles offrent au-dessus (sur la partie supérieure) deux bandes blanchâtres à peine séparées l'une de l'autre, et il possède également un port rampant (Zeggane, 2022).

I.1.5.1-Nom vernaculaire

En français : appelé genévrier commun, rouge, peteron ou petrot.

En Anglais: commun juniper

En Algérie: il est différemment nommé selon les régions ; Taka en kabyle, zimba en chawi, et ara'ar en arabe (Trabut, 1935).

I.1.5.2. Systématique

Règne : *Planta*

Synthèse bibliographique

Embranchement: Spermaphytes

Sous-embranchement: Gymnospermes

Classe: Coniféroopsides

Famille: Cupressaceae

Genre: *Juniperus*

Espèce : *Juniperus communis* L.(Small et Dentsch, 2001).

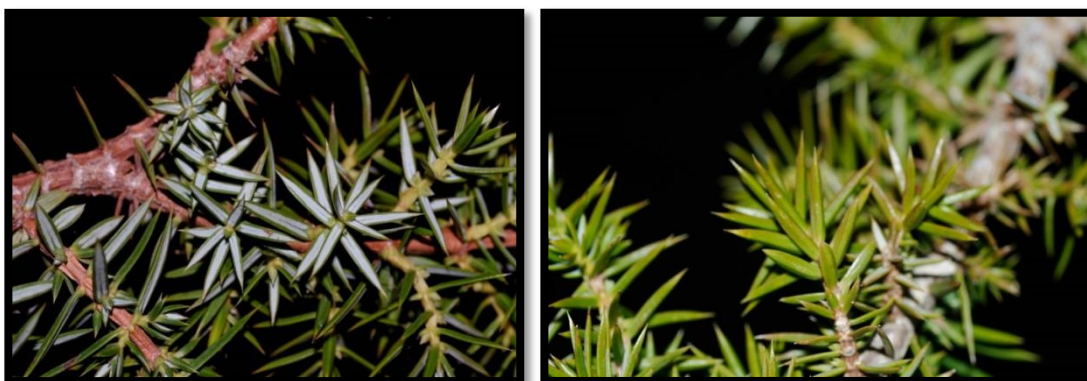


Figure 4:photos représentatives de l'espèce *Juniperus communis* L. (photos originales)

I.1.5.3. Répartition géographique

En Algérie, il est abondant sur les crêtes du Djurdjura (Quezel et Gast, 2011) dans un bioclimat humide froid à perhumide froid , et plus rare dans les Aurès et les Babors, où il se situe dans l'étage de la cédraie(Douffi et Amroune,2021).

I.1.5.4. Utilisation médicinale

Les baies et les jeunes pousses, préparées en infusion, ont des effets diurétiques, stomachiques et digestifs. Ils auraient été utilisés contre l'asthme.Plus qu'un traitement des digestions difficiles et des gaz intestinaux, les baies de genièvres sont ajoutées préventivement lors de la préparation de plats un peu lourds afin de faciliter leur digestion .Un usage abusif du genévrier peut provoquer des troubles rénaux ; de ce fait, il ne doit pas être utilisé durant lesgrossesses. Des empoisonnements de chèvres dus à une consommation trop importante de

Synthèse bibliographique

rameaux de ce genévrier ont été rapportés. Quant aux jeunes pousses de feuilles, elles sont utilisées en gemmothérapie (Auger et Laporte, 1982).

I.1.6. L'espèce *Juniperus thurifera* L.

Aïoual, la nomenclature générale "berbère" du *Juniperus thurifera* L. il se caractérise par des feuilles faiblement imbriquées sur 4 à 6 anneaux ; elles sont en rameaux lancéolées-aiguës, pointues et libres au sommet. Le fruit a un bleu-noir semblable à celui d'un pruneau bleu-noir ou brun-noir. Myrtilles, de 6–8 mm, quelque peu réticulées, portées par des rameaux habillés. L'arbre est dioïque, avec une hauteur maximale de 20 mètres (Quezel et Santa, 1962).

I.1.6.1. Nom vernaculaire

Nom commun: Genévrier thurifère

Nom berbère: Aïwal, Hazenzna, Taoualt et Araar. (Quezel et Santa, 1962).

I.1.6.2. Systématique

Règne: *Planta*

Embranchement: Spermatophytes.

Sous-embranchement: Gymnospermes.

Ordre: Coniferales

Familles: Cupressaceae.

Genre: *Juniperus*.

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

Synthèse bibliographique



Figure 5: Photo représentative de l'espèce de *Juniperus thurifera* L.

<https://images.app.goo.gl/jndrCcGZBz1xqoDD9>

I.1.6.3. Répartition géographique

Le genièvre thurifère est extrêmement rare en Algérie et ne se rencontre que dans la région des Aurès, où il forme des populations distinctes rare: la population d' Ain El-Beida (Tkout), qui se situe entre 1 300 et 2 000 mètres d' altitude et compte une population d' environ 4 000 pieds; la population d' Oued Abdi (Zana), qui se situe entre 1 300 et 2 100 mètres d' altitude et compte 8 000 pieds ; la population de Tibhirine et Ichmoul sur les versants nord entre 1400 et 1800 mètres ;population de S'gag , où le thurifère côtoie le cèdre jusqu'à 2100 mètres d' altitude ; et la population de Chélia et Tafrent , située à 1800 mètres d' altitude (**Abderrezek, 2017**).

I.1.6.4. Utilisation médicinale

Dans de nombreux pays, les feuilles de l'espèce *J.thurifera* sont utilisées à des fins diurétiques, antiseptiques, carminatives, gastriques, antirhumatiques et antifongiques. (**Orhan et al., 2012**). Ils sont également utilisés comme des antihelminthiques, antiseptiques et pour la cicatrisation des plaies. En outre, les baies sont utilisées pour traiter les maladies de la peau telles que les éruptions cutanées et l'eczéma, les maladies respiratoires telles que l'asthme, bronchite, pneumonie et tuberculose, les inflammations des voies urinaires, rénales et les calculs de la vésicule biliaire(**Athamena,2020**).

I.2.Substances actives des plantes étudiées

Synthèse bibliographique

1.2.1. Les composés phénoliques

Avec plus de 8 000 structures phénoliques présentes dans chaque organe de la plante, les polyphénols constituent l'un des groupes chimiques les plus abondants et les plus largement distribués dans le règne végétal. Dans chaque organe de la plante, les polyphénols constituent l'un des groupes chimiques les plus abondants et les plus répandus dans le règne végétal. Ils sont les descendants des deux principales voies desynthèse, l'acétate et le shikimate (**Lugasi et al, 2003**).

Les composés phénoliques ont tous en commun la présence d'une ou de plusieurs fonctions hydroxyles. Ils peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient par la complexité et le degré de modifications du squelette de base (**Mazari,2009**).

1.2.2. Les voies de biosynthèse

La biosynthèse des composés phénolique suit deux voies métaboliques : le voie de l'acide shikimique, ou se forment principalement les phénylpropanoïdes et la voie de l'acide acétique, dont les principaux produits sont le phénol simple. La plupart des composés phénoliques synthétisés par la voie des phénylpropanoïdes(**Chelghoum,2021**).

Synthèse bibliographique

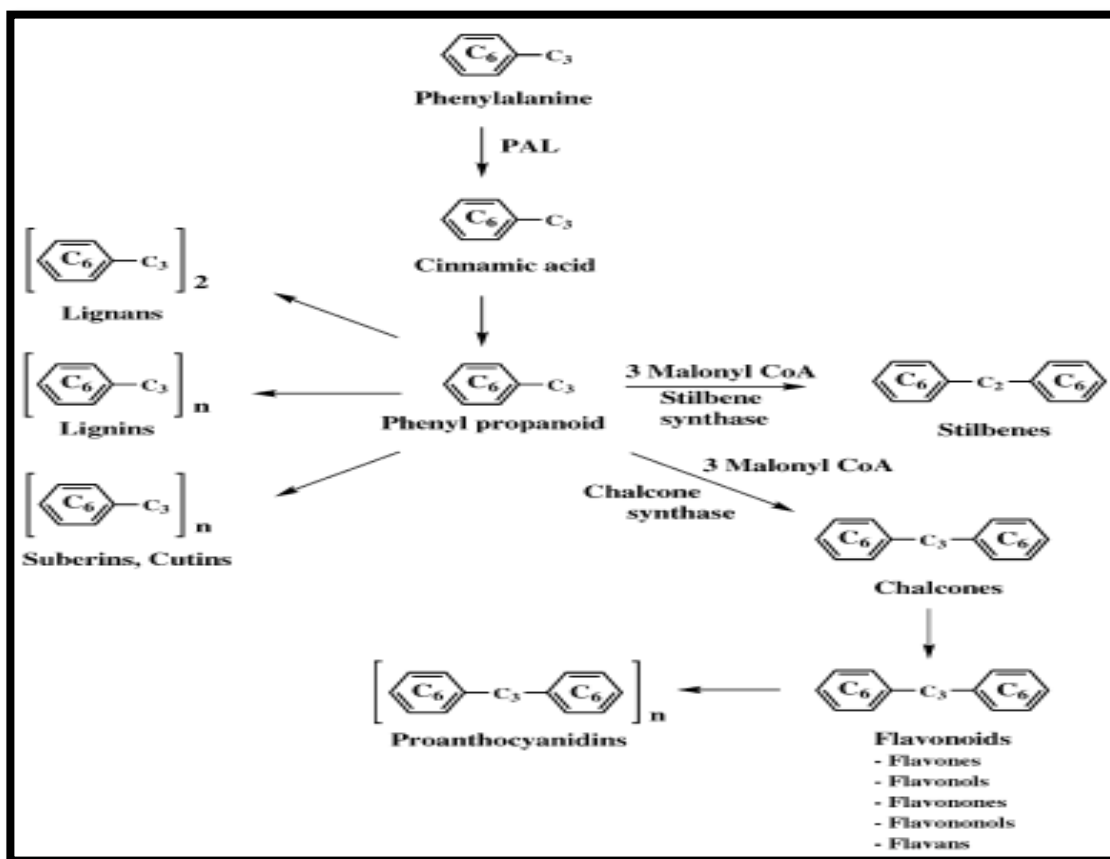


Figure 6: Biosynthèse de certains composés phénoliques à partir de la phénylalanine (Naczk et Shahidi, 2004).

I.2.3. La classification

I.2.3.1. Acides phénols

Les acides phénoliques sont caractérisés par le fait qu'elles possèdent un noyau benzénique, un group carboxylique et un ou plusieurs groups hydroxyles et/ou méthoxyles dans la molécule. Ils peuvent être divisés en deux groupes : les acides hydroxyles benzoïques et les acides hydroxyles cinnamiques et leurs dérivés. Les acides hydroxyles benzoïques ont sept atomes de carbone (C₆-C₁) et sont les acides phénoliques les plus simples que l'on trouve dans la nature par exemple : les acides *p*-hydroxy benzoïque, protocatechique, vanillique et syringique. Les hydroxycinnamiques ont neuf atomes de carbone (C₆-C₃), et les plus réponsus sont les acides férilique, caféique, *p*-coumarique et sinapique (Chelghoum, 2021).

Synthèse bibliographique

I.2.3.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (**Bruneton, 1999**).

Les flavonoïdes sont parmi les plus puissants antioxydants des plantes. L'excellente activité antioxydante, dans les systèmes végétaux les flavonoïdes sont responsables de la couleur et de l'arôme des fleurs et des fruits pour attirer les pollinisateurs, ce qui favorise la dispersion des fruits et la germination des graines et des spores, ainsi que la croissance et le développement des semis. Ils agissent également comme un système de défense antioxydant secondaire dans les tissus végétaux exposés à différents stress abiotiques et biotiques(**Panche et al., 2016**).

I.2.3.3. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques de structures variées, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 (**Bruneton, 1999**). Les tanins hydrolysables et condensés sont les deux grandes catégories de tanins distinctes, selon la convention. (**Santoset Scalbert, 2000**).

I.2.3.4. Dérivés coumarines

Les coumarines sont des substances naturelles connues, Il s'agit de composés à neuf atomes de carbone possédant le noyau benzopyrannone-2. Ils ont des activités anti-thrombotiques, anti-inflammatoires et vasodilatatrices Ils ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires(**Merabet,2021**).

I.2.3.5. Stilbénes

Les stilbénes sont naturellement présents dans une grande variété de produits alimentaires comme les raisins, les baies, les cacahuètes, le vin rouge, La structure de base des stilbénes est composée de deux cycles aromatiques joints par un pont d'éthylène. Deux isomères optiques existent naturellement: *cis* et *trans* avec des propriétés chimiques et biologiques différentes .les stilbénes sont des phytoalexines synthétisées par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes : champignons, bactéries et virus , ils possèdent un large spectre

Synthèse bibliographique

d'effets thérapeutiques : antioxydant, anticancéreux, cardioprotecteur et neuroprotecteur (**Belabes et Djedira, 2019**).

I.2.3.6. Lignines et lignanes

Les lignanes sont des dimères des phénylpropanoïdes, ou les unités de phénylpropane sont liées par le carbone central (C8) de leurs chaînes latérales. Ils constituent des monomères de la lignine, un composé polymère qui apporte de la rigidité, et qui avec la cellulose forme les parois cellulaires ligneuses des plantes, (**Chelghoum, 2021**).

I.3. Le stress oxydant et les antioxydants

I.3.1. Définition du stress oxydatif:

Le stress oxydatif représente l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées réactives (EOR), en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants (**Koehler-Ramonatxo, 2006**).

I.3.2. Origines du stress oxydatif:

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. ; mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans ces circonstances normales, on dit la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » (**Favier, 2003**).

I.3.3. Radicaux libres

Les radicaux libres désignent des molécules ou des atomes qui ont un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe. Dans cette situation, ils sont confrontés à une instabilité énergétique et cinétique. Étant donné leur instabilité énergétique, les radicaux libres

Synthèse bibliographique

ont tendance à se stabiliser immédiatement en donnant un électron ou en prenant une molécule à l'autre(Sen *et al.*, 2000).

D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet($1O_2$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux (Favier, 2003).

I.3.4. Conséquences du stress oxydatif:

Lors d'un stress oxydant, les EOR non « détoxiquées » par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules directement à leur contact, contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines, et l'ADN. Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle, réaction appelée peroxydation lipidique (Mazari,2009).

Les ERO sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, l'histidine, la cystéine et la méthionine. Les ERO sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques(Athamena,2020).

Le stress oxydant, principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aiguë, œdème pulmonaire. Il est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel le diabète, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires,le stress oxydant est également impliqué dans des affections aussi diverses que l'arthrite, la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer. Enfin, le stress oxydant est également un mécanisme majeur dans le vieillissement physiologique (Mazari,2009).

I.3.5. Les antioxydants naturels et synthétiques

I.3.5.1.Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances qui se présentent à faible concentration par rapport au substrat oxydable, sont capables de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat. Cette

Synthèse bibliographique

définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules hydro ou liposolubles. Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous les compartiments de l'organisme(Athamena,2020).

I.3.5.2.Les antioxydants naturels

L'organisme possède une seconde ligne de défense « les antioxydants d'origine naturelle». Les caroténoïdes, les tocophérols (vitamine E) et l'acide ascorbique (vitamine C) sont des antioxydants essentiels pour l'homme dont les apports peuvent prévenir et même aider au traitement des maladies liées au stress oxydant. Il existe de nombreux autres antioxydants. Parmi ces substances, certaines sont regroupées dans le grand groupe des polyphénols. Bien que non essentielles, ces substances jouent pourtant un rôle majeur dans la lutte contre le stress oxydant (Mazari,2009).En plus de cela, certains oligo-éléments tels que le sélénium, le cuivre, le zinc et le manganèse jouent un rôle essentiel dans l'activité de certaines enzymes antioxydantes (Favier, 2003).

I.3.5.3.Les antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques ou artificiels sont généralement des composés phénoliques d'origine pétrochimique comme le butylhydroxytoluène (BHT), le butylhydroxyanisole (BHA) ou encore les esters de l'acide gallique (gallate de propyle, gallate d'octyle et gallate de dodécyle) connus pour leurs propriétés lipophiles. Le BHA et le BHT sont les plus fréquemment utilisés. Ceux-ci sont principalement employés comme conservateurs, à faible concentration, dans les produits cosmétiques et alimentaires afin de protéger les lipides du rancissement en inhibant la chaîne de réactions d'initiation et en réduisant de la prooxidation des acides gras insaturés. Néanmoins, leur utilisation reste controversée, les produits de dégradation du BHA et du BHT étant suspectés d'être cancérogènes (Bouchakour et Lalout,2022).

I .4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Synthèse bibliographique

L'activité anti-oxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi, que les composés phénoliques (acide gallique).

La plupart des structures des antioxydants possèdent des groupes hydroxyphénoliques dont les propriétés anti-oxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) et superoxydes ($\text{O}_2\cdot$) **(Fettah,2019)**.

Plusieurs méthodes sont disponibles pour évaluer, *in vitro*, l'activité anti-oxydante par piégeage de radicaux différents. comme les peroxydes $\text{ROO}\cdot$ par les méthodes ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) et TRAP (*Total Radical Trapping Antioxidant Parameter*) les ions ferriques par la méthode FRAP (*Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter*) ou les radicaux $\text{ABTS}\cdot$ (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH \cdot (diphényl-picrylhydrazyle). Du point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH \cdot est recommandé pour des composés possédant la fonction OH. Il s'effectue à température ambiante, ceci permet d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles.

Le test est largement utilisé au niveau de l'évolution des extraits naturels très riches en composés phénoliques **(Fettah,2019)**.

Matériels et méthodes

Matériels et Méthodes

II.1. Matériel Végétal:

II.1.1. Collecte

La première collecte a été réalisée en 23 novembre 2023 dans la région de Sidibouzid à Laghouat concernant les feuilles de l'espèce *J. oxycedrus* et les sous-espèces *Juniperus oxycedrus* ssp. *badia* et *J. phoenicea* ssp. *turbinata*. Les feuilles des deux autres espèces *J. communis* et *J. thurifera* ont été collectées en janvier 2024 dans deux régions différentes Djourjoura-Tiziouzou et Chélia-Khenchela respectivement. Les emplacements géographiques des régions sont indiqués sur la figure. Les données GPS de chaque site sont mentionnées dans le tableau 1.

Cette collecte sert à une étude comparative des teneurs en phytoconstituents et la capacité antioxydante des extraits phénoliques entre les espèces des deux sections du genre *Juniperus*.

Les échantillons des feuilles collectés sont séchés dans un endroit ventilé, à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant une semaine. Ensuite, ils sont broyés manuellement à l'aide d'un mortier et d'un pilon. La poudre obtenue est stockée dans des sacs en papier jusqu'à son utilisation.



Figure 7 : Emplacements géographiques des trois sites étudiés (google Map).

Matériels et Méthodes

Tableau 1: Coordonnées GPS, altitudes et étages bioclimatiques des emplacements géographiques des sites de collecte.

| Sections | Latitudes et longitudes | Altitudes | Sites | Étages bioclimatiques |
|-----------------------------------|-----------------------------|-----------|-----------------------|-----------------------|
| Oxycedrus | | | | |
| <i>J. oxycedrus</i> L | 34.21998118°N, 2.17546906°E | 1350 m | Sidi Bouzid - Aflou | Aride |
| <i>J. oxycedrus ssp badia</i> | 34.22048907°N, 2.17493799°E | 1350 m | Sidi Bouzid - Aflou | Aride |
| <i>J. communis</i> L | 36.72230328°N, 4.06599190°E | 2308 m | Djurdjura - Tiziouzou | Suhumide |
| Sabina | | | | |
| <i>J. phoenicea ssp turbinata</i> | 34.21977540°N, 2.17554953°E | 1350m | Sidi Bouzid - Aflou | Aride |
| <i>J. thurifera</i> L | 35.3643°N, 6.77868° E | 2328 m | Chélia - Khenchela | Aride à semi-aride |

II.2. Extraction des composés phénoliques

Pour procéder l'extraction des polyphénols, 20 g de poudre sèche de feuilles de chaque espèce sont macérés dans un mélange hydro-alcoolique (méthanol (CH₃OH)/Eau 80/20 : v/v) pendant 48 h à température ambiante et à l'obscurité avec renouvellement de système de solvant chaque 24 h (figure8).

Après 48 heures les solutions obtenus ont été filtrées et évaporées à l'aide d'un évaporateur rotatif (figure 9) à une température de 40°C.



Figure 8: la procedure de maceération.

Matériels et Méthodes



Figure 9:Evaporateur rotatif.

Après l'évaporation, la phase aqueuse récupérée de chaque extrait a été lavée plusieurs fois avec un même volume d'hexane dans une ampoule à décanter jusqu'à épuisement totale des pigments et des lipides.

La phase aqueuse ainsi obtenue est ensuite lavée plusieurs fois avec un même volume d'acétate d'éthyle (figure10).



Figure 10:Extraction par solvant (purification avec l'acétate d'éthyle).

Matériels et Méthodes

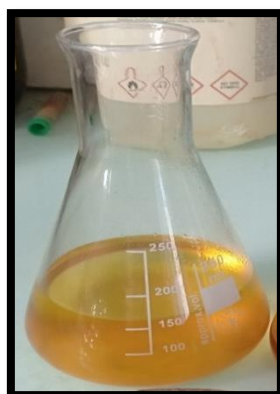


Figure 11: La phase organique obtenue

L'extrait organique ainsi obtenu (figure 11) est séché avec sulfate de sodium anhydre Na_2SO_4 pour éliminer toute trace d'eau. Après filtration, le solvant a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C . Les résidus sont pesés pour déterminer le rendement en pourcentage puis solubilisés dans 30 ml de méthanol, ce qui a donné les extraits phénoliques.

II.3.Préparation des combinaisons

Après avoir terminé l'extraction, nous avons obtenus 5 extraits naturels seuls par lesquels nous avons effectué des combinaisons entre les espèces de même section ce qui nous a donné ensuite des extraits combinés avec différents pourcentages (v/v) (tableau 2).

Tableau 2: Différents extraits naturels seuls et combinés des espèces des deux sections.

| Extraits phénoliques purs et combinés | |
|--|--|
| Section <i>Oxycedrus</i> | Section <i>Sabina</i> |
| <i>J.oxycedrus</i> | <i>J.phoenicia</i> ssp <i>turbinata</i> |
| <i>J. oxycedrus</i> ssp. <i>badia</i> | <i>J.thurifera</i> |
| <i>J.communis</i> | <i>J.thurifera</i> + <i>J.phoenicia</i> ssp <i>turbinata</i> (50%/50%) |
| <i>J.oxycedrus</i> + <i>J. oxycedrus</i> ssp <i>badia</i> (50%/50%) | <i>J.thurifera</i> + <i>J.phoenicia</i> ssp <i>turbinata</i> (25%/75%) |
| <i>J.communis</i> + <i>J. oxycedrus</i> ssp <i>badia</i> (50%/50%) | <i>J.thurifera</i> + <i>J.phoenicia</i> ssp <i>turbinata</i> (75%/25%) |
| <i>J.oxycedrus</i> + <i>J.communis</i> (50%/50%) | |
| <i>J.oxycedrus</i> + <i>J.oxycedrus</i> <i>badia</i> + <i>J.communis</i> (33.3%/33.3%/33.3%) | |

Matériels et Méthodes

II.4.Rendement

Pour déterminer le rendement d'extraction, le calcul consiste à évaluer le rendement relatif par rapport à 100g de matière sèche.

$$R(\%) = m_{R.s}/m_{mv} \times 100$$

Où : $m_{R.s}$ est la masse de résidu sec obtenu (en gr).

m_{mv} :masse initiale de la matière végétale (en gr).

R(%) : Rendement en extrait brut

II.5.Dosage des phénols totaux :

L'analyse quantitative des phénols totaux a été réalisée par spectrophotométrie UV Visible utilisant le folin ciolateu comme réactif, ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui vont être réduits en oxyde bleue de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène Mo_8O_{23} lors de l'oxydation des polyphénols, cette réduction est accompagnée par l'apparition d'une couleur bleue intense mesurée à un longueur d'onde égale à 760 nm, dont l'intensité est proportionnelle au taux des composés phénoliques présents dans l'échantillon (**Safer, 2018**).

II.5.1.Mode opératoire

Un volume de 500 μ l de réactif de Folin-Ciocalteu (10%) est ajouté à 100 μ l de chaque dilution d'extrait, après 2 minutes, 2 ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 à (2%) sont ajoutés au mélange, après incubation dans l'obscurité et à une température ambiante pendant 30 minutes. la mesure de l'absorbance est effectuée avec un spectrophotomètre UV/Visible à une longueur d'onde de 760 nm par rapport à un blanc. La teneur en phénols totaux des extraits a été calculée à l'aide de la droite d'étalonnage de la solution de référence de l'acide gallique (figure 12), de la forme $A = a \times C$ où "a" : représente la pente et C la concentration. Les résultats sont exprimés en mg équivalents d'acide gallique par g de matière sèche (mg EAG/g MS)(**Singleton and Rossi 1965**).

Matériels et Méthodes

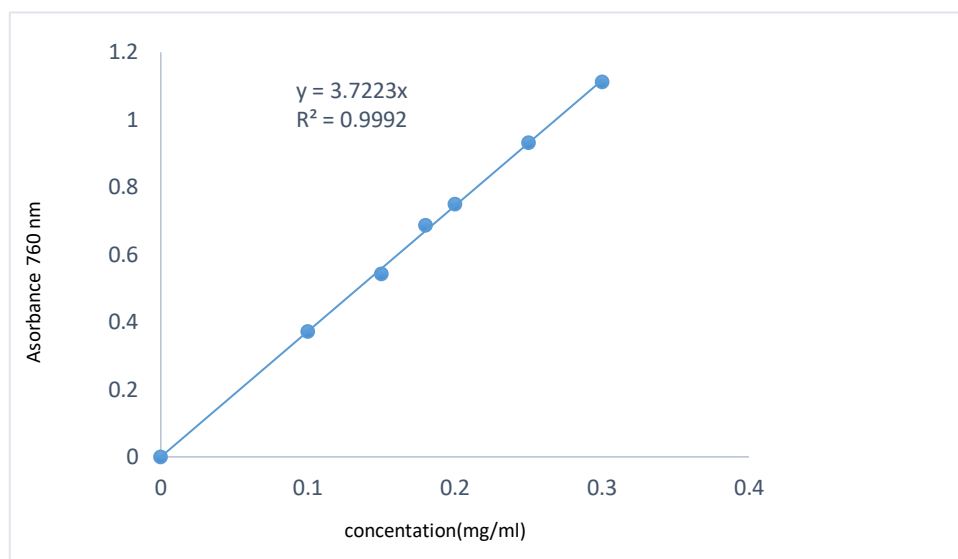


Figure 12:La courbe d'étalonnage pour l'acide gallique

II.6. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été dosés par le réactif du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) suivant la méthode décrite par **Safer (2018)**. En présence de trichlorure d'aluminium, les flavonoides peuvent former des complexes acides stables de coloration jaune pâle avec les groupements carbonyle, hydroxyle des flavones et flavonols et acides labiles avec le groupement dihydroxyle en position *ortho* des cycles A et B des flavonoïdes.

II.6.1 Mode opératoire

1 ml de chaque extrait dilué est mélangé avec 1 ml de trichlorure d'aluminium (2%), après 20 minutes d'incubation dans l'obscurité et à température ambiante l'absorbance a été lue à une longueur d'onde de 409 nm par rapport à un blanc. La quercétine est utilisée comme étalon (figure 13). Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine par g de matière sèche (mg EQ/gMS)(**Lamaison et Carnat, 1990**).

Matériels et Méthodes

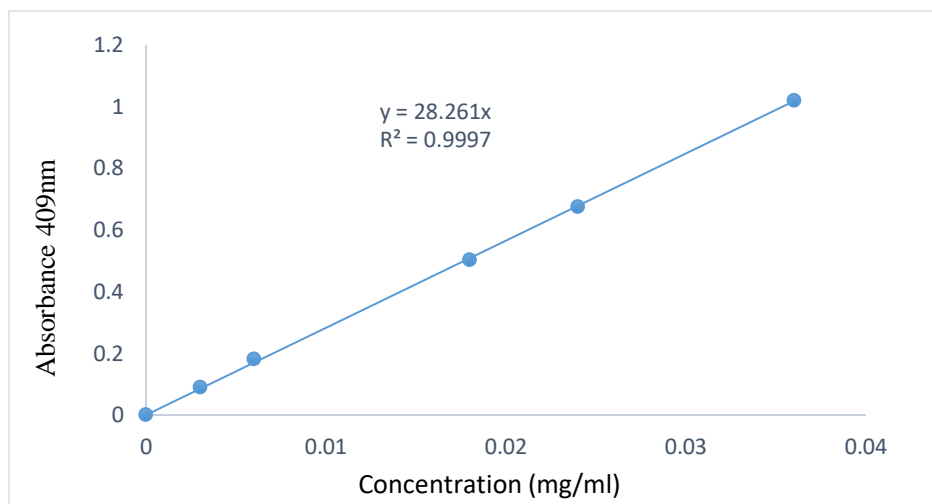


Figure 13 : la courbe d'étalonnage de quercétine.

II.7. Dosage des tanins

La quantité des tanins condensés a été estimée par la méthode de la vanilline basée sur la formation d'un complexe vanilline- tanins condensés de coloration rouge mesurable à un longueur d'onde de 500 nm (figure 14) (Schofield *et al.*, 2001).

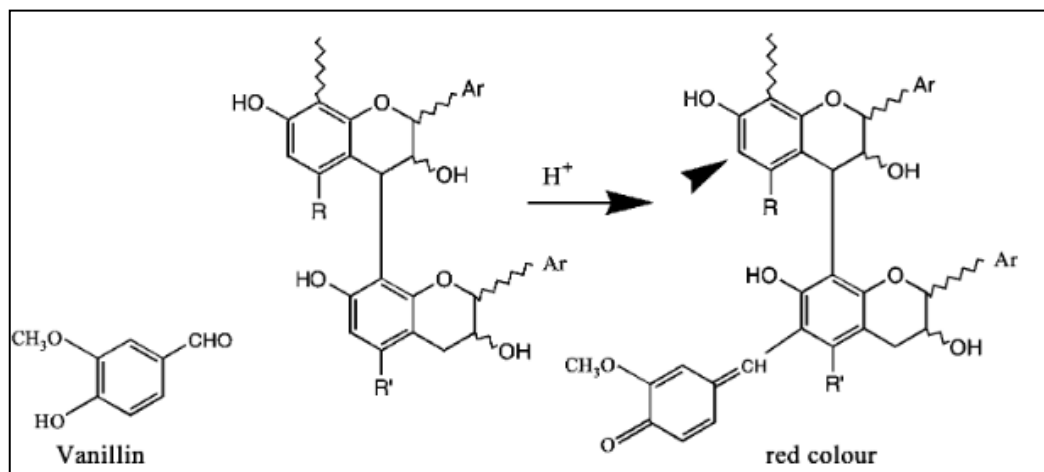


Figure 14 : Réactions de condensation de la vanilline avec des tanins.

Schofield et al., (2001).

Matériels et Méthodes

II.7.1. Mode opératoire

1 ml de réactif de vanilline fraîchement préparé avec (4 % de HCl concentré et 0,5 % de vanilline dans le méthanol) est ajouté à 200 μ l de chaque extrait dilué, après 20 minutes d'incubation, l'absorbance est mesurée à 500 nm. La teneur en tanins est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec la catéchine (figure 15). Les résultats sont exprimés en mg équivalents catéchine par g de matière sèche (mg EC/g MS). (Butler *et al.*, 1982).

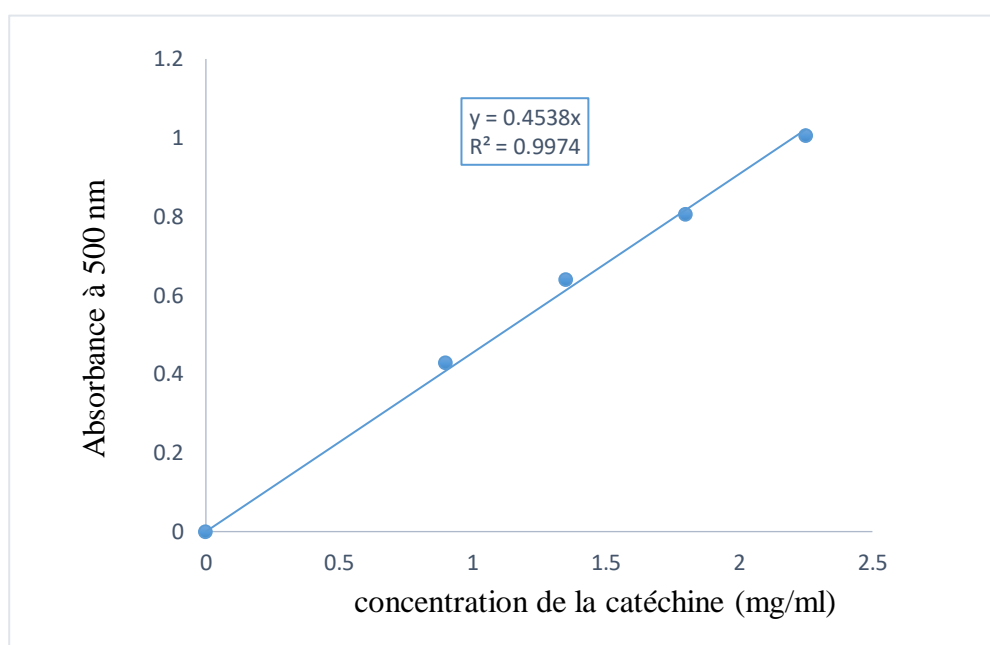


Figure 15: Courbe d'étalonnage de la catéchine

II.8. Évaluation du pouvoir antioxydant des extraits phénoliques

II.8.1. Test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)

Le DPPH est un radical libre violet stable en solution présentant une absorbance caractéristique comprise entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît lors de la réduction de radical DPPH par des composés donateurs d'atomes d'hydrogènes.

L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu (Safer 2018).

Matériels et Méthodes

II.8.1.1. Mode opératoire :

Un millimètre de solution de DPPH préparée dans le méthanol (250 μM) est mélangé avec le même volume d'échantillon ou standard dilué dans le méthanol à différentes concentrations, après 30 minutes d'incubation dans l'obscurité et à température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm par rapport à un blanc, un contrôle contenant de l'éthanol et une solution de DPPH est également réalisé. L'acide ascorbique est utilisé comme un antioxydant de référence (figure 16). Le pourcentage d'inhibition de radical DPPH est calculé à partir de la relation suivante : $\text{PI}\% = [(A_0 - A)/A_0] \times 100$ où, A_0 et A présentent respectivement les absorbances de la solution DPPH en absence et en présence de l'antioxydant.

Les résultats de la capacité de piégeage du radical libre DPPH ont été exprimés en valeur d'EC50 (mg/mL) (une faible valeur d'EC50 correspond à une activité antioxydante plus élevée)(Molyneux 2004).

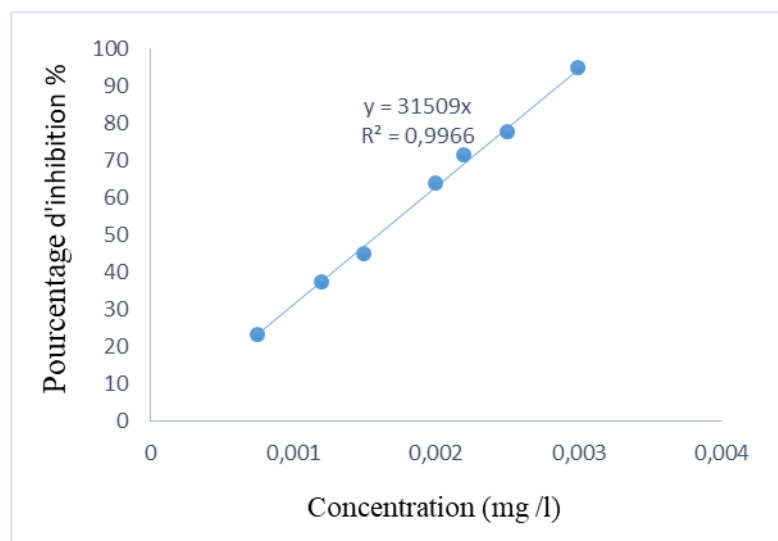


Figure 16: Courbe du pouvoir antioxydant du standard de référence (acide ascorbique) selon le test DPPH.

II.8.2. Test du FRAP (Ferric Reducing antioxidant Power)

Ce test est basé sur la capacité du produit testé à réduire le complexe Fe^{3+} -TPTZ (tripirydyltriazine) en sa forme ferreuse (Fe^{2+} -TPTZ) (figure 17). Elle consiste à l'apparition d'une coloration bleue avec une absorbance maximale à $\lambda = 596 \text{ nm}$ (Roginsky et Lissi, 2005).

Matériels et Méthodes

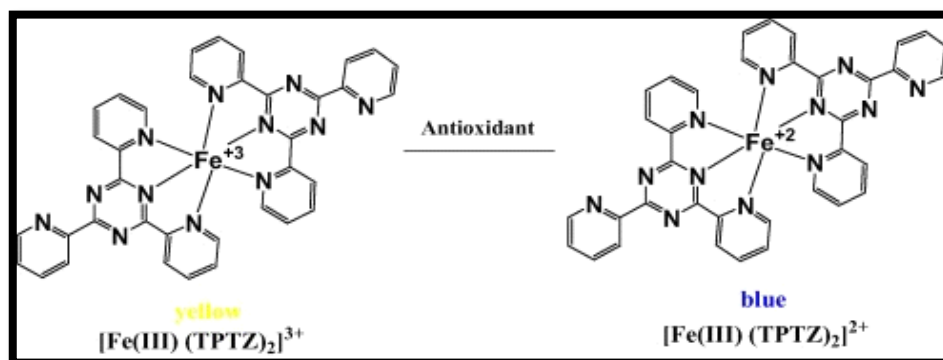


Figure 17: Réaction de réduction du complexe ferrique-tripyridyltriazine à la forme ferreuse-tripyridyltriazine en présence d'antioxydants (Benzie et Strain, 1996).

II.8.2.1. Mode opératoire

Le réactif FRAP a été fraîchement préparée en mélangeant 2,5 ml de TPTZ (10 mM) (2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine), 2,5 ml de FeCl_3 (20 mM) et 25 ml de tampon acétate de sodium (300 mM) pH 3,6. Afin de préparer une courbe d'étalonnage, 1 ml de la solution FRAP est ajouté à 50 μl de différentes dilutions des extraits, après 7 minutes d'incubation dans l'obscurité et à une température ambiante, le complexe ferreux de tripyridyltriazine a développé une couleur bleue intense mesurée à 596 nm par rapport à un blanc. La capacité de réduction de fer des extraits a été calculée à l'aide de la droite d'étalonnage de la solution de référence de l'acide ascorbique (figure 18). Les résultats sont exprimés en mmol équivalent acide ascorbique par g de matière sèche (mmol EAA/gMS) (Benzie et Strain, 1996).

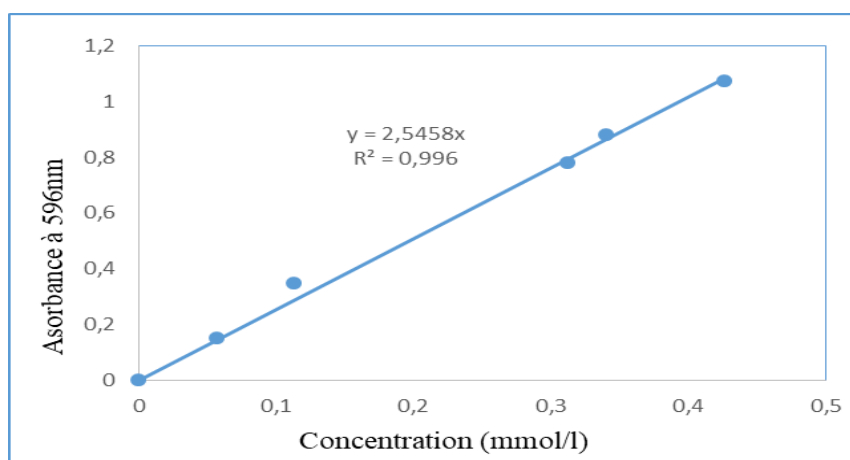


Figure 18 : Courbe d'étalonnage du test FRAP (acide ascorbique mmol/l).

Matériels et Méthodes

II.8.3. Test ABTS

Le test ABTS est basé sur la mesure de la capacité relative de l'antioxydant à piéger le cation $ABTS^{\bullet+}$ généré en phase aqueuse, par rapport à un standard. Le radical [2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)] ou $ABTS^{\bullet+}$ est généré en présence de la peroxydase, la réaction est initiée par l'ajout d'une solution de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). La disparition de la coloration vert-bleu peut être suivie par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 417 nm (Miller et Rice-Evans, 1997).

II.8.3.1. Mode opératoire

1 ml de réactif $ABTS^{\bullet+}$, [10 ml ABTS (20 mM), 1 ml H_2O_2 (10 mM), 1 ml de peroxydase (0.2 mg/ml)], dilué avec de l'eau distillée jusqu'à une absorbance de (0,7-0,9 à 417 nm) est ajouté à 100 μ l de l'extrait. Le mélange est incubé à l'obscurité à une température ambiante pendant 10 minutes ; ensuite, l'absorbance est lue par un spectrophotomètre UV Visible de type Shimadzu 601 à 417 nm contre un blanc. La capacité de piégeage de radicales ABTS par les extraits a été calculée à l'aide de la droite d'étalonnage de la solution de référence de l'acide ascorbique (figure 19). Les résultats sont exprimés en mmol équivalent acide ascorbique par g de matière sèche (mmol EAA/gMS) (Cano, Acosta *et al.* 2000).

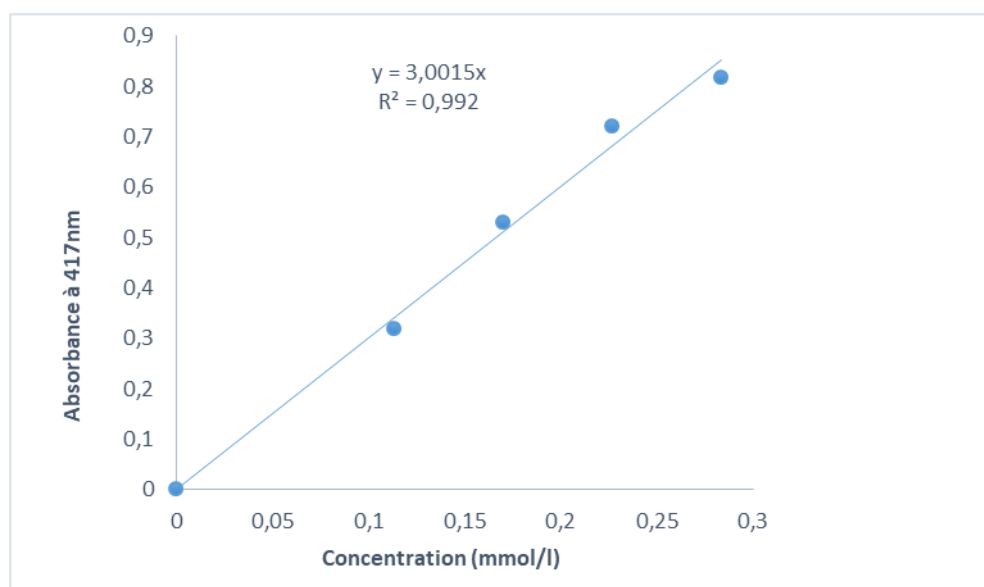


Figure 19: Courbe d'étalonnage du test ABTS (acide ascorbique mmol/l)

Matériels et Méthodes

II.9. Analyse statistique des données

Toutes les manipulations ont été réalisées en trois répétitions, les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Les résultats obtenus sont soumis à une analyse statistique en utilisant la version d'essai du logiciel « Origin Pro 2024 ». Une analyse de la variance (ANOVA one way) et les tests de Fisher et Tukey ont été effectués pour la comparaison des moyennes entre les extraits des échantillons des deux sections oxycedrus et sabina au niveau de la composition chimique et les tests de l'activité antioxydante. Le degré de signification de données est pris à la probabilité $P < 0,05$. De plus, une vue d'ensemble sur la relation de nos échantillons par rapport à plusieurs variables a été mise en évidence par une analyse en composantes principales (ACP).

Résultats et Discussion

Résultats et Discussion

Résultats et Discussion

III Résultats et Discussion

III.1. Rendement, teneur des phénols totaux, des flavonoïdes, et des tanins.

Les résultats du rendement et du teneur en phénols totaux, en flavonoïdes, et en tanins des différents extraits phénoliques sont mentionnés dans le tableau 3.

Les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes, et en tanins dans les échantillons sont déterminés à partir des courbes d'étalonnages (12,13,15,16,18 et 19), où elles sont exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique, de quercétine et de catéchine par gramme matière sèche, respectivement.

Le meilleur rendement en composés phénoliques a été attribué à l'espèce *Juniperus oxycedrus* suivie par l'espèce *Juniperus oxycedrus ssp badia* (figure 20) avec un pourcentage de 4% et 2.3 %, respectivement (tableau 3) dans la section oxycedrus, ces résultats sont parfaitement avec ceux trouvés dans l'étude de **Messaoudi, (2017)** où le rendement d'extraction des extraits phénoliques à partir des feuilles de l'espèce *J. oxycedrus* L collectées de la région de Tébessa présente 4.31%.

Par contre concernant la section sabina on distingue l'espèce *Juniperus thurifera* qui présente le rendement le plus élevé (figure 20) avec un pourcentage égal à 6.3% (tableau 3) En comparaison des rendements entre les deux sections. D'après le cercle, nous avons observé que la section sabina montre le meilleur pourcentage des rendements (57.1%) de ses extraits par rapport la section oxycedrus (figure 21).

Résultats et Discussion

Tableau 3: Rendement et teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes, et en tanins des extraits phénoliques purs et combinés des deux sections du genre *Juniperus*.

| Sections | Extraits combinés et purs | Phénols Totaux mg EAG /g MS[α] | Flavonoïdes mg EQ/g MS[α] | Tanins mg EC/g MS[α] | Rendement %[α] |
|-----------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-------------------|
| « <i>Oxycedrus</i> » [x] | <i>Oxy+Com</i> | 8,03±0,38 | 1,06 ±0,03 | 29,54 ^[a] ±0,34 | / |
| | <i>Bad +Com</i> | 7,12±0,69 | 0,87 ±0,042 | 43,13 ^[a] ±0,23 | / |
| | <i>Bad+Com+Oxy</i> | 6,82±0,76 | 0,61±0,028 | 45,89 ^[a] ±0,59 | / |
| | <i>Oxy+Bad</i> | 5,16±0,95 | 0,46 ±0,068 | 27,99 ^[a] ±0,57 | / |
| | <i>J.communis</i> | 8,53 ±0,7 | 0,75 ±0,007 | 44,67 ^[a] ±0,58 | 2.05% |
| | <i>J.oxycedrus</i> | 9,94 ±0,43 | 0,57 ±0,029 | 42,52 ^[a] ±0,73 | 4 % |
| | <i>J.oxycedrus ssp badia</i> | 6,15 ±0,54 | 0,45 ±0,056 | 18,79 ^[a] ±0,43 | 2.3% |
| « <i>Sabina</i> » [x] | <i>Th50+Tur50</i> | 5,26 ±0,1 | 0,51 ±0,064 | 21,18 ^[b] ±0,007 | / |
| | <i>Th25+Tur75</i> | 5,81 ±0,17 | 0,71 ±0,028 | 21,31 ^[b] ±0,57 | / |
| | <i>Th75+Tur25</i> | 6,44.±0,53 | 0,56 ±0,05 | 26,27 ^[b] ±0,33 | / |
| | <i>J.oxycedrus Thurifera</i> | 5,91±0,57 | 1,01 ±0,05 | 28,76 ^[b] ±0,34 | 6.3% |
| | <i>J. phoenicia ssp Turbinata</i> | 5,30 ±0,2 | 0,59 ±0,05 | 21,27 ^[b] ±0,44 | 1% |

[x] Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD (n = 3). [α] Les différentes lettres d'une même colonne des extraits phénoliques des feuilles présentent des différences statistiquement significatives entre les moyennes des teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes, et en tanins et rendement selon le test de Fisher à $P < 0.05$

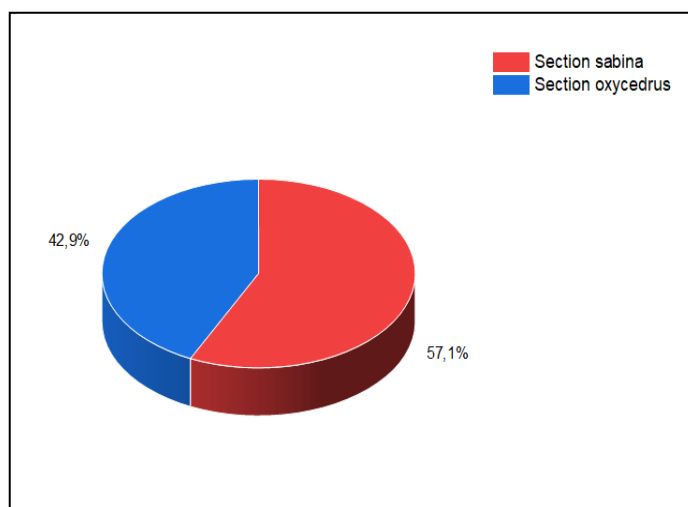


Figure 20: Diagramme circulaire comparant les rendements des deux sections de *Juniperus*

Résultats et Discussion

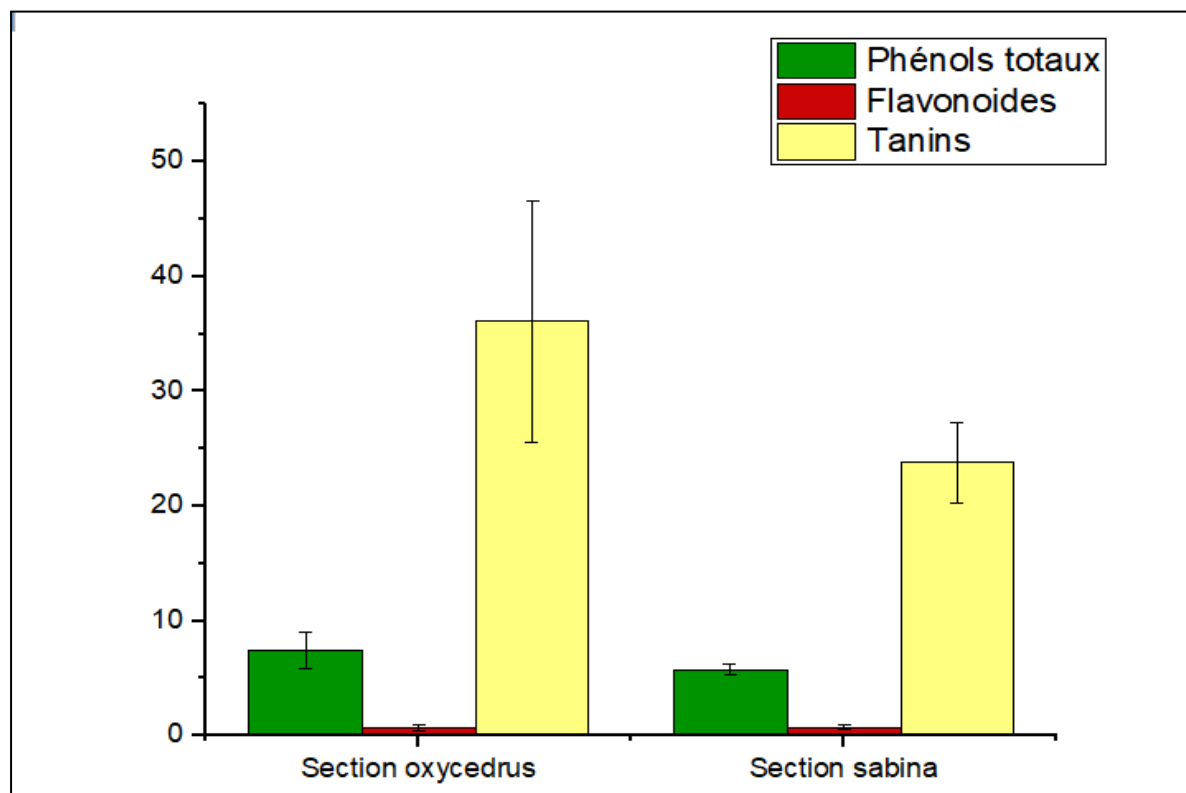


Figure 20: Histogramme comparant les moyennes des teneurs en phénols totaux, flavonoïdes, et tanins entre les deux sections de genre *Juniperus*.

L'histogramme présentant les moyennes des teneurs de tous les extraits naturels seuls et combinés des différentes espèces des deux sections nous a montré que les meilleures moyennes des teneurs en phénols totaux et en tanins sont attribuées aux extraits de la section oxycedrus alors que les moyennes des teneurs en flavonoïdes sont presque identiques dans les deux sections oxycedrus et sabina. La moyenne des teneurs élevées en phénols totaux de la section oxycedrus est due principalement à la forte teneur [9,94±0,43; 8,53±0,7mg EAG /g MS] des extraits phénoliques des deux espèces de *J. oxycedrus* et *J. communis*, respectivement. Nos résultats en teneurs des phénols totaux sont inférieurs par rapport à ceux mentionnés dans les études de **Djellouli et al., (2022)** et **Ivanova et al., (2018)** concernant l'extrait phénolique de la partie aérienne de l'espèce *J. oxycedrus* collectée de Mascara-Algérie [167.77±5.12mg EAG /g MS] et celle de *J. communis* de Bulgarie [90 ±2-132±4mg EAG /g MS], cette différence est probablement due à plusieurs facteurs tels que la méthode d'extraction et l'habitat de l'espèce.

Résultats et Discussion

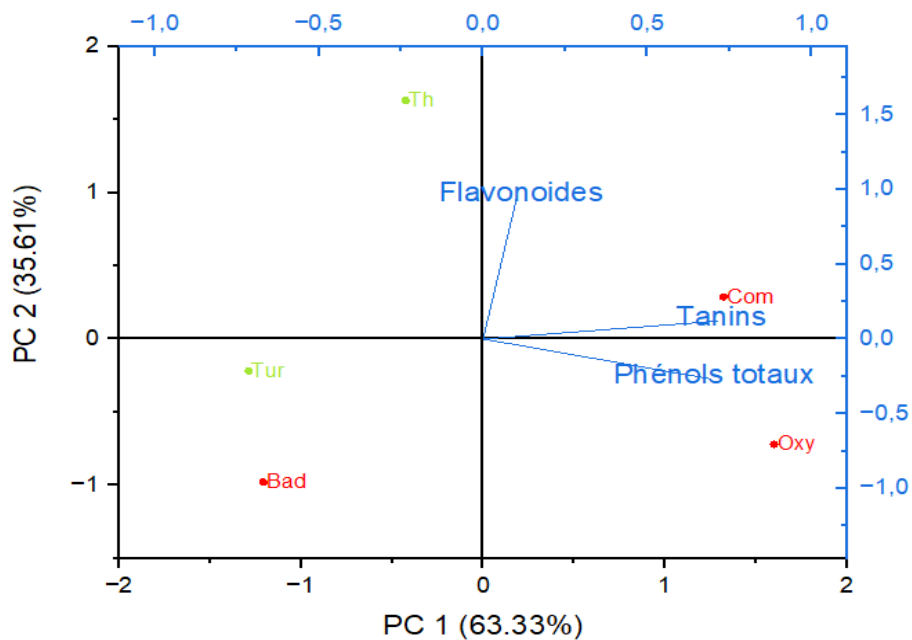
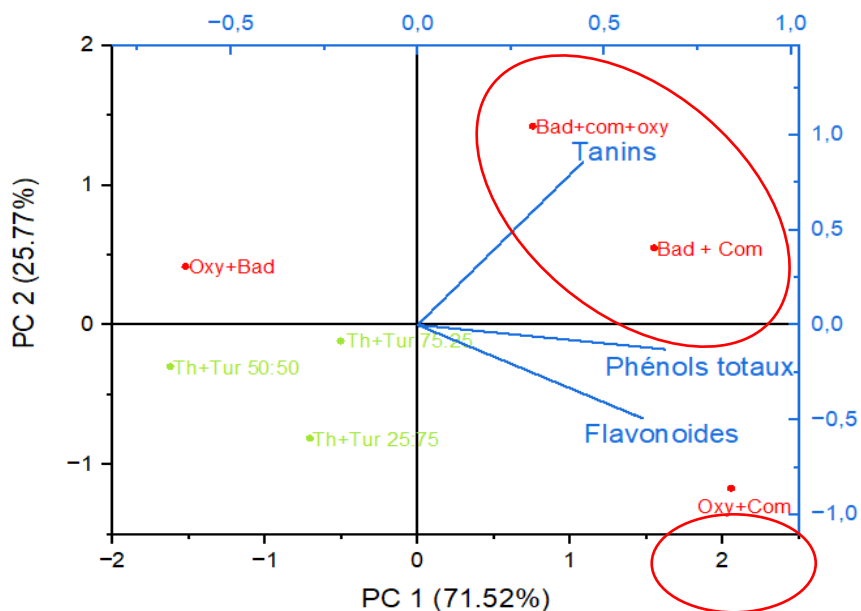


Figure 22: Graphique bidimensionnel de l'ACP montrant la variation de la composition phytochimique des extraits phénoliques des feuilles de plusieurs espèces du genre *Juniperus* des deux sections différentes. (extraits seuls naturels)



Résultats et Discussion

Figure 23: Graphique bidimensionnel de l'ACP montrant la variation de la composition phytochimique des extraits phénoliques des feuilles de plusieurs espèces du genre *Juniperus* des deux sections différentes.(extraits combinés)

L'analyse des données donne deux combinaisons linéaires PC1 et l'axe PC2, qui explique globalement 98,94% et 97,29% de l'information totale pour les extraits seuls naturels et combinés respectivement (figure22) et (figure23).

L'angle entre les deux vecteurs donne le degré de corrélation tandis que l'angle adjacent exprime une corrélation élevée. Une corrélation positive importante est observée entre le contenu en tanins et en phénols totaux et entre le rendement et la teneur en flavonoïdes.

D'après l'analyse des résultats par l'ACP, les extraits phénoliques purs et combinés de la section oxycedrus sauf celui de la sous espèce *J. oxycedrus ssp badia* sont les plus riches en phénols totaux et en tanins par rapport à ceux de la section sabina notamment les espèces *J. phoenicea* L et *J. thurifera* L. Nos résultats sont supportés par ceux de **El jemli et al., (2016)**, où les teneurs en phénols totaux de l'extrait phénolique chez l'espèce *J. oxycedrus* L sont plus élevés par rapport à celles des espèces *J. phoenicea* L ssp *turbinata* et *J. thurifera* L.

Outre l'analyse par ACP, une analyse ANOVA unidirectionnelle est réalisée à l'aide du test de Fisher pour montrer les différences dans les résultats des extraits entre les deux sectionsoxycedrus et sabina. Différentes lettres faisaient référence à des différences significatives entre les moyennes de rendement, des teneurs en phénols totaux et en tanins selon le test Fisher à $P < 0.05$ (tableau 4).

III.2. Évaluation de la capacité antioxydante des extraits

L'activité antioxydante de chaque extrait phénolique a été évaluée par le test DPPH (EC₅₀), par la capacité réductrice de fer et par le pouvoir piégeant du radical ABTS. Les résultats pour ces deux derniers tests sont exprimés en capacité équivalente (mM équivalents acide ascorbique par gramme de matière sèche) calculée à partir de la droite d'étalonnage de l'acide ascorbique. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 4.

Résultats et Discussion

Tableau 3: Valeurs de l'activité antioxydante des extraits phénoliques (purs et combinés) des deux sections évalués par les trois tests DPPH, FRAP et ABTS).

| Sections | Extraits | Test DPPH EC ₅₀ (µg/ml) | Test FRAP (mM E AA/g Ms) | Test ABTS (mM E AA /g Ms) |
|-----------------------|----------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| Oxycedrus | Oxy+Com | 0.0446 ^[bc] ±7.1 | 32,52 ^[bc] ±2,8 | 57,469 ^[a] ±5,8 |
| | Bad +Com | 0.017 ^[bc] ± 1.3 | 63,29 ^[bc] ±3,9 | 214,84 ^[a] ±29,2 |
| | Bad+Com+Oxy | 0.012 ^[bc] ±0.82 | 79,24 ^[bc] ±3,8 | 159,83 ^[a] ±27,9 |
| | Oxy+Bad | 0.019 ^[bc] ±1.1 | 51,47 ^[bc] ±4,9 | 147,20 ^[a] ±12,8 |
| | <i>J.communis</i> | 0.158 ^[bc] ±1.2 | 93,16 ^[bc] ±3,2 | 97,65 ^[a] ±3,7 |
| | <i>J.oxycedrus</i> | 0.023 ^[bc] ±2 | 63,09 ^[bc] ±1,8 | 114,73 ^[a] ±3,003 |
| | <i>J. oxycedrus ssp badia</i> | 0.075 ^[bc] ±4 | 49,95 ^[bc] ±1,83 | 115,27 ^[a] ±9,42 |
| Sabina | Th50+Tur50 | 0.021 ^[c] ±1 | 67,21 ^[abc] ±4,74 | 114,86 ^[ab] ±2,23 |
| | Th25+Tur75 | 0.015 ^[c] ± 1.3 | 95,31 ^[abc] ±4,42 | 140,67 ^[ab] ±9,54 |
| | Th75+Tur25 | 0.029 ^[c] ±1.6 | 53,54 ^[abc] ±5,61 | 78,04 ^[ab] ±12,83 |
| | <i>J.thurifera</i> | 0.002 ^[c] ±0.04 | 84,13 ^[abc] ±4,19 | 41,63 ^[ab] ±1,31 |
| | <i>J.phoenicea ssp turbinata</i> | 0.008 ^[c] ± 0.46 | 48,74 ^[abc] ± 4,11 | 66,13 ^[ab] ±3,06 |
| Standard de référence | Acide ascorbique | 0.0015 ± 0,073 | / | / |

^[x]Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD (n = 3). ^[a] Les différentes lettres d'une même colonne des extraits phénoliques des feuilles présentent des différences statistiquement significatives entre les moyennes des tests DPPH, FRAP et ABTS selon le test de Tukey à $P < 0.05$.

Dans le but de déterminer la relation entre les phytoconstituants et la capacité antioxydante étudiée, nous avons établi une analyse ACP dont leur graphique bidimensionnel explique 86,1 % et 85,15% de la variance des extraits naturels seuls et combinés respectivement (figure 24) et (figure 25) .

Résultats et Discussion

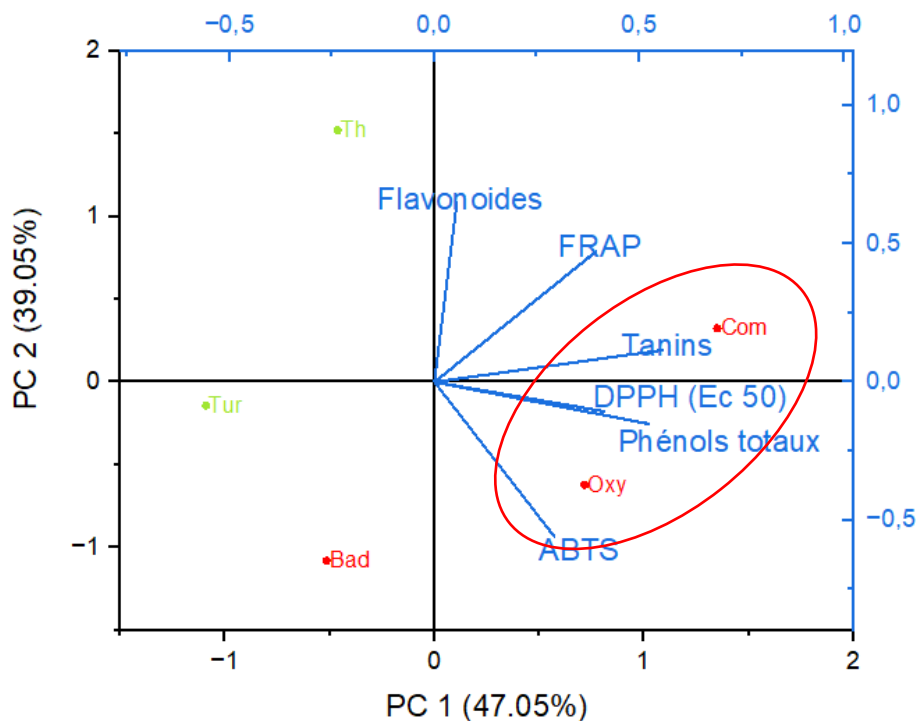
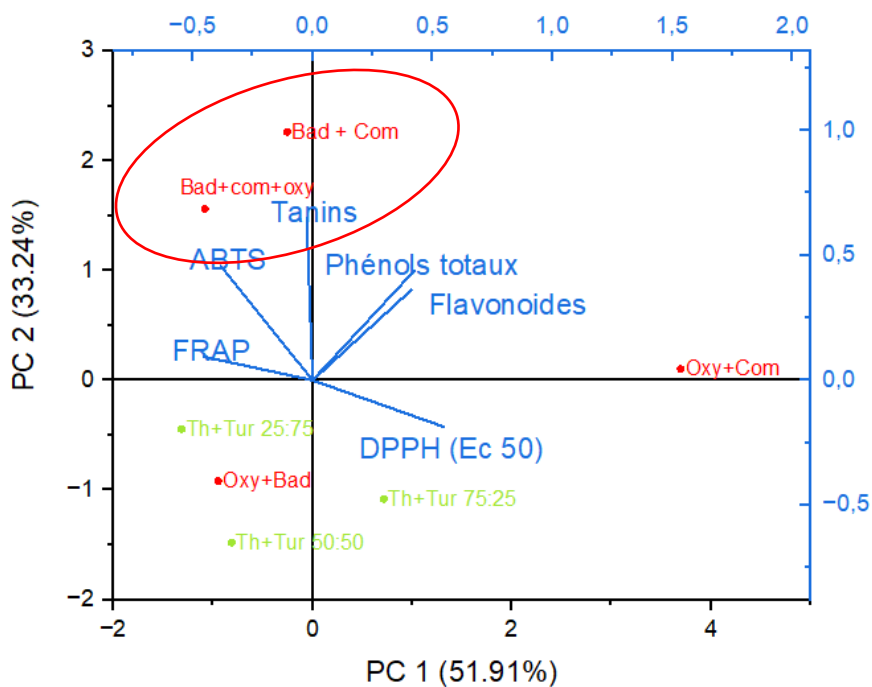


Figure 21: Graphique bidimensionnel de l'ACP montrant la variation de la composition phytochimique et l'activité antioxydant des extraits phénoliques des feuilles de plusieurs espèces du genre *Juniperus* des deux sections différentes. (extraits seuls naturels)



Résultats et Discussion

Figure 25: Graphique bidimensionnel de l'ACP montrant la variation de la composition phytochimique et l'activité antioxydant des extraits phénoliques des feuilles de plusieurs espèces du genre *Juniperus* des deux sections différentes. (extraits combinés)

L'angle aigu entre le contenu en phénols totaux et les valeurs du test FRAP montre que l'activité antioxydante est due aux polyphénols. Cette observation est soutenue par des études antérieures (**Lang et al, 2024; Murillo et al., 2012; Bhuyan et al., 2022**).

De plus, l'analyse en composants principaux a montré que le test FRAP est le plus performant à l'évaluation de l'activité antioxydante par rapport les deux autres tests DPPH et ABTS et ceci peut être expliquer par le principe de la réaction de réduction assuré par un transfert électronique tandis que, la réduction des radicaux DPPH et ABTS est basée sur le transfert des atomes d'hydrogènes (**Prior et al., 2005**).

Nous notons avec un grand intérêt des différences notables notamment pour la capacité antioxydante des extraits phénoliques des espèces appartenant des deux sections. Le meilleur pouvoir antioxydant selon les tests FRAP et ABTS est attribué au extraits naturels seuls des espèces de la section oxycedrus *J. communis*, *J. oxycedrus* et leurs combinaisons (bad+com+oxy), (bad+com), (oxy+com). Ces derniers affichent les valeurs les plus élevées concernant les phénols totaux et les tanins, ce qui est conforme parfaitement à la littérature qui a classé les polyphénols comme des antioxydants importants dans la régulation des réactions de peroxydation et le contrôle de la production des radicaux libres (**Lang et al, 2024**). L'analyse par ANOVA a montré également des différences significatives entre le pouvoir antioxydant des espèces des deux sections évaluées par les trois tests DPPH, FRAP et ABTS selon le test de Tukey à $P < 0.05$

Les teneurs élevées en phénols totaux et tanins dans les extraits des espèces de la section oxycedrus par rapport ceux de la section sabina pourrait être due à des facteurs intrinsèques de chaque espèce tels que les facteurs morphogénétiques et ontogènes, l'âge de l'arbre, les facteurs génétiques, c'est le cas des trois espèces *J.oxycedrus*, *J.phoenicia* ssp. *turbinata* et *J. oxycedrus* ssp.*badia* provenant de différentes sections collectées dans la même période (novembre 2023) et de même site géographique (Aflou, Sidibouزيد) mais seulement l'espèce *J.oxycedrus* par le biais

Résultats et Discussion

de son extrait phénolique des feuilles a montré une capacité antioxydante élevée liée à un contenu considérable en phénols totaux.

Les conditions climatiques de l'habitat pourraient être aussi des facteurs influencants sur les teneurs en polyphénols et par conséquent sur l'activité antioxydante. De cet égard, l'extrait phénolique des feuilles de l'espèce *J.communis* récoltées de la région de Djurdjura Tiziouzou en janvier 2024 a présenté une capacité antioxydante très intéressante associée a une teneur élevée en phénols totaux et en tanins. Cette observation pourrait être expliquée par les conditions climatiques de la région montagneuse de Djurdjura(étage bioclimatique subhumide) caractérisée par des niveaux de précipitations élevés et de basse température.

Enfin, les résultats de notre étude ont permis de déterminer la variation de la composition phytochimique des extraits phénoliques de différentes espèces de genre *Juniperus* provenant des deux sections, et leurs capacité antioxydante dans trois régions différentes avec des facteurs environnementaux différents et deux périodes de collecte. Il convient de noter que les conditions bioclimatiques ont un impact évident sur la diversité de la composition chimique de la plante. Cependant, elles n'empêchent pas l'effet d'autres facteurs tels que les facteurs intrinsèques liés à l'espèce elle-même.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Conclusion

La présente étude avait un objectif de comparaison entre les espèces des deux sections du genre *Juniperus* par le pouvoir antioxydant et les teneurs phytochimiques de leurs extraits phénoliques purs et combinés.

Les résultats obtenus permettent de déduire que les extraits phénoliques des espèces de la section oxycedrus qui englobe notamment *J. oxycedrus* et *J. communis* ayant les meilleurs teneurs en polyphénols associées à une puissante activité antioxydante par rapport à ceux de la section sabina.

les différentes espèces des deux sections présentent des variations dans les niveaux de polyphénols, ce qui peut avoir un impact significatif sur la composition et l'activité des extraits de ses feuilles. En effet, les extraits phénoliques des zones montagneuses (Djurdjora Tiziouzou) sont plus riches en composés phénoliques et plus actifs. En outre, l'espèce *J. oxycedrus* a montré un pouvoir antioxydant intéressant lié à une forte teneur en phénols totaux par rapport aux deux autres espèces *J. phoenicea* et *J. oxycedrus ssp. badia*, qui partagent avec elle le même site et la même période de collecte (Sidi Bouzid-Aflou), ce qui entraîne les mêmes conditions climatiques, suggérant qu'il existe d'autres facteurs d'influence que les conditions climatiques. Ce sont les facteurs intrinsèques spécifiques de chaque espèce.

En conclusion, nous avons constaté que les feuilles de *J. oxycedrus* et *J. communis* pourraient être une source de composés bioactifs car elles sont riches en polyphénols, largement reconnus pour leurs capacités antioxydantes naturelles capables de lutter contre les effets nocifs des radicaux libres associés à différentes maladies et troubles (obésité, diabète, cancer, ...etc).

Plusieurs industries, dont les industries pharmaceutique, alimentaire et cosmétique, peuvent bénéficier du pouvoir antioxydant des polyphénols extraits à partir des feuilles de genévrier oxycedre et commun pour différentes utilisations.

Perspectives

En se basant sur les informations apportées par les résultats obtenus à travers notre étude, nous soulignerons certains points qui nous semblent importants afin d'ouvrir de nouvelles perspectives de recherche. Il serait nécessaire de :

- ✓ Continuer l'investigation sur la composition chimique et le pouvoir antioxydant des extraits phénoliques provenant de l'espèce manquante dans cette étude « *Juniperus sabina* ». En Algérie, cette espèce appartient à la section sabina, elle est classée comme une espèce rare qui pousse uniquement dans la région de Djordjoura-Tiziouzou.
- ✓ Réaliser plusieurs combinaisons des extraits phénoliques en mélangeant les espèces de la section oxycedrus avec celles de la section sabina.
- ✓ Étudier et analyser d'autre type de métabolites secondaires synthétisés par les espèces de genre *Juniperus* tels que les huiles essentielles, les saponines,....etc.
- ✓ Procéder à l'isolement et la caractérisation (par HPLC, HPLC/MS) des composés bioactifs extraits à partir de ces espèces, et à les tester en diversifiant le panel des activités biologiques notamment les activités de cytotoxicité et anti-inflammatoire (tests *in vivo*, et cultures cellulaires).

Références

Références

Abderrezek, L., (2017). Diagnostic écologique et conservation des juniperaies à Genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L) dans les stations Zana et Nirdi (Aurès). Université de Batna 1, 217p

Adams, RP (1998).The leaf essential oils and chemotaxonomy of *Juniperus* sect. *Juniperus*. *Biochemical Systematics and ecology*, 26(6), 637-645.

Auger, R., & Laporte-Cru, J. (1982). Flore du domaine atlantique du Sud-Ouest de la France et des régions des plains. Canopé – CRDP,(Bordeaux).pp.516 .

ATHAMENA, S. (2020). Etude de l'activité biologique de *Juniperus thurifera* et *Fraxinus xanthoxyloides*. Université de Batna 2.pp.3,pp27.

Aymonin, G. G. (1990). La Grande Flore en couleurs de Gaston Bonnier en 1990. *Bulletin de La Société Botanique de France. Lettres Botaniques*, 137(2-3), 243–244.

Becker M., Picard J.-F., Tim bal J.(1982).Larousse des arbres et arbustes. Larousse (france).pp 151et 194.

Belabes R., DjediraT.(2019).Extraction des Flavonoïdes et évaluation de l'efficacité Antioxydant d'une plante algérienne.Université Kasdi Merbah-Ouargla.pp11.

Bello, R., Moreno, L., Beltran, B., Primo-Yuacuta ; fera, E., et Esplugues, J. (1997).Effects on arterial blood pressure of methanol and dichloromethanol extracts from *Juniperus oxycedrus* L. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Medical and Scientific Research on Plants and Plant Products*, 11(2), pp .161-162.

Benzie, Iris FF, et John J Strain.(1996). La capacité de réduction ferrique du plasma (FRAP) comme mesure du "pouvoir antioxydant" : le test FRAP. *Biochimie analytique* 239(1):70-76.

Références

Bhuyan.U ., Jyotirekha G. Handique. (2022).,Chapter 6 - Plant polyphenols as potent antioxidants: Highlighting the mechanism of antioxidant activity and synthesis/development of some polyphenol conjugates, Editor(s): Atta-urRahman,Studies in Natural Products Chemistry,Elsevier, 75, 243-266, ISSN 1572-5995, ISBN 9780323912501, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91250-1.00006-9>.

Bouchakour, S., Lalout, JF .(2022).Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante d'une plante médicinale *Randonia africana* Coss.Université Ahmed DRAIA – Adrar.pp.21.

Butler, Larry G, Martin L Price, et Jeffery E Brotherton.(1982).Test à la vanilline pour les proanthocyanidines (tannins condensés) : modification du solvant pour l'estimation du degré de polymérisation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 30(6):1087-1089.

Bruneton, J.(1999).Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants . Techniques et documentation. Lavoisier 3ème édition, (Paris).pp.

Cano, A, M Acosta, et MB Arnao (2000).A method to measure antioxidant activity in organic media: application to lipophilic vitamins. *Redox Report*5(6):365-370.

Chelghoum,M.(2021).Effets environnementaux sur la composition chimique et l'activité biologique des extrait lipidique et phénolique de différents organes de pistachier de l'atlas (*Pistacia atlantica*).Université Amar Telidji-Laghouat. Pp.30-35.

Debazac E. F.,(1991). Manuel des conifères. 2ème édition. Ecole nationale de Génie Rural, des eaux et des forêts. Nancy, Paris, 137-141.

Djellouli, S., Larbi, K., Meddah, B., Rebiai, A., Touil, A., & Sonnet, P. (2022). Chemical composition, in vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* extracts from Algeria. *European Journal of Biological Research*, 12(3), 271-281. Retrieved from <https://www.journals.tmkarpinski.com/index.php/ejbr/article/view/601>

Douffi,A.,Amroune,Y.(2021).*Artemisia herba-alba* et *Juniperus communis*:Phytochimie et Pharmacologie.Université Mohamed Boudiaf- M'Sila.pp.27.

ElJemli, M., Kamal, R., Marmouzi, I., Zerrouki, A., Cherrah, Y. and Alaoui, K. (2016). Radical-Scavenging Activity and Ferric Reducing Ability of *Juniperus thurifera* (L.), *J. oxycedrus* (L.), *J. phoenicea* (L.) and *Tetraclinis articulata* (L.). *Advances in Pharmacological Sciences*, 2016, ArticleID:6392656. <https://doi.org/10.1155/2016/6392656>.

Farhi, B., Bouadam, S., Bekdouche, F., Krouchi, F. et Derridj, A. (2020). Chemical composition of the essential oil extracted from Algerian populations of *Juniperus sabina* L. *Studia Universitatis "Vasile Goldis" Arad. Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series)*, 30(1).p.33-40.

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, p. 108-115.

Fettah, A. (2019). Etude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante - antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce *Thymoides* de la région Beni Souik, Biskra. Université Mohamed Khider- Biskra. pp.43.

Ivanova, D. I., Tashev, A. N., Nedialkov, P. T., Ilieva, Y. E., Atanassova, T. N., Olech, M., Nowak, R., Angelov, G., Tsvetanova, F. V., Iliev, I. A., Kokanova-Nedialkova, Z. K., Yotov, G. H., (2018). Antioxidant and antiproliferative activity of *Juniperus* L. species of Bulgarian and foreign origin and their anticancer metabolite identification. *Bulgarian Chemical Communications*, Volume 50, Special Issue C (pp. 144 – 150).

Kerbouche, L. (2010). Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de quelques plantes des familles de labiacées et de *cupressacées*. Ecole Nationale Supérieure Agronomique - El-Harrach – Alger. pp.30.

Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4). 20.p 165-177.

Références

Lamaison, JL, C Petitjen-Freytet, and A Carnat (1990). Teneurs en acide rosmarinique, en dérivés hydroxycinnamiques totaux et activité antioxydante chez les apiacées, les borraginacées et les laminacées médicinales. Annales pharmaceutiques françaises, 1990. Vol. 48, pp. 103-108.

Lang.Y, Gao., Zang. Z, Meng.X, Lin.Y, Yang.S, Yang.Y, Jin. Z, Li, B., (2024). Classification and antioxidant assays of polyphenols: a review, Journal of Future Foods, Volume 4, Issue 3, 2024, Pages 193-204, ISSN 2772-5669, <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2023.07.002>

Lugasi,A., Hovari,J., Sagi,K. V., Biro,L.(2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. Acta biologica szegediensis.47(1-4).p 119-125.<https://abs.bibl.u-szeged.hu/index.php/abs/article/view/2358>

Macheix, J,J. Fleuriet, A. Jay-Allemand, C.(2005). Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed, Lausanne, Presses Polytechniques et universitaires romandes. p101-121.

Marc, D., Enjalbal, M.(2013). Découverte de *Juniperus oxycedrus* subsp. badia. Poster.

Mazari,K.(2009). Etude phytochimique et pouvoir antimicrobien de *Juniperus Phoenicia L.* de la région de Tlemcen. Université de Abou Baker Belkaid-Tlemcen. pp7-27.

Menaceur,F.(2015). Contribution à l'étude phytochimique et biologique de l'érigéron, du fenouil commun, de la lavande et du genévrier. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-harrach – Alger. pp 48 et 50.

Merabet ,S.(2021). Etude ethnobotanique des plantes médicinales à effet Anti-inflammatoire dans la région de Mila, et l'évaluation de l'activité Anti-inflammatoire in vivo de l'extrait méthanolique d'*Inula viscosa L.* Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf Mila. pp6.

Messaoudi, S.(2017). Étude Comparative de Différentes Sous-espèces de "Juniperus". Université laarbi tebessi tebessa. pp32.

Miller, Nicholas J, et Catherine A. Rice-Evans(1997). Facteurs influençant l'activité antioxydante déterminée par le test du cation radicalaire ABTS•+ Recherche sur les radicaux libres 26(3):195-199.

Références

Molyneux, Philip (2004). L'utilisation du radical libre stable diphénylpicrylhydrazyle (DPPH) pour estimer l'activité antioxydante. *Songklanakarin J. sci. technol*26(2):211-219.

Moreno,L., Bello,R., Primo-Yûfera ,E., Espuigues ,J. (1997). In vitro studies of methanol and dichloromethanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *Phytotherapy Research*. 11.p, 309-311.

Murillo, E., Britton, G. B., & Durant, A. A. (2012). Antioxidant activity and polyphenol content in cultivated and wild edible fruits grown in Panama. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 4(4), 313–317. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.103261>

Naczki,M. Shahidi,F.(2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A* , 1054 (1-2),p 95-111.

Orhan, N., Akkol, E., Ergun, F. (2012) Évaluation des propriétés anti-inflammatoires et antinociceptives de certaines espèces de *Juniperus* poussant en Turquie. *Turk J Biol*. 36 . 719-726.

Panche, A. N., Diwan, A. D., Chandra, S. R., (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*. P 5_46

Popovici, C., et al. (2009). "Évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH." *Revue de génie industriel*4(8).

Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>

Quezel,P. Santa,S.(1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Centre de la recherche scientifique, Vol.1.p. 1-565.

Quezel, P., Gast. M.(2011). Genévrier. *Encyclopédie Berbère*.20.p3016-3023.

Quezel,P.,Médail,F.(2003). Que faut-il entendre par "forêts méditerranéennes"? *Forêt méditerranéenne*, 24(1).p11-31..

Références

Roginsky, Vitaly, et Eduardo A Lissi(2005).Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. Food chemistry,92(2):235-254.

Roudane, K.(2021).Etude de la variabilité de la production des cônes et des graines chez *Juniperus communis* et *Juniperus sabina* au Djurdjura.UniversitéMouloud Mammri de Tizi-Ouzou.pp2.

Safer, S. (2018). "Teneur en polyphénols, tannins et flavonoïdes et capacitéantioxydante d'extrait méthanolique d'une plante." Direct Link.

Santos-Buelga, C., Scalbert, A. (2000).Proanthocyanidins and tannin-like compounds–nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80(7).p 1094-1117.

Schofield. P., Mbugua. D.M., Pell. A.N.,(2001). Analysis of condensed tannins: a review. Animal Feed Science and Technology. (2001) 91, 21-40.

Sen, C. K., Packer, L., Hanninen, O.(2000).Antioxidants and physical exercise.Amsterdam:Elsevier, pp 3.

Singleton, Vernon L, et Joseph A Rossi.(1965). Colorimétrie des phénoliques totaux avec des réactifs acide phosphomolybdique-phosphotungstique. Journal Américain d'enologie et de Viticulture16(3):144-158.

Small E., Dentsch, G. (2001). Nos jardins de pays froids. Ed , Centre National de la recherche scientifique.pp .90

Trabut,C, L. (1935). Répertoire des noms indigènes des plantes spontanées,cultivées et utilisées dans le nord de l'Afrique. Alger. (Collection du centenaire de l'Algérie. Flore du nord de l'Afrique).p355.

Trad,M.(2020).Etude de l'activité biologique d'huile essentielle de *Juniperus thurifera*.Université Mohamed Khider de Biskra.

Références

Zeggane,M.(2022). Contribution à l'étude comparative de la communauté ectomycorhizienne de trois populations de *Juniperus communis* dans le Parc National du Djurdjura.Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.pp.12.

Annexes

Matériels

- Ampoule à décanter 250 ml
- Ballon à fond rond 250 ml
- Becher 50 ml, 100 ml,
- Cuvette (Quartz et plastique)
- Entonnoir
- Eprouvette graduée 100 ml
- Erlenmeyer 250 ml
- Fiole jaugée de 25 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml
- Flacon fumé 10 ml, 250 ml
- Micropipette
- Mortier et pilon
- - Papier filtre
- Pissette (eau distillée)
- Spatule
- Tube à essais
- Verre de montre

Equipement

- Balance électronique (KERN ABS)
- Etuve
- Frigidaire
- Rotavapor (BUCHI R-200)
- Spectrophotomètre UV visible (SHIMADZU)
- Vortex

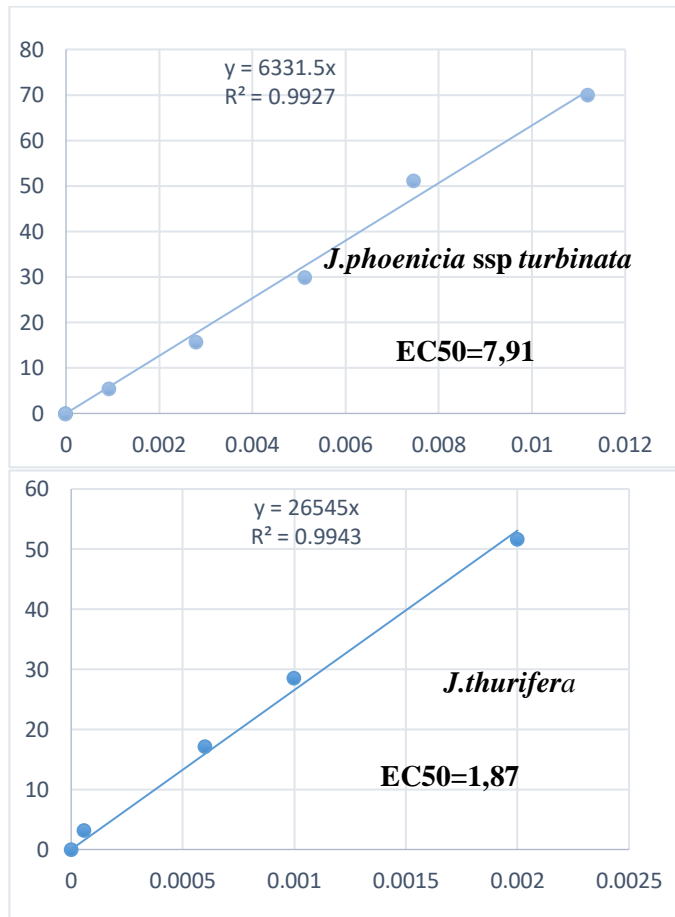
Annexe 02

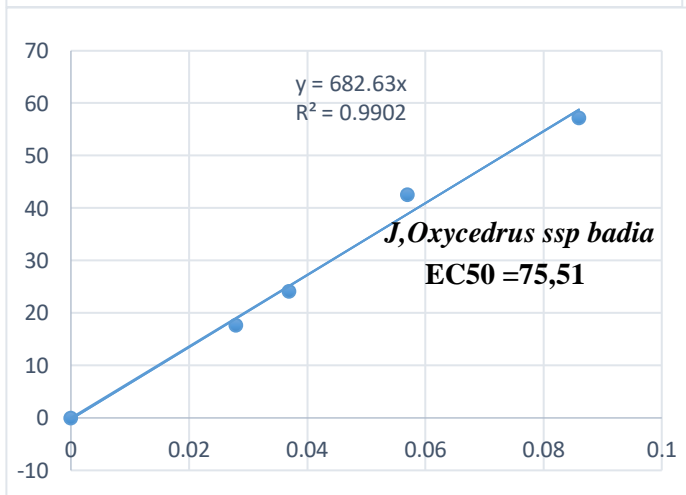
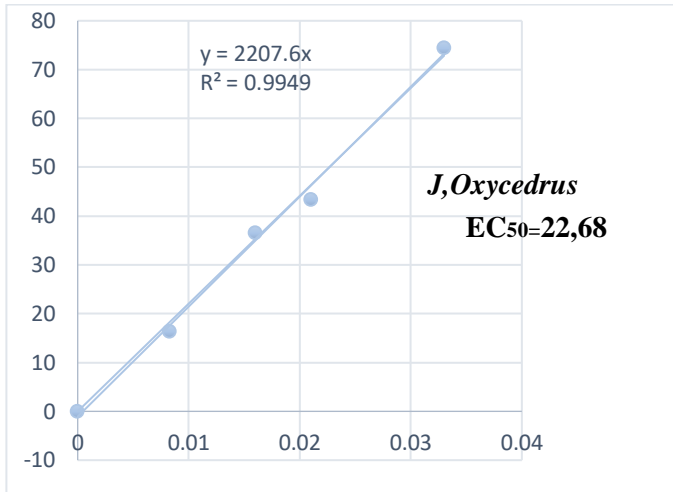
Les réactifs et produits chimiques

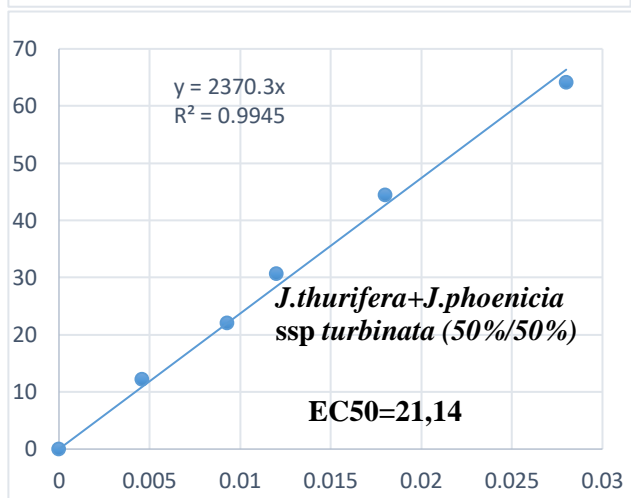
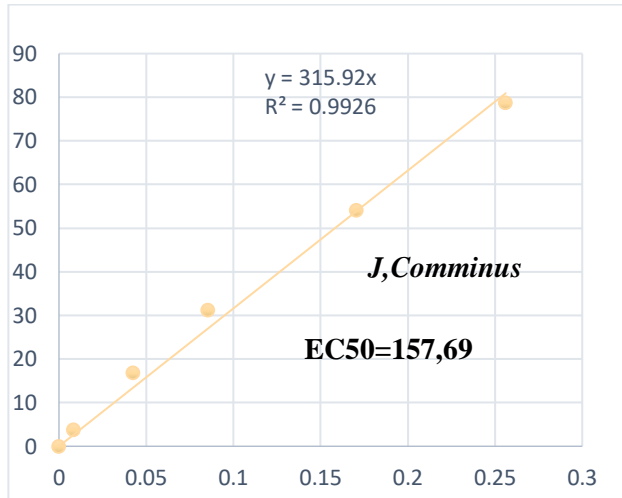
- Acide ascorbique (vitamine c)
- Acide gallique
- Carbonate de sodium (Na_2CO_3)
- Acide chlorhydrique (HCl)
- AlCl_3 : Chlorure d'aluminium
- Catéchine
- DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
- Folin- Ciocalteu
- Méthanol
- Quercitine
- Solution méthanolique de soude (NaOCH_3)
- Sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4)
- Vanilline

Annexe 03

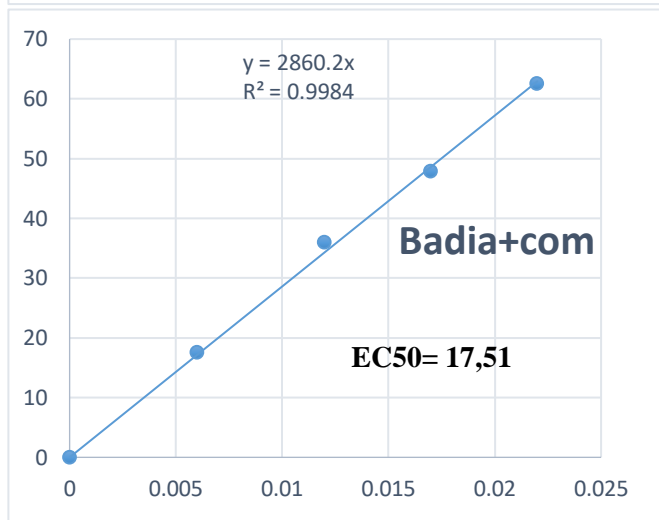
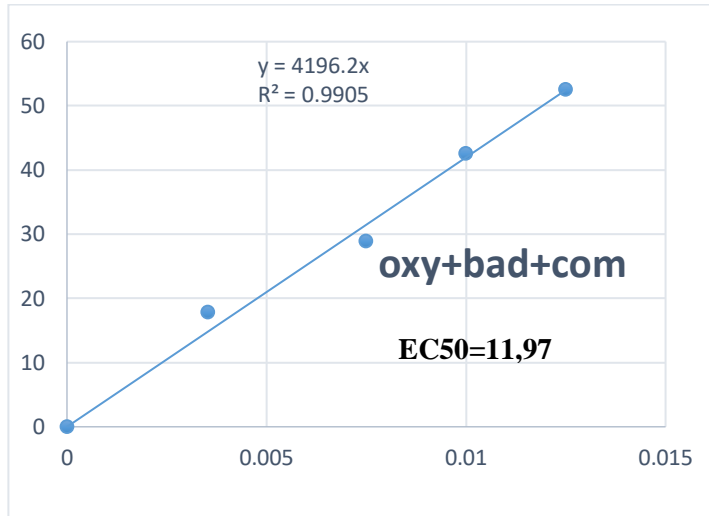
Les figures ci-dessous présentent le pourcentage d'inhibition % des radicaux libres DPPH en fonction de la concentration (mg/ml) des extraits phénoliques purs et combinés des feuilles:

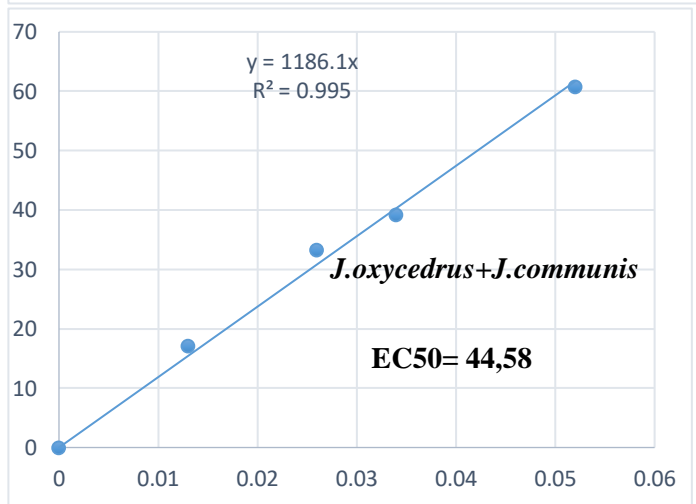
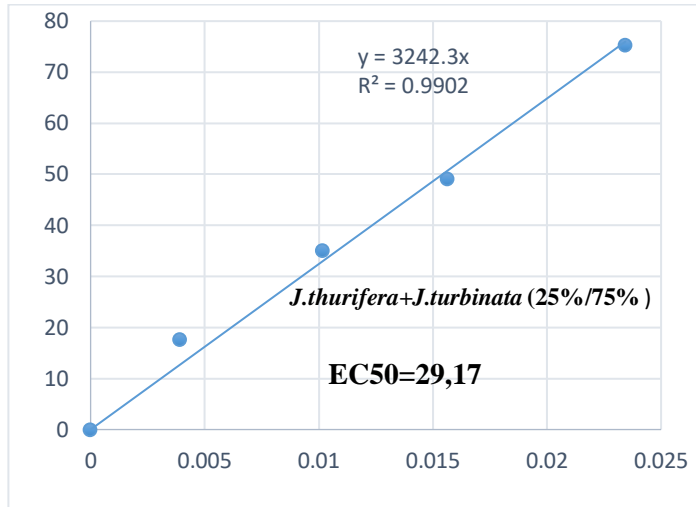


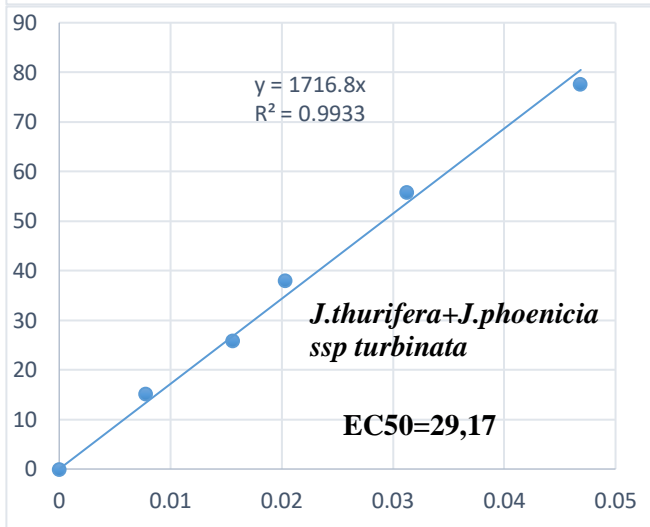
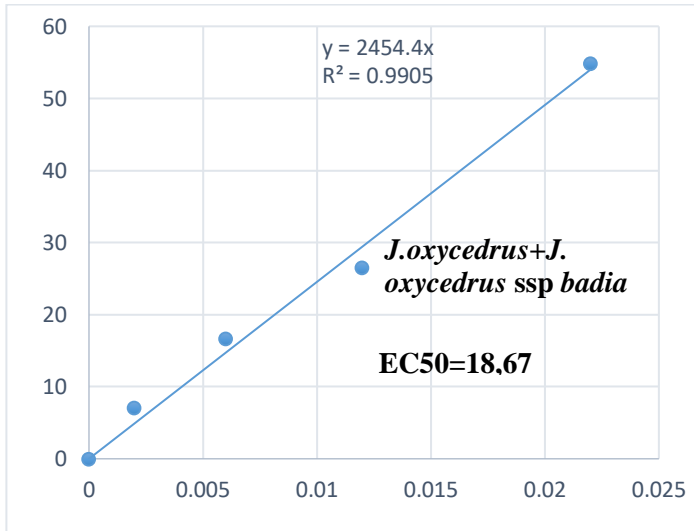




Annexes







Résumé

Cette étude visait à comparer le pouvoir antioxydant des extraits phénoliques des feuilles de deux sections de l'espèce *Juniperus* en Algérie. 12 extraits phénoliques purs et combinés ont été analysés. De multiples tests tels que les méthodes de quantification colorimétrique des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins sont effectués pour déterminer la composition chimique de chaque extrait suivie par l'évaluation de l'activité antioxydante avec les tests DPPH, FRAP et ABTS.

L'analyse des données par ACP (analyse en composantes principales) a révélé que les extraits phénoliques des espèces de la section oxycedrus notamment les espèces *J. oxycedrus* et *J. communis* sont les plus riches en phénols totaux et en tanins, corrélés avec une puissante activité antioxydante selon le test FRAP par rapport à ceux de la section sabina. **Après l'analyse par ANOVA unidirectionnel, des différences significatives sont également confirmées entre les moyennes des teneurs en phytoconstituants et entre celles des trois tests évaluant l'activité antioxydante des deux sections selon les tests Tukey et Fisher à $P \leq 0.05$.**

La puissante activité antioxydante des extraits phénoliques de la section oxycedrus est liée directement aux teneurs élevées des polyphénols. La variation en teneurs de ces derniers pourrait être due à des facteurs intrinsèques tels que la morphogenèse, l'âge de l'arbre et les facteurs génétiques. Les conditions climatiques géographiques pourraient également influencer les teneurs en polyphénols et leur capacité antioxydante.

Tous nos résultats indiquent que les feuilles des espèces provenant de la section oxycedrus présentent une source importante des antioxydants naturels de type polyphénols qui peuvent être utilisés dans les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

Mots-clés: *Juniperus*, section oxycedrus, section sabina, extraits phénoliques, activité antioxydante, phénols totaux.

Abstract

The aim of this study was to compare the antioxidant power of phenolic extracts from the leaves of two sections of the *Juniperus* species in Algeria. 12 pure and combined phenolic extracts were analyzed. Multiple tests such as colorimetric quantification methods for total phenols, flavonoids and tannins were carried out to determine the chemical composition of each extract, followed by evaluation of antioxidant activity with DPPH, FRAP and ABTS tests.

Analysis of the data by PCA revealed that phenolic extracts from species in the oxycedrus section, notably *J. oxycedrus* and *J. communis* species, were the richest in total phenols and tannins correlated with powerful antioxidant activity according to the FRAP test, compared with those from the sabina section. After analysis by one-way ANOVA, significant differences were also confirmed between the means of phytoconstituent contents and between those of the three tests evaluating antioxidant activity of the two sections according to the Tukey and Fisher tests at $P < 0.05$.

The powerful antioxidant activity of phenolic extracts from section oxycedrus is directly linked to the high levels of polyphenols. Variation in polyphenol content may be due to intrinsic factors such as morphogenesis, tree age and genetic factors. Geographical climatic conditions could also influence polyphenol content and antioxidant capacity.

All our results indicate that the leaves of species from the oxycedrus section present a source of natural polyphenol antioxidants that can be used in the food, pharmaceutical and cosmetics industries.

Key words: *Juniperus* Genus, oxycedrus section, sabina section, phenolic extracts, antioxidant activity, total phenols.

المخلص

تهدف هذه الدراسة الى مقارنة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الفينولية من أوراق فصيلتين من أنواع العرعر في الجزائر. تم تحليل 12 مستخلصاً فينولياً نقياً ومركباً. أجريت اختبارات متعددة مثل طرق القياس اللوني للفينولات الكلية والفلافونويدات والتانينات لتحديد التركيب الكيميائي لكل مستخلص، تلاها تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبارات DPPH وFRAP وABTS .

كشف اختبار تحليل البياناتPCA أن المستخلصات الفينولية للأنواع من قسم *oxycedrus*، ولا سيما نوعي *J. communis* و *J. oxycedrus*، هي الأغنى في الفينولات الكلية والتانينات المرتبطة بنشاط مضاد للأكسدة القوي وفقاً لاختبار FRAP، مقارنةً بتلك المستخلصات من قسم *sabina*. بعد تحليل التباين عن طريق ANOVA أحادي الاتجاه، تم التأكد أيضاً من وجود فروق بين معدلات المحتوى النباتي وبين معدلات الاختبارات الثلاثة التي تقيّم النشاط المضاد للأكسدة في القسمين وفقاً لاختبارات Fisher وTukey عند $P < 0.05$.

ويرتبط النشاط القوي المضاد للأكسدة للمستخلصات الفينولية من فصيلة *oxycedrus* ارتباطاً مباشراً بالمستويات العالية من البوليفينول. ويمكن أن يرجع التباين في مستويات البوليفينول إلى عوامل جوهريّة مثل التشكّل، وعمر الشجرة والعوامل الوراثية. ويمكن أن تؤثر الظروف المناخية الجغرافية أيضاً على محتوى البوليفينول والقدرة المضادة للأكسدة.

تشير جميع النتائج التي توصلنا إليها إلى أن أوراق الأشجار من فصيلة *oxycedrus* تمثل مصدراً لمضادات الأكسدة الطبيعية من البوليفينول التي يمكن استخدامها في الصناعات الغذائية والدوائية ومستحضرات التجميل.

الكلمات المفتاحية: جنس *Juniperus*، فصيلة *oxycedrus*، فصيلة *sabina*، المستخلصات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، الفينولات الكلية.

