Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun - Tiaret-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master académique
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Présenté par :

REGGAD YASMINE Manel REZEK Sabrina

Thème

Étude phytochimique et évaluation *in vitro* de l'activité biologique du *Juniperus oxycedrus*

Soutenu publiquement le : 10 /07/2023

Devant le Jury:

Président : Mr BENAISSA Toufik MAA

Examinateur: Dr. ACHIR Mohamed MCA

Encadrant: Dr. BOUSSAID M. MCA

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce travail Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à notre directrice de notre recherche Mr BOUSSAID Mohamed, nous la remercions de nous avoir encadrés, orientés, aidés et conseillés. Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury Mr BENAISSA Toufik et Mr ACHIR Mohamed pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions,

Nous adressons aussi nos remercîments à toute l'équipe du laboratoire et tous les enseignants, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mos réflexions et ont accepté à nous rencontrer et répondre à nos questions durant nos recherches.



Je tiens à remercier en premier lieu **Dieu** le tout puissant qui m'a donné le courage et la patience et qui a éclairé mon chemin pour achever ce travail. Je tiens à remercier profondément mes chers parents ma beautiful Mum Boughaddou Fatima et mon père Benbrahim, et mon grand-père Said qui m'ont toujours encouragé et poussé à réussir, pour tout ce qu'ils m'ont donné, leur aide éternel et leur amour.

Mon frère Redha, ma sœur Lila et son marie Taher, et tout ma famille Mes proches amies Sabrina, Zahra, Halla, Khalida, Zohra, Chahinez, Sabrina, Ikram, Sara, Khadija, Fatima, Marwa, Melissa, Ismaha, Daoud, Djilali, Ilyes, Aziz, Nacer, Mohamed, Youcef Et tous ceux qui de près ou loin ont contribués à la réalisation de ce travail.

Reggad Yasmine Manel

Dédicaces

Je suis fière de ce travail, et c'est grâce à Dieu qui a été avec moi à chaque instant de ma vie. Deuxièmement, grâce à ma mère, Boussadjra Djamila, la plus merveilleuse des mères du monde, qui a été la source de ma force et de ma continuité, et aussi merci à mon père, Rezek Moustapha qui ne m'a pas laissé seul et m'a encouragé ainsi que mes chers frères Khaled, Faisal et Chamsou Et Yasmine, sans oublier mon cher frère Ben Moumen, Boualem, et aussi a tous qui travaille dans Labo B de leur soutiens et patience et je donne tous mes remerciements à mes meilleurs amis, parmi qui est mon collègue Reggad Yasmine, Chahinaze, Zohra, Khalida, Ikram, Meriem, Zahra, Halla, Sara, Khadija, Fatima, Racha, Djilali, Aziz, Nacer, Daoud, Ilyas, Mohamed et à tous ma famille Boussadjra et Rezek.

الملخص

هذه الدراسة هي جزء من تثمين نبتة من نباتات المناطق القاحلة و شبه القاحلة في الجزائر من خلال الوصف الكيميائي لنبات العرعار الشربيني و تقييم النشاط المضاد للاكسدة لاوراقه و فروعه و ثماره . انتجت المستخلصات الايثانولية المختبرة العرعار الشربيني الموردة الى اربعة مواقع مختلفة : البابور , بوطالب (سطيف) , مدروسة (الايثانولية المختبرة العرعار الشربيني الموردة الى البوليفينول أن محتويات هذا المركب تختلف بين (19.21و 240.69 ميكرو غرام / مغ مكافئ لحمض الغاليك) تم الكشف عن المستويات القصوى في المستخلص الإيثانولي (و 240.69 مغ /غ مكافئ لحمض الكارسيتين) وبالمثل ، يختلف محتوى الفلافونويد في المستخلصات فيما بين (1,961 و 1,961 مغ /غ مكافئ لحمض الكاتيشين) ولوحظ الحد ومحتوى التانين في المستخلصات يختلف بين (43,22 و 43,28 مغ / غ مكافئ لحمض الكاتيشين) ولوحظ الحد والأقصى المحتوى في المستخلصات بواسطة كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة بالإضافة إلى تحديد نشاط مضادات الأكسدة بطريقة تحليل المستخلصات بواسطة كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة على الجذور الحرة ، مع تفاوت القيم بين (0,950 مكغ / مغ).

الكلمات الأساسية: العر عار الشربيني, قوة مضادات الأكسدة مستخلص مائي مستخلص إيثانولي بوليفينول. الفلافونويد.

<u>Résumé</u>

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation d'une espèce forestière des régions arides et semi arides d'Algérie à travers la caractérisation phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydant de ses feuilles, rameaux et galbules. Les extraits aqueux et éthanoliques testés proviennent des parties aeriennes deu genevrier oxycèdre (*Juniperus oxycedrus* L.) collectées sur quatre quatre différents sites: Babour, Boutaleb (Sétif), Medroussa (tiaret) et Hidoussa (Batna). Les teneurs en polyphénols totatux, en flavonoïdes et en tanins, varient considérablement, selon le type de solvant utilisé dans la préparation des extraits et selon la partie de la planté testée, comme elles sont dépendantes des sites de prélèvements.

En outre, la détermination de l'activité antioxydant par la méthode de DPPH a dévoilé les propriétés intéressantes que possèdent les extraits aqueux et éthanoliques des feuilles et des rameaux de cèdre à piéger les radicaux libres.

Mots clés : *Juniperus oxycedrus* L.; pouvoir antioxydant ; extrait aqueux; extrait éthanolique ; Polyphénols ; flavonoides ; tanins ; Algérie.

Abstract

Juniperus oxycedrus L.is an aromatic and medicinal plant, named Taga, belonging to the Cupressaceae family and well known spontaneously.

This work is attributed to the study of the antioxidant activity of ethanolic and aqueous extracts.

In the end, the yield of the highest elevation in ethanolic and aqueous extra was obtained with the twigs and the leaves in comparison with the galbules.

Liste des figures

Synthèse bibliographiques
Figure 1. juniperus oxycedrus
Figure 2. Galbule de <i>Genévrier</i>
Figure 3. Feuille de Genévrier5
Figure 4. Galbule de Genévrier5
Figure 5. Répartition de Genévrier6
Figure 6. L'étape de préparation de solvant liquide
Matériel
Figure 7. Etapes de préparation des extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i>
Figure 8. Forme libre et réduit de DPPH
Discussion et résultats
Figure 9. Teneur en polyphénols des différents extraits testés
Figure 10. Teneur en flavonoïdes des différents extraits de <i>Juniperus oxycèdrus</i> 22
Figure 11 Teneurs en tanins des différents extraits de juninarus oveveadrus

Liste des tableaux

Tableau 1. Rendements des diffé	erents extraits (en pourc	entage)18
Tableau 2. les valeurs de l'IC 50	des différents régions	20

Liste des abréviations

ABS: Absorbance

Abts : sel d'ammonium de l'acide 2.2-azinobis- (3-éthylbenzothiazoline-6- sulfonique.)

Ac: absorbance du contrôle négatif (blanc).

APR: Pouvoir antiradicalaire

AQ: extrait aqueux

At: absorbance de l'extrait testé

BAW: n-Butanol/Acide acétique/eau

CCM: Chromatographie sur couche mince

CK: créatine kinase

DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

EAG/Mg d'extrait : microgramme d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait μg

EAO: espèce réactive de l'oxygène

EC50: Concentration effective à 50%

ECh: Echantillon

ECT/Mg d'extrait : microgramme d'équivalent catéchine par milligramme d'extrait μg

EQ/Mg d'extrait : microgramme d'équivalent quercétine par milligramme d'extrait

ERO: espèces réactives de l'oxygène

Eth: éthanol
Ext: Extrait

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

IC50 : Concentration inhibitrice à 50% μg

LDH : lactate déshydrogénase

ORAC: Oxygène Radical Absorbance Capacity

ROS: espèces réactifs oxygénées

SM: Solution Mère

TRAP: Total Réactive Antioxidant Potentie

Table des matières

Liste des abreviation

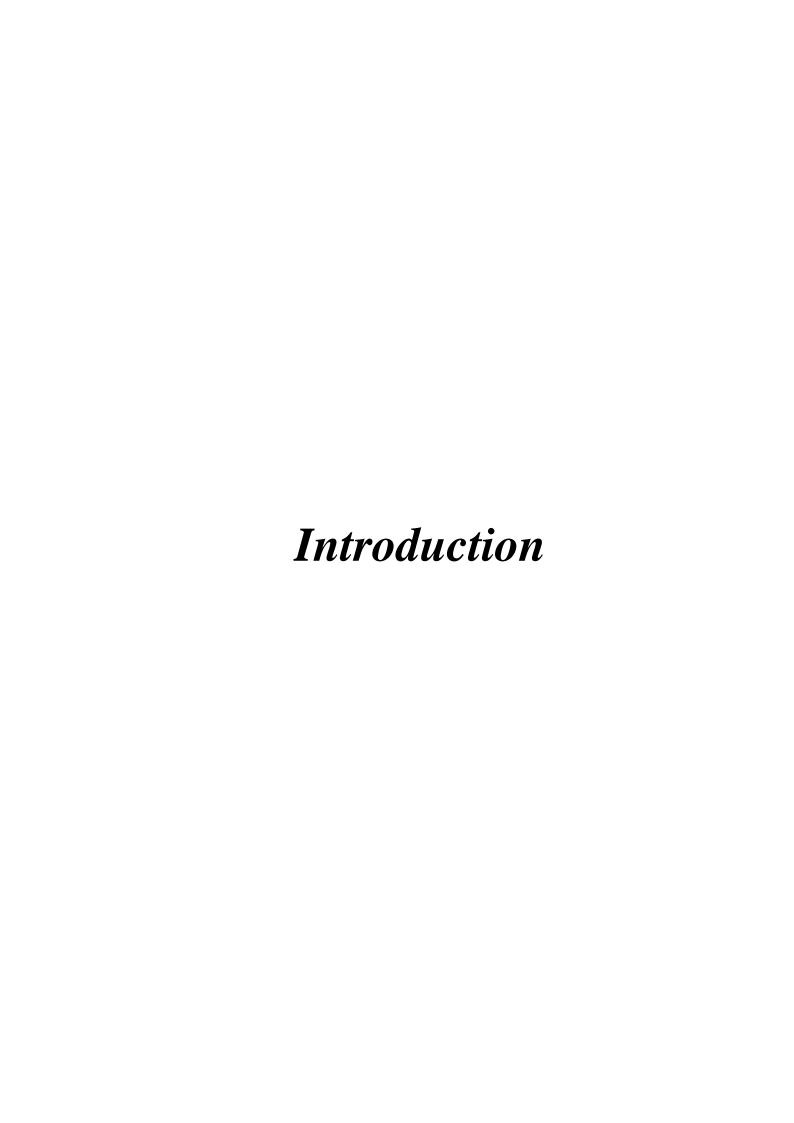
Liste des figures

Introduction

Synthèse Bibliographique

1	Gér	néralités sur le genévrier oxycèdre	3
1	GCI	icianics sur le geneviter oxyecure	
	1.1	Systematique	4
	1.2	Description botanique	4
	1.3	Répartition géographique	5
	1.3	3.1 Dans le monde	5
	1.4	Utilisation de genévrier oxycèdre	6
2	Ιes	métabolites secondaires	7

2.1 Les différentes classes de métabolites secondaires
2.1.1 Les composés phénoliques
3 Activités biologiques
3.1 Activité antioxydante9
3.2 Activité antimicrobienne
1 Objectif
2 Matériel et méthodes
2.1 Matériel végétal
2.2 Méthodes
2.2.1 Préparation des extraites
2.2.2 Détermination de rendement
2.3 Caractérisation phytochimique
2.3.1 Dosage des polyphénols totaux
2.3.2 Dosage des Flavonoïdes
2.3.3 Dosage des Tanins
2.3.4 Activité antioxydante
Résultats et discussion
3 Rendement en extraits
4 Activité Antioxydant
4.1 Détermination de la quantité d'IC50 inhibiteur des radicaux libre DPPH 19
5 Analyse phytochimique :
5.1 La teneur en polyphénol totaux
5.2 Teneur en flavonoïde
5.3 Teneurs en Tanins 24
Conclusion25
Références bibliographiques26



Depuis l'Antiquité, les hommes apprécient les propriétés apaisantes et antalgiques des plantes. Au fil des siècles, la tradition humaine a su développer les connaissances et les usages des plantes médicinales. Aujourd'hui encore, les deux tiers des pharmacopées utilisent leurs propriétés thérapeutiques (Larousse, 2001). De plus, la recherche médicale a démontré l'efficacité et l'innocuité de nombreux remèdes à base de plantes (Willker, 2009).

Avec le développement de l'industrie chimique et pharmaceutique Les plantes médicinales constituent une composante fondamentale pour l'avenir du système de santé dans le monde ; elles demeurent une source inépuisable de substances actives. Parmi ces molécules, on retrouve les alcaloïdes, acides phénoliques, tannins, saponines, terpènes et flavonoïdes possédant diverses activités biologiques (**Adouane, 2016**).

Les plantes sont le trésor de la pharmacopée mondiale. Plusieurs médicaments importants sont fabriqués à partir de substances actives d'origine végétale. De nombreux médicaments modernes sont également fabriqués à partir de ces ingrédients. Les plantes médicinales sont utilisées directement sous forme fraîche, séchée ou transformée, stabilisée, extraite ou formulée avec d'autres excipients botaniques ou synthétiques. Dans tous les cas, la matière végétale utilisée pour fabriquer la forme galénique doit démontrer son efficacité, être inoffensive et être d'une qualité répondant aux exigences de la Pharmacopée Européenne des médicaments botaniques, garantissant ainsi sa sécurité d'emploi.

Dans ce contexte, nous sommes intéressés à une plante spontanée commune en Algérie , *Juniperus oxycèdres*.

Le Juniperus oxycèdres (cupressacée) est un arbuste ou petit arbre poussant à l'état sauvage dans les lieux pierreux des pays méditerranéens et du proche -orient, une plante aromatique et médicinale connue par le nom Taga appartenant à la famille dans des cupressacée poussant à l'état spontané.

L'absence ou manque de travaux de recherches antérieurs en Algérie sur les activités biologiques des extraits de cette plante nous ont motivés à la sélectionner afin d'en déterminer l'activité antioxydante.

L'objectif de ce présent travail de mémoire s'inscrit dans le cadre de la valorisation des substances naturelles à travers des extraits ; Extraction des Polyphénols, Flavonoïde Tannis par macération ;

Introduction

Les analyses quantitatives des Phénols totaux, des Flavonoïde, et des Tannis par le dosage, Etude de l'activité antioxydante des extraits actifs de la plante du *Juniperus oxycèdres*. En utilisant la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

Notre travail est organisé en trois chapitres principaux, dont le premier est celui de recherches bibliographiques qui résument les différentes familles des composés phénoliques, ainsi que les principaux travaux réalisés sur l'espèce Juniperus oxycèdres. Dans le chapitre matériels et méthodes nous avons présentées les différentes méthodes d'extraction et les protocoles utilisés dans les dosages et l'évaluation de activités biologique testée dans ce travail. Les résultats issus de ce travail sont présentés et discutés dans le chapitre résultats et Discussions. En fin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.



1 Généralités sur le genévrier oxycèdre

Le genévrier oxycèdre, connu scientifiquement sous le nom de *juniperus oxycedrus*, est une espèce d'arbuste appartement à la famille des cupressacées. Il est également connu sous d'autres noms tels que genévrier cade ou oxycèdre cade. Le genévrier oxycèdre est origine de la région méditerranéenne, principalement du pourtour de lamer méditerranée et de l'Afrique de Nord. C'est un arbuste a feuilles persistantes qui peut atteindre une hauteur de 2 à 4 mètres. Il présente une croissance lente et une forme buissonnante avec des branches étalées (Paul-Victor, 2010),



Figure 1. Juniperus oxycedrus.

1.1 Systématique

Règne: Plantae (Plantes)

Division: Pinophyta (Conifères)
Embranchement: Spermaphytes

S. Embranchement: Gymnospermes

Classe: Pinopsida Conifères

Ordre: Pinales Coniférales

Sous ordre: Taxales

Famille: Cupressacées

Genre: Juniperus

Espèce: Juniperus oxycedrus

Nom français : oxycèdre, genévrier oxycèdre, cade, cadier, petit cèdre, petit

cèdre d'Espagne

Nom arabe: Arar

Nom berbère: Taga ou Tagga

1.2 Description botanique

C'est un arbre ou arbuste, dioïque de 8 à 12 m de hauteur, avec branches étalées, à feuilles persistantes, verticillées en aiguille ou en écaille réunis par 3 autour du rameau, plus longues que *Juniperus communis*, très piquantes ; deux bandes blanches à la face supérieure (Riou-Nivert, 2001) de 8 à 25 mm de longueur et 1 à 1,5 mm de largeur. Les cônes femelles de 8 à 10 mm d'épaisseur contenant trois graines par cône, présentent une couleur orange à brune rougeâtre à sa maturité (Schulz et al, 2003). Espèce dioïque, les fleurs mâles sont jaunes et les fleurs femelles sont vertes. Après fécondation, les cônes globuleux se transforment en baies après soudures des écailles entre elles. Au bout de deux ans environ, les baies (galbules) arrivent à maturité, sont de couleur brunâtre ou brun rouge, mesurent 8 à 10 mm de diamètre et renferment les graines (Chaouche, 2013). Chaque fruit contient 3 graines triangulaires de 2 à 3 mm logées dans la partie charnue de la galbule.



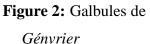




Figure 3: Feuilles de *Génvrier*



Figure 4: Rameaux de *Génvrier*

1.3 Répartition géographique

1.3.1 Dans le monde

Le *Juniperus oxycedrus* est présent dans toute la région méditerranéenne, y compris dans des pays tels que l'Espagne, la France, l'Italie, la Grèce et le Portugal. On le trouve également dans certaines parties de l'Europe centrale et de l'Europe de l'Est. On peut trouver cette espèce dans certaines parties du Moyen-Orient, notamment en Turquie, en Syrie, au Liban, et en Palestine. Le *Juniperus oxycedrus* se trouve également dans certaines régions d'Asie, notamment en Iran, en Irak et en Jordanie. Il est répandu dans les pays d'Afrique du Nord, notamment le Maroc, l'Algérie, la Tunisie et la Libye. Le climat méditerranéen de cette région est propice à la croissance du *Juniperus oxycedrus*. C'est une espèce qui se développe sur des pentes sèches, mais aussi sur les dunes. Elle apprécie les lieux arides, rocailleux, sur calcaire ou sur sols acides, où il est fréquemment associé au chêne vert et au chêne kermès (**Brus et al., 2011**).

1.3.2 En Algérie

Le genévrier couvre environ 290.000 hectares en Algérie. Il recule de plus en plus, dans l'Atlas Saharien et sur le versant sud du grand-Atlas sous l'action du climat désertique; mais surtout sous l'action anthropique (**Kerbouche**, **2010**).

Il s'étend sur une altitude de 0 à 1000 mètres (Franck, 2018).

Le *Juniperus oxycedrus* est couramment observé dans les montagnes de l'Atlas, notamment dans les chaînes de l'Atlas tellien et l'Atlas saharien. Le genévrier cade est également présent dans les régions côtières de l'Algérie, le long de la côte méditerranéenne. Des populations de *Juniperus oxycedrus* ont été trouvées dans des endroits comme Oran, Skikda, Annaba et Béjaïa (Quezel et Gast, 2017).



Figure 5. Répartition de Genévrier.

1.4 Utilisation de genévrier oxycèdre

En médicine traditionnelle, cette plante est utilisée dans le traitement de diverses maladies talque 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 analgésiquebuccal (Mazari, 2009).

Les baies (galbules) du genévrier oxycèdre sont fortement diurétiques, stimulantes et même vermifuges. L'oxycèdre doit sa principale importance au goudron liquide retiré de son bois qui est connu sous le nom d'huile de cade (Paul-Victor, 2010), qui est utilisée dans le traitement des maladies de peau (**More et White, 2005**).

Elle est employée dans le traitement des maladies pulmonaires et contre les douleurs dentaires et certaines maladies oculaires (Belliot, 2007),

Elle peut être appliquée pour traiter les maux d'estomac, les rétrécissements de l'utérus et ses douleurs, et contre les piqures d'insectes, elle cicatrise les palais, calme les douleurs dentaires, comme, elle est utilisée contre la bronchite et contre la diarrhée (**Ouis et Bakhtaoui, 2017**).

2 Les métabolites secondaires

Le métabolite secondaire des plantes, aussi appelé métabolisme spécialisé, fait référence à la synthèse et l'identification d'un ensemble de biomolécules de structures et de fonctions variées qui interviennent dans l'interaction des plantes avec leur environnement biotique et abiotique. Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Dont plus de 200.000 structures ont été définies (Hartmann, 2007) et sont produits en faible quantité.

2.1 Les différentes classes de métabolites secondaires

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine.

2.1.1 Les composés phénoliques

Ils sont caractérisés par la présence d'un groupe phénolique, qui est un noyau aromatique composé d'un ou plusieurs groupes hydroxyles (-OH) attachés à un cycle benzénique. La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples (acides phénoliques, flavonoïdes.) et les composés phénoliques complexes (tannins, lignines...).

2.1.1.1 Acides phénoliques

Les acides phénoliques se composent de 2 sous-groupes : les acides hydroxy benzoïques et hydroxy cinnamiques

2.1.1.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont le plus grand groupe de composés phénoliques, ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. Ils sont constitués de quinze atomes de carbone (C6-C3-C6), essentiellement, la structure se compose de deux cycles aromatiques A et B, reliés par un pont de trois carbones, le plus souvent sous forme d'un hétérocycle C.

Ils peuvent être regroupés en une douzaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central : flavone, flavanol, flavanol, anthocyane, aurone...

2.1.1.3 Tannins

Les tannins sont des composés poly phénoliques, solubles dans l'eau, dont les masses molaires se situent entre 500 et 3000 M. On distingue deux grands groupes :

- **a.** Tannins hydrolysables : Ce sont des Oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins.
- **b.** Tannins condensés ou tannins catechiques ou proanthocyanidols: ils se différent fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unité de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone

2.1.2. Les terpénoïdes

Le terme terpène inventé par Kekulé, vient de leur origine historique de l'arbre de térébinthe : «Pistacia Terebinthus» (Ayad, 2008). Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement synthétisés d'origine végétale ou par les plantes, organismes marins, champignons et même les animaux (Albert et al., 1996). (Malecky, 2005). L'exploitation de ces composés s'effectuait sous forme d'huiles extraites de plantes (huiles essentielles) par le moyen de la distillation (Malecky, 2005).

2.1.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés d'origine naturelle azotés basiques, composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote (**Schauenber Paris**, **2005**) à forte activités biologiques, toxiques pour la plupart, qui sont extrait en majorité de plante à fleurs (8,7% de Phanérogames, Dicotylédones). Ils peuvent être présents dans tous les organes (**Ziegler et Facchini**, **2008**). Leur teneur est très variable, généralement comprise entre 0.1% et 2 à 3 %

du poids sec de la drogue (Roux & Catier, 2007). Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre dans la plante, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins (Ziegler et Facchini, 2008).

3 Activités biologiques

3.1 Activité antioxydante

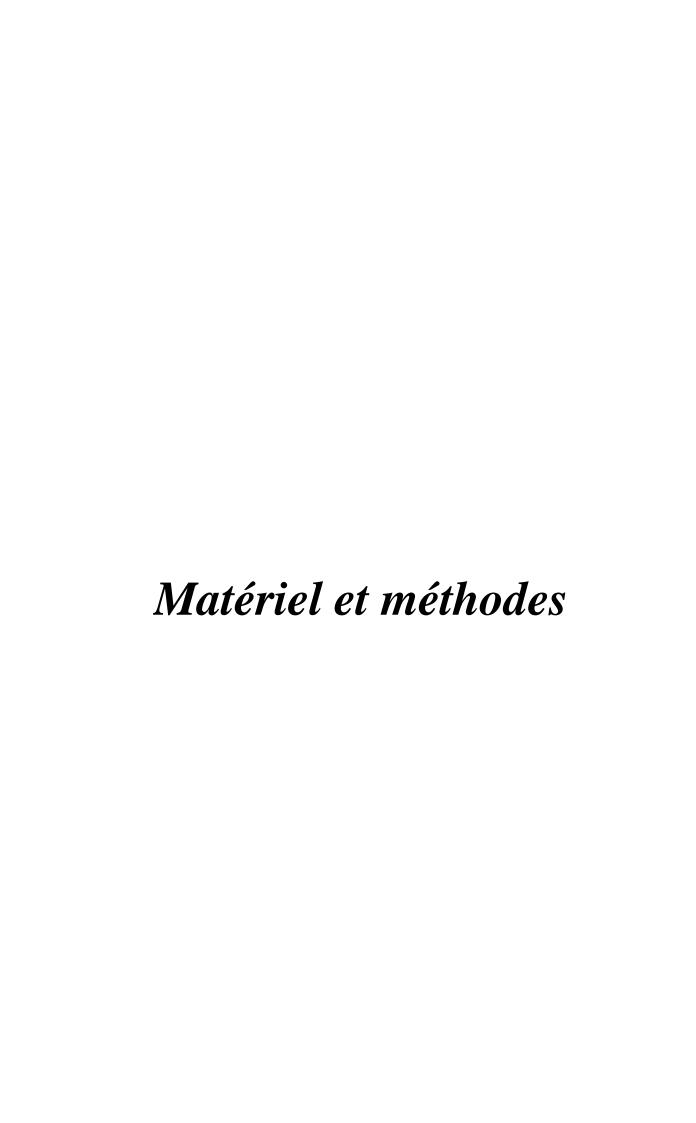
L'activité antioxydante fait référence à la capacité d'une substance à neutraliser ou à réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme. Les radicaux libres sont des molécules hautement réactives qui peuvent causer des dommages aux cellules, à l'ADN et aux membranes cellulaires, contribuant ainsi au vieillissement prématuré et à diverses maladies (Fontaine, 2007).

Les antioxydants sont des substances qui aident à neutraliser les radicaux libres en leur donnant un électron supplémentaire, les empêchant ainsi de causer des dommages aux cellules (**Rahman, 2007**). De nombreuses substances, y compris les composés phénoliques, ont des propriétés antioxydantes.

L'activité antioxydante peut être mesurée à l'aide de diverses méthodes de laboratoire, telles que l'analyse du pouvoir réducteur, le piégeage des radicaux libres, l'inhibition de la peroxydation lipidique, etc. Les résultats de ces tests permettent de comparer et de quantifier la capacité antioxydante d'une substance ou d'un extrait

3.2 Activité antimicrobienne

Les plantes restent la source la plus commune d'agents antimicrobiens. Leur utilisation comme remèdes traditionnels est la plus populaire pour 80 % de la population mondiale. En Asie, Amérique Latine et Afrique, plus de 35000 espèces de plantes sont utilisées à des fins médicinales. Les plantes synthétisent plus de 100 000 petites molécules dotées pour la plupart d'une activité antibiotique. En général, cette activité est inférieure à celle exercée par les antibiotiques d'origine microbienne.



1 Objectif

L'objectif de cette étude est la caractérisation phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits de la partie aérienne du *Juniperus oxycedrus*.

2 Matériel et méthodes

2.1 Matériel végétal

Le matériel végétal testé est composé de la partie aérienne de *Juniperus* oxycedrus à savoir, les feuilles, les rameaux et les galbules prélevés sur quatre différents sites: Babour, Boutaleb (Sétif), Medroussa (tiaret) et Hidoussa (Batna), le mois de novembre 2023.

2.2 Méthodes

2.2.1 Préparation des extraites

2.2.1.1 Séchage

Le séchage consiste à déshydrater le végétal, cette opération importante permet la conservation des principes actifs de la plante et sa protection contre toute dépréciation ou pourriture. Le but principal du séchage est d'éliminer la teneur en eau des plantes afin que les plantes afin que les plantes puissent être stockées. Le matériel végétal collecte a été mis dans un lieu aéré sur du papier cartonne a l'arbi du soleil et température ambiante relativement compris entre 20 à 35° C, avec un étiquetage.

2.2.1.2 Broyage

Apres séchage complet de l'humidité et détachement des feuilles des rameaux les échantillons de plantes sont réduites séparément en poudre pour une analyse ultérieur à l'aide d'un broyeur électrique pour les branches et les galbules et d'un moulin à café pour les feuilles, jusqu'à l'obtention de poudre fine et homogène. La poudre est conservée ensuite dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation pour éviter la photo-oxydation des substances actives. Le broyage augmente l'efficacité de l'extraction en raison de l'augmentation de la surface des plantes.

2.2.1.3 Extraction

a. Macération

La macération (procédé d'extraction solide- liquide) est un processus de contact entre la poudre de matière première végétale et le solvant d'extraction, c'est une extraction qui se fait à température ambiante.

Nous avons réalisé la macération avec deux types de solvant, éthanol à 70% (organique) et eau distillée (aqueux), avec un rapport de 1g de poudre pour 10 ml de solvant. Une masse de 50 g de poudres des échantillons végétaux sont placées dans un ballon à fond rond, puis 500 ml de solvant sont ajoutés pour couvrir complètement les échantillons. On couvre le ballon avec du papier aluminium et on le met sur l'agitateur. L'agitateur est utilisé pour mélanger la solution d'extraction et les échantillons végétaux. L'agitation permet d'accélérer la diffusion des composés bioactifs dans le solvant. Une fois les échantillons agités, la solution est laissée en contact avec les matériaux végétaux pendant 24 heures à température ambiante.

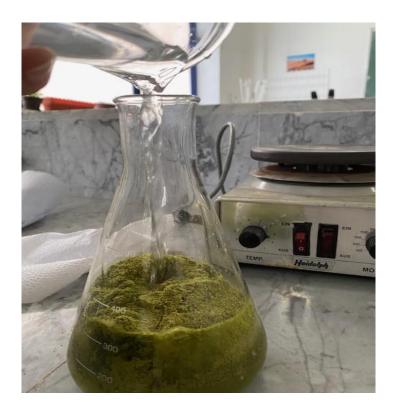


Figure 6. L'étape de préparation de solide liquide

b. Filtration

Après la macération, la solution est filtrée à l'aide d'un papier filtre Wathman pour éliminer les particules végétales insolubles. Une fois filtrée, la solution d'extraction est transférée dans un ballon à fond rond de l'évaporateur rotatif. L'évaporateur rotatif est équipé d'un flacon de récupération qui recueille les composés volatils évaporés. L'évaporateur rotatif utilise une combinaison de chaleur et de rotation pour évaporer le solvant de la solution, concentrant ainsi les composés d'intérêt. Après une évaporation complète du solvant, on récupère les composés extraits sous forme solide ou semi-solide et on les conserve dans un récipient opale.

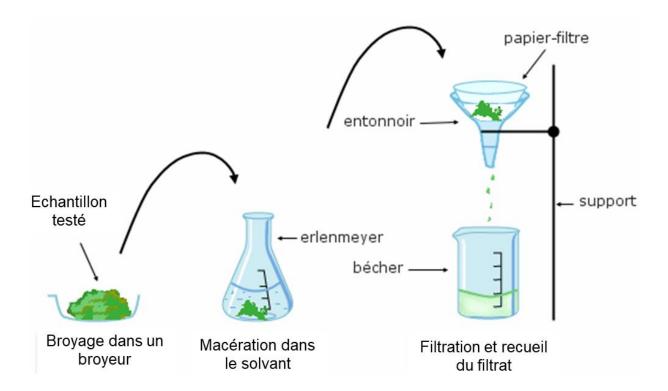


Figure 6. Etapes de préparation des extraits de *Juniperus oxycedrus*.

2.2.2 Détermination de rendement

Le rendement en extrait est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait et la masse de matériel végétal broyé à traiter, il calculé selon la formule suivante :

$$R\% = (m2/m1)*100$$

R: rendement d'extraction en pourcentage.

m1 : masse de l'extrait après évaporation du solvant en gramme.

m2: masse de poudre végétale traitée en gramme.

2.3 Caractérisation phytochimique

Afin de caractériser les extraits de *Juniperus oxcycedrus* , des analyses quantitatives ont été réalisées dans le but d'évaluer leurs propriétés et compositions.

2.3.1 Dosage des polyphénols totaux

a. Principe

Le réactif de folin-Ciocalteau est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique $(H_3PW_{12}O_{40})$ et d'acide phosphomolybdique $(H_3PMO_{12}O_{40})$ qui est réduit lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}) . La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (laraba, 2016)

b. Mode opératoire

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-ciocalteu (**Singleton et al, 1999**). Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

Pour obtenu la solution mère de chaque extrait (feuille et rameaux), on dissolve 2 mg de poudre dans 1 ml de solvant, chaque solvant a son propre soluté, les extraits aqueux se dissolvent dans l'eau distillée et les extraits éthanolique se dissolvent dans l'éthanol dilué à

10%. Dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 200 μl de chaque extrait a été ajouté, avec un mélange de 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois. Les tubes sont incubés pendant 5 mn à température ambiante et à l'abri de la lumière. Puis on ajoute à chaque tube 800 μl d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. Les tubes sont agités et conservés pendant 30 min. L'absorbance est lue à 765 nm.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0 à 1000 µg/ml).

Les résultats sont exprimés en µg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait.

2.3.2 Dosage des Flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (**Lagnika**, **2005**).

a. Mode opératoire

Dans un tube à hémolyse en verre, 1 ml d'extrait a été ajouté à 1 ml d'AlCl3 à 2 % méthanol. La solution est mélangée vigoureusement à l'aide d'un vortex, puis incubée pendant 15 mn à l'obscurité. L'absorbance est lue immédiatement à 430 nm contre le blanc. Une solution méthanolique de quercétine a été préparée. Des solutions filles préparées à partir de la solution mère à différentes concentrations comprises entre 0 et 1000 µg/ml, permettront de tracer la courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en µg équivalent quercétine par mg d'extrait.

2.3.3 Dosage des Tanins

a. Mode opératoire

Nous avons adopté la méthode à la vanilline avec l'HCl. Cette méthode dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal. La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode de vanilline décrite par (**Julkunen-Titto, 1985**).

Un volume de 50 µl de chaque extrait a été ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthano à 4 %, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc.

Différentes concentrations comprises entre 0 et 1000 µg/ml préparées à partir d'une solution mère de la catéchine, permettront de tracer la courbe d'étalonnage.

2.3.4 Activité antioxydante

L'activité antioxydante est évaluée à l'aide de la méthode DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle) en mesurant les variations d'absorbance à une longueur d'onde de 517 nm.

Le test DPPH° permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. Le DPPH°, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle.

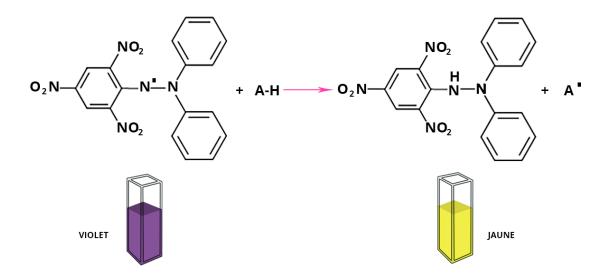


Figure 7. Forme libre et réduit de DPPH

a. Mode opératoire

Préparation de la solution de DPPH: On prépare une solution de DPPH, en dissolvant 2mg de DPPH dans 100 ml de méthanol et on les laisse sous agitation pendant 15 mn, puis on filtre la solution et on la conserve dans un flacon opale.

Préparation des échantillons : On prépare une solution mère des extraits de chaque échantillon de plante testée. A partir de ces solutions mères, on prépare au moins quatre dilutions dans des solvants appropriés.

Matériel et méthodes

Mélange des échantillons et de la solution de DPPH : On ajoute un volume de 1000 μl de solution DPPH à 200 μl de chaque échantillon dans des tubes eppendorf. On prépare trois répétitions pour chaque échantillon.

Incubation : les tubes eppendorf sont incubés dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 mn.

Mesure de l'absorbance : Après l'incubation, l'absorbance de chaque échantillon est mesurée à une longueur d'onde de 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc (contrôle) contenant uniquement le DPPH sans échantillon.

Calcul de l'activité antioxydante : Pour évaluer l'activité antioxydante, comparez l'absorbance des échantillons avec celle du contrôle. Plus l'absorbance est faible, plus l'activité antioxydante est élevée, car cela indique une plus grande capacité des échantillons à neutraliser le radical libre DPPH.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé par :

$$I\% = ((Ac-At)/Ac)*100$$

Ac: absorbance du contrôle négatif (blanc).

At : absorbance de l'extrait testé

Résultats et discussions

1 Rendement en extraits

Le rendement a été déterminé par rapport aux 50 g du broyat de chaque partie de la plante étudiée, les résultats ont été exprimés en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse végétale sèche. Les rendements des différents extraits de juniperus oxcycedrus sont renseignés sur le tableau ci-dessous. Le rendement le plus élevé est celui de l'extrait aqueux des Feuille du site de prélèvement de Frenda (20,35%), tandis que la valeur la plus faible a été observée chez l'extrait éthanolique des rameaux provenant de Batna (4,9%), et le rendement des galbules la plus élevés était l'extrait a l'éthanol de Batna avec (12,25%), et la valeur le plus faible des galbules était à l'extrait aqueux de Stif (8,9%).

Tableau 1. Rendements des différents extraits (en pourcentage)

Region	Extrait Aqueux (%)	Extrait Ethanolique (%)
Feuille Babour	16	13.72
Feuille Medroussa	20,35	15.16
Feuille Hidoussa	15.8	7.14
Feuille Boutaleb	12.8	10.9
Rameaux Babour	5.8	13.72
Rameaux Medroussa	19.52	17.2
Rameaux Hidoussa	7,4	4,9
Rameaux Bouttalb	15.8	14.1
Galbule Hidoussa	6.23	12.25
Galbule Medroussa	8.9	9.0

Les résultats obtenus montrent des écarts importants entre les extraits aqueux qui enregistrent les plus hauts rendements et les extraits éthanolique qui indiquent des faibles rendements, sauf les rendements de rameaux de Babour et Hidoussa (extrait aqueux) et les galbules de Hidoussa et Midoussa (extrait aqueux).

Les rendements diffèrent suivant la partie de la plante testée. Les écarts de rendements sont frappants entre les feuilles et les rameaux, les meilleurs rendements sont mentionnés par les rameaux pour les deux sites et pour les deux solvants.

Toutefois, il est difficile de comparer strictement nos résultats avec ceux réalisés par d'autres études, car le rendement n'est que relatif. Il dépond de l'espèce végétal étudiée, de

l'origine géographique, de la période de prélèvement du matériel végétal, de la partie de la plante prélevée, des conditions de séchage, du contenu de chaque espèce en métabolites secondaires, de la nature du solvant utilisé dans l'extraction et de la méthode d'extraction (Svoboda et Hampson, 1999 ; Smallfield, 2001 ; Mokhtari, 2021).

2 Analyse phytochimique

2.1 La teneur en polyphénol totaux

Les méthodes colorimétriques basées sur l'utilisation du spectrophotomètre VUvisible, ont été utilisé pour l'évaluation de la quantité des composés phénoliques dans la matière végétale. La macération et le solvant utilisé sont les principaux critères à prendre en considération pour une extraction rentable (**Turkmène et al., 2007**).

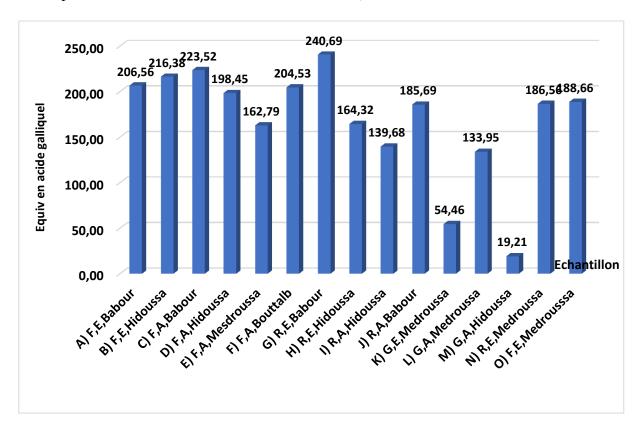


Figure 8. Teneur en polyphénols des différents extraits testés.

Les analyses quantitatives des phénols totaux, ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard (Figure 2). Les valeurs obtenues sont exprimées en µg EAG/mg d'extrait (**Figure 8**).

Les teneurs en polyphénols totaux des différentes fractions varient entre (19,21 et 240,69 µg EAG/ mg). La concentration la plus élevée des phénols a été mesurée au niveau de l'extrait éthanolique des rameaux provenant du Babour alors que la teneur la plus faible pour les galbules d'extrait aqueux de Hidoussa.

En outre les extraits éthanolique des rameaux renferment plus de polyphénols que les extraits aqueux, alors que cette règle est inversée pour les feuilles où on a constaté une teneur en polyphénols plus importantes pour les extraits aqueux.

Tandis que la plus basse concentration des polyphénols a été mesurée dans l'extrait aqueux des galbules collectées à Hidoussa (19,21 µg Equ/mg ES). Nous avons constaté que les concentrations en polyphénols dépendent de la partie testée de la plante, généralement les rameaux renferment les concentrations les plus importantes suivies par les feuilles, par contre les galbules ne renferment que quelques petites quantités.

De même, les teneurs en polyphénols sont influencées par les conditions écologiques de développement de la plante testée. Pour le cas des feuilles, les meilleures teneurs ont été observées chez les genévriers de Babour (223,53 μ g/mg) suivi de celles de Hidoussa (216,38 μ g/mg) alors que les teneurs les plus faibles ont été présentes au niveau des échantillons de Medroussa (162,79 μ g/mg). Par contre, pour le cas des rameaux, les valeurs les plus élevées ont été remarquées dans les extraits de Babour (Sétif)(240,69 μ g/mg), et les plus faibles dans les extraits de Hidoussa (139,67 μ g/mg)

Les résultats obtenus lors du drossage des polyphénols montrent que cette teneur est plus élevée que les teneurs trouvées par Rabah en 2021 sur les extraits éthanoliques des rameaux, des feuilles et des galbules de *Juniperus oxcycedrus* de la région de Tissemsilt.

2.2 Teneur en flavonoïde

Les taux des flavonoïdes des extraits ont été calculés à partir de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant la quercétine comme standard. Ils sont exprimés en termes de µg EQ/ mg d'extrait (**Figure 9**).

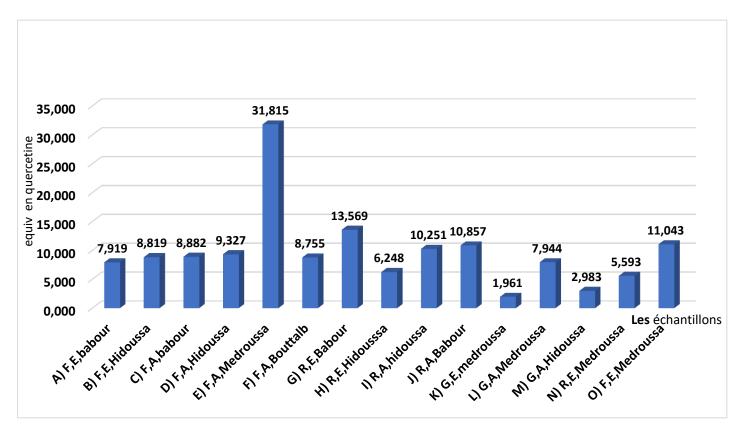


Figure 9. Teneur en flavonoïdes des différents extraits de Juniperus oxycèdrus.

Les résultats présentés dans le graphique (fig) montrent que les teneurs en flavonoïdes totaux varient entre les différents extraits. L'extrait aqueux des feuilles échantillonnées de la région de Medroussa enregistre un maximum de flavonoïdes (31,81 µg Equ/mg ES), suivi par l'extrait éthanolique des rameaux collectés à (Babour) Setif qui renferme des teneurs plus faibles (13,57 µg Equ/mg ES). Tandis que la plus basse concentration des flavonoïdes a été mesurée dans l'extrait éthanolique des galbules collectées à Medroussa (1,96 µg Equ/mg ES).

D'après ces résultats, on déduit que le contenu phénolique dans les extraits examinés, dépend de la polarité du solvant utilisé à la préparation des extraits. Ces constations ont été déjà signalées par Ali-Rachedi, et al ; en 2018.

Comme, elle dépend de la partie testée de la plante, généralement les rameaux renferment les concentrations les plus importantes suivies par les feuilles, par contre les

galbules ne renferment que quelques petites quantités. De même, les teneurs en flavonoïdes sont influencées par les conditions écologiques de développement de la plante testée. Pour le cas des feuilles, les meilleures teneurs ont été observées chez les genévriers de Medroussa suivi de celles de Batna, alors que les teneurs les plus faibles ont été présentes au niveau des échantillons de Boutaleb et Babour (Sétif). Par contre, pour le cas des rameaux, les valeurs les plus élevées ont été remarquées dans les extraits de Babour (Sétif), et les plus faibles dans les extraits de Medroussa.

2.3 Teneurs en Tanins

La teneur en tanins a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant la catéchine comme standard. Les résultats ont été déterminés à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, et sont exprimés en Equ µg/mg ES (Figure 10).

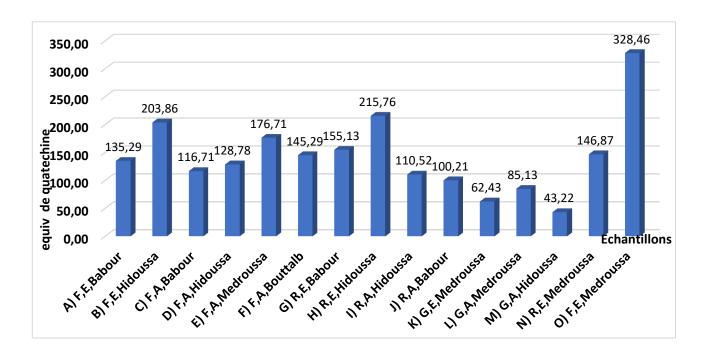


Figure 10. Teneurs en tanins des différents extraits de juniperus oxcycedrus

Les résultats présentés sur la figure 10 montrent que les teneurs en tanins varient considérablement entre les différents extraits, elles oscillent entre 328,46 Equ µg/mg ES (extrait éthanolique des feuilles de Medroussa) et 43,22 Equ µg/mg ES (extrait aqueux des galbules de Hidoussa). Le dosage révèle aussi que la fraction éthanolique renferme les plus importantes teneurs en tanins condensés. En revanche, les fractions aqueuses ont enregistré les teneurs les plus faibles à l'exception des galbules de Hidoussa.

Cette variation peut s'expliquer par le fait que l'extraction des tanins condensés, dépend de leur nature chimique, du solvant utilisé et des conditions opératoires (**Deba et al ;** 2008).

De même, les teneurs en tanins dépendent des sites de prélèvements du matériel végétal testé. Les parties aériennes collectées de la région de Medroussa ont exprimé les teneurs les plus élevées en tanins, en comparaison avec celles de Hidoussa.

Les différences de teneur en tanins entre les régions étudiées peuvent être influencées par divers facteurs tels que les conditions climatiques, la composition chimique du sol et les variations génétiques entre les plantes de *Juniperus oxcycedrus* cultivées dans chaque région. Ces données suggèrent également qu'une attention particulière doit être accordée à la sélection de la région de récolte pour la production de *Juniperus oxcycedrus* riche en tanins.

La présence des tanins suggère la capacité de notre plante à jouer un rôle majeur en tant qu'agent antimicrobien et antioxydant (**Tepe et al ; 2006**).

3 Activité Antioxydante

3.1 Détermination de la quantité d'IC50 inhibiteur des radicaux libre DPPH

Pour estimer l'activité antioxydante des extraits préparés, on s'est basé sur le test DPPH, qu'il est la plus largement utilisée pour cette but, dont les pourcentages d'inhibition de radicale libre ont été déterminés à partir de la loi de Al-Nadaf et al (2018), L'activité antioxydante de nos extraits est exprimée en IC50; cette dernière est une valeur qui exprime la concentration de l'extrait nécessaire pour diminuer l'absorbance du DPPH de 50 % (inhibition de DPPH à 50%). L'IC50 est déterminée graphiquement à partir des droits représentent les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations croissantes de l'extrait.

En utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour les extraits éthanoliques et aqueux. L'IC50 est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé.

Les résultats obtenus lors du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont enregistrés dans les le tableau ci-dessous

Tableau 4. Les IC50 des différents extraits testés.

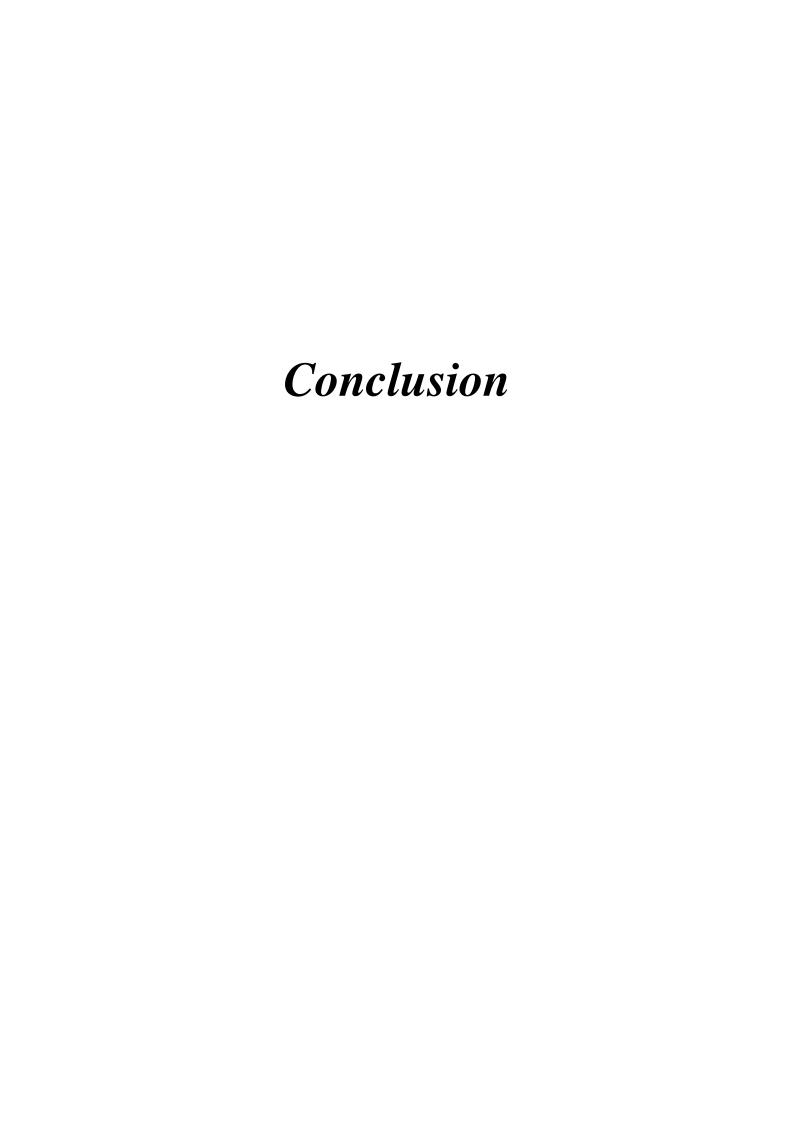
Echantillon	IC 50 (μg/mg)
F, E, Babour	0,374
F, E, Hidoussa	0,185
F, A, Babour	0,300
F, A, Hidoussa	0,213
F, A, Medroussa	0,874
F, A, Bouttaleb	0,545
R, E, Babour	0,167
R, E, Hidoussa	0,257
R, A, Hidoussa	0,729
R, A, Babour	0,863
G, E, Medroussa	0,863
G, A, Medroussa	0,950
G, A, Hidoussa	0,886
R, E, Medroussa	0,244
F, E, Medroussa	0,168

L'IC50 la plus basse a été obtenue avec l'extrait éthanolique des rameaux de Babour avec une valeur de 0. $0.167\mu g/ml$, suivie par l'extrait éthanolique des deulles de Hidoussa avec 0.185. En revanche, les IC50 les plus élevées ont été signalées dans les extraits aqueux des galbules et de feuilles de Medroussa avec 0.950 et 0.874 $\mu g/ml$ respectivement.

Les moyennes des IC50 de différentes parties de la plante testées varient considérablement d'un organe à un autre. Les feuilles manifestent un effet antiradicalaire puissant avec une IC50 de 0,37, par contre l'effet antioxydant est très bas dans les extraits de galbules (0,90), alors que mes extraits de rameaux indiquent une IC50 de 0,45.

D'après la provenance, le calcul de la moyenne des IC50 de chaque site de prélèvement révèle que les écarts entre les plantes examinées sont très réduits voire nuls.

La moyenne des IC50 la plus faible a été mentionnée par les extraits de Hidoussa (0,346). La plus grande IC50 a été enregistrée par les extraits de Boutaleb, alors que les extraits des deux autres sites indiquent une IC50 de 0,42.



Le travail que nous avons entrepris a pour objectif principal la valorisation d'une plante spontanée très répondue en Algérie et largement utilisées dans la médecine traditionnelle, le genévrier oxycèdre (*Juniperus oxycèdrus*), à travers une caractérisation phytochimique et une évaluation de l'activité antioxydante.

Nous avons déterminé quantitativement, dans un premier temps, les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins renfermées aux niveaux des différentes parties aériennes de la plante de *Juniperus oxycèdrus*, à savoir : feuilles, rameaux et galbules collectées sur quatre sites du territoire algérien, via des extraits éthanoliques et aqueux.

Ensuite, nous nous sommes intéressées à l'évaluation de l'activité antioxydante in vitro avec la méthode de DPPH de ces différents extraits.

Le dosage des trois métabolites secondaires à savoir, les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins au niveau du matériel végétal testé, nous a permis de constater la richesse de cette plante en ces trois métabolites secondaires. Les teneurs en ces métabolites varient considérablement entre les différents extraits. Elles dépendent du type de solvant, de la partie de la plante testée. Comme, elles sont influencées par les conditions écologiques de développement de la plante testée, c'est-à-dire dépendante aussi du site de prélevement.

En général, les rameaux renferment les concentrations les plus importantes en polyphénols totaux, suivies par les feuilles, par contre les galbules ne renferment que quelques petites quantités. De même la moyenne des polyphénols est plus élevée aux niveaux des extraits éthanolique (200,13) qu'au niveau des extraits aqueux (183,39).

Sur les 15 extraits préparés, la moyenne des teneurs en flavonoïdes montre la richesse des extraits aqueux (11,70) pour ce produit par rapport aux extraits éthanolique (7,87).

Les teneurs en tanins flottent entre 328,46 Equ µg/mg ES (extrait éthanolique des feuilles de Medroussa) et 43,22 Equ µg/mg ES (extrait aqueux des galbules de Hidoussa). Le dosage révèle aussi que la fraction éthanolique renferme les plus importantes teneurs en tanins condensés. De même, les teneurs en tanins dépendent des sites de prélèvements du matériel végétal testé.

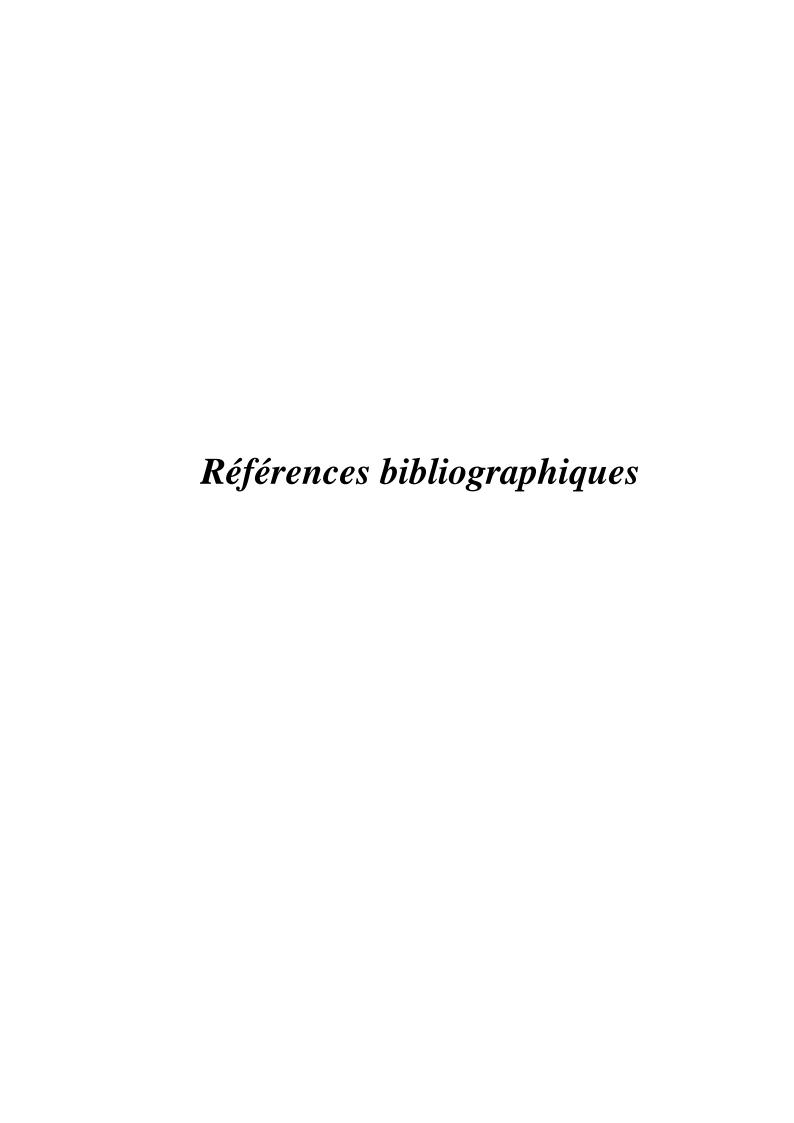
L'évaluation de l'activité antioxydante révèle que les moyennes des IC50 des différentes parties de la plante testées varient considérablement d'un organe à un autre. Les feuilles manifestent un effet antiradicalaire puissant avec une IC50 de 0,37. Les extraits

Conclusion

éthanoliques renferment un effet antioxydant considérable (0,32) par rapport à celui des extraits aqueux (0,72). La provenance du matériel végétal examiné n'influence pas tellement sur l'activité antioxydante des différents extraits.

En perspectives, il serait intéressant:

- De choisir et d'élargir les sites de prélèvement selon des critères écologiques ;
- Tester les différents stades des différentes parties de la plantes ;
- tester d'autres solvants pour la préparation des extraits ;
- D'isoler et de déterminer les molécules contenues dans les différentes fractions ;
- De tester ces molécules purifiées sur des modèles biologiques, in vivo, afin de concrétiser leur usage thérapeutique et/ou industriel ;
- D'étudier la cytotoxicité de ces molécules et de déterminer les doses d'administrations thérapeutiques optimales ;
- D'étudier la corrélation et la synergie entre les substances bioactives impliquées dans les différentes activités biologiques et prospecter le rôle possible que peuvent prendre des composés non-phénoliques dans ces activités



- 1. Karaman, I., Şahin, F., Güllüce, M., Öğütçü, H., Şengül, M., & Adıgüzel, A. (2003). Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of Juniperus oxycedrus L. *Journal of ethnopharmacology*, 85(2-3), 231-235.
- 2. **Djaber, S., & Madani, I.** (2020). Etude bibliographique sur la phytochimie et les vertus thérapeutiques du *Juniperus oxycedrus* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).
- 3. **Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., & Mesbah, S. 2018.** Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne Scabiosa Atropurpurea sub. Maritima L. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Volume 87. p. 13 -21
- 4. Laneri, N., Schwartz, M., Ur, J., Valentini, S., D&aposAGOSTINO, A., Berthon, R., & Halde, M. M. (2008). The Hirbemerdon Tepe Archaeological Project 2006-2007: A Preliminary Report on the Middle Bronze Age &aposArchitectural Complex&apos and the Survey of the Site Catchment Area. *Anatolica*, 34, 177-239.
- 5. Laneri, N., Schwartz, M., Ur, J., Valentini, S., D&aposAGOSTINO, A., Berthon, R., & Halde, M. M. (2008). The Hirbemerdon Tepe Archaeological Project 2006-2007: A Preliminary Report on the Middle Bronze Age &aposArchitectural Complex&apos and the Survey of the Site Catchment Area. *Anatolica*, 34, 177-239.
- 6. **ADOUANE, S. (2016).** *Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider-Biskra).
- 7. Paul-Victor, C., Züst, T., Rees, M., Kliebenstein, D. J., & Turnbull, L. A. (2010). A new method for measuring relative growth rate can uncover the costs of defensive compounds in Arabidopsis thaliana. *New Phytologist*, 187(4), 1102-1111.
- 8. Karp, D. S., Chaplin-Kramer, R., Meehan, T. D., Martin, E. A., DeClerck, F., Grab, H., ... & Wickens, J. B. (2018). Crop pests and predators exhibit inconsistent responses to surrounding landscape composition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(33), E7863-E7870.
- 9. **Foudi, S., & Laaredj, M.** (2017). *L'effet du stress salin et hydrique sur une halophyte" Atriplex halimus L."* (Doctoral dissertation, université ibn khaldoun-tiaret).
- 10. Espinosa, A. C., Arias, C. F., Sánchez-Colón, S., & Mazari-Hiriart, M. (2009). Comparative study of enteric viruses, coliphages and indicator bacteria for evaluating water quality in a tropical high-altitude system. *Environmental Health*, 8(1), 1-10.
- 11. **Alper, B. S., White, D. S., & Ge, B.** (2005). Physicians answer more clinical questions and change clinical decisions more often with synthesized evidence: a randomized trial in primary care. *The Annals of Family Medicine*, 3(6), 507-513.
- 12. Belliot, G., Kamel, A. H., Estienney, M., Ambert-Balay, K., & Pothier, P. (2010). Evidence of emergence of new GGII. 4 norovirus variants from gastroenteritis outbreak survey in France during the 2007-to-2008 and 2008-to-2009 winter seasons. *Journal of clinical microbiology*, 48(3), 994-998.
- 13. MAÏS, C. C. U. C. A. (2017). L'étude phytothérapie des plantes médicinales dans la région Relizane.
- 14. **Hartmann, F.** (2007). *Paix et châtiment*. Flammarion.

- 15. Ayad, M. F., Fahmy, N. Z., & Rosenstiel, S. F. (2008). Effect of surface treatment on roughness and bond strength of a heat-pressed ceramic. *The Journal of prosthetic dentistry*, 99(2), 123-130.
- 16. **Albert, D. Z. (1996).** Elementary quantum metaphysics. In *Bohmian mechanics and quantum theory: An appraisal* (pp. 277-284). Dordrecht: Springer Netherlands.
- 17. **Demaray, M. K., Malecki, C. K., Davidson, L. M., Hodgson, K. K., & Rebus, P. J.** (2005). The relationship between social support and student adjustment: A longitudinal analysis. *Psychology in the Schools*, 42(7), 691-706.
- 18. Ziegler, J., & Facchini, P. J. (2008). Alkaloid biosynthesis: metabolism and trafficking. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 735-769.
- 19. **Ouitas, L., Karfa, A., & Sifour, M. E. (2010).** *Activité antibactérienne, antioxydante et cicatrisante d'Achillea odorata et de Carduncellus sp* (Doctoral dissertation, Université de jijel).
- 20. Fontaine, R., Gramain, A., & Wittwer, J. (2007). Les configurations d'aide familiales mobilisées autour des personnes âgées dépendantes en Europe. *Economie et Statistique/Economics and Statistics*, 403, 97-116.
- 21. Hantash, B. M., Bedi, V. P., Kapadia, B., Rahman, Z., Jiang, K., Tanner, H., ... & Zachary, C. B. (2007). In vivo histological evaluation of a novel ablative fractional resurfacing device. Lasers in Surgery and Medicine: The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery, 39(2), 96-107.
- 22. **Mohamed, F. A. N., & Laraba-Djebari, F.** (2016). Development and characterization of a new carrier for vaccine delivery based on calcium-alginate nanoparticles: Safe immunoprotective approach against scorpion envenoming. *Vaccine*, *34*(24), 2692-2699.
- 23. **Singleton, G. R., Leirs, H., Hinds, L. A., & Zhang, Z.** (1999). Ecologically-based management of rodent pests—re-evaluating our approach to an old problem. *Ecologically-based Management of Rodent Pests. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), Canberra*, 31, 17-29.
- 24. **Lagnika**, **L.** (2005). Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. *France/Bénin: Université Louis Pasteur Starsbourg/Université d'Abomey Calavi*, 280.
- 25. **Julkunen-Titto, R.** (1985). Phenolic constituents in the levels of northern willows: methods for precursors of clarified apple juice sediment. *J. food sci*, *33*, 254-257.
- 26. Slimani, C., Sqalli, H., Chaimae, R. A. I. S., Farah, A., Lazraq, A., El Ghadraoui, L., ... & Echchgadda, G. (2022). Chemical composition and evaluation of biological effects of essential oil and aqueous extract of Lavandula angustifolia L. *Notulae Scientia Biologicae*, *14*(1), 11172-11172.
- 27. **Deba, F., Dang Xuan, T., Yasuda, M., Tawata, S. 2008.** "Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from Bidens pilosa Linn. var. Radiata" Food Control, Vol. (19), page: 346.

- 28. **Lagnika**, **L. 2005**." *Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises*" Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg, page :249.
- 29. **Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, HA., Sokmen. A. 2006.** "Screening of the antioxidant potentials of six Salvia species from Turkey" Food Chem., Vol. (95), page: 200
- 30. **KERBOUCHE**, **L.** (2010). Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de quelques plantes des familles de labiacées et de cupressacées (Doctoral dissertation, INA).
- 31.
 - **Albert Y Leung, Steven Foster. 1996.** Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used In Foods, Drugs, And Cosmetics, 2ème edition, Awrleyinterscience publication; P 445.
- 32. Brus R., Ballian D., Zhelev P., Pandz M., Bobinac M., Acevski J., Raftoyannis Y. And Jarni K. 2011. Absence of geographical structure of morphological variation in Juniperus oxycedrus L. Subsp. Oxycedrus. European Journal of Forest Research. 130 (4): 657-67
- 33. Chaouche T.M., Haddouchi F., Ksouri R., Medini F. and Atik-Bekara F. 2013. In vitro evaluation of antioxidant activity of the hydro-methanolic extracts of *Juniperus oxycedrus* subsp. oxycedrus. Phytothérapie. 11: 244–249.
- 34. **Fontaine E. 2007.** Radicaux libres ; in : « Traité De Nutrition Artificielle De L'adulte ». Springer-Verlag France. p 251 257.
- 35. **Hartmann Thomas. 2007.** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. Phytochemistry Volume 68, Issues 22–24, pp :2831–2846.
- 36. **Malecky M., 2005.** Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, AgroParisTech. p 9, 13-19, 20, 27.
- 37. **Schauenberg P., Parais F. 2005.** Guide des plantes médicinales. Analyse, description et utilisation de 400 plantes. 2éme édition. Ed. Delachaux et Niestlé, Neuchâtel. Suisse. 396 p.
- 38. **Rahman K. 2007.** Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. Clinical Interventions in Aging, 2(2), 219-236.
- 39. **Riou-Nivert, P., 2001**. Les résineux, connaissance et reconnaissance, tome I, 2éme édition, 256p

- 40. **Deba, F., Xuan, T. D., Yasuda, M., & Tawata, S. (2008).** Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from Bidens pilosa Linn. var. Radiata. *Food control*, 19(4), 346-352.
- 41. Preminger, G. M., Tiselius, H. G., Assimos, D. G., Alken, P., Buck, C., Gallucci, M., ... & Wolf, J. S. (2007). 2007 guideline for the management of ureteral calculi. *The Journal of urology*, 178(6), 2418-2434.
- 42. Laneri, N., Schwartz, M., Ur, J., Valentini, S., D&aposAGOSTINO, A., Berthon, R., & Halde, M. M. (2008). The Hirbemerdon Tepe Archaeological Project 2006-2007: A Preliminary Report on the Middle Bronze Age &aposArchitectural Complex&apos and the Survey of the Site Catchment Area. *Anatolica*, 34, 177-239.
- 43. Boufersaoui, A., Smati, L., Benhalla, K. N., Boukari, R., Smail, S., Anik, K., ... & Baghriche, M. (2013). Foreign body aspiration in children: experience from 2624 patients. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 77(10), 1683-1688.
- 44. **Aimene,Z** .,**Chehbel.A.,Medhaoui.B.(2018).**Evaualtion de l'activite antimcrobienne du genvrier Juniperus oxcycedrus
- 45. **Riou-Nivert, P.** (**Ed.**). (2001). *Le mélèze*. CNPF-IDF.