

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2023

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté par :

HARMOUN Sirine & MANSRI Tounsia

Thème

Évaluation des activités biologiques des extraits de *Juniperus oxycedrus* de deux régions d'Algérie.

Soutenu le : 26/06/2024

Devant le jury composé de :

<i>M. LEKBAL</i>	<i>Farouk</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>M. TIGHILET</i>	<i>Karim</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Encadrant</i>
<i>Mme MAMERI</i>	<i>Amal</i>	<i>MAB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciements

(وَأَخْتَرُوا عَزَّ وَجَلَّ أَنْ يُرِيحَهُمُ اللَّهُ رَبُّ الْعَالَمِينَ)

فَأُكْمِلُوا لَكُمْ حَقَّكُمْ بِإِذْنِ اللَّهِ تَعَالَى الَّذِي هُوَ أَعْلَمُ بِمَا تُعْمَلُونَ. ومنحنا الصحة والعافية لإتمام هذا العمل المتواضع. الحمد لله الذي يسر البدايات وأكمل النهايات، وبلغنا الغايات.

*C'est avec une immense gratitude que nous tenons à remercier notre encadrant de recherche, **Monsieur Karim Tighilet**, pour ses efforts considérables, ses conseils éclairés, sa patience, sa compréhension et son encouragement constant et le temps précieux qu'il nous a accordé. Sans sa direction avisée et sa vaste expérience académique, ce travail n'aurait jamais pu aboutir. Nous tenons également à le remercier pour la confiance qu'il nous a accordée. Nous nous estimons très chanceux d'avoir un superviseur aussi compétent pour nous guider et nous aider à mener à bien notre recherche.*

Merci pour contribué à rendre la recherche académique plus agréable et stimulante.

Remerciements sincères aux membres du jury : Mme Mameri et Mr Lekbal.

Nous sommes honorés d'avoir pu présenter notre travail devant un jury aussi compétent et dévoué.

Nous tenons à adresser nos sincères remerciements à Mme Mameri, Mme Benzitoun et M. Hamza pour leurs conseils avisés et leur disponibilité constante tout au long de la réalisation de ce modeste travail.

Nous tenons également à exprimer notre profonde gratitude à toute l'équipe du laboratoire, ainsi que à tous les enseignants et collaborateurs qui, par leurs remarques, leurs conseils éclairés et leurs critiques constructives, ont permis d'enrichir et d'orienter nos recherches. Nous sommes particulièrement attentifs à ceux qui nous ont accordé de leur précieux temps pour des discussions et des interactions bénéfiques.

Dédicaces

With much love and sincere gratitude, I dedicate this work to:

The girl who sacrificed the most, the one that has overcome obstacles in her path to reach where she is now, to me. Without your ambition and will to succeed you would not be here today.

My parents: words can't express my deep gratitude for all what you've done for me Thank you for your prayers that kept me safe through my journey, your unconditional love and your never-ending support

My beloved brothers, my solid source of courage and especially my second father my hero of all time, to the person who was there for me at all cost, Ramdan I would never be the person I am today without your love and support.

The most loving sisters in the world Houda and khadidja thank u for being the inspiration I need, and I would never forget my cousin and sister the best tata in the world Linda Thank you for all your efforts.

The cousins of heart my besties of all time, Razika & Sofie I would never forget your encouragement and your efforts to push me through my hard times I love you.

My favourite gang ,the trio of fun and love , the unique people and the best part of university Thank you for making my days at university a special unforgettable memories To whome I spent my days at university laughing lina khti ,serine and lety Thank you .

The two who helped us getting the plant which was the most crucial part of this work, Akrem and Saleh who has surprised me with their kindness and sincere willingness to help Thank you

The group that made working on academic tasks more fun and interesting: the very kind nassim, souhaib, mimou, mehdi, yassin ,moumen, sidou, Mahdi,Alaa thanks from the bottom of my heart you're the best

And finally thanks to everyone who has been kind to me throughout my academic journey

Bouba.

Dédicaces

I started it with ambition and finished it with success. True, it wasn't easy, but thank God I did it, so praise God in the beginning and in the end.

I dedicate my graduation

to the one whose name I bear with pride, to the one who taught me that the world is a struggle and its weapon is knowledge, my dearest dad

to the one who made me an ambitious girl and made it easy for me with her hidden prayers, to the loving heart and candle that was a light in my dark nights, my lovely mom.

To my sister, my support, my pillar and my refuge, who never hesitated to help me, thank you sister.

To my brother, thank you for everything, thank you for trying to make me laugh on the hard days, thank you for your support.

To my friends of the years, to those who have made me smile in difficult times, to those who have reminded me how strong I am, we have walked this path together and we are still walking it together, our friendship was not just an ordinary friendship but a sisterhood, I hope from the bottom of my heart that we will stay together, thank you in every sense of the word "bouba, lety, lina".

I thank Saleh and Akram for providing us with the sample we worked on, and I also thank those who had the pleasure of cleaning it.

To my secret person, to the one who lives in my heart, to my strength, to my refuge, to my hidden support, to you who makes life tasty.

Serine.

Table des matières

Liste des Abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Partie 1 : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur Juniperus oxycedrus

I.1 Généralités	3
I.2 Le genre Juniperus	4
I.3 <i>Juniperus oxycedrus</i>	5
I.4 Répartition géographique.....	6
I.5 Description botanique	7
I.6 Classification et systématique.....	9
I.7 Lexicographie	9
I.8 Usage et effets thérapeutiques	10
I.8.1 Alimentaire	10
I.8.2 Médecine traditionnelle	10
I.8.3 Cosmétique	11
I.8.4 Artisanale	11

Chapitre II : Les métabolites secondaires

II.1. Introduction	12
II.2. Métabolites primaires	12
II.3. Métabolites secondaires.....	13
II.4. Classifications des métabolites secondaires	13
II.4.1. Les composés phénoliques	14
II.4.2. Les tannins.....	18
II.4.3. Les alcaloïdes	19
II.5 Activités biologiques des métabolites secondaires.....	20
II.5.1. Activité antioxydante.....	20
II.5. 2. Activité antibactérienne.....	21
II.5.3. Activité anti-inflammatoire	21
II.5.4 Activité antifongique	22

Partie 2 : Étude expérimentale**Chapitre I : Matériel et méthodes**

I.1 Introduction	24
I.2 Objectif du travail	24
I.3 Matériel et méthodes.....	24
I.3.1 Matériel végétal.....	24
I.3.2 Méthodes.....	24
I.3.3 Dosage des composés phénoliques	27
I.4. Evaluation de l'activité antioxydante.....	30
I.4.1. Évaluation de l'activité antioxydante par la méthode du radical DPPH	30
I.4.2. Mesure de l'activité antioxydante par le test ABTS	32
I.4.3. Test de réduction du fer (FRAP).....	33
I.5. Evaluation de l'activité antibactérienne	34
I.6. Analyse statistique des résultats	36

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Taux d'extraction	36
II.2. Dosages des composés phénoliques	37
II.2.1. Dosage des polyphénols totaux	37
II.2.2. Dosage des flavonoïdes	39
II.2.3 Dosage des flavonols.....	40
II.2.4 Dosage des tannins condensés.....	41
II.2.5 Dosage des composés liposolubles.....	42
II.3. Evaluation de l'activité antioxydante	43
II.3.1. Activité scavenging du radical DPPH	43
II.3.2. Pouvoir de piégeage des radicaux ABTS ^{•+}	45
II.3.3 Test de réduction du fer.....	48
II.4. Evaluation de l'activité antibactérienne	49
Conclusion	54

Annexes**Références bibliographiques****Résumé**

Liste des Abréviations

ABTS	L'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)
ADN	Acides Ribonucléiques
AG	Acide gallique
AlCl₃	Trichlorure d'aluminium
ARN	Acide désoxyribonucléique
Dpph	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl
EAG	Equivalent en acide gallique
EAS	Equivalent en acide ascorbique
EQ	Equivalent en quercétine
FRAP	Ferric reducing antioxidant power
HCL	Chlorure d'hydrogène
IC₅₀	Concentration inhibitrice à 50%
IL-1	Interleukine-1
J. oxycedrus	<i>Juniperus oxycedrus</i>
kHz	Kilohertz
MH	Müller Hinton
MS	Matière sèche
NF-kB	Facteurs nucléaires améliorateurs de chaîne légère kappa de cellules B activées
NO	Monoxyde d'azote
pH	Potentiel Hydrogène
Q	Quercitine
Subsp	Subspecies (« sous-espèce »)
TCA	Acide trichloracétique
TH	Tannis hydrolysables
UFC	Unité formant colonie
UV-Vis	Ultraviolet-visible

Liste des figures

Figure 1 : Genévrier oxycède.....	5
Figure 2 : Répartition géographique de <i>Juniperus oxycedrus</i> dans le monde.....	6
Figure 3 : Arbre de <i>Juniperus oxycedrus</i>	7
Figure 4 : Feuilles et fruits de <i>Juniperus oxycedrus</i>	9
Figure 5 : Structure chimique d'acide benzoïque	15
Figure 6 : Structure chimique d'acide cinnamique	15
Figure 7 : Structure chimique des lignanes	16
Figure 8 : Structure chimique des flavonoïdes.....	16
Figure 9 : Structure des tannins condensés (a) et hydrosolubles (b).....	19
Figure 10 : Structure des alcaloïdes : céphéline et émétine	20
Figure 11 : Préparation de la poudre des feuilles de <i>Juniperus oxycedrus</i>	25
Figure 12 : Dosage des tannins condensés	30
Figure 13 : Réduction du radical DPPH.....	30
Figure 14 : Test DPPH.	31
Figure 15 : Formation de radical d'ABTS en présence du persulfate de potassium.....	32
Figure 16 : Réduction du fer.	33
Figure 17 : Souches bactériennes repiquées sur les milieux d'isolement	35
Figure 18 : Taux d'extraction par macération et ultrasons	36
Figure 19 : Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i> ...	38
Figure 20 : Teneurs en flavonoïdes des extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i>	39
Figure 21 : Teneurs en flavonols des extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i>	41
Figure 22 : Teneurs en tanins condensés dans les extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i>	42
Figure 23 : Teneurs en composés liposolubles <i>Juniperus oxycedrus</i>	43
Figure 24 : Activité antiradicalaire DPPH des extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i>	44
Figure 25 : Concentrations d'inhibition de 50% du radical DPPH.....	45
Figure 26 : Activité antioxydante des extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i> par le test ABTS ⁺	46
Figure 27 : Pouvoir réducteur des extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i>	48

Liste des tableaux

Tableau I : Classification et systématique de <i>Juniperus oxycedrus</i>	9
Tableau II : Quelques dérivés d'acide phénolique.....	14
Tableau III : Structure de quelques flavonoïdes.....	17
Tableau IV : Concentrations inhibitrices du radicale ABTS ^{•+} par les extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i>	47
Tableau V : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i> sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i>	49
Tableau VI : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i> sur la croissance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50
Tableau VII : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i> sur la croissance de <i>Salmonella enterica</i>	51
Tableau VIII : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i> sur la croissance de <i>Escherichia.coli</i>	52
Tableau IX : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i> sur la croissance de <i>Acinetobacter</i>	53

Introduction

Introduction

Depuis les temps anciens, les êtres humains ont utilisé les plantes pour se nourrir, se soigner et survivre (Fuinel, 2002). Ces plantes sont riches en substances biologiquement actives, ce qui a conduit à leur utilisation sous diverses formes ces derniers temps (fluides, teintures, sèches, huiles essentielles et les plantes séchées) (Ladoh-Yemeda et al., 2016).

L'analyse chimique et biotechnologique de ces plantes aromatiques et médicinales consiste principalement à extraire, analyser et identifier leurs composants, ainsi qu'à étudier la structure de leurs composés bioactifs (Jafri et al., 2022).

Les composés phytochimiques issus des plantes peuvent démontrer diverses propriétés bénéfiques, comme des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, ou encore des effets sur le système nerveux central. La richesse et la diversité de ces molécules d'origine naturelle en font une source d'intérêt pour la découverte de nouveaux agents bioactifs à visée thérapeutique ou nutritionnelle (Aydi, 2014).

Les composés polyphénoliques présentent des propriétés antioxydantes. En neutralisant les espèces réactives de l'oxygène et en limitant le stress oxydatif, les polyphénols jouent ainsi un rôle bénéfique dans la préservation de l'intégrité cellulaire et le maintien de l'homéostasie physiologique. Cette activité antioxydante des polyphénols peut contribuer à prévenir le développement de diverses maladies chroniques, telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer et les affections neurodégénératives (Shiban et al., 2012).

Ces composés ont également une activité anti-inflammatoire, ce qui peut réduire l'inflammation dans le corps. Ils ont également des effets cardioprotecteurs en aidant à réduire la pression artérielle, à améliorer la circulation sanguine, à réduire l'oxydation du cholestérol LDL (le « mauvais » cholestérol) et à prévenir la formation de caillots sanguins (Shiban et al., 2012).

La phytothérapie évolue constamment, avec une recherche perpétuelle de nouveaux médicaments pour faire face aux limites de l'antibiothérapie, notamment contre les champignons et les bactéries multi-résistantes. L'utilisation croissante d'extraits de plantes offre de nouvelles perspectives thérapeutiques (Sadou et al., 2015).

Dans ce cadre, nous nous sommes penchés sur le genévrier, une plante commune en Algérie appartenant à la famille des Cupressaceae, présente dans les zones semi-arides du pays (Hafsi et al., 2017). Cette espèce joue un rôle écologique crucial, notamment en raison de sa résistance à la sécheresse. Cette capacité à tolérer les conditions arides en fait une espèce particulièrement adaptée aux régions les plus sèches. Par ailleurs, en médecine traditionnelle, les différentes parties de cette plante sont utilisées pour traiter une variété d'affections et de maladies. Ainsi, elle présente à la fois une importance écologique majeure dans les écosystèmes arides, et un intérêt traditionnel en phytothérapie pour ses propriétés médicinales.

La combinaison de ces rôles écologiques et thérapeutiques fait du genre *Juniperus* une ressource naturelle d'un grand intérêt, notamment dans les régions sujettes aux stress hydriques (Andrew and Iserin, 2013; Mohamed Djamel et al., 2013).

Le faible nombre d'études préalables sur les activités de *Juniperus* en Algérie a motivé la réalisation de la présente recherche, dont l'objectif est d'évaluer de manière approfondie les capacités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de cette plante.

Ce travail de recherche a pour objectif d'évaluer les composés phénoliques ainsi que les propriétés anti-radicalaires et antibactériennes des extraits de *Juniperus oxycedrus*. Pour ce faire, deux techniques d'extraction différentes sont comparées : la macération et l'extraction par ultrasons.

Le document est structuré en deux parties distinctes :

La première partie consiste en une revue bibliographique composée de deux chapitres :

- Le premier chapitre présente des informations générales sur le genévrier.
- Le deuxième chapitre se concentre spécifiquement sur les métabolites secondaires produits par les plantes.

La deuxième partie se focalise sur l'aspect expérimental de l'étude. Elle détaille le matériel végétal utilisé ainsi que les méthodes employées pour mener à bien cette recherche. Les résultats obtenus sont ensuite présentés et discutés.

Chapitre I:

Généralités sur

Juniperus oxycedrus

I.1 Généralités

La famille des Cupressacées appartient à l'ordre des Conifères. Il s'agit d'une famille de plantes gymnospermes, c'est-à-dire des végétaux à graines nues, qui se caractérisent par leur abondance au sein de ce groupe. Selon une classification phylogénétique, les Cupressacées comprennent environ 160 espèces réparties en 7 sous-familles et 29 genres. Leur feuillage se compose d'écaillés compactes et imbriquées qui restent sur la plante toute l'année (Poncet et al., 2021).

Ces arbres sont pollinisés par le vent, ce qui signifie qu'ils sont anémophiles. La plupart des Cupressacées sont monoïques, ce qui signifie qu'ils ont à la fois des organes reproducteurs mâles et femelles sur la même plante. Cependant, il y a quelques exceptions, comme le genre *Juniperus*, qui est dioïque, avec des individus distincts portant soit des organes mâles, soit des organes femelles (Poncet et al., 2021).

Les Cupressacées produisent de petites fleurs incomplètes et unisexuées, présentes sur de minuscules cônes appelés cônes mâles et femelles, ces organes reproducteurs mâles produisent 3 à 10 sacs de pollen (microsporanges) . Lorsqu'ils arrivent à maturité, ces sacs se fissent longitudinalement, libérant d'importantes quantités de pollen dans l'air, dispersant en moyenne environ 400 000 grains de pollen par cône (Poncet et al., 2021).

En dehors du genre *Juniperus*, il existe plusieurs autres genres de Cupressacées. Voici quelques-uns des genres les plus connus :

- 1) *Cupressus* : Ce genre comprend 29 espèces de cyprès, parmi lesquelles le cyprès de Leyland (*Cupressus × leylandii*), le cyprès de Monterey (*Cupressus macrocarpa*) et le cyprès de l'Arizona (*Cupressus arizonica*).
- 2) *Thuja* : Ce genre comprend des espèces de thuyas, tels que le thuya occidental (*Thuja occidentalis*) et le thuya géant (*Thuja plicata*).
- 3) *Sequoia* : Ce genre comprend deux espèces d'arbres géants, le séquoia géant (*Sequoiadendron giganteum*) et le séquoia à feuilles d'if (*Sequoia sempervirens*), également connu sous le nom de séquoia sempervirent.
- 4) *Cryptomeria* : Ce genre comprend l'espèce *Cryptomeria japonica*, également appelée cyprès du Japon ou cèdre du Japon.

- 5) *Calocedrus* : Ce genre comprend l'espèce *Calocedrus decurrens*, également connue sous le nom de cèdre blanc de Californie.
- 6) *Chamaecyparis* : Ce genre comprend différentes espèces de faux cyprès, comme le faux cyprès de Lawson (*Chamaecyparis lawsoniana*) et le faux cyprès de l'Arizona (*Chamaecyparis arizonica*).

I.2 Le genre *Juniperus*

Au sein de la famille des Cupressacées, le genre *Juniperus* (les genévriers) se caractérise par une diversité remarquable. Taxonomiquement, *Juniperus* appartient à la tribu des Junipereae et à la sous-famille des Cupressoideae. Ce genre regroupe environ 75 espèces différentes, ce qui en fait le genre le plus diversifié de toute la famille des Cupressacées. Les espèces de ce genre sont caractérisées par leur capacité à s'adapter à des environnements écologiquement extrêmes et jouent un rôle important dans la végétation méditerranéenne. Elles sont souvent considérées comme des espèces pionnières, ayant une influence significative sur la dynamique des écosystèmes préforestiers (Hafsi et al., 2017).

En Algérie, le genre *Juniperus* est bien établi et comprend cinq espèces (Hafsi et al., 2017).

- *Juniperus thurifera* : Cette espèce est extrêmement rare en Algérie. Elle est principalement présente dans les montagnes du nord du pays, notamment dans les régions du Djurdjura et de l'Atlas tellien. Le *J. thurifera* est un arbre de taille moyenne à grande, et il est connu pour produire une résine appelée "l'encens" utilisée dans diverses applications.
- *Juniperus sabina* : Cette espèce est également extrêmement rare en Algérie. Elle se trouve principalement dans les montagnes du Djurdjura et de l'Atlas tellien. Le *J. sabina* est un arbuste ou un petit arbre qui a une apparence caractéristique avec des branches étalées et des feuilles en forme d'aiguilles. Il est apprécié pour sa forme ornementale dans les jardins.
- *Juniperus communis* : Cette espèce est considérée comme rare en Algérie. Elle est présente dans les régions montagneuses du nord du pays, ainsi que dans certaines parties des montagnes du Hoggar dans le sud. Le *J. communis* est un arbrisseau ou un arbuste de taille moyenne. Ses baies sont utilisées pour produire des boissons alcoolisées telles que le gin.

- *Juniperus oxycedrus* : Cette espèce est répandue dans les zones arides et semi-arides de l'Algérie, s'étendant des montagnes des hauts-plateaux jusqu'au Sahara, ainsi que dans les régions côtières. C'est un arbuste ou un petit arbre avec des feuilles en forme d'écaillés et des baies rougeâtres. Il est utilisé dans la médecine traditionnelle pour ses propriétés médicinales.
- *Juniperus phoenicea* : On les trouve dans les montagnes des hauts plateaux, le Sahara et également dans les régions arides et semi-arides de l'Algérie. C'est un arbre de taille moyenne avec des feuilles en forme d'écaillés et des baies bleu-noir. Il est souvent utilisé pour la stabilisation des sols dans les zones arides.

Les habitants locaux des hauts-plateaux du centre de l'Algérie ont signalé la présence d'un hybride entre les deux dernières espèces, communément appelé "cherkiya" en arabe local, ce qui signifie "associé" ou "hybride". Cette variété présente à la fois des feuilles en forme d'aiguilles et des feuilles en forme d'écaillés sur le même rameau chez les individus adultes (Hafsi et al., 2017).

I.3 *Juniperus oxycedrus*

Le nom « oxycedrus » trouve son origine dans le vocabulaire grec ancien. Composé des mots « oxys » signifiant « aigu » et « cedros » signifiant « cèdre », il décrit bien cet arbre aux feuilles aiguës, justifiant ainsi son appellation de « cèdre à feuilles épineuses » (Garnier et al., 1961) .



Figure 1 : Genévrier oxycèdre (Quezel and Gast, 1998).

Selon les études menées par Boudy, Maire, Quézel & Santa, *Juniperus oxycedrus*, couvre une superficie d'environ 112 000 hectares, s'étendant des dunes littorales jusqu'aux

limites du grand Sahara. Elle peut s'élever jusqu'à 10 mètres de hauteur, affichant un tronc imposant d'environ un mètre de diamètre, bien que plus fréquemment, elle se présente sous forme d'arbustes buissonnants de taille plus réduite (Hafsi et al., 2017).

I.4 Répartition géographique

Le *J. oxycedrus* est originaire du bassin méditerranéen et se trouve dans une grande partie de la région, s'étendant de la Morée jusqu'à l'Irak et les montagnes du Caucase. Il est également présent dans d'autres pays du pourtour méditerranéen tels que l'Espagne, l'Italie, la Grèce et la Turquie (figure 2) (Vilar et al., 2016).

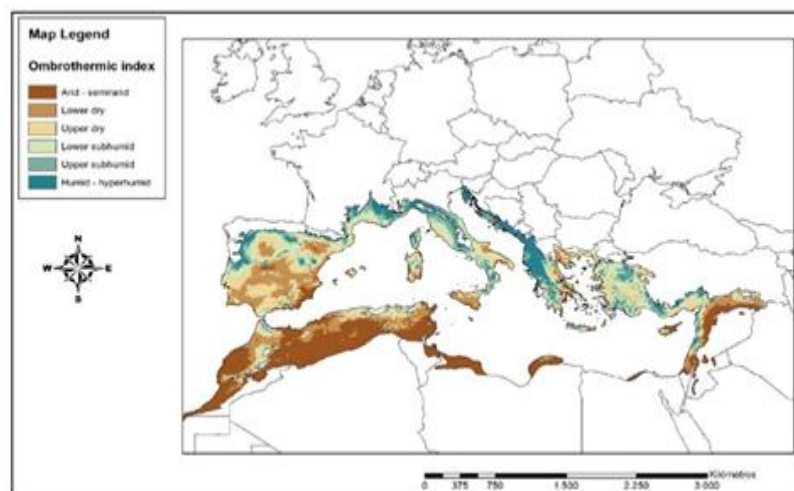


Figure 2 : Répartition géographique de *Juniperus oxycedrus* dans le monde (Cano Ortiz et al., 2021).

Selon les recherches de Vilar et al (2016), il existe quatre principales sous-espèces de *J. oxycedrus* :

1. *Juniperus oxycedrus subsp. oxycedrus*, c'est l'espèce ayant la plus vaste répartition qui englobe les zones intérieures et côtières de son territoire de répartition ;
2. *Juniperus oxycedrus subsp. Macrocarpa* qui se trouve principalement sur les côtes de la mer Noire et de la Méditerranée ;
3. *Juniperus oxycedrus subsp. badia*, son aire de répartition s'étend aux zones intérieures du nord de l'Algérie et au sud de la péninsule ibérique;
4. *Juniperus oxycedrus subsp. transatagana*, localisé dans les plaines littorales et les basses terres du centre du Portugal et de l'extrême sud-ouest de l'Espagne.

Le Genévrier oxycède est une espèce qui se trouve dans divers environnements écologiques. Il est capable de s'adapter à des conditions variées, mais présente des préférences particulières en termes d'exposition à la lumière, de chaleur et d'humidité. Il se trouve généralement dans des zones subhumides des régions méso et supra-méditerranéennes. Il préfère les environnements chauds et ensoleillés, nécessitant une exposition importante à la lumière. Il est robuste face à la sécheresse et peut survivre dans des régions où les précipitations sont limitées. Cependant, il est plus vulnérable aux températures froides et ne prospère pas dans des environnements très froids (Quezel and Gast, 1998).

En termes d'altitude, le genévrier oxycède peut être trouvé dans une gamme allant de 0 mètres d'altitude sur les dunes côtières à une altitude de 1200 mètres dans les montagnes. Il est capable de coloniser les dunes côtières, où une variété spécifique avec de gros fruits appelée *Juniperus macrocarpa* est présente (Bonnier Gaston, 1990).

I.5 Description Botanique

Le Genévrier oxycède (*J. oxycedrus*) est un petit arbuste qui peut atteindre une hauteur de 10 à 15 mètres. Les jeunes spécimens ont une couronne conique, tandis que les adultes ont une couronne irrégulière. Son tronc présente des bandes longitudinales et une écorce fibreuse de couleur grisâtre à brun-rouge. Il a plusieurs branches, étalées ou ascendantes (figure 3) (Vilar et al., 2016).



Figure 3 : Arbre de *Juniperus oxycedrus* (photographie originale).

Les branches du genévrier oxycède sont multiples, étalées ou ascendantes. Ces feuilles sont disposées en verticilles de trois aiguilles. Ces aiguilles ont une longueur moyenne

comprise entre 1 et 2,5 cm, tandis que leur largeur se situe généralement entre 1 et 2,5 mm. Elles présentent une crête en dessous et deux sillons stomatiques cireux et blancs sur le dessus, de couleur vert foncé sur le dessus et plus claires en dessous (figure 4) (Vilar et al., 2016).

Les fleurs du genévrier oxycède sont de petite taille et de couleur verdâtre. Elles sont généralement unisexuées, ce qui signifie que les fleurs mâles et femelles se trouvent sur des individus séparés. Les fleurs mâles sont regroupées en petits cônes jaunâtres, tandis que les fleurs femelles se développent en petits cônes verdâtres qui mûrissent en baies globuleuses de couleur bleu-noir (Vilar et al., 2016).

Au sein du genre *Juniperus*, les cônes polliniques, qui assurent la production du pollen, sont exclusivement présents sur les plants mâles. Ces cônes polliniques solitaires sont localisés dans les aisselles des feuilles, c'est-à-dire à l'endroit où les feuilles s'insèrent sur les rameaux. Les plants femelles portent des cônes de graines axillaires semblables à des baies appelés "galbules". Ces galbules sont approximativement sphériques, de couleur brun-rouge et mesurent de 7 à 12 mm de long. Les galbules ne s'ouvrent pas et se terminent par trois petites protubérances triangulaires, à l'intérieur desquelles se trouvent une à trois graines brunes triangulaires-ovales (Vilar et al., 2016).

Il convient de noter que la description botanique peut varier légèrement en fonction des sous-espèces et des variations géographiques de *J. oxycedrus*. Certains détails spécifiques peuvent différer, mais l'ensemble des éléments structurels et caractéristiques essentiels persistent.



Figure 4 : Feuilles et fruits de *Juniperus oxycedrus* (photographie originale).

I.6 Classification et systématique

Tableau I : Classification et systématique de *Juniperus oxycedrus* (Quézel, 1962).

Embranchement	Spermaphytes
Sous- Embranchement	Gymnospermes
Classe	Conifères
Ordre	Coniférales
Famille	Cupressacées
Genre	<i>Juniperus</i>
Espèce	<i>Juniperus oxycedrus L</i>

I.7 Lexicographie

Les termes utilisés dans les dictionnaires berbères et arabes pour décrire le genévrier sont peu précis et ne sont pas spécifiques à l'espèce (Quezel and Gast, 1998).

Arabe : العرعار, الطاقة;

Kabyle : Taqa ;

Français : Cadier, Cade ou Genévrier oxycèdre ;

Anglais: Berried Cedar, Prickly Cedar;

I.8 Usage et effets thérapeutiques

Les espèces du genre *Juniperus* sont connues pour contenir divers principes actifs, notamment des composés phénoliques et des flavonoïdes, qui présentent un intérêt thérapeutique, cosmétique et alimentaire (El Jemli et al., 2016).

I.8.1 Alimentaire : Les baies mûres ont été utilisées pour produire un type de jus de fruits concentré appelé pekmez, consommé au Moyen-Orient. En effet, le pekmez est reconnu comme une source d'énergie précieuse à haute valeur nutritionnelle et doté d'effets bénéfiques

en cas d'asthme et de traitement des hémorroïdes (Akinci et al., 2004). Ils sont également principalement utilisés dans la cuisine européenne comme épices, c'est-à-dire pour donner une saveur forte et claire aux recettes de viande dans la cuisine nord-européenne et surtout scandinave (Orhan et al., 2011).

I.8.2 Médecine traditionnelle : Dans la médecine traditionnelle d'Italie, les baies de *J. oxycedrus* sont fréquemment employées pour traiter diverses affections, comme les rhumes, inflammations des voies urinaires, problèmes digestifs, calcinose des articulations et les hémorroïdes, ainsi que comme expectorant en cas de toux, hypoglycémiant et diurétique. De plus, les baies et les feuilles sont utilisées en externe afin de soigner les pathologies parasitaires (Sezik et al., 1997 ; Akkol et al., 2009). Alors que les extraits de feuilles, de résine, d'écorce et de baies se sont révélés efficaces pour prévenir les infections causées par divers micro-organismes (Spengler et al., 2022).

Les baies de *J. oxycedrus* sont utilisées en interne sous forme de thé en Turquie pour traiter le diabète (Orhan et al., 2012). Outre ses propriétés anti-infectieuses, le genévrier, qui fait partie de la famille des Cupressacées, est également apprécié pour sa capacité à préserver la santé de la peau et des cheveux. Ces feuilles et ces fruits sont largement utilisés pour traiter divers problèmes dermatologiques tels que les pellicules, les prurits et les infections cutanées (Garnier et al., 1961).

Infusions de feuilles séchées de ces espèces s'avèrent tout aussi efficaces contre des affections internes comme les rhumatismes, la diarrhée et le diabète sucré, en complément de leur usage externe. Les substances phénoliques présentes dans ces plantes possèdent des propriétés antioxydantes, ce qui pourrait contribuer aux effets bénéfiques sur la santé (Karaman et al., 2003 ; Medini et al., 2013).

I.8.3 Cosmétique : L'huile de cade, obtenue par distillation du bois de genévrier, est utilisée depuis longtemps pour traiter diverses affections cutanées telles que l'eczéma chronique, l'acné, le psoriasis et le lichen. Les propriétés vermifuges et diurétiques de cette plante en font un remède efficace pour le traitement de certaines affections en usage interne, telles que la néphrite chronique, les maladies des voies biliaires et la pyélite.

Par ailleurs, l'industrie de la parfumerie exploite les huiles essentielles extraites des baies de genévrier comme composés aromatiques, gustatifs, et comme agents curatifs. Ces huiles

entrent également dans la composition de nombreux produits dermatologiques et dans le traitement d'affections (Bertsouklis et al., 2023).

I.8.4 Artisanale : Le bois fauve, à la texture uniforme et au grain fin, présente un beau poli, il est destiné à la fabrication de placages, d'armoires, et de crayons. Le bois de genévrier est très résistant et durable, ce qui fait qu'il est très prisé par les indigènes pour la solidité de ses poteaux, qu'ils utilisent en abondance pour leurs maisons. Il constitue également un excellent combustible et une terre végétale (Boudy, 1950 ; Bertsouklis et al., 2023).

Chapitre II :

*Les métabolites
secondaires*

II.1. Introduction

Les plantes sont essentielles à la survie et au bien-être de l'humanité et de la planète. Il est impératif d'assurer leur protection et leur utilisation durable afin de garantir un avenir sain et durable.

Les végétaux produisent une vaste gamme de composés chimiques qui jouent un rôle crucial dans leur croissance, leur développement et leurs interactions avec leur environnement. Ces composés chimiques peuvent être classés en deux grandes catégories distinctes : Les métabolites primaires et les métabolites secondaires (Nsemi 2010).

II.2. Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des composés indispensables au métabolisme végétal et à la survie des plantes. Ils jouent un rôle central dans les processus métaboliques fondamentaux, comme la photosynthèse, la respiration, la construction de la paroi cellulaire et la synthèse des protéines. Ces métabolites primaires sont irremplaçables pour les plantes, qui ne peuvent pas s'en passer (Pogam et al. 2015).

Les principales catégories de métabolites primaires comprennent :

- Les glucides (sucres, amidon, cellulose, etc.) ;
- Les lipides (acides gras, phospholipides, etc.) ;
- Les acides aminés et les protéines ;
- Les acides nucléiques (ADN, ARN) ;
- Les vitamines et les coenzymes.

Ces différentes classes de métabolites primaires assurent des fonctions essentielles dans la croissance, le développement et le maintien des plantes. Ils représentent la base du métabolisme végétal (Pogam et al. 2015).

- Glucides ;
- Protéines ;
- Lipides : AG, phospholipides ;
- Acides nucléiques.

II.3. Métabolites secondaires

Contrairement aux métabolites primaires, les métabolites secondaires sont produits en plus faibles quantités, mais ils présentent une remarquable diversité structurale et fonctionnelle (Pogam et al. 2015).

Ils participent plutôt à l'interaction des plantes avec leur milieu. Il est fréquent que les métabolites secondaires soient propres à certaines espèces de plantes et peuvent différer selon les conditions environnementales. Ils jouent un rôle dans la protection contre les pathogènes, la résistance aux stress abiotiques tels que la sécheresse ou les températures extrêmes, et peuvent aussi attirer les pollinisateurs ou repousser les herbivores (Pogam et al. 2015).

Les métabolites secondaires se distinguent par leur petite taille, leur complexité et leur stabilité physicochimique. Malgré leur petite taille, ces composés présentent un degré élevé de complexité structurale, ce qui leur permet d'interagir avec un haut degré de spécificité avec les récepteurs pharmacologiques avec lesquels ils interagissent. Certains de ces composés sont extrêmement actifs à des doses faibles, ce qui élargit considérablement les possibilités de traitement (Pogam et al. 2015).

Par exemple, des métabolites végétaux comme les digitaliques, la morphine ou la quinine sont devenus des médicaments essentiels pour traiter l'insuffisance cardiaque, les douleurs intenses ou le paludisme. De même, des métabolites issus de champignons ont donné naissance à des médicaments essentiels tels que les pénicillines et céphalosporines (des antibiotiques majeurs), les statines (permettant de réduire le cholestérol) et la cyclosporine, un important immunosuppresseur. Ainsi, les métabolites secondaires ont joué un rôle central dans l'avancée de la pharmacothérapie (Pogam et al. 2015).

II.4. Classification des métabolites secondaires

Selon Biozot and Charpentier (2006), les métabolites secondaires peuvent être classés en quatre grandes catégories, basées sur leur structure chimique et leurs propriétés biosynthétiques : Les composés phénoliques, les saponines, les alcaloïdes et composés azotés et les composés terpéniques.

II.4.1. Les composés phénoliques

Constituent une famille particulièrement riche et diversifiée. Ils se caractérisent par la présence d'un ou plusieurs cycles aromatiques portant au moins un groupe hydroxyle (OH), libre ou attaché à un peptide (Boizot and Charpentier 2006). Présents dans une large variété de plantes, ils jouent un rôle central dans le monde végétal et suscitent un intérêt croissant dans le domaine de la santé humaine (Macheix et al., 2005). Ces composés jouent un rôle important dans la défense des plantes grâce à leurs propriétés antimicrobiennes, leur capacité à renforcer les parois cellulaires et leur capacité à réguler et à stimuler les réactions de défense de l'hôte (Macheix et al., 2005).

Clériveret et al. (1996) , ont permis d'identifier le rôle central des composés phénoliques dans la modification des caractéristiques spécifiques des procédés technologiques agroalimentaires (jus de fruits et de boissons fermentées) (Macheix et al., 2005).

II.4.1.1. Les non flavonoïdes

Les composés phénoliques constituent un groupe riche et diversifié, comprenant plusieurs sous-familles aux structures et propriétés variées, comme les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les coumarines et les xanthones (Nsemi 2010).

Les acides phénoliques

Ce sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, formant les acides hydroxybenzoïques, ou des acides cinnamiques, formant les acides hydroxycinnamiques. Ces acides phénoliques sont très répandus dans le règne végétal (Elie 2022).

Tableau II : Quelques dérivés d'acide phénolique (Bule et al. 2020).

Acides hydroxybenzoïques	Acides hydroxycinnamiques
✓ Acide para-hydroxybenzoïque	✓ Acide caféique
✓ Acide salicylique	✓ Acide chlorogénique
✓ Acide protocatéchique	✓ Acide paracoumarique
✓ Acide gallique	
✓ Acide vanillique	

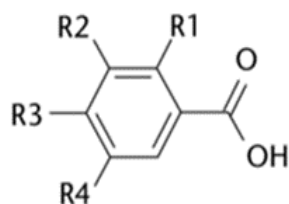


Figure 5 : Structure chimique d'acide benzoïque (Sadou et al. 2012).

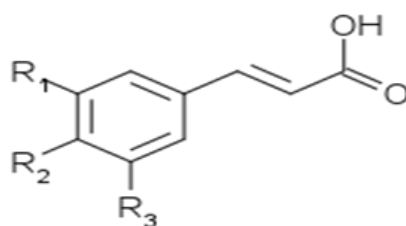


Figure 6 : Structure chimique d'acide cinnamique (Sadou et al. 2012).

✚ Les lignanes et les lignines

Sont des composés appartenant à la classe des phénylpropanoïdes, une vaste famille de métabolites aromatiques essentiels dans le règne végétal. Ces phénylpropanoïdes sont dérivés de l'acide cinnamique et servent de précurseurs à de nombreux autres métabolites secondaires.

La structure caractéristique des lignanes et des lignines est de type (C6-C3)₂, où l'unité (C6-C3) est perçue comme un propylbenzène. La formation des lignanes implique un processus biochimique complexe. Il s'agit de l'oxydation des chaînes latérales propényle de deux unités d'alcool coniférylique liées, créant ainsi une liaison (C8-C8) (Nsemi 2010).

Ces composés phénylpropanoïdes jouent un rôle essentiel dans la biologie et le développement des plantes. De plus, ils présentent des propriétés prometteuses pour la santé humaine (Nsemi 2010).

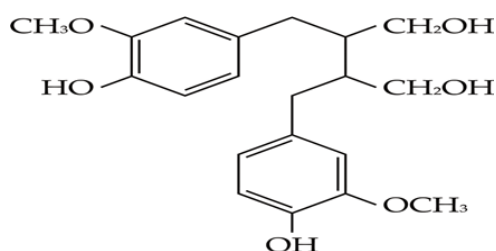


Figure 7 : Structure chimique des lignanes (Nsemi 2010).

II.4.1.2. Les flavonoïdes

C'est une classe de métabolites secondaires omniprésents et essentiels dans le monde végétal. Cette classe englobe une variété très étendue de composés naturels polyphénoliques. Environ 6500 flavonoïdes sont recensés, répartis en 12 catégories et leur nombre ne cesse de croître (Nsemi 2010).

Les flavonoïdes partagent une structure squelettique de base composée de deux cycles benzéniques (A et B) reliés par un hétérocycle oxygéné en C (figure 8). Cette structure diphenylpropanique (C6-C3-C6) est caractéristique de cette vaste classe de métabolites secondaires. Cette famille de composés aromatiques comprend plusieurs sous-classes, notamment les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanes, les flavan-3-ols et les chalcones (tableau III) (Nsemi 2010).

Malgré cette structure de base commune, les différents types de flavonoïdes se distinguent par la nature et la substitution des cycles A et B, ainsi que par la présence et la nature de l'hétérocycle central. Cette diversité structurale permet aux flavonoïdes de remplir de multiples fonctions biologiques essentielles dans le règne végétal. (Nsemi 2010).

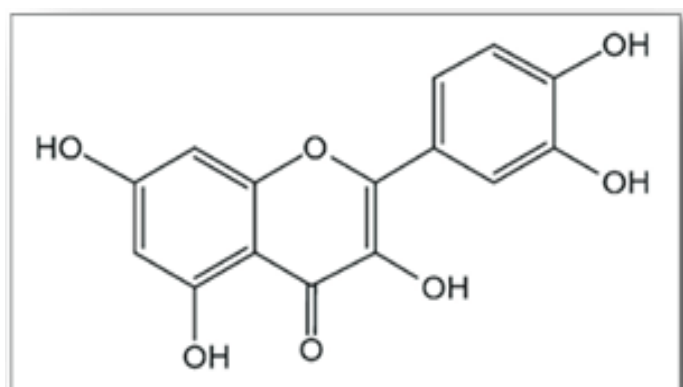


Figure 8 : Structure chimique des flavonoïdes (Nsemi 2010).

Tableau III : Structure de quelques flavonoïdes

Composés	Définition	Structure
Flavones	Les positions 2 et 3 du cycle C contiennent des doubles liaisons avec un groupe cétone en position 4. Le cycle A contient un groupe hydroxyle aux positions 2 et 3, tandis qu'un autre groupe hydroxyle se trouve à la position 5 (Panche, Diwan, et Chandra 2016)	
Flavonols	Ils contenant un groupe cétone. Ils font partie des proanthocyanidines qui se distinguent par un groupe hydroxyle situé à la position 3 du cycle C, et ils peuvent être glycosylés. Ils sont extrêmement variés en termes de méthylation et d'hydroxylation.(Panche, Diwan, et Chandra 2016)	
Flavanonols (dihydroflavones)	Des composés qui se caractérisent par une saturation du cycle C. Une liaison simple est substituée à la double liaison entre les positions 2 et 3. Ils possèdent des propriétés pharmacologiques captivantes en tant qu'antioxydants, anti-inflammatoires, hypolipidémiants et hypocholestérolémiants, (Panche, Diwan, et Chandra 2016)	
Chalcones	Ne possèdent pas d'hétérocycle central en C. Elles présentent plutôt une structure ouverte avec une double liaison entre les deux cycles aromatiques.(Panche, Diwan, et Chandra 2016)	

II.4.2. Les tannins

Les tannins appartiennent à la famille chimique des polyphénols et se caractérisent par leur masse molaire généralement élevée. Leur structure hautement hydroxylée leur confère la propriété de se lier à divers biopolymères tels que les glucides, les protéines et les enzymes digestives (Nsemi 2010).

Ces interactions permettent la formation de complexes insolubles qui peuvent altérer les processus de digestion. La cellulose et certains éléments minéraux peuvent également être associés à ces complexes. Cette capacité des tannins à interagir avec de nombreuses macromolécules biologiques explique leurs effets variés sur la physiologie des organismes végétaux et animaux, notamment sur la nutrition et la défense contre les herbivores (Nsemi 2010).

Les propriétés des tannins en font des composés très étudiés en chimie des produits naturels, en écologie et en pharmacologie (Nsemi 2010). On a deux types de tanins : les tanins condensés (TC) et les tannins hydrolysables (TH).

II.4.2.1. Les tannins hydrolysables

Ce sont des composés très répandus dans le règne végétal et qui se caractérisent par de multiples esters d'acide gallique avec du glucose. Actuellement, plus de 500 dérivés glucogalloylés ont été identifiés. Les structures des tanins possèdent généralement 5 à 7 anneaux aromatiques et se composent de 12 à 16 substituants phénoliques par unité de masse moléculaire relative de 1000. Les tannins hydrolysables (TH) sont formés par l'estérification d'un polyol central généralement le glucose, avec des acides phénoliques, comme l'acide gallique dans les gallotannins ou d'autres acides phénoliques comme l'acide ellagique (Bule et al. 2020).

Les TH les plus simples sont les gallotannins qui comprennent des esters polygalloyl de glucose, que l'on trouve largement dans le chêne rouge, le chêne pédonculé, etc.

D'autre part, les ellagitanins sont formés par couplage intramoléculaire, ce qui entraîne des liaisons C-C et C-O-C entre les résidus galloyl des glucogalloyls. Les tannins éllagiques (ET), une catégorie de composés bioactifs, se distinguent par leur présence abondante dans certains fruits (Bule et al. 2020).

II.4.2.2. Les tannins condensés

Les tannins condensés (proanthocyanidines, PA) occupent une place particulière, se distinguant par leur présence abondante dans de nombreux aliments familiers. Dans le domaine de la nutrition, ces composés se distinguent par leur présence abondante dans de nombreux aliments.

Ces composés sont constitués de flavan-3-ols liés par des liaisons C4-C8, avec la possibilité de liaisons C4-C6 supplémentaires. La présence de centres C2 et C3 asymétriques dans les unités monomères donne lieu à quatre isomères différents : (+)-gallocatéchine, (-)-épigallocatéchine, (+)-catéchine et (-)-épicatéchine (Smeriglio et al. 2017).

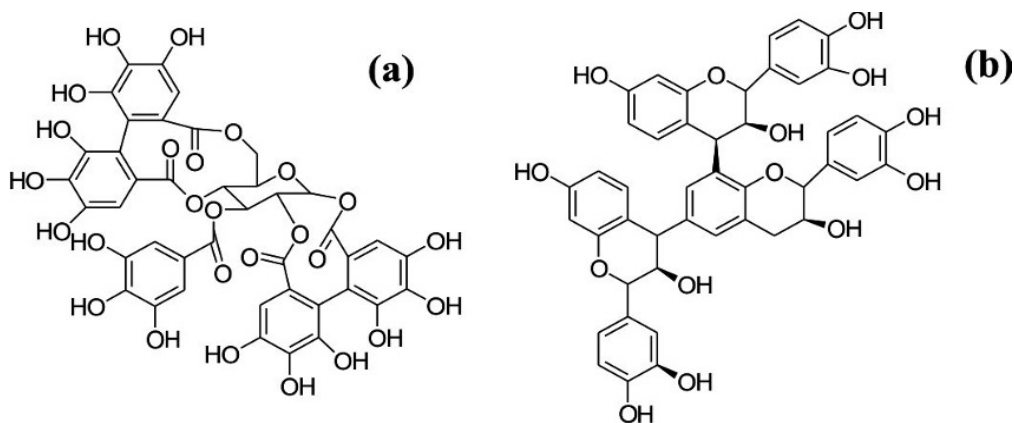


Figure 9 : Structure des tannins condensés (a) et hydrosolubles (b) (Nsemi 2010).

II.4.3. Les Alcaloïdes

Selon Schauenberg and Paris (2013), les alcaloïdes occupent une place unique dans le domaine de chimie, se caractérisant par leur nature intrigante et leurs propriétés remarquables. Ces substances naturelles, composées de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote, se distinguent par leur activité biologique élevée, souvent toxique dans la nature. Les alcaloïdes proviennent principalement des plantes à fleurs et représentent environ 8,7 % des phanérogames, en particulier des dicotylédones. Leur concentration varie considérablement, allant généralement de 0,1% à 2-3% du poids sec de la plante (Ziegler et Facchini 2008).

Les molécules complexes, caractérisées par la présence d'un ou plusieurs atomes d'azote dans leur structure cyclique, sont produites par une grande diversité d'organismes : champignons, plantes et certains petits groupes d'animaux (figure 10) (Bruneton 1999).

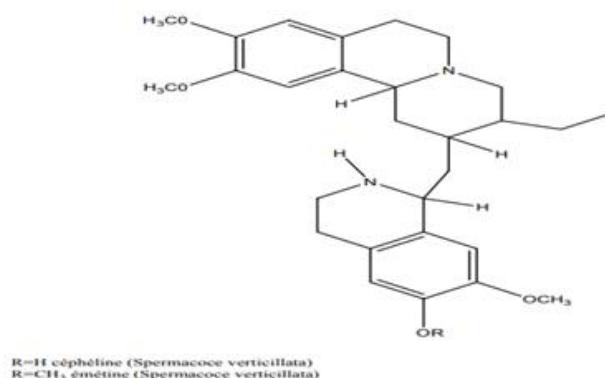


Figure 10 : Structure des alcaloïdes (Bruneton 1999).

Les alcaloïdes sont définis par leur tendance à cristalliser et à donner un goût amer. La présence de précipités est un indicateur fiable de la présence d'alcaloïdes. Pendant un temps considérable, la classification et la dénomination des alcaloïdes reposent sur la plante ou l'animal d'où ils proviennent. Chaque type d'alcaloïde possède une structure moléculaire unique qui détermine ses interactions spécifiques avec les systèmes biologiques comme la céphaline (antifongique, antibactérienne) et l'émétine (amibicide, anti-protozoaire, amibiase) (Koudou 2009).

II.5 Activités biologiques des métabolites secondaires

Le domaine de la médecine alternative est fondé sur l'analyse des activités biologiques des substances bioactives présentes dans les herbes médicinales. Ces activités englobent une multitude de processus utilisés pour conserver les produits alimentaires. Les études indiquent que les extraits de genévrier sont riches en substances bioactives, notamment l' α -pinène, des acides organiques, des protéines, des terpènes, des sucres, et du camphre de Genévrier. Ces composés ont été étudiés pour leurs propriétés antimicrobiennes, antifongiques, antioxydantes, anti-inflammatoires, antidiabétiques, anticancéreuses, neuroprotectrices et rénales. Cette richesse en composés bioactifs fait du Genévrier une plante d'intérêt majeur dans le domaine de la médecine alternative, où ses nombreuses activités biologiques sont exploitées (Hammoudi 2015).

II.5.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante d'une substance se définit comme sa capacité à neutraliser ou réduire les effets néfastes des radicaux libres au sein de l'organisme. Ces radicaux libres sont

des composés hautement réactifs qui peuvent endommager les cellules, l'ADN et les membranes cellulaires. Cela crée un déséquilibre dans le rapport oxydants/antioxydants, menant au vieillissement prématuré ainsi qu'à diverses maladies et pathologies (Desmier 2016).

Un antioxydant, quant à lui, est un composé qui a la capacité de réduire le stress oxydatif dans l'organisme et de rétablir cet équilibre en empêchant la formation de radicaux libres, en inhibant l'activation des chaînes de réaction ou en neutralisant directement les radicaux libres (Desmier 2016).

II.5. 2. Activité antibactérienne

Le renouvellement constant des principes actifs est essentiel pour résoudre le problème posé par les résistances des microorganismes aux antibiotiques classiques (Mwambete 2009).

Selon Mada et al. (2013), ces molécules recherchées doivent présenter des propriétés chimiques distinctes et employer des modes d'action inédits, perturbant les processus vitaux des micro-organismes et empêchant le développement de résistances.

Les plantes médicinales demeurent la principale source de molécules utilisées dans la fabrication des médicaments pharmaceutiques. Il est donc raisonnable de poursuivre ou même d'approfondir la recherche dans cette direction, étant donné que les plantes restent une source inépuisable de biomolécules (Chominot 2000).

Les propriétés antimicrobiennes des flavonoïdes ont également été reconnues, et un nombre important d'études ont démontré que les structures flavonoïdes possèdent des propriétés antifongiques, antivirales et antibactériennes. Cette caractéristique explique pourquoi de nombreux flavonoïdes sont actuellement couramment employés dans les secteurs agroalimentaire et pharmaceutique (Wang et al. 1998).

II.5.3. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est un mécanisme de défense qui se manifeste lorsque le corps réagit à différents stimulus, tels que les infections, les irritants ou différents dommages cellulaires et tissulaires. Ce processus inflammatoire implique une cascade de réactions biochimiques et cellulaires, déclenchées par des enzymes spécifiques. Cela se traduit notamment par la production de substances messagères (cytokines, prostaglandines, etc.), l'accumulation de

fluides dans les tissus infectés, le déplacement et l'activation de cellules immunitaires (leucocytes, macrophages, etc.) et la destruction et la réparation des tissus (Djellouli et al. 2022).

Une panoplie d'agents anti-inflammatoires synthétiques est actuellement disponible, notamment des anti-inflammatoires non stéroïdiens, des stéroïdes, du gallate de propyle et de l'hydroxytoluène butylé. Néanmoins, une utilisation excessive de ces substances peut entraîner des effets secondaires indésirables (Djellouli et al. 2022).

Les vertus anti-inflammatoires des extraits de plantes sont bien documentées par une multitude d'études *in vivo*, *in vitro* et *in silico*. L'objectif principal de cette recherche est d'identifier les composés phytochimiques ayant des effets anti-inflammatoires. Nombre d'entre eux agissent en bloquant les voies de la COX (cyclo-oxygénase), ainsi que par d'autres mécanismes (Rahim 2023).

Une initiative de recherche mondiale est en cours pour étudier les caractéristiques anti-inflammatoires et antioxydantes de diverses herbes médicinales, dans le souci d'identifier de nouveaux médicaments sûrs et efficaces, à associer aux aliments et aux préparations pharmaceutiques pour remplacer les médicaments préventifs classiques (Djellouli et al. 2022).

Cependant, la consommation de médicaments n'est pas sans conséquence, certains effets secondaires étant particulièrement importants. Pour faire face aux effets secondaires des molécules de synthèse, la société s'est orientée vers les molécules naturelles et les huiles essentielles. En effet, certaines huiles essentielles, comme celle de *J. oxycedrus*, sont reconnues pour leurs propriétés anti-inflammatoires, notamment grâce à leur teneur en α -pinène. Elles sont particulièrement appréciées dans le traitement des maladies arthritiques. Il a été démontré que cette huile inhibe l'activation du NF-kB provoquée par des cytokines pro-inflammatoires, notamment l'IL-1, et réduit la sécrétion de NO (Neves et al. 2009).

Outre les huiles essentielles, d'autres composés naturels, comme le linalol et l'acétate de linalyle s'illustrent également par leurs propriétés anti-inflammatoires (Peana et al. 2002).

II.5.4 Activité antifongique

Plusieurs recherches récentes ont révélé les diverses propriétés biologiques des plantes aromatiques et médicinales, notamment leurs propriétés antifongiques, antibactériennes et antioxydantes. Par conséquent, les huiles essentielles trouvent leur application dans des

domaines variés : conservation des aliments, parfumerie, cosmétique, pharmaceutique et l'industrie alimentaire en vertu de leurs propriétés inhérentes. Dans cette optique, plusieurs recherches ont démontré que les extraits de certaines plantes ont un effet inhibiteur sur la prolifération et la production de toxines de diverses bactéries et champignons qui causent des infections alimentaires (Nielsen and Rios, 2000 ; Tzortzakis, 2007 ; Amarti et al. 2010).

Partie II :
Étude expérimentale

Chapitre I :
Matériels et méthodes

I.1 Introduction

Afin d'analyser la composition chimique des plantes et d'évaluer leur activité biologique en laboratoire, il était nécessaire d'extraire les principaux composés contenant différents groupes chimiques.

I.2 Objectif du travail

Cette étude visait à déterminer la teneur en composés phénoliques des feuilles de *J. oxycedrus* ainsi que d'évaluer leurs propriétés anti-radicalaires et antibactériennes. Pour cela, les feuilles ont été récoltées dans deux régions distinctes : Bouira et Béjaia, avec l'utilisation de deux techniques d'extraction, à savoir la macération et les ultrasons.

I.3 Matériel et méthodes

I.3.1 Matériel végétal

Les feuilles de *J. oxycedrus* ont été collectées dans la région d'Oued Lekhal de la Wilaya de Bouira et dans la région d'Amizour pour celle de Bejaia en février 2024.

I.3.2 Méthodes

I.3.2.1. Préparation de la poudre des feuilles

A) Séchage

Le séchage consiste à laisser les plantes se déshydrater. Il s'agit d'une étape cruciale du processus, car elle garantit la préservation des principes actifs et protège l'échantillon de la dégradation ou du pourrissement.

L'objectif du séchage est de réduire la teneur en eau des plantes à un niveau permettant leur conservation. Les feuilles de *J. oxycedrus* ont été méticuleusement lavées à l'eau après la récolte afin d'éliminer les impuretés et la poussière. Pour compléter le processus de séchage, les feuilles ont été placées dans une étuve à 40°C.

B) Broyage

Après séchage, les feuilles de nos échantillons ont été broyées et homogénéisées à l'aide d'un moulin à café jusqu'à l'obtention d'une poudre fine.

C) Tamisage

Une fois le broyage est terminé, la poudre a été tamisée à travers un tamis de 250 μm de diamètre afin d'assurer une texture uniforme. La poudre a été conservée dans des flacons en verre, en obscurité totale, jusqu'à son utilisation.

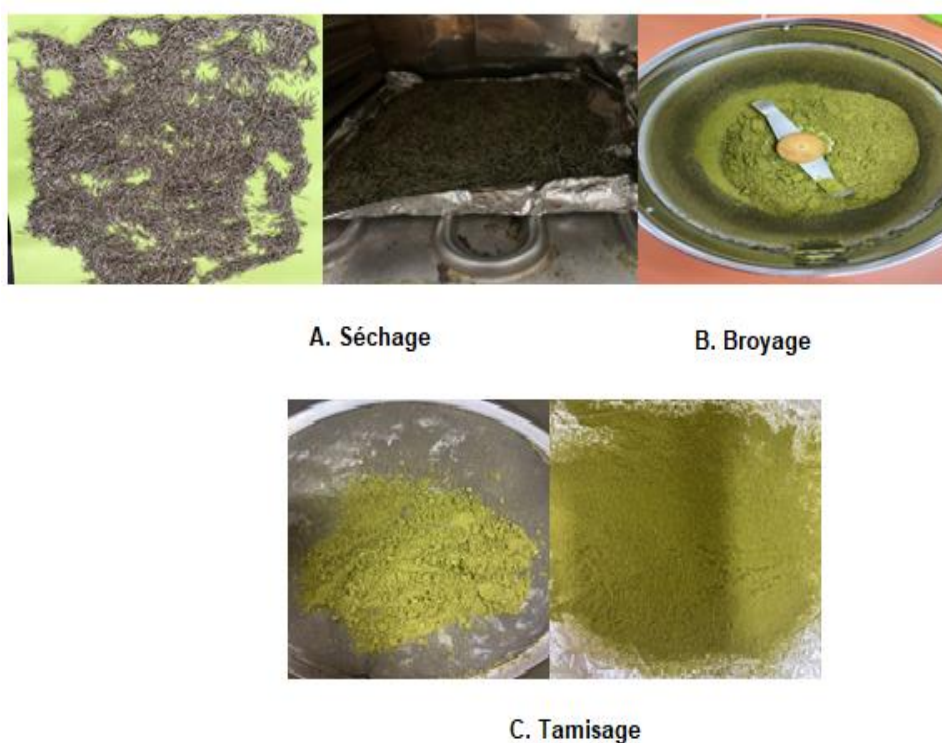


Figure 1: Préparation de la poudre des feuilles de *Juniperus oxycedrus* (photographie originale).

I.3.2.2. Procédures d'extraction

Les propriétés antioxydantes et antibactériennes de nos échantillons ont été évaluées en utilisant deux méthodes d'extraction : l'extraction par ultrasons et la macération. L'extraction solide-liquide implique le transfert d'une substance solide vers un solvant liquide (Benabdallah 2016).

A. Extraction par macération

➤ Principe

La macération implique la mise en contact prolongé de la poudre de matière végétale avec un solvant pour extraire les composés actifs, le tout à température ambiante (Faye et al. 2022).

Pour extraire les polyphénols de *J. oxycedrus* par macération, le protocole que nous avons choisi est celui décrit par Falleh et al. (2008) avec quelques ajustements. La poudre de feuilles de *J. oxycedrus* a été ajoutée dans un bécher, puis humidifiée avec d'éthanol à 70% dans un rapport poids/volume de 1/10. Le mélange a ensuite été agité pendant 24 heures sur une plaque d'agitation à température ambiante, dans un endroit protégé de la lumière pour éviter l'oxydation.

Une fois l'extraction terminée, le mélange a été passé à travers un filtre en papier Wattman N°3 pour séparer les résidus solides de l'extrait liquide. Le filtrat a ensuite été recueilli et placé dans une étuve à une température de 40°C jusqu'à évaporation du solvant. L'extrait éthanolique obtenu a été conservé dans des flacons verre fermés, à l'abri de la lumière à 4°C.

B. Extraction assistée par ultrasons

L'utilisation des ultrasons pour extraire les composés bioactifs est considérée comme une alternative rentable aux méthodes d'extraction conventionnelles. L'utilisation des ultrasons a déjà démontré un impact significatif sur l'extraction des composés phénoliques à partir des matrices végétales (Ghitescu et al. 2015). Les ultrasons facilitent l'extraction des composés en augmentant la surface de contact entre le solvant et la poudre, ils améliorent également la diffusion du solvant et accélèrent le processus d'extraction (Galvan d'Alessandro et al., 2012).

200 ml d'éthanol à 70 % sont mises en contact avec 20 g de poudre dans un bain à ultrasons à une température de 42°C. Le processus d'extraction a été mené pendant 20 minutes à une puissance de 120 W et une fréquence de 40 kHz.

Les mélanges obtenus ont été filtrés sur du papier Wattman, puis séchés dans une étuve à 40°C. Puis, les extraits ont été conservés dans des flacons en verre à l'abri de la lumière et à 4°C. Ceci afin d'assurer une conservation optimale et de maintenir la stabilité des composés actifs présents dans l'extrait.

I.3.2.3 Calcul des taux d'extraction

Le rendement d'extraction a été calculé à l'aide de la formule proposée par (Falleh et al., 2008) :

$$R (\%) = (PES / PPI) \times 100$$

Où :

- **R** : Rendement en (%).
- **PES** : Poids de l'extrait sec (g).
- **PPI** : Poids initial de la poudre (g).

I.3.3 Dosage des composés phénoliques

I.3.3.1. Dosage des phénols totaux

La méthode de Folin-Ciocalteu, une technique spectrophotométrique couramment utilisée, a été employée pour quantifier la teneur totale en polyphénols dans les extraits de *J. oxycedrus*, conformément à la procédure décrite par (Singleton and Rossi 1965). Cette méthode est largement utilisée pour le dosage de ces composés dans les extraits végétaux (Boizot and Charpentier 2006b).

➤ Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). En présence de composés phénoliques, ce réactif subit une réaction d'oxydation qui produit des oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la coloration bleue ainsi générée est proportionnelle à la concentration en polyphénols présents dans les extraits végétaux analysés (Boizot and Charpentier 2006).

➤ Mode opératoire

Pour réaliser le dosage des polyphénols totaux, 200 μ l d'extrait végétal ont été mélangés avec 1,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10. Après 5 minutes d'incubation, 1,5 ml d'une solution de carbonate de sodium à 6% (annexe II) ont été ajoutés à chaque tube. Les échantillons ont ensuite été incubés pendant 1 heure et 30 minutes, avant de mesurer leur absorbance à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible. Simultanément, une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions, en utilisant différentes concentrations d'acide gallique. Les résultats finaux sont exprimés en milligrammes d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS) (annexe III.1).

I.3.3.2 Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

Le principe de cette méthode repose sur la formation d'un complexe stable entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium (AlCl_3). Le résultat est un complexe jaune stable (Lagnika, 2005; Arvouet-Grand et al. 1994).

➤ Mode opératoire

1 ml d'extrait a été mélangé à 1 ml de solution d' AlCl_3 (2%) (annexe II) dans des tubes à essai. La solution est laissée incuber pendant 20 minutes dans l'obscurité. L'absorbance est alors mesurée à 415 nm.

Pour déterminer la teneur en flavonoïdes dans les échantillons, une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant la quercétine comme standard. Cette courbe permet de relier l'absorbance mesurée à la concentration en flavonoïdes. Les expériences ont été réalisées en trois exemplaires et les résultats sont mg EQ/g MS (exprimés en milligrammes d'équivalent quercétine par gramme de matière sèche) (annexe III.2).

I.3.3.3. Dosage des flavonols

➤ Principe

Afin de mesurer la quantité de flavonols, une méthode similaire à celle utilisée pour les flavonoïdes a été employée. Le processus repose sur la formation d'un complexe stable entre le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et l'oxygène en position C4 des flavonols, ainsi qu'avec les groupes hydroxyles (OH) en position C3 ou C5. Cette réaction produit une réaction jaune (Arvouet-Grand et al. 1994).

Dans cette méthode, l'acétate de sodium a été utilisé comme additif dans la réaction. Les hydroxyles phénoliques fortement acides peuvent être ionisés, ce qui facilite leur détection et augmente la sensibilité de la méthode (Rosler et al. 1985).

➤ Mode opératoire

500 μl d'extrait de feuilles ont été mélangés à 500 μl de trichlorure d'aluminium (2%) (annexe II) et 750 μl d'acétate de sodium à 5%. Après 2 heures et 30 minutes d'incubation dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 440 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant la quercétine comme étalon, et la teneur en flavonols est exprimée en milligrammes d'équivalents quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS) (annexe III.3). Toutes les expériences ont été réalisées en trois exemplaires afin de garantir la précision et la fiabilité des résultats.

I.3.3.4. Dosage des composés liposolubles

10 ml d'un mélange acétone-hexane (4 : 6 v/v) ont été mélangés à 150 mg de chaque poudre végétale et homogénéisés pendant 1 minute. Les mélanges ont été filtrés et l'absorbance du filtrat obtenu a été mesurée à différentes longueurs d'onde : 453 nm, 505 nm, 645 nm et 663 nm, afin de permettre la détermination des différents pigments et composés présents dans les extraits, tels que les chlorophylles, les caroténoïdes ou d'autres molécules colorées (Barros et al. 2007).

Les concentrations de composés liposolubles dans les poudres ont été calculées à l'aide des formules suivantes :

- β -carotène (mg/g MS) = $0,216 \times A_{663} - 1,220 \times A_{645} - 0,304 \times A_{505} + 0,452 \times A_{453}$.
- Lycopène (mg/g MS) = $-0,0458 \times A_{663} + 0,204 \times A_{645} - 0,304 \times A_{505} + 0,452 \times A_{453}$.
- Chlorophylle a (mg/g MS) = $0,999 \times A_{663} - 0,0989 \times A_{645}$.
- Chlorophylle b (mg/g MS) = $-0,328 \times A_{663} + 1,77 \times A_{645}$.

I.3.3.5 Dosage des tanins condensés

La méthode de la vanilline décrite par Julkunen-Tiitto (1985) a permis de mesurer la quantité de tanins condensés.

➤ Mode opératoire

Le mélange réactionnel est composé de 1500 μ l d'une solution de vanilline à 4%, 500 μ l de l'extrait et 750 μ l d'acide chlorhydrique (HCl) concentré. Le mélange a été incubé à température ambiante pendant 20 minutes et l'absorbance a été mesurée à 550 nm. La solution de catéchine a été utilisée comme étalon. Les résultats ont été enregistrés en trois exemplaires et exprimés en milligrammes d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg CE/g MS) (annexe III.4) (Julkunen-Tiitto 1985) .



Figure 2: Dosage des tannins condensés (photographie originale).

I.4. Evaluation de l'activité antioxydante

Les extraits de feuilles de *J. oxycedrus* sont analysés à l'aide de trois méthodes analytiques : le test DPPH, le test ABTS et le test FRAP. Ces techniques nous permettent d'évaluer la capacité de piégeage des radicaux libres des extraits, démontrant ainsi leur efficacité antioxydante.

I.4.1. Évaluation de l'activité antioxydante par la méthode du radical DPPH

Les échantillons sont évalués pour leur activité antioxydante en utilisant la méthode colorimétrique DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle). L'objectif de cette méthode est d'évaluer la capacité des échantillons à convertir le radical DPPH, un composé stable de couleur violette, en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine, de couleur jaune, lorsqu'il est réduit par un antioxydant. Le changement de couleur est suivi par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 517 nm. Cette réaction se produit lorsque l'antioxydant donne un atome d'hydrogène (H) au radical DPPH (Blois 1958 ; Brand-Williams et al. 1995).

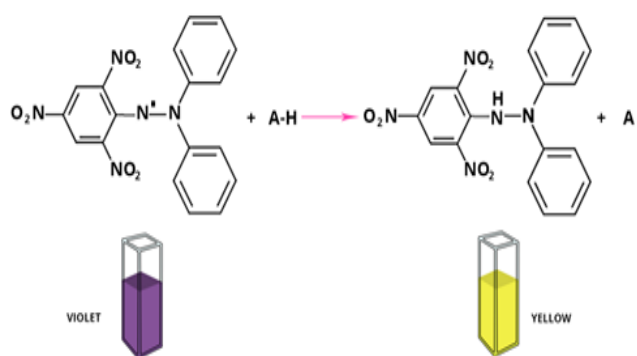


Figure 3: Réduction du radical DPPH (Dabadi et al. 2023).

➤ Mode opératoire

1,5 ml de la solution du radical DPPH (60 μ M) (annexe II) ont été mélangés à 500 μ l d'extraits à des différentes concentrations allant de 50 à 300 μ g/mL (Masuda et al., 1999 ; Maisuthisakul et al., 2007). Par la suite, l'absorbance de chaque échantillon a été évaluée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. De façon similaire, l'acide gallique et la quercétine ont été utilisés comme antioxydants de référence à diverses concentrations (annexe III.5). Le contrôle négatif a été préparé en mélangeant la solution de radicaux DPPH $^{\cdot}$ avec de l'éthanol, puis incubé dans l'obscurité pendant 30 minutes.

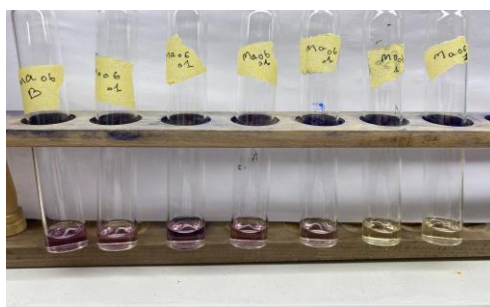


Figure 4: Test DPPH (Photographie originale).

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$I (\%) = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

- **I (%)** : le pourcentage d'inhibition du radical DPPH ;
- **A₀** : l'absorbance du contrôle négatif ;
- **A₁** : l'absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'extrait en présence d'inhibiteur du radical.

La capacité de piégeage du radical DPPH a été évaluée par l'IC₅₀ de chaque extrait, qui correspond à la concentration de l'extrait qui réduit 50% du radical DPPH.

I.4.2. Mesure de l'activité antioxydante par le test ABTS

Le test ABTS est basé sur l'oxydation de l'ABTS incolore en radical ABTS $^{\cdot+}$ (bleu-vert) par le persulfate de potassium (K₂S₂O₈), puis sur la réduction de ce radical en ABTS stable par l'action d'un antioxydant. L'activité antioxydante de nos extraits est déterminée en calculant le pourcentage d'inhibition du radical ABTS $^{\cdot+}$ à 734 nm (Osman et al. 2006 ; Moon and Shibamoto 2009).

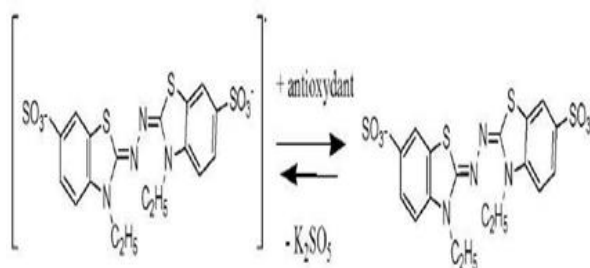


Figure 5: Formation de radical d'ABTS en présence du persulfate de potassium (El Rayess et al. 2014).

➤ Mode opératoire

Le radical ABTS a été préparé en mélangeant une solution d'ABTS (acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) avec du persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) à une concentration de 2,45 mM (annexe II). Ce mélange a ensuite été incubé dans l'obscurité à température ambiante pendant 12 à 16 heures avant utilisation (Re et al. 1999). La solution d'ABTS⁺ a ensuite été diluée avec de l'eau distillée pour obtenir une absorbance de $0,700 \pm 0,020$ à 734 nm.

Mesure de l'activité

1,9 ml de solution d'ABTS⁺ a été mélangé avec 100 µl d'extrait à des concentrations différentes. Le blanc est préparé en combinant 100 µl d'éthanol à 70 % avec 1,9 ml de solution ABTS⁺. Les absorbances sont mesurées à 734 nm après 5 minutes d'incubation à température ambiante et à l'ombre.

Un contrôle positif a été mis en place pour valider la méthode d'évaluation du pouvoir antioxydant et pour fournir un point de comparaison. Ce contrôle a été réalisé en utilisant deux antioxydants de référence : l'acide gallique et la quercétine. Ces composés ont été utilisés à différentes concentrations pour évaluer la réponse du test et apprécier l'activité antioxydante relative des extraits étudiés (annexe III.6).

Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS⁺ est calculé selon l'équation suivante :

$$I (\%) = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

➤ **I (%)** : Pourcentage d'inhibition du radical ABTS ;

- **A0** : Absorbance en absence de l'extrait ;
- **A1** : Absorbance en présence de l'extrait.

I.4.3. Test de réduction du fer (FRAP)

➤ Principe

Selon Oyaizu (1986), ce test repose sur la réaction de réduction du ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$), un composé contenant du fer ferrique (Fe^{3+}), en ferrocyanure de potassium ($K_4Fe(CN)_6$), un composé contenant du fer ferreux (Fe^{2+}), par un antioxydant réducteur présent dans les extraits. Cette réaction est observée par un changement de couleur du jaune au bleu-vert.

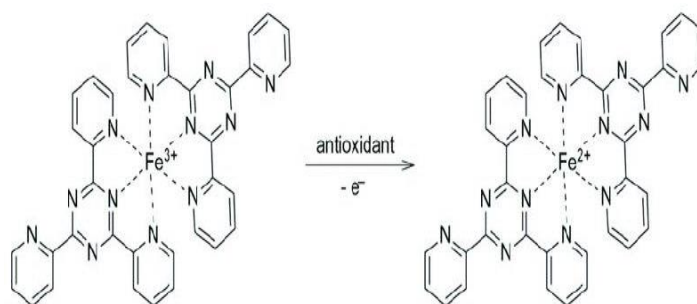


Figure 6: Réduction du fer (Bedlovicova et al. 2020).

➤ Mode opératoire

500 μ l d'extrait de feuilles de *J. oxycedrus* ont été mélangées avec 1 ml de tampon phosphate (pH 6,6) et à 1 ml de solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ (1 %) (annexe II). Puis, le mélange a été mis dans un bain-marie à une température de 50°C pendant 20 minutes.

Ensuite, 1 ml d'acide trichloracétique (10%) (annexe II) ont été ajouté dans le mélange réactionnel afin de stopper la réaction. Par la suite, 1 ml de cette solution a été prélevé et combiné avec 1 ml d'eau distillée et 200 μ l d'une solution de chlorure de fer à 0,1% ($FeCl_3, 6H_2O$). Une incubation de 10 minutes à l'ombre et à température ambiante est nécessaire avant de mesurer l'absorbance du mélange à 700nm.

La solution d'acide ascorbique a été utilisée comme contrôle positif. L'absorbance du contrôle positif a été mesurée selon le même protocole expérimental et les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EASC/g MS) (annexe III.7).

I.5. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits a été testée par la méthode de diffusion sur disque (Yakhlef et al. 2011) .

+ Les milieux de culture

- La gélose Mueller Hinton est utilisée pour étudier la sensibilité des bactéries ;
- La gélose nutritif est utilisée pour maximiser la croissance des bactéries (Yakhlef et al. 2011) (annexe IV).

+ Stérilisation du matériel

Tout le matériel utilisé dans cette étude pour préparer les suspensions bactériennes (inoculum) et les dilutions de nos échantillons a été autoclavé à 121°C pendant 15 minutes.

+ Les souches testées

Les différents extraits de *J. oxycedrus* ont été testés contre un panel de cinq bactéries pathogènes : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Salmonella* et *Acinetobacter* (annexe V).

+ Préparation des extraits

Les extraits de *J. oxycedrus* ont été solubiliser dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) avec une concentration initiale 100mg/ml, puis une dilution de 1/2 a été réaliser.

+ Préparation des suspensions bactériennes

À l'aide d'une anse de platine stérile, quelques colonies bien séparées d'une jeune culture bactérienne cultivée pendant 24 heures sont prélevées. Les colonies sont ensuite transférées dans 9 ml d'eau physiologique.

Ajuster la densité optique de l'inoculum en mesurant son absorbance à 625 nm à l'aide d'un spectrophotomètre pour obtenir une densité optique d'environ 0,08 à 0,1, correspondant à une concentration de 10^7 à 10^8 UFC/ml.

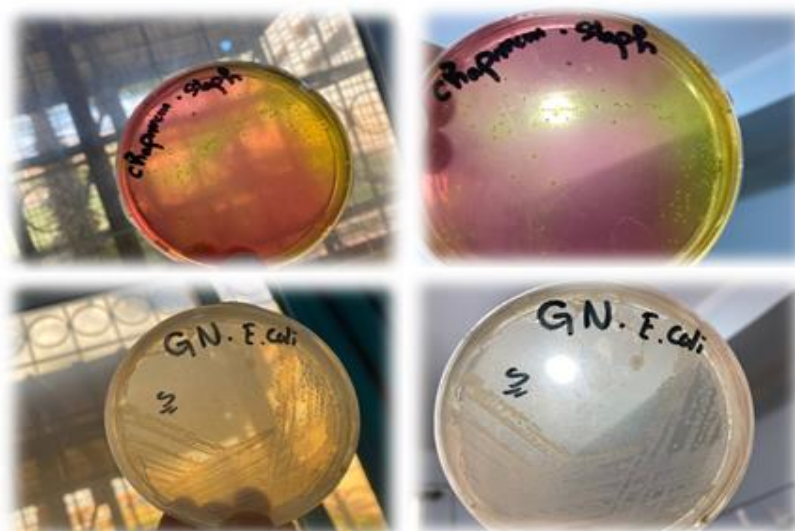


Figure 7 : Souches bactériennes repiquées sur les milieux d’isolément (photographie originale).

✚ Ensemencement par écouvillonnage

L'étalement de la suspension bactérienne sur la gélose Muller-Hinton s'effectue en utilisant un écouvillon stérile. Des disques de 9mm contenant différentes concentrations d'extraits sont ensuite placés sur les géloses. Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées pendant 2 heures à température ambiante pour assurer une bonne diffusion des extraits testés, avant d'être incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures.

✚ Mesure d'activité

La méthode de diffusion sur disque permet d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits en mesurant les zones d'inhibition de croissance bactérienne autour des disques imprégnés d'extraits.

I.6. Analyse statistique des résultats

Dans cette étude, toutes les données ont été présentées comme la moyenne \pm écart-type des valeurs obtenues, et toutes les expériences ont été réalisées en trois exemplaires et de manière indépendante. La méthode de régression linéaire avec Excel a été utilisée pour obtenir les lignes droites des courbes d'étalonnage, tandis que les concentrations d'inhibition à 50 % ont été calculées à l'aide du logiciel Origin Pro version 2022.

Chapitre II :
Résultats et discussion

II.1. Taux d'extraction

Le rendement d'extraction représente la quantité de substances naturelles extraites par l'action d'un solvant, par rapport à la quantité totale de ces substances présentes initialement dans la matière végétale (Do et al., 2014). Dans cette étude, les valeurs de rendement ont été exprimées en pourcentage (%) de la masse d'extrait obtenue par rapport à la masse de matière sèche végétale utilisée.

Les résultats de cette étude révèlent que les rendements d'extraction obtenus avec les deux méthodes employées, en utilisant l'éthanol à 70 % comme solvant d'extraction, varient en fonction de la technique d'extraction appliquée et de l'origine de l'espèce. Cette tendance est clairement illustrée dans la figure ci-dessous.

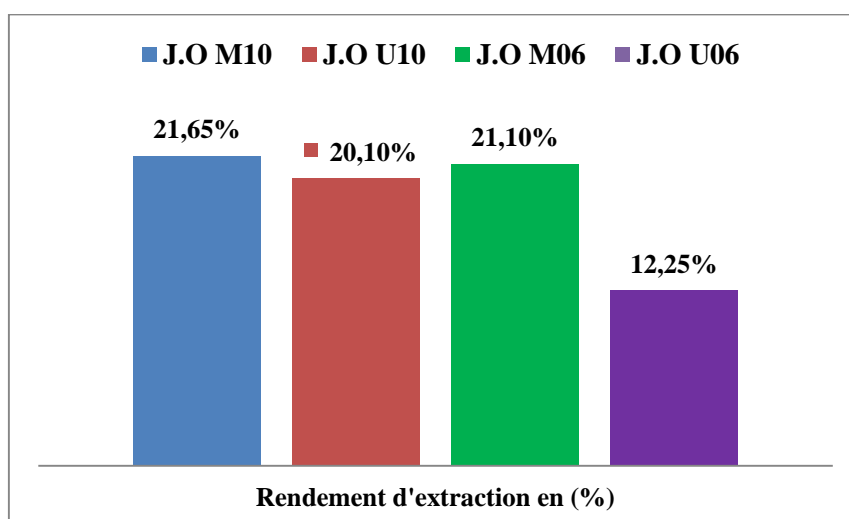


Figure 18 : Taux d'extraction par macération et ultrasons des feuilles *Juniperus oxycedrus*. J.O M10 : *J. oxycedrus* macération Bouira ; J.O U10 : *J. oxycedrus* ultrason Bouira ; J.O M06 : *J. oxycedrus* macération Béjaïa ; J.O U06 : *J. oxycedrus* ultrasons Béjaïa.

L'étude a révélé que la méthode de macération permettait d'obtenir de meilleurs rendements d'extraction pour les deux plantes de *J. oxycedrus* étudiées, comparativement à la méthode d'extraction par ultrasons. Cela démontre l'efficacité supérieure de la macération pour extraire les composés recherchés, malgré les conditions sont similaires entre les deux méthodes en termes de quantité de matériel végétal et de type de solvant utilisé.

En comparant les rendements pour les deux origines géographiques, les meilleurs résultats ont été obtenus avec l'extrait de *J. oxycedrus* provenant de Bouira, extrait par macération, avec un rendement de 21,65%. À l'inverse, la macération de la plante de Béjaïa a

donné un rendement de 21,1%. Concernant les extraits obtenus par ultrasons, les rendements sont moindres, atteignant 20,1% pour la plante de Bouira et seulement 12,25% pour celle de Béjaïa.

Les résultats de cette étude diffèrent considérablement de ceux rapportés par Athamena (2021). Dans ses travaux, Athamna a utilisé trois solvants de polarité différente (hexane, dichlorométhane et méthanol) pour extraire les composés bioactifs d'autres espèces du genre *Juniperus*, notamment *J. thurifera*, avec des rendements allant de 3,1% à 8,5%.

D'autres études, comme celle de Chaouche et al. (2015), ont démontré des valeurs de rendement plus élevées, comprises entre 1,4% et 12,1% pour *J. oxycedrus subsp. oxycedrus*.

Il est important de noter qu'il n'existe pas de méthode d'extraction standard qui convienne à toutes les études, car cela dépend des objectifs spécifiques de chaque travail (Ayouni et al., 2016). Cette divergence dans les variations du taux d'extraction peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment la solubilité des composés, la méthode d'extraction employée, les caractéristiques des solvants utilisés, la durée du processus, les conditions de température lors de l'extraction, ainsi que la taille des particules végétales (Naczka and Shahidi 2004 ; Zhang and Hayat 2009 ; Dane et al. 2016).

Il est donc essentiel de prendre en compte ces différents paramètres lors de la conception d'une méthode d'extraction afin d'obtenir des rendements optimaux, fiables et comparables.

II.2. Dosages des composés phénoliques

II.2.1. Dosage des polyphénols totaux

L'évaluation de la présence de composés phénoliques dans le matériel végétal a été réalisée à l'aide de techniques colorimétriques par spectrophotométrie UV-visible. Pour une extraction efficace de ces composés, deux facteurs clés sont à prendre en compte : la technique d'extraction et le solvant utilisé (Turkmen et al. 2007).

La méthode colorimétrique avec courbe d'étalonnage a été employée pour déterminer la concentration des phénols totaux dans les extraits. L'acide gallique a servi de standard de référence pour établir la courbe d'étalonnage (annexe III.1), permettant de convertir l'absorbance mesurée du mélange échantillon-réactif en une concentration de phénols totaux exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg

EAG/g MS). L'équation spécifique utilisée est $y = 0,0255x - 0,2126$, avec un coefficient de détermination (R^2) de 0,9943.

Les résultats de l'analyse des extraits de *J. oxycedrus* (figure 19) montrent que l'espèce provenant de la région de Bouira a une teneur en composés phénoliques plus élevée que celle de la wilaya de Béjaïa. De plus, l'utilisation de la méthode d'extraction par ultrasons a permis d'obtenir des concentrations en composés phénoliques plus importantes que la méthode de macération, et ce quelle que soit l'origine géographique de l'espèce.

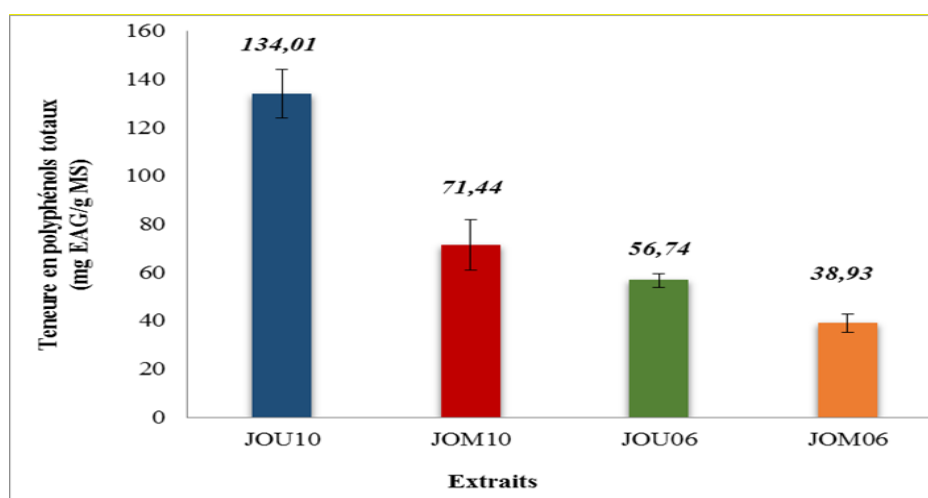


Figure 1: Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits de feuilles de *Juniperus oxycedrus*. Les résultats sont obtenus en calculant la moyenne de trois essais et les barres verticales présentes sur le graphique représentent les écart-types. J.O M10 : *J. oxycedrus* macération Bouira ; J.O U10 : *J. oxycedrus* ultrasons Bouira ; J.O M06 : *J. oxycedrus* macération Béjaïa ; J.O U06 : *J. oxycedrus* ultrasons Béjaïa.

Les concentrations de polyphénols dans les extraits de feuilles de *J. oxycedrus* obtenus dans cette étude sont considérablement plus élevées que celles rapportées par d'autres travaux. Par exemple Miceli et al. (2009) ont observé des valeurs de $59,17 \pm 1,65$ mg GAE/g d'extrait et $17,64 \pm 0,09$ mg GAE/g d'extrait dans les extraits méthanoliques de baies de *J. communis* L. var. *communis* et *J. communis* L. var. *saxatilis* en provenance de Turquie. De plus, les résultats de la présente étude sont nettement supérieurs à ceux des extraits éthanoliques des parties aériennes de *J. oxycedrus* de l'Aghouat ($12,66 \pm 0,41$ mg GAE/g MS) rapportés par (Djeridane et al. 2006).

Par ailleurs, les résultats obtenus sont en accord avec ceux de Soltani et al. (2017), qui ont constaté que l'éthanol était le solvant le plus adapté pour extraire des teneurs élevées en composés phénoliques totaux par rapport au méthanol et à l'acétate d'éthyle. De plus, ils ont observé que les feuilles de *J. phoenicea* L. de l'ouest de l'Algérie étaient plus riches en ces

composés que les fruits. Cela démontre que les feuilles de cette espèce contiennent de nombreux composés phénoliques, qui ont la capacité d'agir simultanément contre plusieurs pathologies, en particulier celles liées au vieillissement et aux dommages oxydatifs tels que les cancers, les maladies cardiovasculaires et les maladies neurodégénératives (Leong and Shui 2002).

Ces différences soulignent l'importance des caractéristiques de la plante (espèce, organe, stade de développement, etc.) ainsi que des paramètres d'extraction (solvant, technique, etc.) dans la modulation du profil phénolique des extraits. Cependant, l'interprétation des résultats obtenus par la méthode de Folin-Ciocalteu doit tenir compte de la présence potentielle de composés interférents dans les extraits, pouvant entraîner une surestimation de la concentration totale des phénols (Khettal et al. 2017).

II.2.2. Dosage des flavonoïdes

Afin d'évaluer les teneurs en flavonoïdes dans les échantillons, la méthode au trichlorure d'aluminium a été utilisée. Une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant la quercétine comme composé de référence. La régression linéaire obtenue a pour équation $y = 0,0287x$, avec un coefficient de détermination $R^2 = 0,9966$ (annexe III.2).

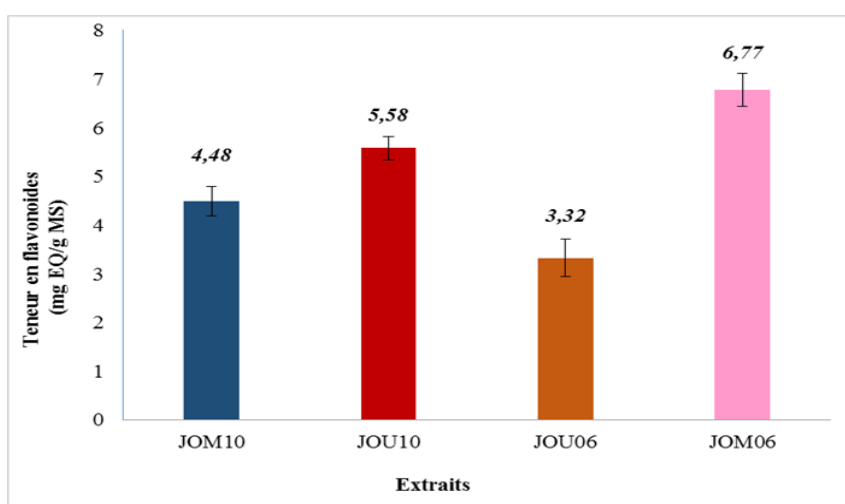


Figure 2: Teneurs en flavonoïdes des extraits des feuilles de *Juniperus oxycedrus*

Les résultats sont obtenus en calculant la moyenne de trois essais et les barres verticales présentes sur le graphique représentent les écart-types. J.O M10 : *J. oxycedrus* macération Bouira ; J.O U10 : *J. oxycedrus* ultrasons Bouira ; J.O M06 : *J. oxycedrus* macération Béjaia ; J.O U06 : *J. oxycedrus* ultrasons Béjaia.

D'après les résultats présentés dans la figure 20, il apparaît que la teneur en flavonoïdes totaux extraits des végétaux peut présenter une importante variabilité. Cette variabilité semble

dépendre principalement de deux facteurs clés : l'origine géographique de l'espèce végétale et la méthode d'extraction employée.

En effet, l'extrait de *J. oxycedrus* provenant de la région de Béjaïa et obtenu par macération présente la plus forte concentration en flavonoïdes, atteignant $6,77 \pm 0,34$ mg EQ/g MS. A l'inverse, pour les échantillons récoltés dans la Wilaya de Bouira, la méthode d'extraction par ultrasons a permis d'obtenir des concentrations en flavonoïdes plus élevées ($5,58 \pm 24$ mg EQ/g MS) que la macération ($4,48 \pm 0,3$ mg EQ/g MS).

Cependant, lorsque la méthode par ultrasons est appliquée aux échantillons de *J. oxycedrus* de Béjaïa, elle donne la plus faible concentration en flavonoïdes avec $3,32 \pm 0,38$ mg EQ/g MS.

Ainsi, ces résultats soulignent l'importance des deux facteurs que sont l'origine de l'espèce végétale et la technique d'extraction utilisée, qui semblent jouer un rôle déterminant sur les teneurs finales en flavonoïdes des extraits.

En effet, nos résultats ont montré des teneurs en flavonoïdes supérieures à celles enregistrées dans plusieurs recherches antérieures, telles que celles de Fadel et al. (2016) et Djeridane et al. (2006), qui ont travaillé sur la même espèce *J. oxycedrus* et utilisé le même solvant d'extraction (respectivement 2,27 et 3,50 mg EQ/g MS). Notre teneur en flavonoïdes était également supérieure à celle trouvée dans les extraits de *J. phoenicea* étudiés par Fadel et al. (2016).

Plusieurs éléments peuvent expliquer cette déférence dans les niveaux de flavonoïdes observés. Parmi ces éléments, on peut citer l'origine géographique des plantes, la méthode d'extraction, ainsi que le solvant d'extraction utilisé.

II.2.3 Dosage des flavonols

Les résultats du dosage des flavonols dans les extraits de feuilles de genévrier indiquent que leurs quantités varient en fonction de l'origine géographique des feuilles de la plante et de la méthode d'extraction utilisée (figure 21).

Une teneur en flavonols significativement plus élevée a été observée dans l'extrait éthanolique de feuilles de genévrier provenant de la région de Béjaïa, obtenu par macération ($12,7 \pm 0,55$ mg EQ/g MS). Par contre, les autres extraits, qu'ils soient issus de feuilles

provenant de différentes origines ou obtenus par des méthodes d'extraction différentes, ont montré des teneurs en flavonols similaires.

Ces résultats sont significativement plus élevés que ceux rapportés précédemment par Fadel et al. (2016), qui avaient indiqué des teneurs en flavonols de l'ordre de 3,15 et 2,71 mg EQ/g MS, respectivement pour les extraits des parties aériennes de *J. oxycedrus* et *J. phoenicea* provenant de la région de Batna.

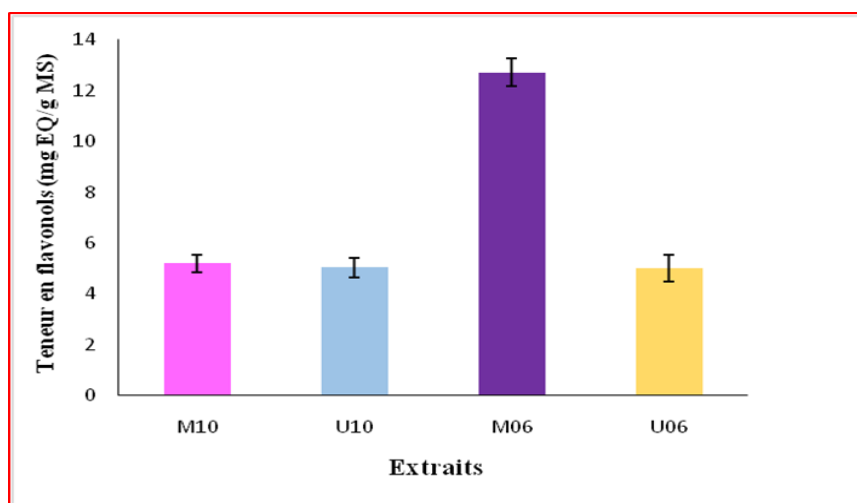


Figure 3: Teneurs en flavonols des extraits des feuilles de *Juniperus oxycedrus*.

Les résultats sont obtenus en calculant la moyenne de trois essais et les barres verticales présentes sur le graphique représentent les écart-types. J.O M10 : *J. oxycedrus* macération Bouira ; J.O U10 : *J. oxycedrus* ultrasons Bouira ; J.O M06 : *J. oxycedrus* macération Béjaïa ; J.O U06 : *J. oxycedrus* ultrasons Béjaïa.

II.2.4 Dosage des tannins condensés

Les résultats du dosage des tannins (figure 22), montrent que leurs teneurs dépendent considérablement de l'origine géographique des feuilles de genévrier utilisées, ainsi que de la méthode d'extraction employée. En effet, les extraits de feuilles de genévrier provenant de la région de Béjaïa, obtenus par macération, se sont révélés plus riches en tannins que ceux obtenus par extraction aux ultrasons (respectivement 86,37 et 45,49 mg Ecat/g MS).

Contrairement aux extraits de feuilles de genévrier provenant de la région de Bouira, c'est l'extraction aux ultrasons qui a permis d'obtenir des extraits plus concentrés en tannins que ceux issus de la macération (respectivement 89,11 et 64,23 mg Ecat/g MS).

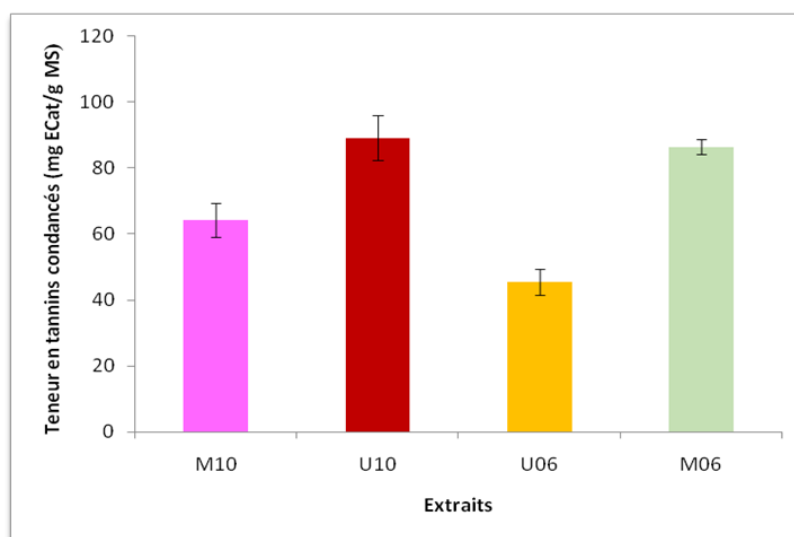


Figure 4: Teneurs en tannins condensés dans les extraits des feuilles de *Juniperus oxycedrus*. Les résultats sont obtenus en calculant la moyenne de trois essais et les barres verticales présentes sur le graphique représentent les écart-types. J.O M10 : *J. oxycedrus* macération Bouira ; J.O U10 : *J. oxycedrus* ultrasons Bouira ; J.O M06 : *J. oxycedrus* macération Béjaia ; J.O U06 : *J. oxycedrus* ultrasons Béjaia.

Les extraits de *J. phoenicea* se sont avérés globalement plus concentrés en ces composés d'intérêt que ceux obtenus à partir de *J. oxycedrus*, ces résultats montrent que les teneurs en tannins dépendent considérablement des paramètres d'extraction comme le solvant utilisé ou la partie de la plante.

Cela suggère que l'espèce *J. phoenicea* provenant de la région d'Oran, serait plus riche en composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les tannins que l'espèce *J. oxycedrus*, pour des conditions d'extraction similaires. Cette différence de teneur pourrait s'expliquer par des facteurs intrinsèques liés aux deux espèces de genévrier (Soltani et al. 2017).

II.2.5 Dosage des composés liposolubles

Les analyses des pigments liposolubles dans les extraits de *J. oxycedrus* révèlent une prédominance de la chlorophylle (a), quel que soit l'origine géographique des feuilles. En effet, les niveaux de chlorophylle (a) sont de $1091 \pm 0,01$ $\mu\text{g/g MS}$ pour les feuilles de Bouira, et de 941 ± 8 $\mu\text{g/g MS}$ pour celles de Béjaia. Toutefois, on observe des différences en termes de seconds pigments les plus abondants. Ainsi, pour les feuilles de Bouira, le lycopène est le deuxième pigment le plus concentré, avec une teneur de $767 \pm 7,1$ $\mu\text{g/g MS}$. Tandis que pour les feuilles de Béjaia, c'est la chlorophylle (b) qui occupe cette position, avec $720 \pm 3,4$ $\mu\text{g/g MS}$.

Ces pigments liposolubles, notamment la chlorophylle (a) , le lycopène et la chlorophylle (b), jouent un rôle crucial dans la protection de l'organisme contre diverses maladies, grâce à leurs propriétés biologiques démontrées (Tighilet et al. 2022).

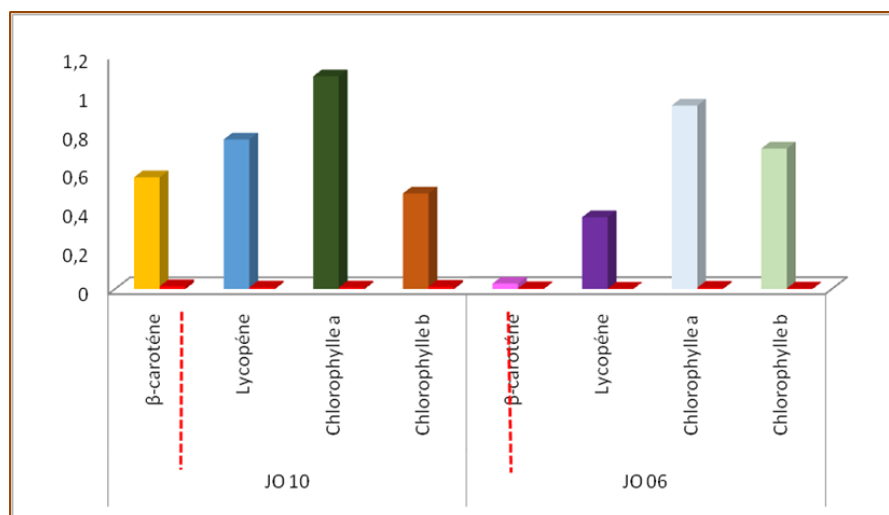


Figure 5: Teneurs en composés liposolubles *Juniperus oxycedrus*.

Les résultats sont obtenus en calculant la moyenne de trois essais et les barres verticales présentes sur le graphique représentent les écart-types. J.O 10 : *J. oxycedrus* Bouira ; J.O 06 : *J. oxycedrus* Béjaia.

II.3. Evaluation de l'activité antioxydante

Dans cette étude, différentes expériences ont été menées afin d'évaluer le potentiel antioxydant des composés isolés à partir des feuilles de *J. oxycedrus* récoltées dans deux régions distinctes.

Les antioxydants jouent un rôle essentiel dans la neutralisation des espèces réactives, notamment via trois principaux mécanismes d'action : Le transfert d'hydrogène, le transfert d'un électron unique et la capacité de chélater les métaux de transition (Tighilet et al. 2022).

II.3.1. Activité scavenging du radical DPPH

Afin d'évaluer l'efficacité des extraits de feuilles de *J. oxycedrus* à piéger les radicaux libres DPPH, nous avons fait réagir la solution DPPH fraîchement préparée avec les différents extraits et les résultats sont présentés dans la figure 24.

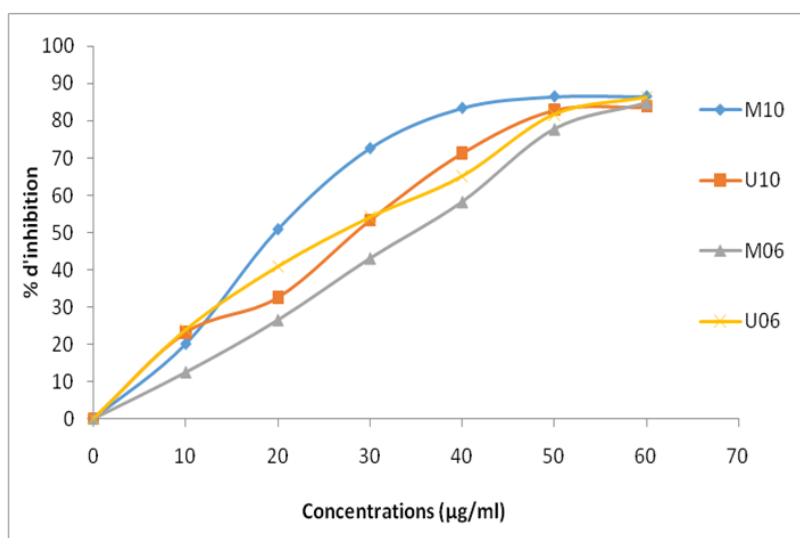


Figure 6: Activité antiradicalaire DPPH des extraits de *Juniperus oxycedrus*. Les résultats sont obtenus en calculant la moyenne de trois essais. J.O M10 : *J. oxycedrus* macération Bouira ; J.O U10 : *J. oxycedrus* ultrasons Bouira ; J.O M06 : *J. oxycedrus* macération Béjaïa ; J.O U06 : *J. oxycedrus* ultrasons Béjaïa .

Les résultats obtenus montrent que les extraits de *J. oxycedrus* et les standards de référence présentent une activité antioxydante qui dépend de la concentration. Autrement dit, la capacité à neutraliser les radicaux libres augmente avec la concentration des extraits. Plus précisément, l'activité antioxydante s'accroît avec la concentration de l'extrait, jusqu'à atteindre un niveau maximal au-delà duquel elle se stabilise.

Ce phénomène peut s'expliquer par le mécanisme de transfert d'électrons. En effet, les électrons présents dans l'orbitale externe de l'azote (N) du radical DPPH réagissent avec les électrons des molécules antioxydantes contenues dans nos extraits. Ce transfert d'électrons entraîne la réduction du radical DPPH et l'atténuation de son activité radicalaire.

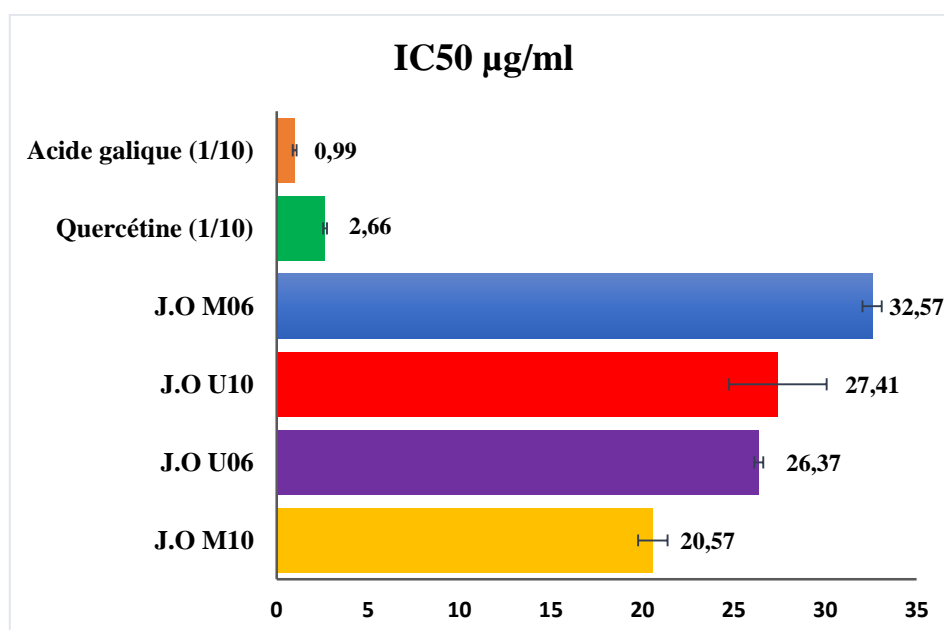


Figure 7: Concentrations d'inhibition de 50% du radical DPPH. Les résultats sont obtenus en calculant la moyenne de trois essais et les barres verticales présentes sur le graphique représentent les écarts-types. J.O M10 : *J. oxycedrus* macération Bouira ; J.O U10 : *J. oxycedrus* ultrasons Bouira ; J.O M06 : *J. oxycedrus* macération Béjaïa ; J.O U06 : *J. oxycedrus* ultrasons Béjaïa .

Sur la base des résultats ci-dessus, nous avons déterminé la concentration inhibitrice à 50 % (IC₅₀) pour chaque extrait. La IC₅₀ représente la concentration d'extrait nécessaire pour réduire de 50 % l'activité antioxydante initiale. Elle est donc inversement proportionnelle à la capacité antioxydante.

Les extraits de feuilles de Bouira ont montré la meilleure activité de piégeage des radicaux libres, avec des IC₅₀ de $20,57 \pm 0,81$ µg/ml pour l'extrait de macération et de $27,41 \pm 2,67$ µg/ml pour l'extrait d'ultrasons. À l'inverse, l'extrait éthanolique de Béjaïa obtenu par macération a montré la plus faible activité antiradicalaire, avec une IC₅₀ de $32,57 \pm 0,52$ µg/ml. Néanmoins, tous les extraits de *J. oxycedrus* étaient moins efficaces que les standards de référence que sont l'acide gallique (IC₅₀ = 1,05 µg/ml) et la quercétine (IC₅₀ = 2,66 µg/ml).

Par rapport aux travaux précédents, les extraits de *J. oxycedrus* de cette étude sont beaucoup plus efficaces que ceux de *J. oxycedrus* et *J. phoenicea* de Batna rapportés par Fadel et al. (2016), qui avaient des IC₅₀ de $403,89 \pm 30,87$ et $481,39 \pm 132,07$ µg/ml respectivement.

II.3.2. Pouvoir de piégeage des radicaux ABTS^{•+}

Les résultats du test effectué ont indiqué qu'une dégradation de la couleur a été observée dans le milieu réactionnel à mesure que la concentration de l'extrait augmentait. Cette approche offre la possibilité de faire une comparaison directe de l'efficacité de divers extraits et de visualiser l'impact de la concentration sur leur activité antiradicalaire.

L'analyse de la capacité de nos extraits à capturer les radicaux libres, ainsi que celle des antioxydants de référence employés (acide gallique et quercétine), est présentée dans la figure 26.

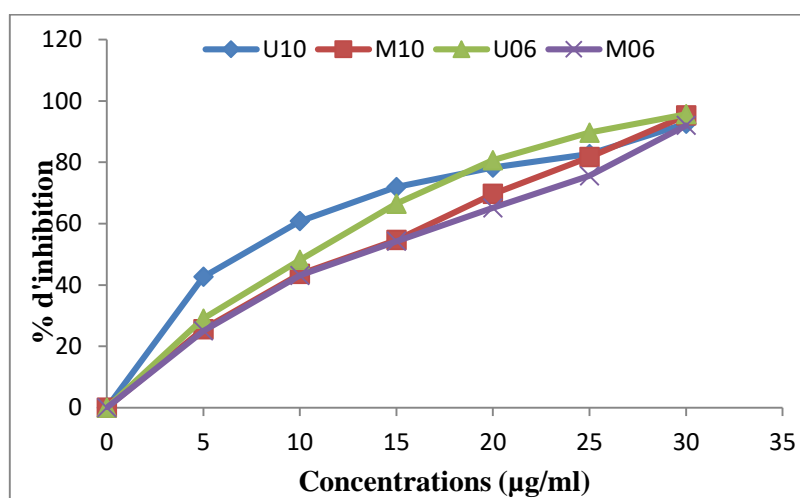


Figure 8: Activité antioxydante des extraits de feuilles de *J. oxycedrus* par le test ABTS^{•+}. La moyenne de trois essais donne les résultats exprimés et les écarts-types sont symbolisés par des bâtons. JOM10 : *J. oxycedrus* macération Bouira ; JOU10 : *J. oxycedrus* ultrasons Bouira ; JOM06 : *J. oxycedrus* macération Bejaïa ; JOU06 *J. oxycedrus* ultrasons Bejaïa.

Selon les résultats présentés, les extraits de feuilles de *J. oxycedrus* obtenus par macération et extraction aux ultrasons ont montré une bonne capacité de piégeage du radical ABTS^{•+}. À une concentration de 5 µg/ml d'extrait, les taux de piégeage varient de 25,10% à 42,65%. Lorsque la concentration est augmentée à 30 µg/ml, tous les extraits présentent des pourcentages de piégeage supérieurs à 90%.

Cependant, cette activité antiradicalaire des extraits de *J. oxycedrus* reste relativement inférieure à celle obtenue avec les standards de référence. En effet, l'acide gallique et la quercétine présentent des pouvoirs piégeurs de radicaux ABTS^{•+} supérieurs à 60% et 80% respectivement, et ce pour une concentration de seulement 7 µg/ml.

Donc les extraits de feuilles de *J. oxycedrus* ont démontré une bonne capacité de neutralisation du radical ABTS•+, mais leur efficacité demeure moindre que celle des composés phénoliques purs comme l'acide gallique et la quercétine. L'extrait obtenu par ultrason des feuilles de *J. oxycedrus* de Bouira a montré une activité antioxydante particulièrement prononcée vis-à-vis du radical ABTS+. Sa concentration inhibitrice à 50% des radicaux ABTS^{•+} était de $7,02 \pm 0,04$ µg/ml, ce qui est relativement proche des concentrations inhibitrices des standards utilisés, tels que la quercétine ($2,72$ µg/ml) et l'acide gallique ($1,56$ µg/ml).

En comparaison, l'extrait de Bejaïa obtenu par ultrasons a enregistré une concentration inhibitrice de $10,09 \pm 0,13$ µg/ml. Cependant, l'extrait de Bejaïa obtenu par macération a présenté le pouvoir de piégeage le moins important, avec une concentration inhibitrice de $13,25 \pm 1,17$ µg/ml.

Tableau IV : Concentrations inhibitrices du radical ABTS^{•+} par les extraits de *J. oxycedrus*

Extrait	% d'inhibition pour 30 µg/ml d'extrait	IC ₅₀ (µg/ml)
JO U10	92,58	$7,14 \pm 0,04$
JO M10	95,23	$12,68 \pm 0,87$
JO U06	95,67	$10,09 \pm 0,13$
JO M06	91,98	$13,25 \pm 1,17$
Acide Gallique	96,10 (pour 6 µg/ml)	$2,72 \pm 0,01$
Quercétine	90,69 (pour 6 µg/ml)	$1,56 \pm 0,04$

*JO M10: *J. oxycedrus* macération Bouira; JO U10: *J. oxycedrus* ultrasons Bouira; JO M06: *J. oxycedrus* macération Béjaïa; JO U06: *J. oxycedrus* ultrasons Béjaïa.

Plusieurs études ont montré que la teneur totale en polyphénols et en flavonoïdes est fortement corrélée à l'activité de piégeage du radical ABTS, avec des coefficients de corrélation d'environ 0,8 (Khettal et al. 2017).

Ces résultats suggèrent que les composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes, sont les principaux responsables de l'activité antioxydante observée dans les extraits de *J.*

oxycedrus (Floegel et al. 2011). Cependant, d'autres chercheurs ont indiqué que l'activité antioxydante pouvait également être influencée par d'autres composés non phénoliques tels que les lipides, les sucres et la chlorophylle (Heim et al. 2002).

Bien que les composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes, jouent un rôle majeur dans l'activité antioxydante des extraits de *J. oxycedrus*, d'autres molécules présentes dans ces extraits pourraient aussi contribuer à cette activité.

II.3.3 Test de réduction du fer

Ce test permet d'évaluer la capacité des extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). Cette réduction se manifeste par une intensification de la couleur bleu-vert du milieu réactionnel. La présence de composés antioxydants dans les extraits confère un pouvoir réducteur qui est proportionnel à l'intensité de la couleur observée (Elmastaş et al., 2006).

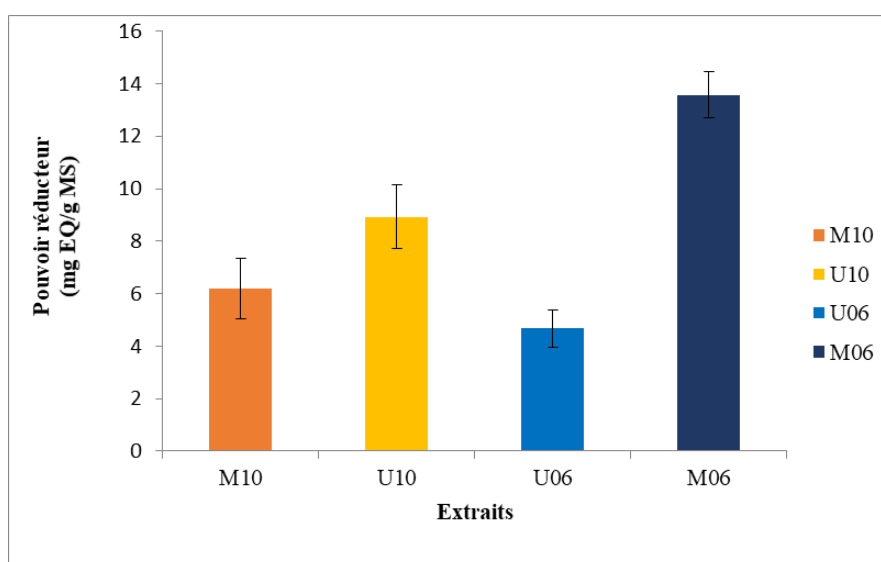


Figure 9: Pouvoir réducteur des extraits de macération et ultrasons des feuilles de *Juniperus oxycedrus*. La moyenne de trois essais donne les résultats exprimés et les écarts-types sont symbolisés par des bâtons. JOM10 : *J. oxycedrus* macération Bouira ; JOU10 : *J. oxycedrus* ultrasons Bouira ; JOM06 : *J. oxycedrus* macération Bejaïa ; JOU06 *J. oxycedrus* ultrasons Bejaïa.

Les résultats présentés dans la figure ci-dessus, montrent que l'extrait de Bejaïa obtenu par macération a montré un meilleur pouvoir réducteur que les autres avec une concentration de $13,58 \pm 0,89$ mg EAA/g MS. Par contre, l'extrait obtenu par ultrasons a enregistré la valeur la plus faible avec $4,67 \pm 0,72$ mg EAA/g MS. D'autre part, l'extrait de *J. oxycedrus* Bouira a enregistré presque les mêmes valeurs de pouvoir réducteur dans les deux méthodes avec une

petite différence ($6,19 \pm 1,16$ et $8,92 \pm 1,21$ mg EAA/g MS pour la macération et les ultrasons respectivement).

Nos résultats indiquent que les extraits de *Juniperus oxycedrus* présentent un pouvoir réducteur supérieur à celui rapporté précédemment pour les extraits de *Juniperus phoenicea* par Soltani et al. (2017), et cela est dû à : la partie de la plante utilisée (feuilles, tiges, etc.) ainsi que du solvant d'extraction employé, bien que les deux espèces faisant partie du même genre *Juniperus*. Par conséquent, les propriétés et les composés chimiques présents dans ces deux espèces peuvent différer.

II.4. Evaluation de l'activité antibactérienne

Selon Miceli et al. (2009), la recherche de nouveaux agents antimicrobiens est devenue impérative face à l'augmentation alarmante de la résistance aux antibiotiques. Les extraits de plantes, dotés de propriétés antimicrobiennes grâce à leurs composés phénoliques offrent une alternative prometteuse aux antibiotiques classiques.

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer les propriétés antimicrobiennes des extraits de feuilles de *J. oxycedrus* contre un ensemble de souches bactériennes pathogènes. Pour ce faire, on a utilisé la méthode de diffusion en disque sur milieu gélosé Mueller-Hinton.

Tableau V : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de *Juniperus oxycedrus* sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

Souche bactérienne	Partie/Région	Extrait	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)		Sensibilité	
			100	50	100	50
<i>Staphylococcus aureus</i>	Feuille/Bouira	Macération	10 mm	13mm	+	+
		Ultrasons	8 mm	10mm	+	+
	Feuille/Bejaia	Macération	10 mm	10mm	+	+
		Ultrasons	10 mm	14mm	+	+

Les résultats du tableau V indiquent que la concentration de 50 mg/mL est associée à l'activité antibactérienne la plus élevée de nos extraits avec un diamètre de zone d'inhibition (10-14 mm), pour les deux plantes étudiées et pour les deux méthodes d'extraction, cela implique que nos extraits sont sensibles à la présence de *Staphylococcus aureus*.

Il est intéressant de souligner que les résultats obtenus dans la présente étude sur l'activité antibactérienne des extraits de *J. oxycedrus* diffèrent de ceux précédemment rapportés par de Hayouni et al., (2007). En effet, Hayouni et al. avaient observé des diamètres de zones d'inhibition beaucoup plus importants, atteignant 26-27 mm avec les extraits aqueux et 16,5-18 mm avec les extraits à l'acétone de *J. phoenicea*.

Cette différence notable souligne que les propriétés antibactériennes peuvent varier de manière significative entre les différentes espèces au sein du genre *Juniperus*.

Ces variations sont probablement liées à des compositions chimiques spécifiques à chaque espèce, notamment en métabolites secondaires à activité antimicrobienne.

Tableau VI : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de *Juniperus oxycedrus* sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*.

Souche bactérienne	Partie/Région	Extrait	Concentration (µg/ml)		Sensibilité	
			100	50	100	50
<i>Pseudomonas</i>	Feuille/Bouira	Macération	00 mm	00mm	-	-
		Ultrasons	00 mm	00mm	-	-
	Feuille/Bejaia	Macération	00 mm	00mm	-	-
		Ultrasons	00 mm	00mm	-	-

Les résultats du tableau VI révèle l'absence totale de zone d'inhibition pour les deux concentrations testées (50 et 100 mg/mL) dans tous les extraits étudiés vis-à-vis de la souche "pseudo". Cette observation suggère une résistance de la souche *Pseudomonas* aux extraits étudiés.

Une analyse comparative de nos résultats et de ceux rapportés dans d'autres études sur le genre *Juniperus* met en évidence certaines similitudes, mais aussi des différences notables.

En effet, notre étude et celle de Miceli et al. (2009) sur *J. communis* var. *communis* et *J. communis* var. *saxatilis* ont toutes deux constaté l'absence d'activité antibactérienne contre *Pseudomonas* pour l'ensemble des extraits et concentrations testés.

Cependant, les travaux d'Ennajar et al. (2009) ont montré des résultats contrastés, avec des zones d'inhibition de 16 mm de diamètre obtenues à partir d'extraits éthanoliques de *J. phoenicea*.

Il est donc important de mener des évaluations approfondies pour chaque entité taxonomique du genre *Juniperus* afin de mieux comprendre et valoriser leurs potentiels antibactériens

Tableau VII : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de *Juniperus oxycedrus* sur la croissance de *Salmonella enterica*.

Souche bactérienne	Partie/Région	Extrait	Concentration (µg/ml)		Sensibilité	
			100	50	100	50
<i>Salmonella</i>	Feuille/Bouira	Macération	00 mm	8mm	-	+
		Ultrasons	00 mm	8mm	-	+
	Feuille/Bejaia	Macération	00 mm	6mm	-	+
		Ultrasons	00 mm	12mm	-	+

Nos résultats montrent que l'activité antibactérienne des extraits de *J. oxycedrus* vis-à-vis de *Salmonella* est restée limitée, avec des zones d'inhibition comprises entre 6 et 12 mm de diamètre, et ce uniquement à la concentration de 50 mg/mL. Cette activité antibactérienne a été observée pour les deux méthodes d'extraction utilisées, à savoir la macération et l'extraction par ultrasons. De plus, l'analyse approfondie de nos données révèle que la souche de *Salmonella* testée présente une sensibilité similaire aux extraits obtenus par ces deux techniques d'extraction.

En effet, les diamètres des zones d'inhibition observées autour des disques étaient identiques, atteignant 8 mm pour les extraits de la plante provenant de Bouira, que l'extraction ait été réalisée par macération ou par ultrasons.

Ces résultats soulignent que la méthode d'extraction n'a pas eu d'influence notable sur l'activité antibactérienne des extraits de *J. oxycedrus* contre cette souche de *Salmonella*.

Aucune zone d'inhibition n'a été observée à la concentration de 100 mg/mL pour tous les extraits. L'absence d'effet antibactérien observée à cette concentration suggère que cette concentration élevée pourrait neutraliser ou inactiver les composés antibactériens présents dans les extraits.

L'activité antibactérienne des extraits de *J. oxycedrus* contre *E. coli* a été observée à une concentration de 50 mg/mL, avec des zones d'inhibition de 9 à 10 mm de diamètre (tableau VIII), et ce pour les deux méthodes d'extraction ainsi que pour les deux origines géographiques de la plante. Cependant, aucune zone d'inhibition n'a été détectée à la concentration plus élevée de 100 mg/mL. Cette absence d'activité antibactérienne à forte concentration pourrait s'expliquer par un effet inhibiteur de cette concentration élevée sur les composés responsables de l'effet antibactérien

Tableau VIII : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de *Juniperus oxycedrus* sur la croissance de *Escherichia coli*.

Souche bactérienne	Partie/Région	Extrait	Concentration (µg/ml)		Sensibilité	
			100	50	100	50
<i>Escherichia coli</i>	Feuille/Bouira	Macération	00 mm	9mm	-	+
		Ultrasons	00 mm	10mm	-	+
	Feuille/Bejaia	Macération	00 mm	9mm	-	+
		Ultrasons	00 mm	10mm	-	+

Une étude antérieure menée par Hayouni et al. (2007) a rapporté des résultats intéressants concernant les propriétés antibactériennes des extraits de *J. phoenicea*. Leurs travaux ont en effet mis en évidence des zones d'inhibition importantes, comprises entre 20 et 22 mm de diamètre, lorsque des extraits de *J. phoenicea* étaient testés contre des souches bactériennes.

Cette différence de résultats pourrait s'expliquer par le choix du solvant d'extraction ainsi que par l'espèce de plante testée.

Par ailleurs, l'analyse de la sensibilité à l'inhibition a montré que la bactérie Gram positive *S. aureus* était plus facilement inhibée que la bactérie Gram-négative *E. coli*. Cette différence peut être attribuée à la structure de la membrane externe d'*E. coli*, qui présente des lipopolysaccharides (LPS) constituant une barrière de perméabilité sélective, limitant ainsi l'accès des agents externes, comme les composés présents dans les extraits, à leurs cibles intracellulaires (Negi and Jayaprakasha, 2003).

Tableau IX : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de *Juniperus oxycedrus* sur la croissance de *Acinetobacter baumannii*.

Souche bactérienne	Partie/Région	Extrait	Concentration (µg/ml)		Sensibilité	
			100	50	100	50
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Feuille/Bouira	Macération	12 mm	11mm	+	+
		Ultrasons	00 mm	12mm	-	+
	Feuille/Bejaia	Macération	10 mm	11mm	+	+
		Ultrasons	00 mm	12mm	-	+

Les tests d'activité antibactérienne réalisés sur la souche *Acinetobacter baumannii* ont montré des résultats intéressants. Pour une concentration d'extrait de 50 mg/ml, les différents extraits de *J. oxycedrus* ont généré des zones d'inhibition de 11 à 12 mm de diamètre, témoignant d'une activité antibactérienne. Cependant, lorsque la concentration d'extrait a été augmentée à 100 mg/ml, seuls les extraits obtenus par macération, pour les deux origines géographiques de la plante (Bouira et Bejaia), ont conservé une activité antibactérienne contre *Acinetobacter baumannii*.

Cette différence d'activité en fonction de la concentration d'extrait est probablement liée à la technique d'extraction employée. En effet, la macération semble être plus efficace pour extraire les composés bioactifs de *J. oxycedrus*, responsables de l'activité antibactérienne, par rapport à l'extraction par ultrasons.

Ainsi, la méthode d'extraction utilisée a un impact direct sur la concentration et la nature des composés extraits, ce qui influence les propriétés biologiques des extraits de cette plante.

Conclusion

Conclusion

L'intérêt croissant pour les produits d'origine naturelle a conduit à une recherche accrue sur les propriétés et les applications potentielles des métabolites secondaires issus des végétaux tels que la médecine, la pharmacologie, l'industrie alimentaire et cosmétique.

Juniperus oxycedrus, une plante de la famille des Cupressacées, se trouve naturellement dans le bassin méditerranéen. Grâce à ses composés bioactifs, le genévrier présente un large éventail d'utilisations potentielles, de la médecine à l'agriculture en passant par les cosmétiques.

Cette étude comparative avait pour but de déterminer qualitativement et quantitativement les composés phénoliques présents dans les feuilles de *J. oxycedrus*, provenant de deux régions différentes, Bouira et Bejaia. Parallèlement, les activités antioxydantes et antibactériennes des extraits ont également été évaluées.

Pour cette étude, deux techniques d'extraction différentes ont été utilisées : la macération à température ambiante sous agitation, et l'extraction par ultrasons. Les rendements d'extraction les plus élevés ont été obtenus par macération, avec respectivement 21,65% et 21,10% pour les extraits de *J. oxycedrus* de Bouira et de Bejaïa. En revanche, le rendement le plus faible a été observé pour l'extraction par ultrasons de l'espèce de Bejaïa, avec 12,25%.

L'analyse des métabolites secondaires présents dans les extraits de feuilles de *J. oxycedrus* a révélé la présence de composés phénoliques et de composés liposolubles avec des concentrations qui varient de manière significative selon la méthode d'extraction utilisée pour préparer les extraits.

Les tests DPPH, ABTS et FRAP ont été employés pour évaluer l'activité antioxydante des extraits. Les résultats montrent que les extraits possèdent des effets anti-radicalaires, en particulier dans le test ABTS qui a indiqué un fort potentiel antioxydant. En revanche, le test DPPH a révélé une plus faible activité, notamment pour l'extrait de Bouira obtenu par macération. Alors que les résultats obtenus avec le test FRAP ont montré des valeurs différentes selon les extraits analysés.

En revanche, l'activité antibactérienne a révélé que les extraits étaient actifs contre certaines souches bactériennes testées (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*) mais résistants à *Pseudomonas aeruginosa*.

En conclusion, cette étude met en évidence la richesse en composés bioactifs des feuilles de *Juniperus oxycedrus* et son intéressant potentiel antioxydant. Des investigations complémentaires seraient nécessaires pour identifier les composés spécifiques responsables de ces activités biologiques.

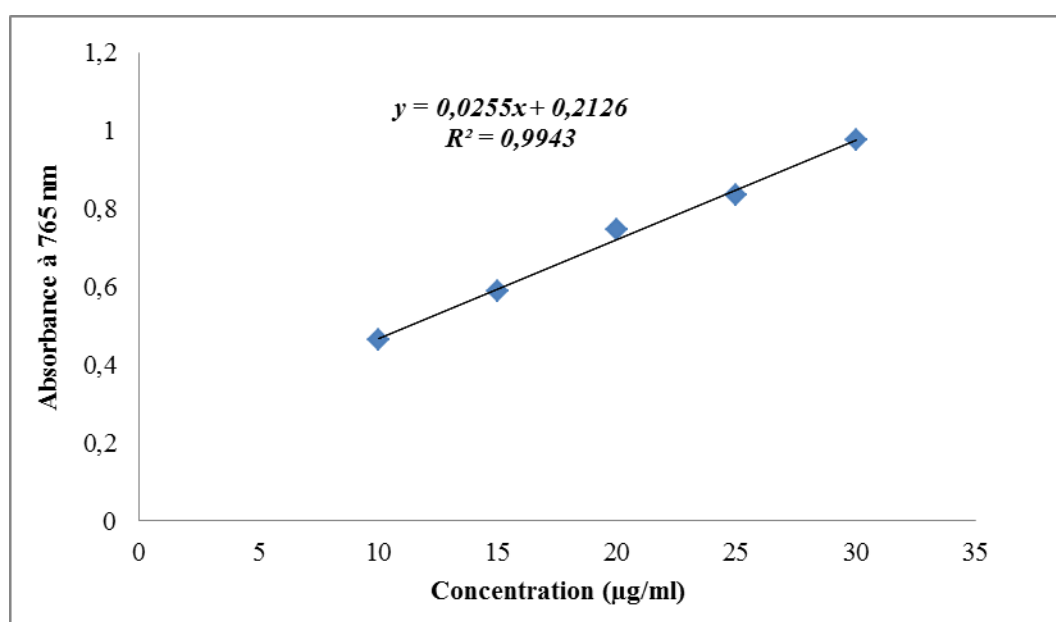
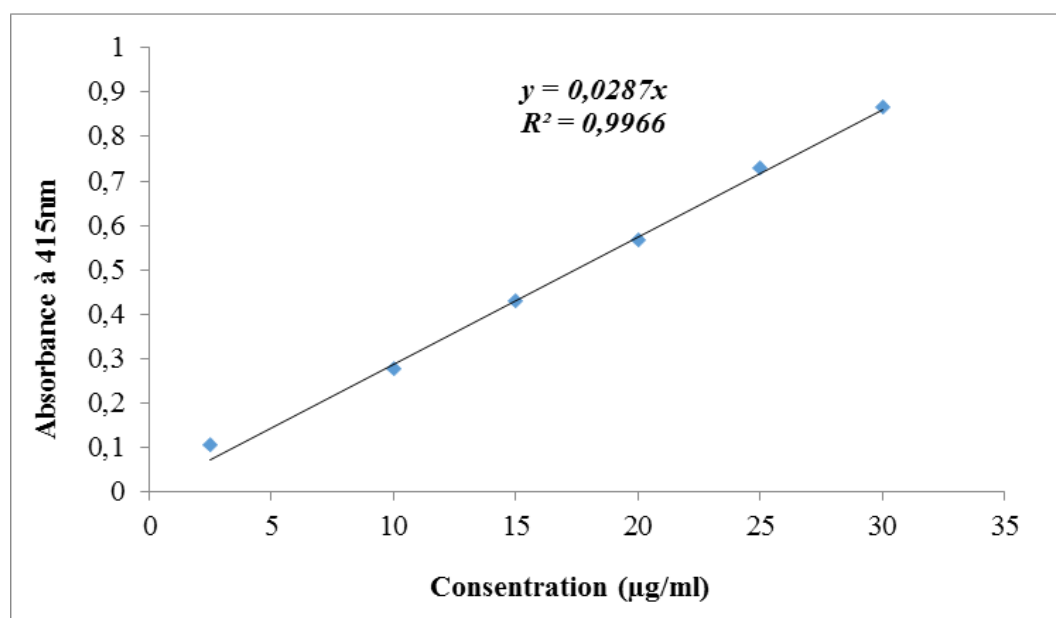
Annexes

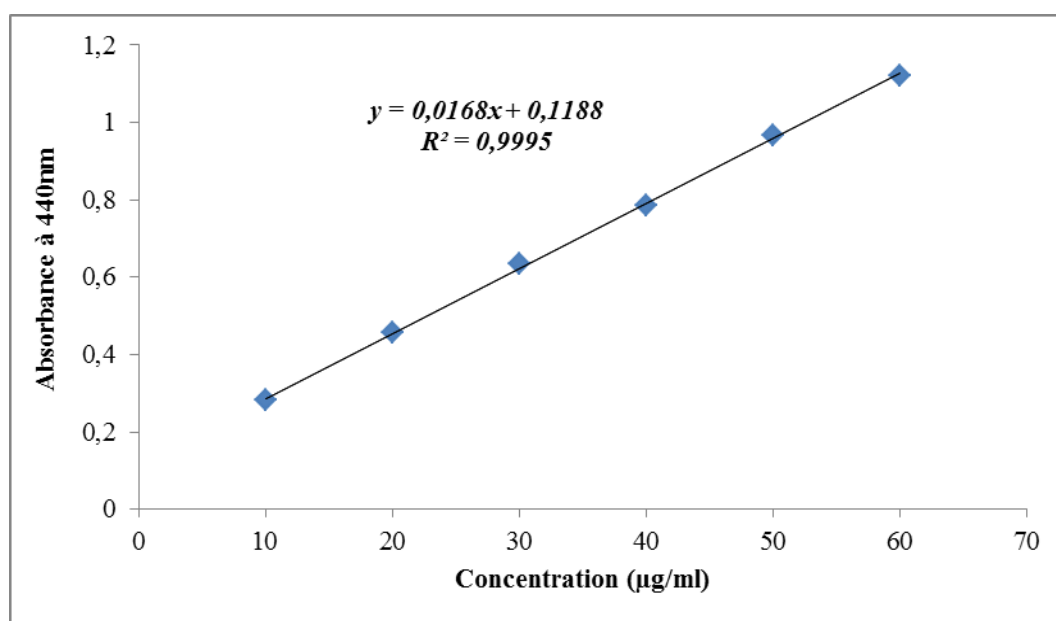
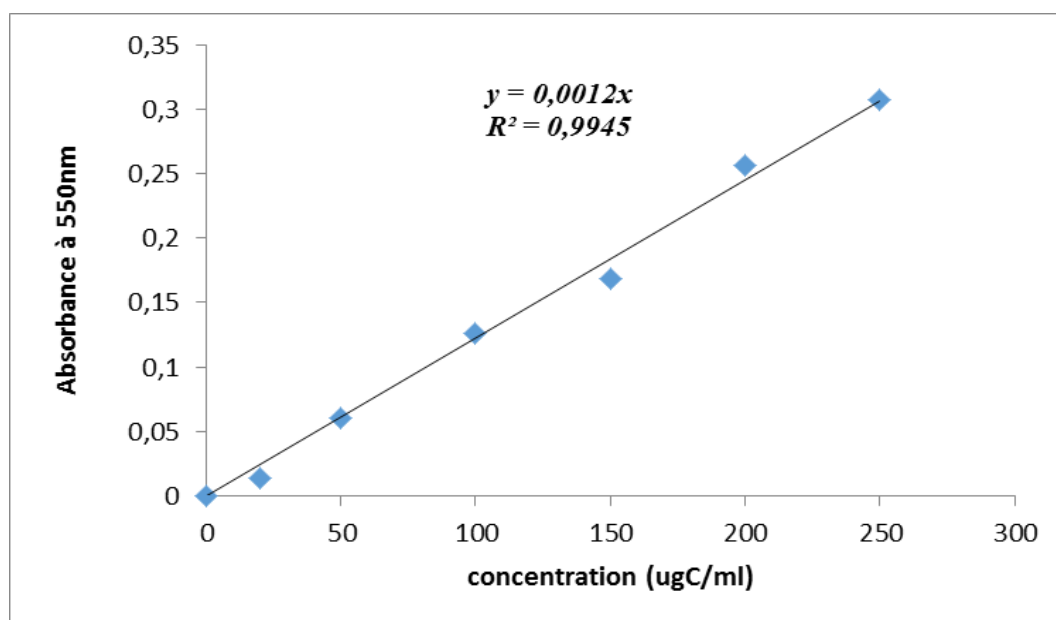
Annexe I : Matériels et Réactifs .

Appareillage	Verreries et autres	Réactifs et solutions
Balance analytique	Béchers	Ethanol
Etuve d'incubation	Spatule	Trichlorure d'aluminium (AlCl ₃)
Moulin à café	Entonnoir	Carbonate de sodium (Na ₂ CO ₃)
Tamiseur	Boîtes de pétri	Folin-Ciocalteu (0.1N)
Réfrigérant	Micropipette	Quercétine, Acide gallique
Plaque agitatrice	Portoir à tubes	Acétate de sodium (C ₂ H ₃ NaO ₂)
Bain ultrasons	Tubes à essais	2,2-diphényle-1- picrylhydrazyl (DPPH)
Spectrophotomètre	Barreau magnétique	Acide Ascorbique
Plaque chauffante	Pipettes Pasteur	Chlorure ferrique (FeCl ₃)
pH mètre	Ecouvillons	Ferricyanure de potassium (K ₂ Fe (CN) ₆)
Autoclave	Pipettes graduées	Acide trichloracétique TCA (C ₂ HCl ₃ O ₂)
Bin mrie	Pince	Diméthyle sulfoxyde (DMSO)

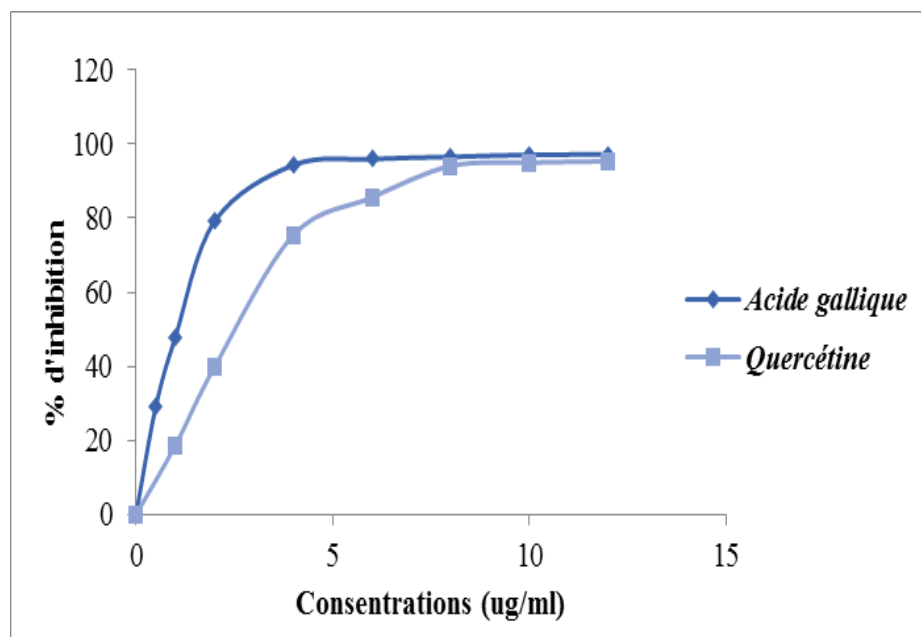
Annexe II : Préparation des solutions .

Solution de l'acide gallique	Ajouter 1 mg d'acide gallique à 1 ml d'éthanol à 70%.
Solution de Carbonate de sodium à 6%	Ajouter 6g de Na ₂ CO ₃ dans 100 ml d'eau distillée.
Solution de Folin-Ciocalteu à 0,1N	Ajouter 5 ml du réactif Folin-Ciocalteu dans 45 ml d'eau distillée.
Solution de Quercétine	Ajouter 1 mg de quercétine dans 1ml d'éthanol 70%.
Solution d'acétate de sodium à 5%	Ajouter 5g d'acétate de sodium dans 100ml de l'eau distillée
Solution de Trichlorure d'aluminium à 2%	Ajouter 2g d'AlCl ₃ dans 100 ml de l'eau distillée.
Solution de DPPH	Ajouter 2,4 mg de DPPH avec 100 ml de méthanol dans un bécher. Après avoir enrobé le mélange avec du papier aluminium, il est maintenu sous agitation continue pendant une heure.
Solution radical ABTS ^{•+}	Mélanger une solution de 7 mM d'ABTS et une solution de 2,5 mM de persulfate de potassium (K ₂ O ₈ S ₂). Incuber pendant 16h heures, puis diluée avec de l'eau distillée afin d'obtenir une DO de 0,700 ± 0,02 à 734 nm.
Solution d'acide trichloracétique à 10%.	Mélanger 10g d'acide trichloracétique dans 100ml de l'eau distillée
Solution de ferricyanure de potassium (K ₃ Fe (CN) ₆) à 1%	Ajouter 1g de ferricyanure de potassium dans 100ml de l'eau distillée
Solution tampon phosphate à pH=6,6	Solution de di-hydrogénophosphate de potassium NaH ₂ PO ₄ et mélanger avec la solution de di-sodium hydrogénophosphate : Na ₂ HPO ₄ jusqu'à pH=6,6

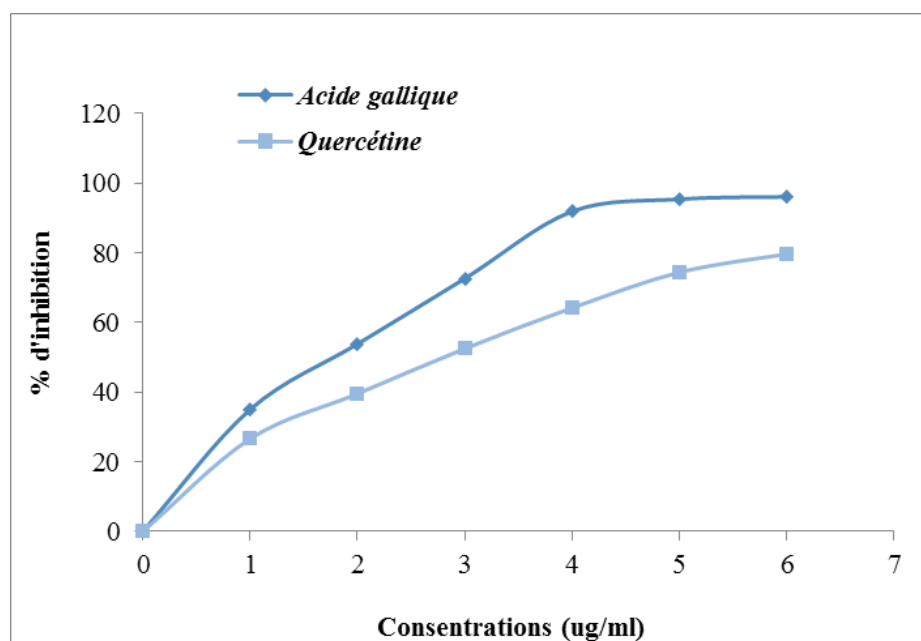
Annexe III.1 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols.**Annexe III.2 :** Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.

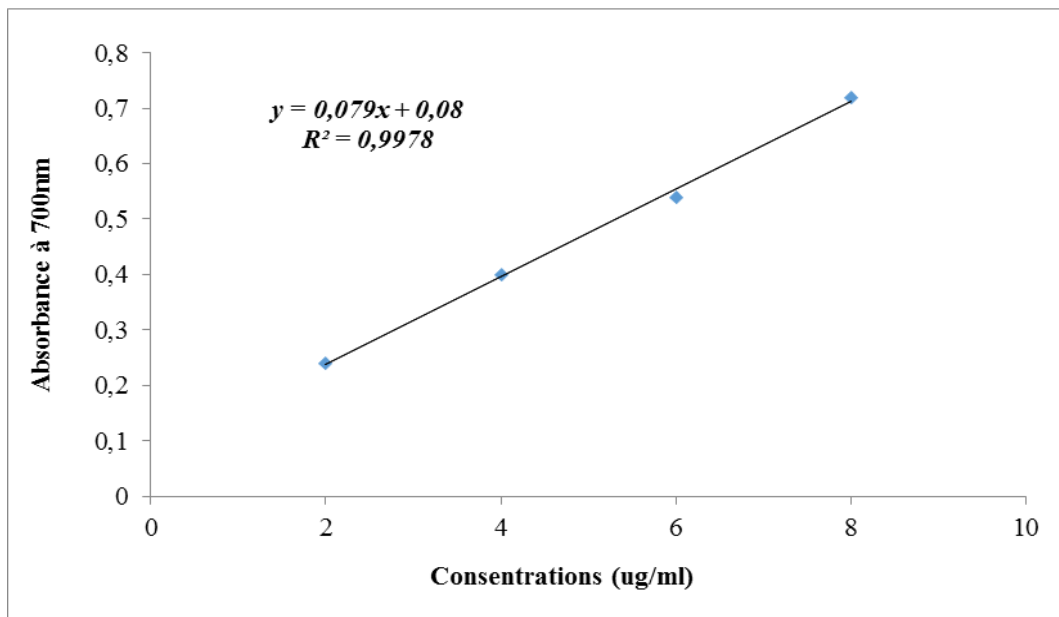
Annexe III.3 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonols.**Annexe III.4 :** Courbe d'étalonnage pour le dosage des tannins condensés

Annexe III.5 : Courbe d'activité scavenging du radical DPPH des standards (Quercétine et l'Acide Gallique).



Annexe III.6 : Courbe d'activité scavenging du radical ABTS des standards (Quercétine et l'Acide Gallique).



Annexe III.7 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (standard) pour le test de FRAP.**Annexe IV :** Préparation des milieux de culture.

Gélose nutritive	Ajouter 28g de poudre de la gélose nutritive dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir en agitant jusqu'à ce que la solution se dissoute complètement. Auto-claver pendant 15 minutes à une température de 121°C, puis verser le milieu dans les boîtes de Pétri.
Milieu Muller-Hinton	Ajouter 38g de la poudre MH dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir en agitant jusqu'à ce que la solution se dissoute complètement. Auto-claver pendant 15 minutes à une température de 121°C, puis verser le milieu dans les boîtes de Pétri.

Annexe V : Souches bactériennes cibles.

Souche cible	ATCC	Pathogénicité	Antibiorésistance
<i>Staphylococcus aureus</i>	65 38	Pathogène	β -lactamines, méticilline , oxacilline
<i>Escherichia coli</i>	25922	Pathogène	Béta-lactames
<i>Salmonella enterica,</i>		Pathogène	Quinolones, fluoroquinolone
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6633	Pathogène	Imipenème, Amikacine
<i>Acinetobacter baumannii</i>	610	Pathogène	β -lactame, Imipenème, Amikacine

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- Akinci, I., Ozdemir, F., Topuz, A., Kabaş, Ö., Canakci, M., 2004. Some physical and nutritional properties of *Juniperus drupacea* fruits. *J. Food Eng.* 65, 325–331. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.01.029>
- Akkol, E.K., Güvenç, A., Yesilada, E., 2009. A comparative study on the antinociceptive and anti-inflammatory activities of five *Juniperus* taxa. *J. Ethnopharmacol.* 125, 330–336. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.05.031>
- Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Aarab, L., El Ajjouri, M., Chaouch, A., 2010. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. BASE.
- Andrew, C., Iserin, paul, 2013. *Larousse Des Plantes Médicinales : Identification, préparation,soins.* Larousse, Paris.
- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A., Legret, P., 1994. Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. *J. Pharm. Belg.* 49, 462–8.
- Athamena, S., 2021. Etude de l'activité biologique de *Juniperus thurifera* et *Fraxinus xanthoxyloides* (PhD Thesis). Université de Batna 2.
- Aydi, A., 2014. Valorisation de quelques plantes médicinales [médicinales] issues de la flore tunisienne : extraction par CO₂ supercritique (phdthesis). Université de Lorraine ; Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie (Tunisie).
- Ayouni, K., Berboucha, M., Kim, H., Atmani, D., Verpoorte, R., Choi, Y., 2016. Metabolomic tool to identify antioxidant compounds of *Fraxinus angustifolia* leaf and stem bark extracts. *Ind. Crops Prod.* 88. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.01.001>
- Barros, L., Ferreira, M.-J., Queirós, B., Ferreira, I.C.F.R., Baptista, P., 2007. Total phenols, ascorbic acid, β -carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chem.* 103, 413–419. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.038>
- Benabdallah, H., 2016. Les cours du module Techniques d'extraction, de purification et de conservation Dr. BENABDALLAH Hassiba. URL <https://lmd.sahla-dz.com/cours-fr-157/> (accessed 4.7.24).
- Bertsouklis, K., Paraskevopoulou, A.T., Petraki, E., 2023. In vitro regeneration from adult node explants of *Juniperus oxycedrus*. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca* 51, 13062–13062. <https://doi.org/10.15835/nbha51113062>
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature* 181, 1199–1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Boizot, N., Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, In : Numéro spécial , 79-82.

- Bonnier Gaston, 1990. La grande flore en couleurs de Gaston Bonnier: France, Suisse, Belgique et pays voisins / Gaston Bonnier et Robert Douin ; illustration par Julie Poinot [nomenclature moderne et index réalisés par] Raoul Palese et David Aeschmann ... Belin, Paris.
- Boudy, P., 1950. Economie forestière nord-africaine, 2. Monographies et traitements des essences forestières. Larose, Paris.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Sci. Technol. 28, 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Bruneton Jean, 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales / Jean Bruneton,....., 3e édition revue et augmentée. ed. Éd. Tec & doc Éd. médicales internationales, Paris Cachan.
- Bule, M., Khan, F., Nisar, M., Niaz, K., 2020. Tannins (hydrolysable tannins, condensed tannins, phlorotannins, flavono-ellagitannins). pp. 132–146.
- Chaouche, T.M., Haddouchi, F., Atik-Bekara, F., Ksouri, R., Azzi, R., Boucherit, Z., Tefiani, C., Larbat, R., 2015. Antioxidant, haemolytic activities and HPLC–DAD–ESI–MSn characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. Ind. Crops Prod. 64, 182–187. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.051>
- Chominot, A., 2000. Valorisation des plantes médicinales par l'industrie pharmaceutique : complémentarités et contradictions. Cour. Environ. INRA 19–26.
- Clériveret, A., Alami, I., Breton, F., Garcia, D., Sanier, C., 1996. Les composés phénoliques et la résistance des plantes aux agents pathogènes. Acta Bot. Gallica 143, 531–538. <https://doi.org/10.1080/12538078.1996.10515350>
- Dabadi, P., Pavuja, M.V., Shakif, M., GC, V.K., Rahul, S., 2023. ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF MOMORDICA CHARANTIA SEEDS. benefits 2, 4.
- Dane, Y., Mouhouche, F., Canela-Garayoa, R., Delpino-Rius, A., 2016. Phytochemical Analysis of Methanolic Extracts of *Artemisia absinthium* L. 1753 (Asteraceae), *Juniperus phoenicea* L., and *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast, 1892 (Cupressaceae) and evaluation of their biological activity for stored grain protection. Arab. J. Sci. Eng. 41, 2147–2158. <https://doi.org/10.1007/s13369-015-1977-2>
- Djellouli, S., Larbi, K.S., Meddah, B., Rebiai, A., Touil, A.T., Sonnet, P., 2022. Chemical composition, in vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* extracts from Algeria. Eur. J. Biol. Res. 12, 271–281.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N., 2006. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chem. 97, 654–660. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.028>
- Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H., Soetaredjo, F.E., Ismadji, S., Ju, Y.-H., 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. J. Food Drug Anal. 22, 296–302.
- El Jemli, M., Kamal, R., Marmouzi, I., Zerrouki, A., Cherrah, Y., Alaoui, K., 2016. Radical-Scavenging Activity and Ferric Reducing Ability of *Juniperus thurifera* (L.), *J. oxycedrus* (L.), *J. phoenicea* (L.) and *Tetraclinis articulata* (L.). Adv. Pharmacol. Sci. 2016, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2016/6392656>
- Elie, F., 2022. Les phénols et les polyphénols.

- Elmastaş, M., Gülçin, İ., Beydemir, Ş., İrfan Küfrevioğlu, Ö., Aboul-Enein, H.Y., 2006. A Study on the In Vitro Antioxidant Activity of Juniper (*Juniperus communis* L.) Fruit Extracts. *Anal. Lett.* 39, 47–65. <https://doi.org/10.1080/00032710500423385>
- Ennajar, M., Bouajila, J., Leбриhi, A., Mathieu, F., Abderraba, M., Raies, A., Romdhane, M., 2009. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea* L. (Cupressaceae). *J. Food Sci.* 74, M364-371. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01277.x>
- Fadel, H., Benayache, F., Benayache, S., 2016. Antioxidant properties of four Algerian medicinal and aromatic plants *Juniperus oxycedrus* L., *Juniperus phoenicea* L., *Marrubium vulgare* L. and *Cedrus atlantica* (Manetti ex Endl). *Pharm. Lett.* 8, 72.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C., 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biol.* 331, 372–379. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2008.02.008>
- Faye, P.G., Ndiaye, E.M., Ndiaye, B., Cisse, O.I.K., Ayessou, N.C., 2022. Effet de la macération, de l'infusion et la décoction sur l'extraction aqueuse des polyphénols des feuilles séchées de *Combretum Micranthum*.
- Floegel, A., Kim, D.-O., Chung, S.-J., Koo, S.I., Chun, O.K., 2011. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *J. Food Compos. Anal.* 24, 1043–1048. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>
- Fuinel, G., 2002. Arbres et plantes médicinales du jardin. Fernand Lanore.
- Galvan d'Alessandro, L., Kriaa, K., Nikov, I., Dimitrov, K., 2012. Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. *Sep. Purif. Technol.* 93, 42–47. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2012.03.024>
- Garnier, G., Bézanger-Beauquesne, L., Debraux, G., 1961. Ressources médicinales de la flore française. Vigot frères éd, Paris.
- Ghitescu, R.-E., Volf, I., Carausu, C., Bühlmann, A.-M., Gilca, I.A., Popa, V.I., 2015. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark. *Ultrason. Sonochem.* 22, 535–541. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.07.013>
- Hafsi, Z., Belhadj, S., Derridj, A., Mevy, J.-P., Notonnier, R., Tonetto, A., Gauquelin, T., 2017. Étude de la variabilité morphologique (aiguilles, galbules) du complexe spécifique *Juniperus oxycedrus* L., le Genévrier oxycède, au sein de sept populations d'Algérie. *Rev. D'Écologie* 72, 353–373.
- Hammoudi, R., 2015. Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien (Thesis).
- Hayouni, E., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M., 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chem.* 105, 1126–1134. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.010>
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J., 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* 13, 572–584. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00208-5)

- Jafri, S.A.A., Khalid, Z.M., Khan, M.Z., Jomezai, N., 2022. Evaluation of phytochemical and antioxidant potential of various extracts from traditionally used medicinal plants of Pakistan. *Open Chem.* 20, 1337–1356. <https://doi.org/10.1515/chem-2022-0242>
- Julkunen-Tiitto, R., 1985. Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *J. Agric. Food Chem.* <https://doi.org/10.1021/jf00062a013>
- Karaman, İ., Şahin, F., Güllüce, M., Öğütçü, H., Şengül, M., Adıgüzel, A., 2003. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *J. Ethnopharmacol.* 85, 231–235. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00006-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00006-0)
- Khettal, B., Kadri, N., Tighilet, K., Adjebli, A., Dahmoune, F., Maiza-Benabdeslam, F., 2017. Phenolic compounds from *Citrus* leaves: antioxidant activity and enzymatic browning inhibition. *J. Complement. Integr. Med.* 14, 20160030. <https://doi.org/10.1515/jcim-2016-0030>
- Koudou, P.J., 2009. Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de quelques plantes aromatiques et médicinales africaines. *Etude Phytochim. Act. Antimicrob. Antioxyd. Quelques Plantes Aromat. Médicinales Afr.*
- Ladogh-Yemeda, C.F., Vandi, T., Dibong, S.D., Mpondo, E.M., Wansi, J.D., Betti, J.L., Choula, F., Ndongo, D., Eyango, M.T., 2016. Étude ethnobotanique des plantes médicinales commercialisées dans les marchés de la ville de Douala, Cameroun. *J. Appl. Biosci.* 99, 9450–9466. <https://doi.org/10.4314/jab.v99i1.11>
- Lagnika, L., 2005. Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises (These de doctorat). Université Louis Pasteur (Strasbourg) (1971-2008).
- Leong, L.P., Shui, G., 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem.* 76, 69–75. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00251-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00251-5)
- Macheix, J.-J., Fleuriot, A., Jay-Allemand, C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
- Mada, S., Garba, A., Mohammed, H., Muhammad, A., Olagunju, A., Muhammad, A.B., 2013. Antimicrobial activity and phytochemical screening of aqueous and ethanol extracts of *Momordica charantia* L. Leaves. *J Med Plants Res* 7, 579–586.
- Maisuthisakul, P., Pongsawatmanit, R., Gordon, M., 2007. Characterization of the phytochemicals and antioxidant properties of extracts from Teaw (*Cratoxylum formosum* Dyer). *Food Chem.* 100, 1620–1629. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.044>
- Masuda, T., Yonemori, S., Oyama, Y., Takeda, Y., Tanaka, T., Andoh, T., Shinohara, A., Nakata, M., 1999. Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. *J. Agric. Food Chem.* 47, 1749–1754. <https://doi.org/10.1021/jf980864s>
- Medini, H., Manongiu, B., Aicha, N., Chekir-Ghedira, L., Harzalla-Skhiri, F., Khouja, M.L., 2013. Chemical and Antibacterial Polymorphism of *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* and *Juniperus oxycedrus* ssp. *macrocarpa* (Cupressaceae) Leaf Essential Oils from Tunisia. *J. Chem.* 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/389252>
- Miceli, N., Trovato, A., Dugo, P., Cacciola, F., Donato, P., Marino, A., Bellinghieri, V., La Barbera, T.M., Güvenç, A., Taviano, M.F., 2009. Comparative Analysis of Flavonoid Profile, Antioxidant and Antimicrobial Activity of the Berries of *Juniperus communis* L. var.

- communis* and *Juniperus communis* L. var. *saxatilis* Pall. from Turkey. J. Agric. Food Chem. 57, 6570–6577. <https://doi.org/10.1021/jf9012295>
- Mohamed Djamel, M., Ait Hammou, M., Hadjadj–Aoul, S., 2013. Phytotherapy and taxonomy of spontaneous medicinal plants in the area of Tiaret (Algeria) [Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie)]. *Phytotherapie* 11, 206–218. <https://doi.org/10.1007/s10298-013-0789-3>
- Moon, J.-K., Shibamoto, T., 2009. Antioxidant Assays for Plant and Food Components. J. Agric. Food Chem. 57, 1655–1666. <https://doi.org/10.1021/jf803537k>
- Mwambete, K.D., 2009. The in vitro antimicrobial activity of fruit and leaf crude extracts of *Momordica charantia*: a Tanzania medicinal plant. *Afr. Health Sci.* 9, 34–39.
- Naczki, M., Shahidi, F., 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *J. Chromatogr. A* 1054, 95–111. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(04\)01409-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(04)01409-8)
- Negi, P.S., Jayaprakasha, G.K., 2003. Antioxidant and Antibacterial Activities of *Punica granatum* Peel Extracts. *J. Food Sci.* 68, 1473–1477. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb09669.x>
- Neves, A., Rosa, S., Gonçalves, J., Rufino, A., Judas, F., Salgueiro, L., Lopes, M., Cavaleiro, C., Mendes, A., 2009. Screening of Five Essential Oils for Identification of Potential Inhibitors of IL-1-induced $\text{NF-}\kappa\text{B}$ Activation and NO Production in Human Chondrocytes: Characterization of the Inhibitory Activity of α -Pinene. *Planta Med.* 76, 303–8. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1186085>
- Nielsen, P.V., Rios, R., 2000. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *Int. J. Food Microbiol.* 60, 219–229. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00343-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00343-3)
- Nsemi, F.M., 2010. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques (phdthesis). Université Paul Verlaine - Metz.
- Orhan, N., Orhan, I.E., Ergun, F., 2011. Insights into cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of five *Juniperus* species. *Food Chem. Toxicol.* 49, 2305–2312. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.06.031>
- Osman, A.M., Wong, K.K.Y., Fernyhough, A., 2006. ABTS radical-driven oxidation of polyphenols: Isolation and structural elucidation of covalent adducts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 346, 321–329.
- Oyaizu, M., 1986. Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn. J. Nutr. Diet.* 44, 307–315. <https://doi.org/10.5264/eiyogakuzashi.44.307>
- Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R., 2016. Flavonoids: an overview. *J. Nutr. Sci.* 5, e47. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Peana, A.T., D'Aquila, P.S., Panin, F., Serra, G., Pippia, P., Moretti, M.D.L., 2002. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine Int. J. Phytother. Phytopharm.* 9, 721–726. <https://doi.org/10.1078/094471102321621322>
- Pogam, P.L., Chollet-Krugler, M., Boustie, J., 2015. Présentation des métabolites secondaires lichéniques : de leur biosynthèse à leur rôle au sein du thalle lichénique 40.

- Poncet, P., Charpin, D., Sénéchal, H., 2021. Les Cupressacées des cinq continents. Rev. Fr. Allergol., 16ème Congrès Francophone d'Allergologie 61, 198–201. <https://doi.org/10.1016/j.reval.2021.02.005>
- Quézel, P. (1926-2015) A., 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique.
- Quezel, P., Gast, M., 1998. Genévrier. Encycl. Berbère 3016–3023. <https://doi.org/10.4000/encyclopedieberbere.1863>
- Rahim, M.Z., 2023. Etude phytochimique et activités biologiques d'extraits aqueux d'une plante du sud Algérien : Cistanche phelipaea (L.) Cout. (PhD Thesis). Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic. Biol. Med. 26, 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Roméo, F., Gramain, A., Wittwer, J., 2007. Les configurations d'aide familiales mobilisées autour des personnes âgées dépendantes en Europe. Économie Stat. 403, 97–115. <https://doi.org/10.3406/estat.2007.7090>
- Rosler, K.-H.A., Wong, D.P.C., Mabry, T.J., 1985. Problems with Ultraviolet Spectroscopy of Flavonoids Using Sodium Acetate in Methanol. J. Nat. Prod. 48, 837–840. <https://doi.org/10.1021/np50041a027>
- Sadou, N., Seridi, R., Djahoudi, A., Hadeff, Y., 2015. Composition chimique et activité antibactérienne des Huiles Essentielles des aiguilles de Pinus halepensis Mill. du Nord est Algérien. Synthèse Rev. Sci. Technol. 30, 33–39.
- Schauenberg, P., Paris, F., 2013. Guide des plantes médicinales : analyse, description et utilisation de 400 plantes, 02 éd. ed, Les guides du naturaliste. Delachaux et Niestlé, Paris.
- Sezik, E., Yesilada, E., Tabata, M., Honda, G., Takaishi, Y., Fujita, T., Tanaka, T., Takeda, Y., 1997. Traditional medicine in Turkey VIII. Folk medicine in East Anatolia; Erzurum, Erzincan, Ağrı, Kars, Iğdir provinces. Econ. Bot. 51, 195–211. <https://doi.org/10.1007/BF02862090>
- Shiban, M.S., Al-Otaibi, M.M., Al-zoreky, N.S., 2012. Antioxidant Activity of Pomegranate (Punica granatum L.) Fruit Peels. Food Nutr. Sci. 3, 991–996. <https://doi.org/10.4236/fns.2012.37131>
- Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. Am. J. Enol. Vitic. 16, 144–158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Smeriglio, A., Barreca, D., Bellocco, E., Trombetta, D., 2017. Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects. Br. J. Pharmacol. 174, 1244–1262. <https://doi.org/10.1111/bph.13630>
- Soltani, Y., Bouzidi, M.A., Toumi, F., Abdelfettah, B., 2017. Activités antioxydantes des extraits de trois organes de Juniperus phoenicea L. de l'Ouest algérien. Phytothérapie. <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1160-x>
- Spengler, G., Gajdács, M., Donadu, M.G., Usai, M., Marchetti, M., Ferrari, M., Mazzarello, V., Zanetti, S., Nagy, F., Kovács, R., 2022. Evaluation of the Antimicrobial and Antivirulent Potential of Essential Oils Isolated from Juniperus oxycedrus L. ssp. macrocarpa Aerial Parts. Microorganisms 10, 758. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040758>

- Tighilet, K., Palacios, F., Khettal, B., Santos, J., 2022. GC-MS and LC-QTOF-MS Phytochemical analysis, antiproliferative and antioxidant activities of stems extracts of *Retama monosperma* grown in Algeria. *Res. J. Biotechnol.* 17, 1–14. <https://doi.org/10.25303/1702rjbt001014>
- Turkmen, N., Velioglu, Y.S., Sari, F., Polat, G., 2007. Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Mol. Basel Switz.* 12, 484–496. <https://doi.org/10.3390/12030484>
- Tzortzakis, N.G., 2007. Maintaining postharvest quality of fresh produce with volatile compounds. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 8, 111–116. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2006.08.001>
- Vilar, L., Caudullo, G., de Rigo, D., 2016. *Juniperus oxycedrus* in Europe: distribution, habitat, usage and threats.
- Wang, H.K., Xia, Y., Yang, Z.Y., Natschke, S.L., Lee, K.H., 1998. Recent advances in the discovery and development of flavonoids and their analogues as antitumor and anti-HIV agents. *Adv. Exp. Med. Biol.* 439, 191–225. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5335-9_15
- Yakhlef, G., Salah, L., Hambaba, L., Mohamed-Cherif, A., Ammar, A., 2011. Evaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus Vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytotherapie* 9, 209–218. <https://doi.org/10.1007/s10298-011-0641-6>
- Zhang, X., Hayat, K., 2009. Optimized microwave-assisted extraction of phenolic acids from citrus mandarin peels and evaluation of antioxidant activity in vitro. *Sep. Purif. Technol.*
- Ziegler, J., Facchini, P.J., 2008. Alkaloid biosynthesis: metabolism and trafficking. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 735–769. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092730>

Résumé : Cette étude vise à évaluer et comparer les propriétés antioxydantes et antibactériennes des extraits de *Juniperus oxycedrus* (genévrier) provenant de deux régions d'Algérie : Bouira et Bejaia. Pour cela, deux méthodes d'extraction ont été testées : la macération et l'extraction par ultrasons. Le genévrier est une plante originaire d'Algérie qui joue un rôle écologique important dans la résistance à la sécheresse. Elle est également utilisée en médecine traditionnelle pour traiter diverses affections. L'analyse quantitative par méthodes colorimétriques a permis de mettre en évidence la présence de plusieurs familles de métabolites secondaires dans les extraits, notamment les polyphénols, flavonoïdes, flavonols, tanins et composés liposolubles. La teneur en polyphénols totaux varie selon la méthode d'extraction utilisée. Ainsi, pour les plantes de Béjaïa et Bouira respectivement, les valeurs sont de 134,01 et 56,74 mg EAG/g d'extrait en macération, contre 71,44 et 38,93 mg EAG/g d'extrait par ultrasons. Afin d'évaluer plus finement le potentiel antioxydant des extraits, trois tests complémentaires ont été réalisés : DPPH, ABTS et FRAP. Enfin, l'activité antibactérienne des extraits a été évaluée sur cinq souches bactériennes. Les résultats montrent une variabilité des diamètres d'inhibition selon les souches et les concentrations d'extrait testées. Cette étude approfondie des propriétés biologiques des extraits de *Juniperus oxycedrus* de différentes origines géographiques apporte des informations importantes sur le potentiel d'utilisation de cette plante locale en médecine et en pharmacie.

Mots-clés : *Juniperus oxycedrus*, dosage colorimétrique, pouvoir antioxydant, l'activité antibactérienne.

Abstract: The aim of this study was to evaluate and compare the antioxidant and antibacterial properties of *Juniperus oxycedrus* (juniper) extracts from two Algerian regions: Bouira and Bejaia. Two extraction methods were tested: maceration and ultrasonic extraction. Juniper is a plant native to Algeria that plays an important ecological role in drought resistance. It is also used in traditional medicine to treat various ailments. Quantitative analysis using colorimetric methods revealed the presence of several families of secondary metabolites in the extracts, notably polyphenols, flavonoids, flavonols, tannins and fat-soluble compounds. Total polyphenol content varies according to the extraction method used. Thus, for plants from Béjaïa and Bouira respectively, the values are 134.01 and 56.74 mg EAG/g extract in maceration, compared with 71.44 and 38.93 mg EAG/g extract by ultrasound. To further assess the antioxidant potential of the extracts, three complementary tests were carried out: DPPH, ABTS and FRAP. Finally, the antibacterial activity of the extracts was assessed on five bacterial strains. The results showed that inhibition diameters varied according to the strains and extract concentrations tested. This in-depth study of the biological properties of *Juniperus oxycedrus* extracts from different geographical origins provides important information on the potential use of this local plant in medicine and pharmacy.

Keywords: *Juniperus oxycedrus*, colorimetric assay, antioxidant power, antibacterial activity.

المخلص:

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الخصائص المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا لمستخلصات نبات العرعر من منطقتين مختلفتين، وهما البويرة وبجاية، من خلال مقارنة تقنيات النقع والاستخلاص بالموجات فوق الصوتية. استندت الدراسة على معرفة نبات العرعر، وهو نبات موطنه الأصلي في الجزائر، ويلعب دورًا بيئيًا مهمًا في مقاومة الجفاف ويستخدم في الطب التقليدي لعلاج الأمراض المختلفة. كشف التقييم الكمي عن طريق الفحص اللوني عن وجود مركبات البوليفينول والفلافونويد والفلافونول والعفص والمركبات القابلة للذوبان في الدهون في مستخلصات النباتين اللذين تم اختبارهما. وتباين محتوى البوليفينول في المستخلصات النباتية وفقًا لطريقة الاستخلاص المستخدمة. كانت قيم البوليفينول الكلية لنباتات بجاية والبويرة، على التوالي، 134.01 و 56.74 ملغم من مكافئ غازي/غرام من المستخلص في الطريقة الأولى و 71.44 و 38.93 ملغم من مكافئ غازي/غرام من المستخلص في الطريقة الثانية. من أجل دراسة القوة المضادة للأكسدة للعينات بمزيد من التفصيل، تم استخدام ثلاثة اختبارات مختلفة: كشف تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات على خمس سلالات عن وجود اختلاف ملحوظ في أقطار مناطق التثبيط، مما يشير إلى وجود تباين في التأثير المضاد للبكتيريا اعتمادًا على السلالة وتركيز المستخلص.

الكلمات المفتاحية: العرعر، الفحص اللوني، القوة المضادة للأكسدة، تقييم النشاط المضاد للبكتيريا.