



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la

Recherche Scientifique

Université Chadli Bendjedid El-Tarf

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des sciences Agronomiques – Filière Sciences alimentaires

Master académique en Sécurité Agroalimentaire et Assurance Qualité

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Maser académique

Filière : Sciences alimentaires

Spécialité : Sécurité Agroalimentaire et Assurance Qualité

*Thème*

*Contribution à l'étude des activités antidiabétiques et antioxydantes de  
Juniperus oxycedrus et de Juniperus phoenicea*

Présenté par : **Mr HAFED Abderrahmane**

Soutenu devant le jury :

Présidente : Dr. BENRACHOU N.	M.C.A	U.C. B.E.T
Examineur : Dr. SAOUDI H.	M.C.A	U.C.B.E.T
Promotrice : Pr. BENABDALLAH A.	Pr.	U.C.B.E.T

Année universitaire : 2024-2025

## Remerciements

Je remercie avant tout Dieu, le tout Puissant, qui a éclairé notre chemin et qui nous a permis de mettre à profit le peu de savoir, dont il nous a dotés.

Un sincère remerciement est destiné aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer notre travail et qui ont accordé un peu de leur temps à sa lecture ; à **Dr. BENRACHOU Nora** d'avoir accepté de présider notre soutenance et **Dr. SAOUDI Hani** d'avoir accepté d'examiner notre mémoire.

Nous adressons un vif remerciement à notre promotrice **Pr. AMINA BENABDALLAH** qui a accepté de nous encadrer et qui a guidé nos pas lors de la réalisation de ce modeste travail, grâce à ses orientations et ses remarques pertinentes.

Nous tenons à remercier cordialement **Dr. BENSOUICI Chawki** et **Mme MAGHBOUNE Ibtissem** d'avoir accepté de nous apprendre les techniques nécessaires dans la réalisation de ce mémoire lors de notre stage au CRBT, Constantine, ainsi qu'à tout le staff des chercheurs.

Nous remercions vivement **Mme Hayet, Mr. Zohir**, les ingénieurs des laboratoires pédagogiques de notre faculté.

Un grand remerciement est, également, adressé à tous(tes) les enseignant(e)s du **Master SAAQ**, et du **Département des Sciences Agronomiques** de l'université d'El-Tarf, qui ont assuré notre formation scientifique, tout au long de notre cursus universitaire.

Finalement, merci à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail et qui nous ont prêté leur aide morale ou matériel.

## **Dédicace**

**À toutes les personnes qui me sont chères...**

## Résumé

De nos jours, l'utilisation excessive des conservateurs alimentaires synthétiques demeure un danger pour la santé humaine. Dans ce contexte, ce travail vise à explorer les propriétés biologiques *in vitro* des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* (HEJo) et *Juniperus phoenicea* (HEJp). L'évaluation a porté sur leur activité antioxydante (DPPH, ABTS, CUPRAC, phénanthroline) et leur capacité à inhiber l'enzyme  $\alpha$ -amylase, impliquée dans le métabolisme des glucides. Les résultats révèlent que HEJo présente une activité antioxydante supérieure, avec des valeurs  $IC_{50}$  de 41,04  $\mu$ g/ml (DPPH) et 90,22  $\mu$ g/ml (ABTS), contre 55,08  $\mu$ g/ml et 649  $\mu$ g/ml respectivement pour HEJp. HEJo est la seule à montrer une activité CUPRAC (80,26  $\mu$ g/ml), tandis que HEJp est inactive dans ce test. HEJo est aussi plus riche en composés bioactifs : polyphénols totaux (51,88 mg/g), flavonoïdes (57,27 mg/g) et tanins (54,57 mg/g). Concernant l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase, HEJp montre une meilleure efficacité (15,29  $\mu$ g/ml) que HEJo (30,46  $\mu$ g/ml), bien que toutes deux soient moins actives que l'acarbose (10,25  $\mu$ g/ml). Ces résultats suggèrent un potentiel thérapeutique complémentaire des deux espèces : HEJo comme antioxydant naturel, HEJp comme agent hypoglycémiant.

**Mots-clés** : *Juniperus oxycedrus*, *Juniperus phoenicea*, huile essentielle, antioxydant, antidiabétique, polyphénols, flavonoïdes.

## Abstract

Today, the excessive use of synthetic food preservatives remains a danger to human health. This study aims to investigate the in vitro biological activities of essential oils extracted from *Juniperus oxycedrus* (HEJo) and *Juniperus phoenicea* (HEJp). The evaluation focused on their antioxidant potential using DPPH, ABTS, CUPRAC, and phenanthroline assays, as well as their inhibitory effect on the  $\alpha$ -amylase enzyme, which plays a key role in carbohydrate metabolism. The results revealed that HEJo exhibited stronger antioxidant activity, with  $IC_{50}$  values of 41.04  $\mu\text{g/ml}$  (DPPH) and 90.22  $\mu\text{g/ml}$  (ABTS), compared to 55.08  $\mu\text{g/ml}$  and 649  $\mu\text{g/ml}$  respectively for HEJp. In the CUPRAC assay, HEJo was the only oil showing detectable activity ( $A_{0.5} = 80.26 \mu\text{g/ml}$ ), while HEJp showed no activity. HEJo also demonstrated higher levels of bioactive compounds: total polyphenols (51.88 mg/g), flavonoids (57.27 mg/g), and condensed tannins (54.57 mg/g). Regarding  $\alpha$ -amylase inhibition, HEJp was more effective ( $IC_{50} = 15.29 \mu\text{g/ml}$ ) than HEJo ( $IC_{50} = 30.46 \mu\text{g/ml}$ ), though both oils were less potent than the reference standard, acarbose ( $IC_{50} = 10.25 \mu\text{g/ml}$ ). These findings suggest a complementary therapeutic potential of the two species: *J. oxycedrus* as a natural antioxidant, and *J. phoenicea* as a potential anti-diabetic agent through  $\alpha$ -amylase inhibition.

**Key words:** *Juniperus oxycedrus*, *Juniperus phoenicea*, essential oil, antioxidant, antidiabetic, polyphenols, flavonoids.

## ملخص

اليوم، لا يزال الاستخدام المفرط للمواد الحافظة الغذائية الاصطناعية يشكل خطراً على صحة الإنسان. يهدف هذا العمل إلى استكشاف الخصائص البيولوجية في المختبر للزيوت الأساسية من العرعر الشوكي (HEJo - *Juniperus oxycedrus*) والعرعر الفينيقي (HEJp - *Juniperus phoenicea*).<sup>1</sup> ركز التقييم على نشاطها المضاد للأكسدة (DPPH، ABTS، CUPRAC، فينأنترولين)<sup>2</sup> وقدرتها على تثبيط إنزيم ألفا-أميلاز ( $\alpha$ -amylase)<sup>3</sup>، الذي يشارك في استقلاب الكربوهيدرات. أظهرت النتائج أن زيت HEJo يمتلك نشاطاً مضاداً للأكسدة أعلى<sup>5</sup>، حيث بلغت قيمة  $CI_{50}$  للـ DPPH  $41.04 \pm 0.60$  ميكروغرام/مل<sup>6</sup> وللـ ABTS  $90.22 \pm 0.97$  ميكروغرام/مل<sup>7</sup>، مقارنة بـ  $1.25 \pm 55.08$  ميكروغرام/مل<sup>8</sup> و  $2.46 \pm 649$  ميكروغرام/مل<sup>9</sup> على التوالي لزيت HEJp. كان زيت HEJo هو الوحيد الذي أظهر نشاط CUPRAC ( $Ao.s = 80.26 \pm 2.12$  ميكروغرام/مل)<sup>10</sup>، بينما لم يظهر زيت HEJp أي نشاط في هذا الاختبار<sup>11</sup>. كما أن زيت HEJo أغنى بالمركبات النشطة بيولوجياً: الفينولات الكلية ( $1.12 \pm 51.88$  ملغ/غ)<sup>12</sup>، الفلافونويدات ( $57.27 \pm 0.98$  ملغ/غ)<sup>13</sup>، والتانينات ( $1.05 \pm 54.57$  ملغ/غ)<sup>14</sup>. فيما يتعلق بتثبيط إنزيم ألفا-أميلاز، أظهر زيت HEJp فعالية أفضل ( $CI_{50} = 15.29 \pm 0.37$  ميكروغرام/مل)<sup>15</sup> من زيت HEJo ( $CI_{50} = 30.46 \pm 0.37$  ميكروغرام/مل)<sup>16</sup>، على الرغم من أن كليهما كان أقل نشاطاً من الأكاربوز ( $0.37 \pm 10.25$  ميكروغرام/مل)<sup>17</sup>. تشير هذه النتائج إلى وجود إمكانات علاجية تكميلية للنوعين: زيت HEJo كمضاد أكسدة طبيعي<sup>18</sup>، وزيت HEJp كعامل محتمل لخفض سكر الدم<sup>19</sup>.

**الكلمات المفتاحية:** العرعر الشوكي، العرعر الفينيقي، زيوت أساسية، مضاد للأكسدة، مضاد لمرض السكري، بوليفينول، فلافونويدات.

## Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
<b>Introduction</b> .....	1
<b>Chapitre I Espèces Végétales Étudiées</b>	
I.1- La famille des Cupressacées .....	4
I.2 – Le Genre Juniperus .....	5
I.2.1 – Le Genévrier de Phénicie ( <i>Juniperus phoenicea</i> L.).....	5
I.2.1.1 – Description Morphologique.....	5
I.2.1.2 – Principales Caractéristiques Botaniques.....	6
I.2.1.3 – Taxonomie .....	8
I.2.1.4 – Habitat .....	9
I.2.1.5 – Répartition géographique .....	10
I.2.1.5.1 – Répartition mondiale .....	10
I.2.1.5.2 – Répartition en Algérie .....	11
I.2.1.6.Composition chimique .....	12
I.2.1.7.Usages .....	13
I.2.2 – Juniperus oxycedrus.....	14
I.2.2.1-Systématique • .....	14
I.2.2.2- Description botanique .....	15
I.2.2.3. Répartition géographique .....	15

I.2.2.3.1.Mondiale .....	15
I.2.2.3.2- En Algérie.....	16
I.2.2.4- Composition chimique .....	16
I.2.2.5- Usages traditionnels.....	17

## **Chapitre II Activités biologiques et applications du genévrier**

II.1- Propriétés biologiques .....	19
II.1.1- Activité antioxydante.....	19
II.1.2. Activité antimicrobienne.....	21
II.1.3 -Effet analgésique et anti-inflammatoire .....	22
II.1.4 -Activité anticancéreuse.....	22
II.1.5 -Activité antifongique .....	23
II.1.6- Effet hypoglycémiant .....	24
II.1.7. Effet hypotenseur.....	24
II.2. Usages et applications.....	24
II.2.1. Applications thérapeutiques .....	25
II.2.2. Applications alimentaires.....	26
II.2.3. Autres usages.....	26

## **Chapitre III Matériel et Méthodes**

III.1- Matériel végétal .....	28
III.1.1- Récolte.....	28
III.2. Huiles essentielles .....	29
III.2.1. Procédés d'extraction .....	29
III.2.1.1. Hydrodistillation.....	29
III.2.2- Calcul du rendement .....	30
III.3. Études biologiques .....	30
III.3.1. Etude de l'activité antioxydante.....	30
III.3.1.1. Effet scavenger du radical DPPH .....	30

III.3.1.2. Réduction du radical cation ABTS .....	31
III.3.1.3. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC) .....	32
III.3.1.4. Activité de phénanthroline .....	33
III.3.2- activité inhibitrice de l'α amylase .....	34
III.3.3. dosage de molécules bioactives .....	34
III.3.3.1 Polyphénols totaux .....	34
III.3.3.2 Flavonoïdes totaux.....	35
III.3.3.3 Tanins condensés.....	35
<b>CHAPITRE IV Résultats et Discussion</b>	
IV.1 Activité antioxydante .....	36
IV.1.1 Activité du piégeage du radical libre DPPH .....	36
IV.1.2 Activité d'inhibition de radicalaire cation ABTS•+ .....	37
IV.1.3 Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC).....	39
IV.1.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe +2 Phénanthroline .....	40
IV.2 dosage de molécules bioactives .....	41
IV.3 activité inhibitrice de l'α-amylase.....	42
<b>Conclusion</b> .....	45
Références Bibliographiques .....	46
Annexes.....	55

## Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Aspect du <i>Juniperus phoenicea</i>	7
02	Feuilles et fruits de <i>Juniperus phoenicea</i>	8
03	Fleurs et feuilles de <i>Juniperus phoenicea</i>	8
04	Aire de répartition des genévriers du groupe <i>phoenicea</i>	11
05	Monoterpènes et sesquiterpènes dans les HE de <i>J. phoenicea</i>	13
06	Parties aériennes de <i>Juniperus oxycedrus</i>	14
07	Carte des groupes de végétation en Algérie	16
08	Arbre de genévrier dans la forêt d'El Kala	28
09	Sites de collecte des espèces étudiées	28
10	Réduction du DPPH par un antioxydant	31
11	Réaction ABTS entre antioxydant et espèce radicalaire	32
12	Réduction du complexe $\text{Cu}^{2+}$ -Nc (test CUPRAC)	33
13	Activité antiradicalaire (DPPH) des HE	37
14	Activité antiradicalaire (ABTS) des HE	38
15	Capacité antioxydante CUPRAC des HE	40
16	Valeurs $A_{0.5}$ du test de phénanthroline	41
17	Dosage des composés phénoliques totaux	42
18	Pourcentages d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase	44

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
I	Valeurs IC <sub>50</sub> (µg/ml) des infusions de <i>J. oxycedrus</i> , <i>J. phoenicea</i> , BHT, quercétine et Trolox	20
II	Valeurs de CIM/CBM (mg/ml) des extraits méthanoliques de baies sur les bactéries sensibles	22
III	IC <sub>50</sub> – Activité cytotoxique contre les cellules tumorales	23
IV	Activité antifongique des huiles essentielles extraites des feuilles de <i>J. phoenicea</i>	24
V	Données géographiques des sites de collecte des espèces étudiées	28
VI	Inhibition du radical DPPH par les huiles essentielles	36
VII	Activité antiradicalaire (ABTS) des HE	38
VIII	Inhibition du CUPRAC par les HE	39
IX	Pourcentage d'inhibition et A <sub>0.5</sub> pour le test phénanthroline	40
X	Dosage des molécules bioactives : Polyphénols totaux, Flavonoïdes, Tanins condensés	42
XI	IC <sub>50</sub> d'inhibition de l'α-amylase	43

## Liste des abréviations

Abréviation	Définition
<b>HE</b>	Huile Essentielle
<b>EH</b>	Extrait Hydro-méthanolique
<b>HEJo</b>	Huile Essentielle de <i>Juniperus oxycedrus</i>
<b>HEJp</b>	Huile Essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i>
<b>EAG</b>	Équivalent Acide Gallique
<b>EQ</b>	Équivalent Quercétine
<b>EC</b>	Équivalent Catéchine
<b>IC<sub>50</sub></b>	Concentration inhibitrice à 50 %
<b>DPPH</b>	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
<b>ABTS</b>	2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
<b>CUPRAC</b>	Cupric Reducing Antioxidant Capacity
<b>BHT</b>	Butylhydroxytoluène
<b>BHA</b>	Butylhydroxyanisole
<b>Nc</b>	Néocupronine
<b>UV-Vis</b>	Spectrophotométrie UltraViolet-Visible
<b>LC/MS</b>	Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse
<b>GC/MS</b>	Chromatographie Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
<b><math>\alpha</math>-Amylase</b>	Enzyme de dégradation de l'amidon
<b>TEAC</b>	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Eau distillée
<b>HCl</b>	Acide Chlorhydrique
<b>EA.g<sup>-1</sup></b>	Équivalent Acarbose par gramme

## Introduction

« La nature a offert à l'humanité d'innombrables ressources, parmi lesquelles les huiles essentielles se distinguent par leur richesse et leur diversité. » **(Belaiche, 1979)**

Les huiles essentielles sont depuis longtemps reconnues pour leurs diverses applications en médecine, en cosmétique et dans l'industrie agroalimentaire. Parmi elles, les espèces du genre *Juniperus* ont suscité un vif intérêt en raison de leur composition chimique unique et de leurs propriétés bioactives. Le genre *Juniperus*, appartenant à la famille des Cupressacées, comprend diverses espèces telles que *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea*, largement répandues dans la région méditerranéenne et traditionnellement utilisées à des fins médicinales et aromatiques **(Ennajar et al., 2010)**. Ces espèces produisent des huiles essentielles riches en composés bioactifs, ce qui les rend précieuses pour de multiples applications, notamment la conservation des aliments et la protection antimicrobienne **(Barrero et al., 2006)**.

Les huiles essentielles extraites des espèces de *Juniperus* présentent un profil chimique complexe, riche en monoterpènes, sesquiterpènes et composés phénoliques, qui contribuent à leurs puissantes activités biologiques. Des études ont identifié des constituants majeurs tels que l' $\alpha$ -pinène, le  $\beta$ -myrcène, le limonène et le sabinène, responsables de leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et antifongiques **(Ennajar et al., 2009)**. Ces bioactivités font des huiles essentielles de *Juniperus* des alternatives naturelles prometteuses pour la conservation des aliments et l'amélioration de leur sécurité. Des recherches ont démontré que ces huiles inhibent la croissance d'un large éventail de microorganismes, y compris des bactéries Gram-positives et Gram-négatives, des champignons et des levures **(Hayouni et al., 2007)**.

Dans l'industrie agroalimentaire, l'utilisation des huiles essentielles comme conservateurs naturels a gagné en popularité en raison des préoccupations croissantes concernant les additifs synthétiques et leurs risques potentiels pour la santé. Les huiles essentielles de *Juniperus* ont démontré une efficacité antimicrobienne significative contre des agents pathogènes d'origine alimentaire tels que *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* **(El-Sawi et al., 2007)**. Leur incorporation dans les emballages alimentaires, les enrobages comestibles et les techniques de transformation constitue une approche innovante pour prolonger la durée de conservation et améliorer la sécurité des aliments **(Angioni et al., 2003)**. De plus, des techniques telles que la microencapsulation et les

nano-émulsions sont explorées afin d'améliorer la stabilité et la libération contrôlée de ces huiles dans les applications alimentaires (**Bakkali et al., 2008**).

Par ailleurs, ces huiles essentielles sont utilisées comme agents aromatisants naturels, améliorant les propriétés sensorielles des produits alimentaires sans recourir à des additifs synthétiques. Leur complexité aromatique, caractérisée par des notes boisées, épicées et résineuses, les rend adaptées à diverses applications dans les boissons, les produits laitiers et la conservation des viandes (**Barrero et al., 2006**). En raison de leur forte volatilité, des stratégies telles que l'émulsification et l'encapsulation sont développées afin d'optimiser leur utilisation dans les formulations alimentaires tout en conservant leurs propriétés organoleptiques et bioactives (**Rota et al., 2008**).

Malgré leur potentiel prometteur, des défis subsistent quant à la normalisation et à l'approbation réglementaire des huiles essentielles de *Juniperus* pour les applications alimentaires. Des facteurs tels que la volatilité, la stabilité et les interactions avec les matrices alimentaires nécessitent des recherches et une optimisation supplémentaires (**Hayouni et al., 2007**). De plus, les variations de composition chimique dues aux facteurs géographiques et saisonniers doivent être prises en compte afin de garantir la cohérence et l'efficacité dans les formulations alimentaires. L'Autorité européenne de sécurité des aliments (**EFSA**) et d'autres instances réglementaires évaluent les seuils de sécurité pour l'incorporation des huiles essentielles dans différentes catégories d'aliments, soulignant la nécessité d'une validation scientifique (**EFSA, 2019**).

Cette étude vise à explorer les activités biologiques et les applications potentielles des huiles essentielles de *Juniperus* dans l'industrie agroalimentaire. En évaluant leurs propriétés antidiabétiques, antioxydantes et sensorielles, cette recherche cherche à mettre en lumière les opportunités et les défis liés à leur intégration dans les systèmes alimentaires, ouvrant ainsi la voie à des solutions durables et naturelles pour la conservation des aliments. Les perspectives futures incluent le développement de nouveaux systèmes de libération, l'harmonisation réglementaire et des études cliniques supplémentaires pour confirmer l'innocuité et l'efficacité de ces huiles essentielles dans les applications alimentaires (**Burt, 2004**).

Notre travail est structuré en deux parties. La première est consacrée à une revue bibliographique articulée de deux chapitres, dont le premier chapitre est dédié à la description botanique des deux plantes étudiées.

Le deuxième chapitre est consacré aux activités biologiques et aux applications de la plante. La partie expérimentale est subdivisée en deux chapitres :

Le premier présente le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail. Le second est réservé à la présentation et à la discussion de l'ensemble des résultats obtenus.

**Partie**

**Bibliographique**

**Chapitre I :**  
**Espèces Végétales Étudiées**

## I.1- La famille des Cupressacées

La famille des Cupressaceae, également connue sous le nom de Cupressinées, est un groupe ancien de plantes gymnospermes dont les fossiles remontent à la période jurassique. Elle était historiquement divisée en deux groupes : les Cupressaceae sensu stricto, caractérisées par des feuilles opposées disposées en quatre rangs, et les Taxodiaceae, qui possèdent des feuilles alternes. Cette famille est l'une des plus vastes et des plus importantes, comprenant 142 espèces réparties en 30 genres, dont 17 sont monotypiques. Parmi ces genres, *Cupressus* (cyprès), *Juniperus* et *Thuja* sont les plus représentatifs (Achak, 2006 ; Singh, 2006).

Selon Farjon (2005) et Singh (2006), la famille des Cupressaceae est divisée en sept sous-familles :

- **Cupressoideae** : *Thuja*, *Thujopsis*, *Chamaecyparis*, *Fokienia*, *Calocedrus*, *Tetraclinis*, *Microbiota*, *Platykladus*, *Callitropsis*, *Cupressus* et *Juniperus*.
- **Cunninghamioideae** : *Cunninghamia*.
- **Athrotaxidoideae** : *Athrotaxis*.
- **Taiwanoideae** : *Taiwania*.
- **Sequoioideae** : *Sequoia*, *Sequoiadendron* et *Metasequoia*.
- **Taxodioideae** : *Taxodium*, *Glyptostrobus* et *Cryptomeria*.
- **Callitroideae** : *Callitris*, *Actinostrobus*, *Neocallitropsis*, *Widdringtonia*, *Diselma*, *Fitzroya*, *Austrocedrus*, *Libocedrus*, *Pilgerodendron* et *Papuacedrus*.

Les Cupressaceae sont des arbres ou des arbustes, généralement résineux et aromatiques. Ils sont majoritairement monoïques, bien que certains soient rarement dioïques. Leur écorce est fibreuse et fissurée, bien que chez certaines espèces de *Cupressus* et *Juniperus*, elle puisse être lisse ou exfoliante. Leurs feuilles sont généralement en forme d'écailles, disposées en spirale, par paires opposées, ou en verticilles de trois à quatre. Leurs cônes sont ligneux, coriaces, et parfois charnus, ressemblant à des baies dans le cas de *Juniperus*. Ces cônes contiennent un ou plusieurs ovules et mettent un à deux ans pour atteindre leur maturité (Spencer, 1995 ; Singh, 2006).

Les Cupressaceae sont la famille de conifères la plus largement répandue, occupant divers écosystèmes sur tous les continents, à l'exception de l'Antarctique (Sofiev & Bergmann, 2012). Tous les genres, à l'exception de *Juniperus*, présentent une distribution fortement relictuelle. La majorité de la diversité générique se trouve dans l'hémisphère Sud, mais le plus grand genre, *Juniperus*, est principalement présent dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord (van Royen, 1979 ; Silba, 1986).

## I.2 – Le Genre *Juniperus*

Le genre *Juniperus* appartient à la tribu des Junipereae et à la sous-famille des Cupressoideae (Vidaković & Soljan, 1991). Il comprend environ 75 espèces d'arbustes ou d'arbres persistants, classées en trois sections :

- **Caryocedrus** (une seule espèce : *J. drupacea* Labill.),
- **Juniperus**, également appelé *Oxycedrus* (14 espèces),
- **Sabina** (environ 60 espèces) (Adams, 2014).

Ce genre est largement réparti dans les régions subtropicales et tempérées de l'hémisphère Nord, avec certaines espèces s'étendant jusqu'à l'hémisphère Sud, notamment en Afrique du Nord et en Afrique subsaharienne (PROTA, 2008 ; Mao et al., 2010).

En Algérie, cinq espèces indigènes sont répertoriées : *J. communis*, *J. phoenicea*, *J. oxycedrus*, *J. sabina* et *J. thurifera* (Quézel & Santa, 1963). Le genre *Juniperus* constitue le genre le plus diversifié au sein de la famille des Cupressaceae, et le deuxième taxon de conifères le plus varié après le genre *Pinus* (Debazac, 1991).

### I.2.1 – Le Genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea* L.)

#### I.2.1.1 – Description Morphologique

- **Aspect général**

*Juniperus phoenicea* est un arbuste dense ou un petit arbre dressé, dont la hauteur varie de 1 à 8 mètres, pouvant parfois atteindre jusqu'à 10 mètres. Il est généralement monoïque, mais peut occasionnellement être dioïque, avec un feuillage persistant et aromatique (**Benabid, 2000 ; Huguet, 2008 ; Rameau et al., 2008**).

L'arbre présente une forme pyramidale avec un port arrondi et touffu (**Figure 01**). Il possède généralement un tronc mince et court, pouvant atteindre jusqu'à 2 mètres de circonférence. Son système racinaire est profond, et son écorce est épaisse, de couleur brun rougeâtre ou grisâtre, et fendue. Les branches sont fines et arrondies, portant des bourgeons nus et des rameaux cylindriques (**Le Floc'h, 1983 ; Ait Youssef, 2006 ; Rameau et al., 2008**).

### **I.2.1.2 – Principales Caractéristiques Botaniques**

#### **•Feuilles**

Les feuilles sont principalement, voire entièrement, en forme d'écailles, mesurant entre 0,7 et 1 mm de longueur. Elles sont ovales ou rhomboïdales, obtuses, convexes, et rainurées sur la face dorsale. Elles sont également glanduleuses et de couleur vert foncé (**Figure 02**). (**Varlet, 1992 ; Jaume Saint-Hilaire, 2010 ; Chazel & Chazel, 2012**).

Les feuilles sont non articulées, regroupées par trois et étroitement imbriquées en quatre à six rangées, formant une structure compacte avec le rameau (**Varlet, 2008**).

#### **•Fleurs**

Les fleurs mâles et femelles se trouvent souvent sur le même arbre (bien que rarement sur des individus séparés) (**Figure 03**).

Les fleurs mâles forment de nombreux petits chatons, ovales ou arrondis, avec des écailles pédicellées. Ces chatons sont portés par des pédoncules courts et feuillés, disposés latéralement le long des rameaux.

Les fleurs femelles, beaucoup moins nombreuses, présentent des écailles épaisses et pointues, arrangées en quatre rangées (**Brochant de Villers et al., 2008**).

La période de floraison s'étend de février à avril, donnant ensuite naissance à des fausses baies sphériques rouge foncé à maturité (Chazel & Chazel, 2012).

### •Fruits

Les fruits, communément mais à tort appelés baies, sont d'abord verts, puis deviennent brun rougeâtre brillant à maturité (après deux ans). Ils sont globuleux, charnus, et irréguliers en forme, mesurant entre 7 et 10 mm de diamètre (Figure 02) (Brochant de Villers et al., 2008 ; Huguet, 2008 ; Varlet, 2008).

La chair est ferme, sèche, et fibreuse, d'abord jaune-vert, puis elle s'assombrit pour devenir brune. Le fruit dégage une odeur forte et contient entre 4 et 9 graines ovales, à extrémités pointues et à enveloppe dure (Seigue, 1985 ; Varlet, 2008).

La période de fructification s'étend de septembre à décembre (Varlet, 2008).



**Figure n° 01** : Aspect du Genévrier de Phénicie



**Figure n° 02** : Feuilles et Fruits de *Juniperus phoenicea* (Hafed 2024)



**Figure n° 03** : Fleurs et Feuilles de *Juniperus phoenicea* (Bouillet, 2007)

### I.2.1.3 – Taxonomie

*Juniperus phoenicea* est une espèce appartenant à la famille des Cupressaceae, à la tribu des Junipereae et au genre *Juniperus* (Teibi, 1992). Cette espèce comprend deux variétés

reconnues :

- *J. phoenicea* var. *phoenicea*, caractérisée par des cônes globuleux.
- *J. phoenicea* var. *turbinata*, reconnaissable à ses cônes en forme de turban (Achak, 2006).

La classification botanique du Genévrier de Phénicie est la suivante (Teibi, 1992 ; Adams, 2004) :

- **Règne** : Plantae
- **Division** : Pinophyta
- **Classe** : Pinopsida
- **Ordre** : Pinales
- **Famille** : Cupressaceae
- **Genre** : *Juniperus*
- **Espèce** : *Juniperus phoenicea*

### •Autres Noms

Cette espèce est également connue sous les noms de Genévrier rouge, Genévrier lycien, ou Araâr en arabe. Elle est aussi parfois appelée « Cade endormi ».

En Provence, elle est désignée sous les noms de « Morven » ou « Genévrier à fruits rouges ».

Le nom *phoenicea* provient du mot latin *phoenicus*, qui signifie rouge vif ou rouge cramoisi, en référence à la couleur caractéristique de ses baies (Rameau et al., 2008).

### I.2.1.4 – Habitat

*Juniperus phoenicea* est une espèce pionnière adaptée aux climats méso- et thermo-méditerranéens (Mazzoleni et al., 2004). Elle se développe dans des sols rocheux, en zones côtières, dans les forêts de pins, les maquis, les garrigues calcaires, sur de grandes falaises et sommets rocheux (Ghrabi, 2001 ; Varlet, 2008 ; Yaniv & Dudai, 2014).

Cette espèce fait preuve d'une grande résilience, capable de croître et de s'adapter à des conditions écologiques difficiles telles que la sécheresse, les vents violents et les pressions anthropiques (Benabid, 2000 ; Aafi, 2003 ; Rameau et al., 2008). Elle n'est pas spécifique quant à la nature du sol et peut tolérer les sols argileux, sableux, légèrement salins, calcaires, dolomitiques, marneux, voire volcaniques (Seigue, 1985).

Cependant, elle préfère les sols siliceux meubles et convient parfaitement à la stabilisation des dunes (Mathieu, 2008).

*Juniperus phoenicea* est souvent associée à des espèces telles que *Pinus halepensis*, *Pinus brutia*, *Quercus ilex*, *Pistacia lentiscus*, *Cistus* spp., *Olea europaea*, *Lavandula* spp., *Artemisia herba-alba*, et bien d'autres encore (Yaniv & Dudai, 2014).

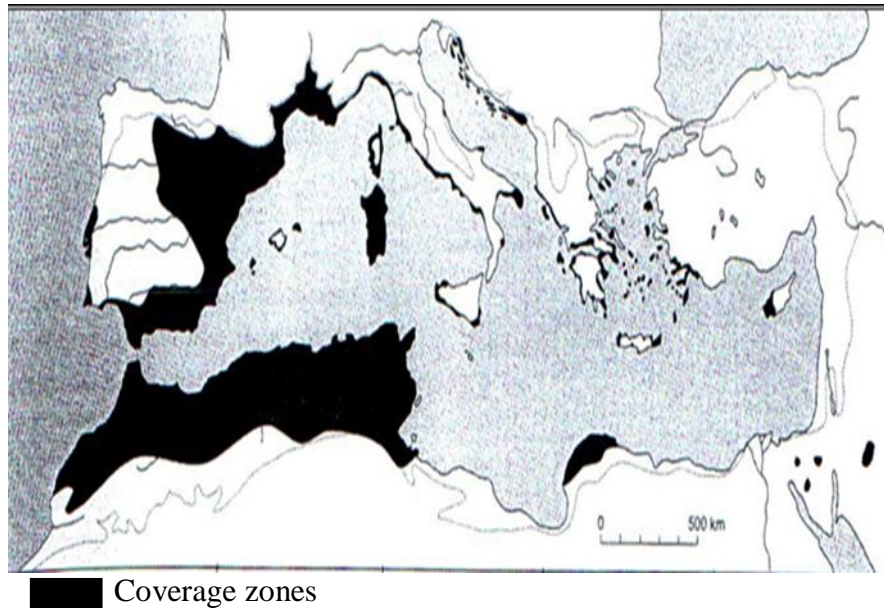
## I.2.1.5 – Répartition géographique

### I.2.1.5.1 – Répartition mondiale

Le genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea*) est une espèce à répartition circum-méditerranéenne. On le retrouve dans les régions côtières ainsi que dans les zones montagneuses de basse altitude, en général ne dépassant pas les 2000 mètres (Ait Youssef, 2006 ; Gandini, 2006).

À l'échelle mondiale, cette espèce est présente dans les régions suivantes (Figure 04) :

- **Europe méridionale** : sud de la France, est du Portugal et Espagne.
- **Asie tempérée et subtropicale** : Turquie, Chypre, ouest de l'Arabie Saoudite et Jordanie.
- **Région atlantique** : îles Canaries.
- **Afrique du Nord** : Algérie, Maroc, Tunisie, Libye et Égypte (Seigue, 1985 ; Dakki, 2003 ; Mazur et al., 2003 ; Achak et al., 2009).



**Figure n° 04** : Aire de répartition des genévriers du groupe phoenicea dans la région méditerranéenne (Quézel & Médail, 2003).

### I.2.1.5.2 – Répartition en Algérie

Le genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea*), également appelé genévrier rouge, occupe une superficie estimée à 227 000 hectares, ce qui représente environ 10 % des surfaces forestières de l'Algérie (Louni, 1994). Il est couramment rencontré le long du littoral, sur les hauts plateaux et dans les régions de l'Atlas saharien autour d'Oran, Alger et Constantine (Ait Youssef, 2006).

Ailleurs, il est relativement rare, principalement présent sur les dunes côtières, les collines, et le long de la côte barbaresque. Dans les montagnes de l'Aurès, notamment dans la partie sud (notamment dans les régions de Maafa et Beni Fodhala), il constitue une part importante de la végétation en compagnie des cèdres, couvrant une superficie d'environ 1 950 hectares (Abdessamed, 1981 ; Dakki, 2003 ; Ait Youssef, 2006).

L'espèce est souvent associée à *Pinus halepensis*, mais c'est dans l'Atlas saharien, en limite du désert — surtout dans les régions de Djelfa et Bousaâda — qu'elle occupe une vaste étendue (Frank, 1986 ; Louni, 1994).

### I.2.1.6. Composition chimique

La majorité des constituants chimiques isolés des feuilles et des cônes (fruits) de *Juniperus phoenicea* (**Figure 05**) sont des huiles volatiles (**Angioni et al., 2003 ; Cosentino et al., 2003 ; El-Sawi et al., 2007**). En général, les huiles essentielles des espèces de *Juniperus* se composent de 85 à 95 % de monoterpènes et d'environ 0,1 à 12 % d'alcools (**Angioni et al., 2003**).

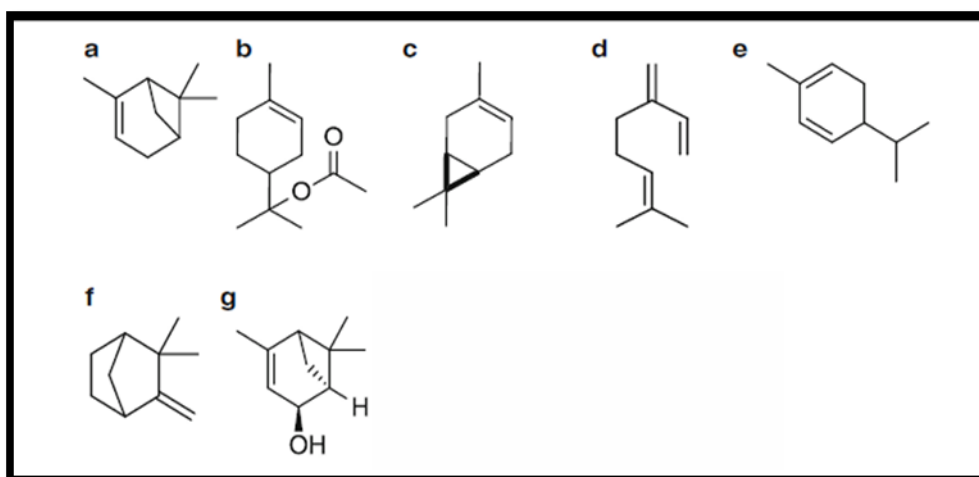
L'huile essentielle extraite des feuilles de *J. phoenicea* présente une grande variabilité chimique. Toutefois, de nombreuses études rapportent qu'elle est majoritairement composée de monoterpènes hydrocarbonés, dont l' $\alpha$ -pinène est le principal constituant. Elle contient également des monoterpènes oxygénés, tels que l'acétate d' $\alpha$ -terpinyle, le  $\delta$ -3-carène, le myrcène, l' $\alpha$ -phéllandrène et le  $\beta$ -phéllandrène (**Afifi et al., 1992 ; Rezzi et al., 2001 ; Angioni et al., 2003 ; El-Sawi et al., 2007 ; Ennajjar et al., 2009 ; Mazari et al., 2010**).

L'huile essentielle des baies est principalement constituée de monoterpènes, suivis de sesquiterpènes, avec l' $\alpha$ -pinène comme composant caractéristique. On y trouve également du camphène, du  $\delta$ -3-carène et du trans-verbenol en quantités variables (**Delitala, 1980 ; Lawrence, 1989 ; Rezzi et al., 2001**).

Les études phytochimiques ont révélé que cette espèce contient également des résines, des acides gras, des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des stérols et des triterpènes (**Medini et al., 2013 ; Alzand et al., 2014 ; El-Sawi et al., 2014**). Elle renferme aussi des glucides, notamment trois glycosides phénylpropanoïdes (junipérosides, rosarine et skimmine) ainsi que deux dérivés glucosidiques de furanone (psydrine et phoenicéine) (**Aboul-Ela et al., 2005**). La présence de phoenicérosides (pseudo-dimères des deux furanones précédemment cités) et de dérivés du phénylisopropane a également été démontrée dans certaines études (**Comte et al., 1996**).

Seules de petites quantités de dérivés phénoliques ont été identifiées, principalement des bisflavones et des lignanes (**San Feliciano et al., 1992 ; Comte et al., 1997**).

En Égypte, sept nouveaux composés diterpénoïdes, appartenant aux groupes labdane, pimarane et abietane, ont été isolés à partir des fruits de la plante (**El-Sawi & Motawe, 2008**).



**Figure 05** : Principaux monoterpènes et sesquiterpènes présents dans les huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* (Yaniv et Dudai, 2014)

(a)  $\alpha$ -Pinene, (b)  $\alpha$ -Terpinyl acetate, (c)  $\delta$ -3-Carene, (d) Myrcene, (e)  $\alpha$ -Phellandrene, (f) Camphene, (g) trans-Verbenol

### I.2.1.7. Usages

Le genévrier de Phénicie est très apprécié pour son bois, couramment utilisé comme combustible et pour la production de charbon de bois. Ses feuilles sont parfois utilisées comme fourrage pour le bétail (Seigue, 1985 ; Bellakhdar, 1997).

Cette espèce compte parmi les plantes médicinales les plus importantes et est largement utilisée en médecine traditionnelle (Bellakhdar, 1997). Ses rameaux feuillus servent à produire du goudron végétal, utilisé pour traiter l'eczéma, et en inhalation dans les cas d'asthme, de bronchite, de maux de tête, de vertiges et de rhumatismes (Seigue, 1985 ; Derwich et al., 2010).

Les feuilles, préparées en décoction, sont utilisées pour traiter le diabète, la diarrhée, le rhumatisme et les troubles digestifs (Seigue, 1985 ; Bellakhdar, 1997 ; Allali et al., 2008). Un mélange de feuilles et de cônes est également utilisé comme agent hypoglycémiant oral (Amer et al., 1994 ; Mazari et al., 2010).

De plus, les feuilles séchées et réduites en poudre sont connues pour leurs effets bénéfiques sur les affections broncho-pulmonaires ainsi que pour leurs propriétés diurétiques (Bellakhdar, 1997). Quant aux fruits séchés et broyés, ils sont utilisés dans le traitement des ulcères cutanés et des abcès (Le Floc'h, 1983).

## I.2.2 – *Juniperus oxycedrus*

Le genévrier cade (*Juniperus oxycedrus*), (**Figure 06**), appartient à la famille des Cupressacées. Le genre *Juniperus* L. est le plus diversifié de cette famille et possède la plus vaste répartition parmi les conifères. Il comprend environ 75 espèces (**Adams et al., 2013**), dont la majorité pousse dans l'hémisphère Nord.

Le genévrier cade est couramment présent dans les régions côtières méditerranéennes, s'étendant du Maroc jusqu'à l'Iran. Il constitue l'une des plantes caractéristiques des garrigues et des maquis, et est largement répandu dans tout le bassin méditerranéen. Il pousse en Europe méridionale (Espagne, France) et s'étend jusqu'aux pays du Moyen-Orient.



**Figure n° 06** : Parties aériennes de *Juniperus oxycedrus*, feuilles, glabres et brindilles.

### I.2.2.1-Systématique

- Embranchement : Spermatophytes
- Sous-embranchement : Gymnospermes
- Classe : Pinophytes
- Ordre : Pinales
- Famille : Cupressaceae

- Genre : *Juniperus*
- Espèce : *Juniperus oxycedrus* L.

### I.2.2.2- Description botanique

*Juniperus oxycedrus* est un arbre ou arbuste dioïque pouvant atteindre entre 8 et 12 mètres de hauteur. Il présente des branches étalées et un feuillage persistant. Ses feuilles, disposées en verticilles de trois autour des rameaux, sont en forme d'aiguilles ou d'écailles, plus longues que celles de *Juniperus communis*, et très piquantes. Elles présentent deux bandes blanches sur la face supérieure (Riou-Nivert, 2001) et mesurent entre 8 et 25 mm de long pour 1 à 1,5 mm de large.

Les cônes femelles, de 8 à 10 mm de diamètre, renferment trois graines par cône et passent de la couleur orange au brun rougeâtre à maturité (Schulz et al., 2003). En tant qu'espèce dioïque, les fleurs mâles sont jaunes, tandis que les fleurs femelles sont vertes. Après la fécondation, les cônes globuleux fusionnent pour former des baies. Après environ deux ans, ces baies, appelées galbules, arrivent à maturité, prennent une teinte brunâtre ou brun rougeâtre et mesurent entre 8 et 10 mm de diamètre (Chaouche, 2013). Chaque fruit contient trois graines triangulaires, de 2 à 3 mm, enchâssées dans la partie charnue du galbule.

### I.2.2.3. Répartition géographique

#### I.2.2.3.1.Mondiale

*Juniperus oxycedrus* est largement réparti dans toute la région méditerranéenne, incluant des pays tels que l'Espagne, la France, l'Italie, la Grèce et le Portugal. On le trouve également dans certaines parties de l'Europe centrale et orientale. Cette espèce est présente au Moyen-Orient, notamment en Turquie, en Syrie, au Liban et en Palestine. En Asie, elle est localisée dans certaines régions d'Iran, d'Irak et de Jordanie. En Afrique du Nord, *Juniperus oxycedrus* est bien implanté au Maroc, en Algérie, en Tunisie et en Libye. Le climat méditerranéen de ces régions offre des conditions favorables à sa croissance. Il prospère sur des pentes sèches ainsi que sur des dunes de sable et préfère les milieux arides et rocheux, qu'ils soient sur sols calcaires ou acides. Il est fréquemment associé au chêne vert (*Quercus ilex*) et au chêne kermès (*Quercus coccifera*) (Brus et al., 2011).

### I.2.2.3.2- En Algérie

Les forêts de genévriers couvrent environ 290 000 hectares en Algérie. Cependant, elles sont en déclin progressif, notamment dans l'Atlas saharien et sur les versants sud du Grand Atlas, dans les zones semi-désertiques. Ce déclin est principalement dû aux activités humaines (Kerbouche, 2010).

Cette espèce se développe à des altitudes comprises entre 0 et 1 000 mètres (Franck, 2018). *Juniperus oxycedrus* est couramment rencontré dans les massifs de l'Atlas, en particulier dans les chaînes telliennes et sahariennes. Il est également présent dans les régions côtières algériennes le long du littoral méditerranéen. Des populations de *Juniperus oxycedrus* ont été recensées dans des localités telles qu'Oran, Skikda, Annaba, El Tarf et Béjaïa (Quézel & Gast, 2017) (Figure 07).

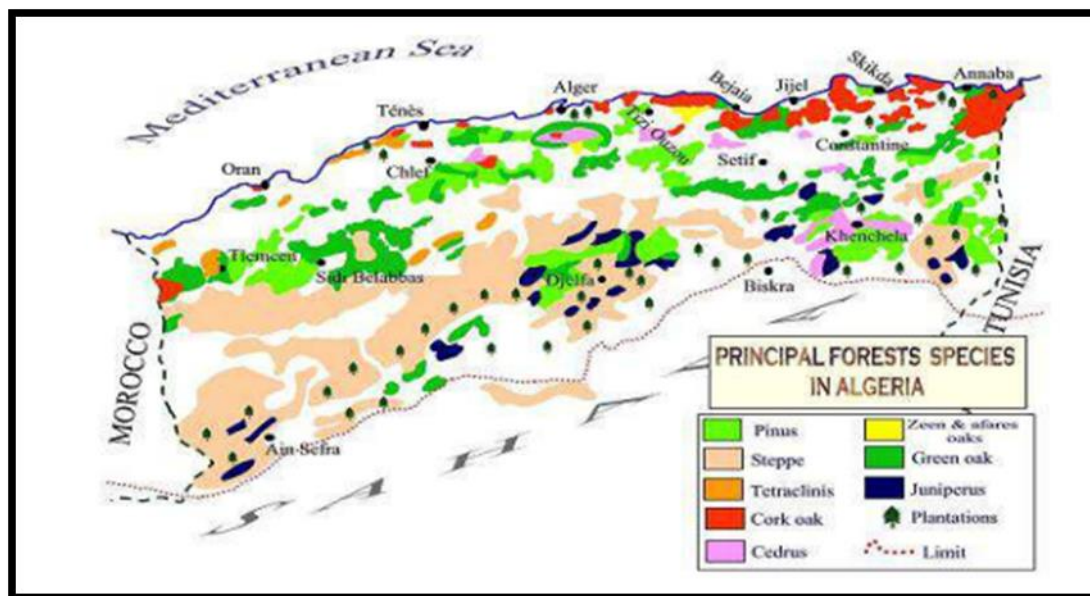


Figure n°07 : Carte des groupes de végétation en Algérie (INRF, 2012)

### I.2.2.4- Composition chimique

L'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* provenant de la région de l'Atlas algérien est principalement constituée d' $\alpha$ -pinène (41,3 %), accompagnée de quantités modérées de phellandène,  $p$ -cymène, limonène, myrcène, terpinéol, (E)-nérolidol et manoyl oxide. En revanche, *J. oxycedrus* ssp. *macrocarpa* contient une proportion plus élevée de sabinène (26,5 %) ainsi que d' $\alpha$ -pinène (22,6 %). L'huile de *J. oxycedrus* ssp. *badia* est riche en  $\alpha$ -pinène (20,7

%) mais contient très peu de sabinène (0,1 %), avec une quantité importante de manoyl oxide (10,9 %) (Adams, 2000).

(Milos et Radonic 2000) ont identifié 36 composés dans l'huile des feuilles, 15 dans celle des baies vertes, et 22 dans celle des baies mûres de *Juniperus oxycedrus* L. collectées en Dalmatie. L' $\alpha$ -pinène était le constituant majeur, avec une proportion variant entre 41,37 % et 66,30 %.

(Salido et al. 2002) ont rapporté que l'huile essentielle des feuilles de *Juniperus oxycedrus* ssp. *badia*, récoltée en Espagne, contenait de fortes concentrations d' $\alpha$ -pinène (40–57 %), suivie par le manoyl oxide (5–10 %). L'huile des baies était dominée par l' $\alpha$ -pinène (65 %), accompagnée de myrcène, limonène, D-germacrène et  $\gamma$ -muurolène en quantités modérées.

Plus récemment, (Fadel et al. 2019) ont extrait de l'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* poussant dans la région de l'Aurès en Algérie, avec un rendement de 0,02 %. L'analyse par GC-MS et GC-FID a révélé la présence de 38 composés représentant 98,5 % de l'huile totale. Les principaux composés étaient le manoyl oxide (23,5 %), le pentadécan-2-én-6-one (12,6 %), l'abietatriène (8,0 %), l'abieta-8,11,13-triène-7-one (6,5 %), le cubébol (4,6 %), l'épi-torilénol (3,8 %) et l' $\alpha$ -cadinol (2,6 %).

### I.2.2.5- Usages traditionnels

Depuis l'Antiquité, le bois, les baies et les feuilles de genévrier ont été utilisés à diverses fins et étaient considérés comme un remède miraculeux durant le Moyen Âge. *Juniperus oxycedrus* était principalement utilisé comme encens et comme remède traditionnel contre de nombreuses affections, notamment les douleurs abdominales, les troubles digestifs, les maladies gynécologiques, les hémorroïdes, les rhumes, la toux, la bronchite, l'obésité, la tuberculose, la pneumonie, la calcification articulaire, les infections fongiques et l'hyperglycémie (OMS, 1980 ; Hayta & Bagci, 2014).

Les infusions de ses feuilles sont reconnues pour être efficaces dans le traitement de la jaunisse, des troubles respiratoires tels que l'asthme, ainsi que comme bain de bouche pour soulager les douleurs dentaires. Les décoctions de feuilles sont utilisées pour soigner les troubles urinaires, les inflammations rénales et pour éliminer les calculs rénaux (Kahouadji, 1995). Dans la médecine populaire algérienne, cette espèce est traditionnellement employée comme diurétique, stimulant, tonique pour l'estomac et les poumons, ainsi que comme

désinfectant purifiant (**Baba Aissa, 1991**). En Turquie, les décoctions de baies et de feuilles sont utilisées en médecine populaire, notamment pour faire baisser le taux de sucre dans le sang (**Baba Aissa, 1991**). De plus, les baies de genévrier sont encore utilisées en cuisine européenne comme épice, apportant une saveur forte et caractéristique aux plats de viande (**Loizzo et al., 2007**).

L'huile de genévrier est reconnue depuis longtemps pour ses propriétés antiseptiques, ce qui en fait un traitement largement utilisé en dermatologie humaine et vétérinaire contre l'eczéma, la teigne, l'herpès, l'acné et le psoriasis. Elle s'est également révélée être un vermifuge et un parasiticide efficace contre la gale, la gale sarcoptique et le favus (**Bertaudière-Montes & Montès, 2004 ; Bhar & Balouk, 2011**). Par ailleurs, le goudron de genévrier est utilisé comme composant parfumé dans les savons, détergents, crèmes, lotions et parfums (**Al-Snafi, 2018**).

## **Chapitre II :**

# **Activités biologiques et applications du génévrier**

## II.1- Propriétés biologiques

Des études pharmacologiques récentes menées sur *Juniperus oxycedrus* ont révélé que les constituants de cette plante possèdent de nombreuses activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antipyrétiques, antibactériennes, antivirales et anticancéreuses, entre autres (Allen & Hatfield, 2004 ; Orhan et al., 2011 ; Bais et al., 2014).

### II.1.1- Activité antioxydante

En 2014, Lesjak et al. ont rapporté que leurs résultats démontraient que les feuilles et les cônes de graines de *Juniperus macrocarpa* présentaient des effets antioxydants modérés, comparables à ceux du BHA. Toutefois, l'extrait et l'huile essentielle issus des feuilles se sont révélés significativement plus efficaces que ceux provenant des cônes de graines dans la plupart des tests, ainsi qu'en termes de teneur totale en composés phénoliques et en flavonoïdes. Les résultats ne sont toutefois pas concluants, car tous les tests n'étaient pas optimisés pour les substrats polaires et non polaires. Il n'est donc pas possible de déterminer avec certitude si les extraits ou les huiles essentielles possèdent une capacité antioxydante supérieure.

Selon El Jemli et al. (2016), les tests évaluant l'activité antioxydante des infusions de *Juniperus thurifera*, *Juniperus phoenicea*, *Juniperus oxycedrus* et *Tetraclinis articulata* ont montré que tous les extraits étaient capables de réduire le radical libre DPPH, de couleur violette stable, en DPPH-H, de couleur jaune.

L'extrait aqueux de *J. oxycedrus* a présenté la plus forte activité de piégeage des radicaux libres, avec une valeur  $IC_{50}$  de  $17,91 \pm 0,37 \mu\text{g/ml}$  (Tableau I). À l'inverse, la capacité la plus faible à réduire le DPPH a été observée avec l'extrait aqueux de *J. phoenicea* ( $IC_{50} = 30,74 \pm 0,11 \mu\text{g/ml}$ ).

Tous les extraits aqueux se sont révélés moins efficaces que l'antioxydant synthétique BHT ( $IC_{50} = 4,20 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$ ) et la quercétine ( $IC_{50} = 1,29 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$ ). De même, l'extrait de *J. oxycedrus* a montré les meilleures performances dans les tests ABTS et de pouvoir réducteur, avec des valeurs  $IC_{50}$  de  $19,80 \pm 0,55 \mu\text{g/ml}$  et  $24,23 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}$ , respectivement.

**Tableau I** : Valeurs  $IC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) des infusions de *J. oxycedrus*, *J. phoenicea*, et des antioxydants BHT, quercétine et Trolox (El Jemli et al., 2016).

	Infusions		Positive control		
	J. oxycedrus	J. phoenicea	BHT	Quercetin	Trolox
<b>DPPH</b>	17,91±0,37	30,74±0,11	4,20±0,02	1,29±0,01	/
<b>ABTS</b>	19,80±0,55	47,37±0,59	/	/	1,93±0,01
<b>FRAP</b>	24,23±0,07	46,85±0,42	7,02±0,02	2,06±0,01	/

Selon une étude menée par **Miceli et al. (2018)**, l'activité antioxydante primaire des extraits de *Juniperus* a été évaluée à l'aide du test DPPH (impliquant les mécanismes HAT et SET) ainsi que du test du pouvoir réducteur (méthode basée sur le mécanisme SET). Le test de chélation des ions  $Fe^{2+}$  a été utilisé pour déterminer les propriétés antioxydantes secondaires.

Les résultats ont montré que tous les extraits foliaires de *Juniperus* présentaient des effets antioxydants notables, l'extrait méthanolique de *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* étant le plus actif. Toutefois, les extraits n'ont démontré aucune capacité de chélation.

Sur la base de ces résultats, il est évident que les extraits foliaires de *Juniperus* peuvent agir uniquement en tant qu'antioxydants primaires. De plus, les extraits méthanoliques se sont révélés généralement plus actifs que les extraits aqueux. **Miceli et al. (2018)**, ont également précisé que leurs conclusions concordent avec celles rapportées précédemment par **Orhan et al. (2011)** pour les extraits foliaires de *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* et *J. communis* ssp. *nana*.

L'analyse HPLC/ESI-MS des extraits méthanoliques de *Juniperus* a révélé des différences qualitatives et quantitatives dans la teneur en composés phénoliques, l'amentoflavone et la cupressuflavone étant les composés les plus abondants détectés. L'activité piègeuse de radicaux libres de ces flavonoïdes, y compris l'amentoflavone et la cupressuflavone, a été démontrée. Ainsi, les effets antioxydants primaires peuvent être attribués aux composés phénoliques présents dans les extraits foliaires de *Juniperus*, principalement en raison de la présence de ces biflavonoïdes.

## II.1.2. Activité antimicrobienne

De nombreux chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales en raison de leur richesse en antioxydants naturels, lesquels possèdent des activités antimicrobiennes (**Djaber & Madani, 2020**).

En 1999, **Digrak et al.**, ont testé le potentiel antimicrobien des extraits de feuilles, fruits, résine et écorce de *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus*. Ils ont constaté que ces extraits inhibaient la croissance de plusieurs bactéries, mais n'exerçaient aucun effet antifongique.

Selon **Medini et al. (2013)**, les activités antimicrobiennes des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* et de *J. oxycedrus* ssp. *macrocarpa* ont été démontrés. La puissance de ces huiles a été évaluée de manière qualitative et quantitative, en se basant sur la présence ou l'absence de zones d'inhibition ainsi que sur le diamètre de ces zones.

Les résultats ont montré que les huiles essentielles de *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* présentaient un potentiel antibactérien contre deux des quatre souches testées, tandis que *J. oxycedrus* ssp. *macrocarpa* montrait une activité contre trois des quatre souches. *Escherichia coli* s'est révélée être l'organisme le plus résistant (aucune zone d'inhibition autour du disque), tandis que *Staphylococcus aureus* était le plus sensible à toutes les huiles testées.

La taille des zones d'inhibition variait de 6,5 mm (contre *Salmonella enteritidis*) à 13,5 mm (contre *Staphylococcus aureus*). *Salmonella typhimurium* était sensible uniquement à *J. oxycedrus* ssp. *macrocarpa* (8 mm). Les auteurs ont également noté que les huiles testées étaient plus actives contre les bactéries Gram positives que contre les bactéries Gram négatives.

**Selon Taviano et al. (2013)**, les résultats des tests de sensibilité des micro-organismes aux extraits méthanoliques de *J. oxycedrus* et *J. macrocarpa*., ont montré un effet bactériostatique contre les bactéries Gram positives (**Tableau II**).

Ils ont montré la même efficacité contre les souches staphylococciques, avec une activité maximale contre *Staphylococcus aureus*. Toutefois, l'extrait de *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* a présenté une activité supérieure à celle de *J. oxycedrus* ssp. *macrocarpa* contre *Enterococcus hirae* et *Bacillus subtilis* (**Taviano et al., 2013**).

**Tableau II** : Valeurs de CIM/CBM (mg/ml) des extraits méthanoliques de baies de *J. oxycedrus* et *J. macrocarpa* sur les bactéries sensibles (**Taviano et al., 2013**).

bacteria positive gram	J.oxycedrus		J.marocarpa		Ofloxacine
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI
<b>S.aureus</b>	625.00	>2500	625.00	>2500	0.3
<b>S.epidermidis</b>	1250.00	>2500	1250.00	>2500	0.3
<b>E.hirae</b>	625.00	>2500	1250.00	>2500	0.2
<b>B.subtilis</b>	312.00	>2500	1250.00	>2500	0.2

### II.1.3 -Effet analgésique et anti-inflammatoire

Des extraits méthanolique et au dichlorométhane, obtenus à partir des feuilles et des tiges de *Juniperus oxycedrus*, ont été testés pour leurs effets analgésiques et anti-inflammatoires. L'extrait méthanolique a montré un effet analgésique dans des modèles de stimulation chimique, mécanique et thermique, tandis que l'extrait au dichlorométhane n'a présenté un effet significatif que dans les modèles de douleur induite chimiquement.

Les deux extraits ont démontré une activité anti-inflammatoire significative, en inhibant l'œdème de la patte induit par la carraghénine chez le rat (Moreno et al., 1998).

### II.1.4 -Activité anticancéreuse

Un nombre croissant d'études sur les extraits des espèces du genre *Juniperus* a mis en évidence leur potentiel en tant que source de molécules naturelles dotées d'une activité anticancéreuse puissante (Taviano et al., 2013 ; Yaglioglu et al., 2017).

Dans le cadre de recherches récentes, l'activité cytotoxique des feuilles et des baies de *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* a été évaluée sur deux lignées cellulaires de carcinome mammaire humain, à savoir MDA-MB-468 et MCF-7, en utilisant le test MTT. Les valeurs de la concentration inhibitrice à 50 % (IC<sub>50</sub>) ont été calculées pour chaque extrait.

Les résultats présentés dans le tableau III indiquent que la lignée cellulaire MCF-7 a montré la plus grande sensibilité aux extraits, avec des IC<sub>50</sub> de 5,23 µg/ml pour les baies et 10,75 µg/ml pour les feuilles.

En ce qui concerne la lignée MDA-MB-468, les IC<sub>50</sub> étaient de 6,43 µg/ml pour les baies et 14,26 µg/ml pour les feuilles (*Ben Mrid et al., 2019*).

**Tableau III** : Activité cytotoxique contre les cellules tumorales

Tested Sample	Organ	MDA-MB 468 (IC <sub>50</sub> µg/ml)	MCF-7 (IC <sub>50</sub> µg/ml)	PBMCs (IC <sub>50</sub> µg/ml)
<i>Juniperus oxycedrus</i> ssp. <i>oxycedrus</i>	Leaves	14.30 ± 3.3	10.10 ± 1.40	>50
<i>Juniperus oxycedrus</i> ssp. <i>oxycedrus</i>	Berries	6.40 ± 1.1	5.20 ± 2.00	49
CisP (Cisplatin)	-	0.20 ± 0.0	2.20 ± 0.40	0.27

Les cellules ont été traitées avec des extraits méthanoliques d'aiguilles et de baies de *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* (*Ben Mrid et al., 2019*).

### II.1.5 -Activité antifongique

Les huiles essentielles extraites des feuilles de *Juniperus phoenicea*, originaires d'Algérie, ont été testées pour leur activité antifongique sur trois souches fongiques. Les effets fongostatiques observés sont résumés dans le **Tableau IV**.

Les résultats des tests d'activité antifongique ont montré que ces huiles ont modérément inhibé la croissance d'*Aspergillus flavus* et de *Fusarium oxysporum*. En revanche, aucune activité significative n'a été observée contre *Rhizopus stolonifer* (*K. Mazari et al., 2010*).

**Tableau IV** : Activité antifongique des huiles essentielles extraites des feuilles de *J. phoenicea* (*K. Mazari et al., 2010*)

Strains used	Inhibition zones
<b>Aspergillus flavus</b>	40.06
<b>Fusarium oxysporum</b>	47.01
<b>Rhizopus stolonifer</b>	-

### II.1.6- Effet hypoglycémiant

Les effets hypoglycémiants et antidiabétiques des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* ont été évalués chez des rats normaux, des rats rendus hyperglycémiques par administration de glucose, ainsi que chez des rats diabétiques induits par la streptozotocine. Les fractions et sous-fractions isolées à partir des sous-extraits n-hexanique et n-butanolique, obtenues par chromatographie sur colonne de gel de silice après un processus de fractionnement guidé par l'activité biologique, ont révélé une activité antidiabétique significative (Orhan et al., 2012).

L'inhibition de l' $\alpha$ -amylase a été utilisée comme modèle pour étudier l'activité hypoglycémiante de *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus*. L'huile obtenue par hydrodistillation du bois de cette plante a montré une activité inhibitrice notable de l' $\alpha$ -amylase, avec une valeur d'IC<sub>50</sub> de 3,49  $\mu$ l/ml (Loizzo et al., 2007).

### II.1.7. Effet hypotenseur

Les extraits méthanolique et dichlorométhanique de *J. oxycedrus* récolté en Espagne ont démontré un effet hypotenseur chez des rats normotendus. Cette réduction de la pression artérielle s'est révélée indépendante du système adrénergique (Bello et al., 1997).

## II.2. Usages et applications

Le genévrier est utilisé depuis l'Antiquité comme plante médicinale par les Grecs et les Arabes. Il était hautement estimé par les civilisations grecque et romaine (Quézel et al., 1962).

En médecine traditionnelle, cette plante est reconnue comme un remède efficace contre de nombreuses maladies inflammatoires et infectieuses telles que la bronchite, le rhume, la toux,

les infections fongiques, les hémorroïdes, les affections gynécologiques et les plaies (**Akkol et al., 2009**).

Les huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* sont largement exploitées dans les industries agroalimentaire, pharmaceutique et biomédicale. Traditionnellement, elles sont utilisées comme analgésiques en cas d'inflammation, comme agents hypotenseurs, ainsi que pour leurs propriétés antihyperglycémiantes. En dermatologie, elles sont prescrites pour le traitement de l'eczéma chronique et d'autres affections cutanées (**Medini et al., 2012 ; Raho et al., 2017 ; Loizzo et al., 2007 ; Stassi et al., 1996 ; Mansouri et al., 2010**).

### II.2.1. Applications thérapeutiques

Tonique et diurétique, *Juniperus* constitue un puissant antiseptique des voies urinaires et un remède efficace contre la cystite. Ses baies, dotées de fortes propriétés diurétiques, sont particulièrement indiquées pour lutter contre la rétention d'eau. Il est considéré comme l'un des antiseptiques urinaires naturels les plus puissants, mais son utilisation est contre-indiquée en cas d'insuffisance rénale (**Anonymous 4, 2021**).

Le genévrier renforce également le système digestif, soulage les coliques et stimule l'activité gastrique. Qu'il soit utilisé en usage interne ou externe, il s'est révélé efficace dans le traitement de l'arthrite chronique, de la goutte et du rhumatisme. Par ailleurs, il est reconnu pour stimuler le flux menstruel (**Iserin, 2001**).

En médecine traditionnelle, cette plante est couramment utilisée sous forme de décoction pour soulager les troubles gastriques et comme analgésique par voie orale (**Fernandez et al., 1996**). En Algérie, elle est également connue pour ses propriétés antidiarrhéiques (**Dobet Dahmane, 2008**).

Le genévrier est surtout renommé pour l'huile obtenue par distillation de son bois, connue sous le nom d'huile de cade (*cade oil*) (**Marongiu et al., 2003**). Cette huile est utilisée depuis longtemps en application externe pour traiter diverses affections cutanées telles que l'eczéma sec chronique, l'acné, le psoriasis et le lichen. Elle favoriserait le drainage des tissus sous-cutanés et réduirait l'inflammation (**Iserin, 2001**).

Le « vin de genévrier » était autrefois réputé pour ses propriétés diurétiques. En dermatologie humaine, l'huile de cade a été employée comme antiseptique et parasiticide dans le traitement de l'eczéma chronique et de certaines maladies cutanées telles que la gale, sous forme de

pommade. De nos jours, cette huile essentielle est également recommandée pour les soins vétérinaires, notamment contre les affections du cuir chevelu chez les animaux domestiques et comme vermifuge (Becker et al., 1982 ; Bouhlal et al., 1988 ; Tavares et al., 2012).

### II.2.2. Applications alimentaires

Les baies de genévrier sont couramment utilisées comme épices, en particulier dans la cuisine européenne, et elles confèrent également leur arôme caractéristique au gin. Selon un rapport de la FAO, il s'agit des seules épices issues de conifères. Elles occupent une place importante dans la cuisine d'Europe du Nord, notamment en Scandinavie, où elles apportent une saveur prononcée et particulière aux plats de viande, en particulier aux oiseaux sauvages et au gibier. Elles sont également employées pour rehausser le goût du porc, du chou et de la choucroute. Ainsi, les recettes traditionnelles de choucroute garnie, un plat alsacien à base de choucroute et de différentes viandes incluent systématiquement des baies de genévrier (Montagne, 1999).

Les baies du genévrier cade sont comestibles et sont également utilisées dans la fabrication de boissons alcoolisées, en particulier le gin (Anonyme 4, 2021). Une étude menée à l'université de Djelfa a examiné l'effet de l'ajout des huiles essentielles de genévrier oxycèdre (*Juniperus oxycedrus*) et de genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea*) sur l'évolution des paramètres physico-chimiques du lait cru de vache et de brebis. Les résultats ont montré que l'incorporation de différentes doses de ces huiles essentielles modifiait significativement certains paramètres, notamment par une diminution du pH au cours de la période de conservation et une augmentation de l'acidité titrable à température ambiante.

Cependant, d'autres paramètres — tels que la teneur en matières grasses, les extraits secs dégraissés, les protéines, le lactose, le point de congélation et la densité — ont été peu affectés par l'ajout d'huiles essentielles, en comparaison aux échantillons témoins (Messaoudi & Abdelmoula, 2019 ; Berkat & Kaddour, 2019).

### II.2.3. Autres usages

L'odeur de l'huile de cade repousse les insectes, aussi bien dans les habitations que pour la protection du bétail. Lorsque sa sciure est brûlée, elle dégage un parfum agréable qui fait également un excellent répulsif contre les insectes.

Autrefois, le genévrier était utilisé comme combustible et pour le tournage sur bois. Son bois servait également à fabriquer des manches d'outils, des couteaux, des cannes, des pipes, et était très apprécié en ébénisterie ainsi qu'en sculpture artistique. En raison de sa résistance à la pourriture, il était aussi employé pour la fabrication de conduites d'eau, de poteaux de clôture et même de cercueils (**Vanderweyen, 2002**).

Ce type de bois était autrefois considéré comme un remède universel, et ses fumigations étaient réputées posséder des propriétés désinfectantes. Elles étaient notamment utilisées dans les rues pour lutter contre les épidémies de peste et de choléra.

# **Partie Expérimentale**

# **Chapitre III**

## **Matériel et Méthodes**

### III.1- Matériel végétal

#### III.1.1- Récolte

Les espèces *Juniperus oxycedrus* L. et *Juniperus phoenicea* L. ont été récoltées dans la région orientale de l'Algérie, plus précisément dans la commune d'El Kala, située dans la wilaya d'El Tarf. Cette zone est réputée pour sa biodiversité exceptionnelle ainsi que ses espaces forestiers protégés. Les prélèvements ont été effectués en décembre 2024, dans des sites naturels caractérisés par un climat méditerranéen humide, un sol siliceux, et une végétation dense. Ces conditions écologiques sont particulièrement favorables au développement des espèces du genre *Juniperus*. Les coordonnées géographiques des sites d'échantillonnage sont présentées dans le tableau ci-dessous (**Tableau V**).

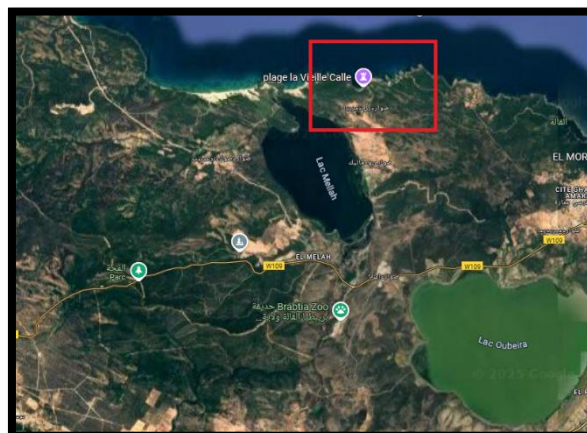
**Tableau V** : Données géographiques des sites de collecte des espèces étudiées

Espèce	Région	Coordonnées géographiques
<b>Juniperus oxycedrus L</b>	El Tarf	Latitude : 36° 53' 44" N (36.8956° décimal)
<b>Juniperus phoenicea L</b>	El Tarf	Longitude : 8° 26' 36" E (8.4433° décimal)



**Figure n°08**

Arbre de genévrier dans la forêt d'El Kala  
(El Tarf)



**Figure n°09**

sites de collecte des espèces étudiées

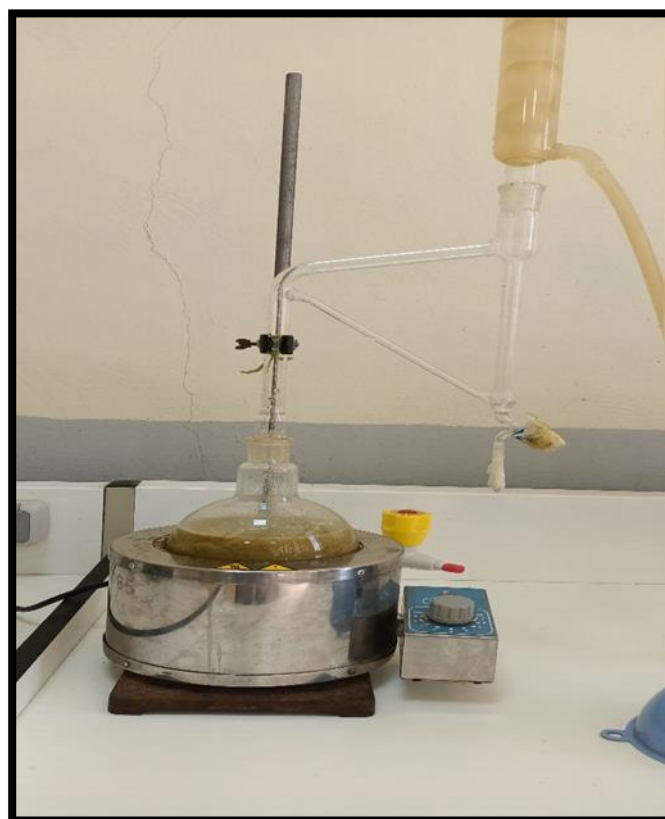
## III.2. Huiles essentielles

### III.2.1. Procédés d'extraction

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger pendant une durée de 3 heures.

#### III.2.1.1. Hydrodistillation

L'extraction de l'huile essentielle de *Juniperus* a été effectuée avec un dispositif d'hydrodistillation de type Clevenger (**Figure 09**). Pour ce faire, 100 g de matériel végétal ont été placés dans un ballon de 1 litre contenant de l'eau distillée. Le mélange a été porté à ébullition pendant 3 heures à l'aide d'un chauffe-ballon. Les vapeurs contenant l'huile essentielle ont ensuite été condensées via un réfrigérant avant de s'écouler dans une ampoule séparatrice. Grâce à leur différence de densité, l'huile essentielle s'est séparée de l'eau. L'huile extraite a été conservée dans des tubes Eppendorf opaques, hermétiquement fermés, afin de la protéger de l'air et de la lumière jusqu'à son utilisation.



**Figure n°09** : Hydrodistillateur Clevenger utilisé pour l'extraction des huiles essentielles.

### III.2.2- Calcul du rendement

Selon la norme **AFNOR (1986)**, le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE} = M'/M \times 100$$

RHE : Rendement en huile essentielle en %

M' : Masse d'huile essentielle en gramme

M : Masse de la plante en gramme.

Après environ 3 heures d'extraction 100 g de matériel végétal, près de 1 ml d'huile essentielle a été obtenu, ce qui correspond à un rendement d'environ 1 % en masse selon la formule de calcul du rendement en huile essentielle.

## III.3. Études biologiques

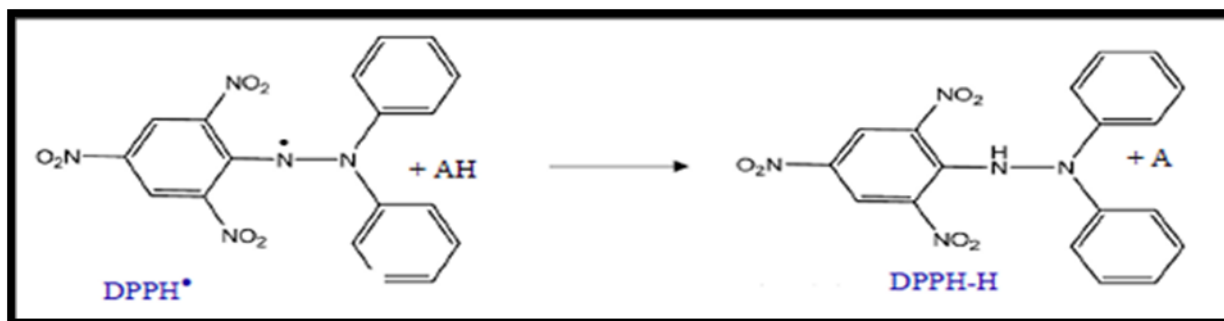
### III.3.1. Etude de l'activité antioxydante

#### III.3.1.1. Effet scavenger du radical DPPH

L'activité du DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par Blois. (1958), le principe de cette méthode est la réduction de DPPH (2, 2 -diphényl -1- picrylhydrazyl) qui est un radical libre stable possédant un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Cette délocalisation empêche la polymérisation du composé, qui reste sous forme monomère relativement stable à température ambiante. Ainsi, cet état induit l'apparition d'une couleur violet foncé bien caractéristique de la solution DPPH. Cette couleur disparaît en présence d'antioxydant lorsque le DPPH est réduit, passant au jaune pâle du groupe pécryl; et l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-Moreno, 2002**).

Brièvement, une solution de 0,4mM de DPPH préparée dans le méthanol et 160 µl de cette solution ont été ajoutés à 40 µl d'échantillon dilué dans des solutions de méthanol à des concentrations différentes. Trente minutes plus tard, l'absorbance a été mesurée à 517 nm. Le BHT et l'α-tocophérol ont été utilisés comme normes anti-oxydantes, pour la comparaison de

l'activité avec les extraits utilisés. La faible valeur d'absorbance de la réaction du mélange indique une activité de piégeage des radicaux libres supérieure (Bensouici, 2015). La capacité à piéger le radical DPPH a été calculée selon l'équation suivante :



**Figure 10:** Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant (Molyneux, 2004)

#### Préparation de la DPPH :

Dissoudre 4 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à  $-20^{\circ}\text{C}$  à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre, où 160  $\mu\text{l}$  (DPPH) + 40  $\mu\text{l}$  (extrait) + 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante+ lecture 517

### III.3.1.2. Réduction du radical cation ABTS

La méthode du radical ABTS est l'un des tests les plus utilisés pour la détermination de la concentration des radicaux libres. Il est basé sur la neutralisation d'un radical - cation résultant de la mono -électronique oxydation du chromophore synthétique 2,2'- azino-bis (3 -éthylbenzothiazoline -6- sulfonique acide) (ABTS•).  $\text{ABTS}\cdot \text{ABTS}^{++} \text{e}^-$ . Ce réactif de couleur bleu est reconverti en forme neutre incolore. La réaction peut être suivie par spectrophotométrie. Ce test est souvent désigné sous le nom de Capacité Antioxydante en Equivalent Trolox (TEAC). La réactivité des différents antioxydants testés est comparée à celle du Trolox, qui est un analogue hydrosoluble de la Vitamine E (Barclay et al., 1985).

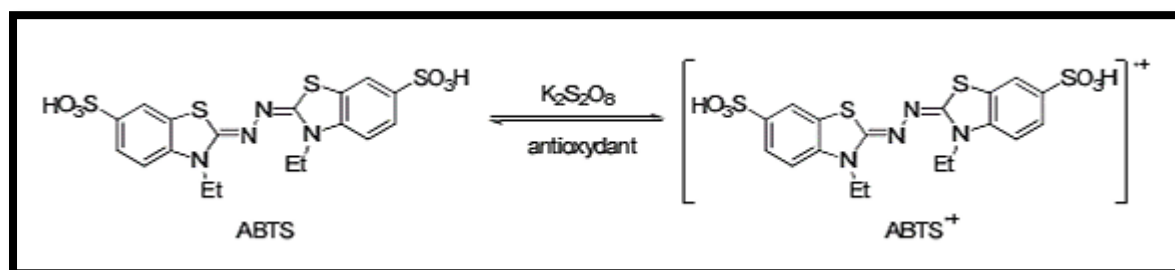
#### •Principe

Le test ABTS repose sur la capacité des antioxydants à neutraliser le radical libre  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  (2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)), un cation de couleur bleu-vert formé par

l'oxydation préalable de l'ABTS avec un agent oxydant tel que le persulfate de potassium. Lorsqu'un antioxydant est ajouté, il réduit le radical  $ABTS^{\bullet+}$  en une forme non radicalaire, ce qui provoque une **diminution de l'intensité de la couleur** mesurable par spectrophotométrie à **734 nm**. Cette perte d'absorbance est proportionnelle à la capacité antioxydante de l'échantillon (Re et al., 1999).

A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium  $K_2S_2O_8$ : les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16H ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (Ethanol ou  $H_2O$ ) à  $0.700 \pm 0.020$  à 734 nm avant l'usage.

$(ABTS^+)$  → 19,2 mg (7 mM) ABTS + 5 ml  $H_2O$  + 3,3 mg (2.45 mM)( $K_2S_2O_8$ ) +5 ml  $H_2O$  + attendre 16 heure à l'abri de la lumière, où 160  $\mu$ l ( $ABTS^+$ ) + 40  $\mu$ l (extrait) + attendre 10 mn + lecture à 734 nm. L'activité  $ABTS^+$  a été exprimée en pourcentage et calculée par l'équation suivante :  $ABTS^+$  scavenging effect (%) =  $(A_{Control} - A_{Sample} / A_{Control}) \times 100$ . (Re et al., 1999).



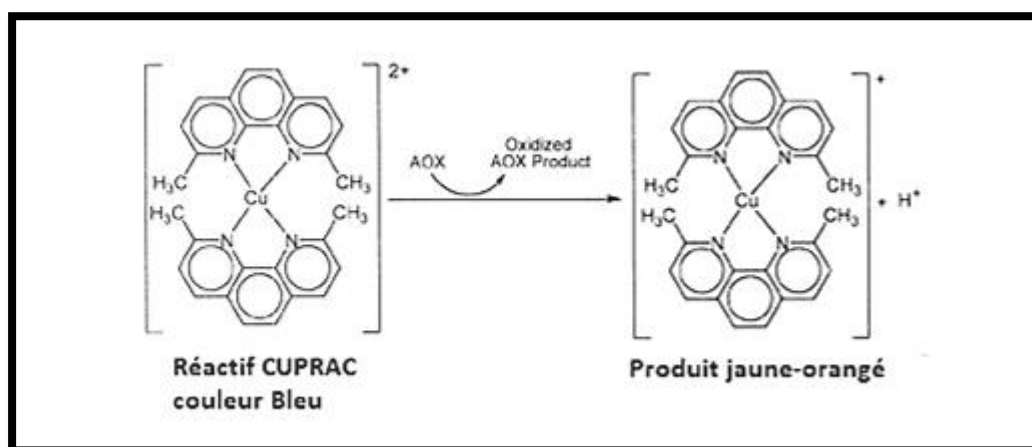
**Figure 11** : Mécanisme réactionnel du ABTS entre l'espèce radicalaire et un antioxydant (Michel, 2011).

### III.3.1.3. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)

La méthode CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity) est basée sur le suivi de la diminution de l'absorbance accrue du complexe Néocuproène (NC), cuivre ( $Cu^{+2}$ ) NC2- $Cu^{+2}$ . En effet, en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre-neocuproène est réduit et cette réaction est quantifiée spectrophotométriquement à une longueur d'onde de 450 nm (Apak et al., 2004). Le principe de ce test se base sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe  $Cu^{+2}$ -Nc, produisant ainsi un complexe chromogène de  $Cu^{+2}$ -Nc qui est absorbé à 450 nm, où 1,927 g Acetate d'ammonium ( $ACNH_4$ )

+ 25 ml (H<sub>2</sub>O) → S1 transparent (PH=7.0), et 0,042625 g (Cu Cl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O) + 25 ml (H<sub>2</sub>O) → S2 bleu, 0,039 g (Neocupronin) + 25 ml (MeOH) → S3, ajouter la solution S1 au plat qui contient les extraits→

Lecture à 450 nm, mélanger la solution S2 et S3 → lecture, le CUPRAC prend une heure de temps puis lire à 450 nm. 40 µl extrait+ 60 µl (S1) + 50 µl (S3) +50 µl (S2) : attendre 1 heure+ lecture à 450 nm. M (Cu Cl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O) = 170,50 g/mol, M(ACNH<sub>4</sub>) =77 g/mol, M(Neocupronin) = 208,27 g/mol



**Figure 12.** Réduction du complexe chromogène de Cu+2-Nc (Bensouici, 2015).

### III.3.1.4. Activité de phénanthroline

L'essai d'activité de la phénanthroline est une méthode colorimétrique utilisée pour évaluer la capacité d'une solution à donner des électrons, ce qui est souvent une indication de son potentiel antioxydant. Cette méthode, basée sur le principe décrit par **Szydlowska Czerniaka et al. (2008)**, repose sur la formation d'un complexe coloré appelé ferroïne. Le principe de base implique la réduction du fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>). Dans cette réaction, le FeCl<sub>3</sub> sert de source de Fe<sup>3+</sup>. Si l'échantillon contient des composés capables de donner des électrons (par exemple, des antioxydants), ils réduiront le Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup>. Le Fe<sup>2+</sup> nouvellement formé réagit ensuite avec l'orthophénanthroline pour produire un complexe orange-rouge distinctif. L'intensité de cette couleur est directement proportionnelle à la quantité de Fe<sup>2+</sup> formée, et donc à l'activité de donneur d'électrons de l'échantillon.

Pour réaliser l'essai, 10 µL de l'extrait de l'échantillon (à différentes concentrations) sont combinés avec 50 µL d'une solution de FeCl<sub>3</sub> à 0,2%, 30 µL d'une solution de phénanthroline

à 0,5%, et 110 µL de méthanol. Ce mélange réactionnel est ensuite incubé à 30°C pendant 20 minutes pour permettre le développement de la couleur. Enfin, l'absorbance de la solution résultante est mesurée à 510 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Plus l'absorbance est élevée, plus l'activité de la phénanthroline est grande.

### III.3.2- activité inhibitrice de l'α amylase

25 µl extrait + 50 µl (solution α amylase 1U) : incubation pendant 10 min à 37 °C + 50 µl d'amidon 0.1% : incubation pendant 10 min à 37 °C + 25µl HCl (1M) + 100µl IKI + lecture à 630 nm.

**Calcul de pourcentage d'inhibition :**

$$\%INH=1-[(A_c-A_e)-(A_s-A_b)/(A_c-A_e)]$$

$A_c$ =Absorbance [Amidon+IKI+HCl+Vol de solvant d'extrait+Vol tampon Enzyme]

$A_e$ =Absorbance [Enzyme+Amidon+IKI+HCL+ Vol de solvant d'extrait]

$A_s$ =Absorbance [Enzyme+Extrait+Amidon+IKI+HCl]

$A_b$ =Absorbance [Extrait+IKI+125µl de tampon]

### III.3.3. dosage de molécules bioactives

#### III.3.3.1 Polyphénols totaux

La concentration des polyphénols totaux est mesurée à l'aide du réactif Folin-Ciocalteu selon les techniques décrite par (Singleton et Rossi, 1965). En bref, 75 µL de solution de carbonate de sodium (7 %) et 20 µL de l'échantillon (1 mg/1 mL de méthanol) sont ajoutés à 100 µL de réactif Folin-Ciocalteu (10 %). L'acide gallique est utilisé comme référence. Après 2 heures d'incubation, l'absorbance est mesurée à 765 nm et la courbe normale ( $y = 0,0035x + 0,1044$  ;  $R^2 = 0,996$ ) (figure 4) est utilisée pour décrire les résultats en µg d'équivalent acide gallique (GAE) par mg d'extrait (µg GAE/mg).

### III.3.3.2 Flavonoïdes totaux

La teneur totale en flavonoïdes totaux est mesurée à l'aide d'un test colorimétrique au chlorure d'aluminium selon la méthode décrite par (Topçu et al., 2007). Un volume de 50  $\mu\text{L}$  d'extrait (1 mg/1 mL de méthanol) est combiné avec 10  $\mu\text{L}$  de nitrate d'aluminium à 10 %, 10  $\mu\text{L}$  d'acétate de potassium 1 M et 130  $\mu\text{L}$  de méthanol. La quercétine est utilisée comme référence. Après 40 minutes d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 415 nm et la courbe normale ( $y = 0,0048 x$  ;  $R^2 = 0,987$ ) (figure 5) est utilisée pour décrire les résultats en  $\mu\text{g}$  d'équivalent quercétine (QE) par mg d'extrait ( $\mu\text{g}$  QE/mg).

### III.3.3.3 Tanins condensés

La méthode de la vanilline mentionnée par Saci et al. (2020) est utilisée pour déterminer la teneur en tanins condensés. 25  $\mu\text{L}$  d'extrait (1mg/1mL de méthanol) sont combinés avec 150  $\mu\text{L}$  de vanilline 75  $\mu\text{L}$  d'HCl. La catéchine est utilisée comme standard. Après 15 minutes d'incubation, l'absorbance à 500 nm est mesurée et la courbe normale ( $y = 0,0026x + 0,0303$  ;  $R^2 = 0,984$ ) (figure 6) est utilisée pour décrire les résultats en  $\mu\text{g}$  d'équivalent catéchine (CE) par mg d'extrait ( $\mu\text{g}$  CE/mg).

# **CHAPITRE IV**

## **Résultats et Discussion**

## IV.1- Activité antioxydante

Quatre méthodes non-enzymatiques ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* (H.E Jo) et de *Juniperus phoenicea* (H.E Jp), à savoir : le test de piégeage du radical libre DPPH, le test du radical cation ABTS•+, le test du pouvoir réducteur CUPRAC, ainsi que le test au complexe phénanthroline-Fe<sup>2+</sup>. La concentration initiale des huiles essentielles testées est de 4 mg/ml (voir annexe correspondante).

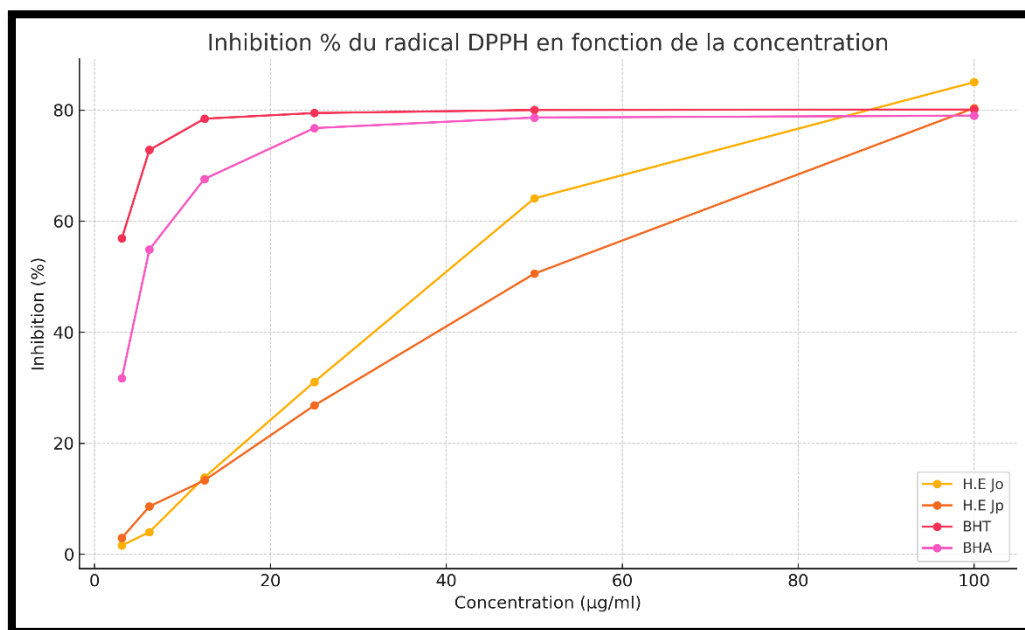
### IV.1.1- Activité du piégeage du radical libre DPPH

Les résultats de l'activité antiradicalaire du DPPH sont représentés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50% qui est la CI<sub>50</sub>, (**Tableau ci-dessous**).

L'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* (H.E Jo) a montré une activité antiradicalaire (41.04±0.60 µg/ml), qui est modérée en comparaison avec le standard BHA et BHT (6.82±0.49 µg/ml). D'autre part, l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* (H.E Jp) a présenté une activité antiradicalaire (55.08±1.25 µg/ml) plus faible par rapport aux valeurs des standards BHA, BHT.

**Tableau VI : Inhibition du radical DPPH par les huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea*.**

Échantillon		Inhibition % DPPH						IC <sub>50</sub> (µg/ml)
<b>H.E Jo</b>	NA	1.58 ± 0.77	3.99 ± 1.89	13.84 ± 0.56	31.05 ± 1.09	64.10 ± 1.41	85.04 ± 0.15	<b>41.04 ± 0.60</b>
<b>H.E Jp</b>	NA	2.94 ± 1.33	8.61 ± 0.24	13.30 ± 0.53	26.80 ± 1.42	50.54 ± 0.50	80.37 ± 0.71	<b>55.08 ± 1.25</b>
<b>BHT</b>	47.77 ± 1.22	56.93 ± 1.84	72.83 ± 1.23	78.46 ± 1.01	79.48 ± 0.31	80.03 ± 1.62	80.10 ± 0.66	<b>6.82 ± 0.49</b>
<b>BHA</b>	22.21 ± 1.24	31.73 ± 1.22	54.89 ± 3.60	67.60 ± 1.13	76.77 ± 0.54	78.67 ± 1.31	79.01 ± 0.89	<b>6.82 ± 0.49</b>



**Figure 13** : Activité antiradicalaire (DPPH) L'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* et de *Juniperus phoenicea*

L'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* s'est révélée plus efficace sur le plan antiradicalaire que celle de *Juniperus phoenicea*. Cette différence peut s'expliquer par la nature distincte des composés présents dans chaque huile. En effet, *J. oxycedrus* renferme des molécules telles que des sesquiterpènes et des monoterpènes oxygénés, connues pour leur fort potentiel antioxydant, ce qui pourrait justifier son activité plus marquée.

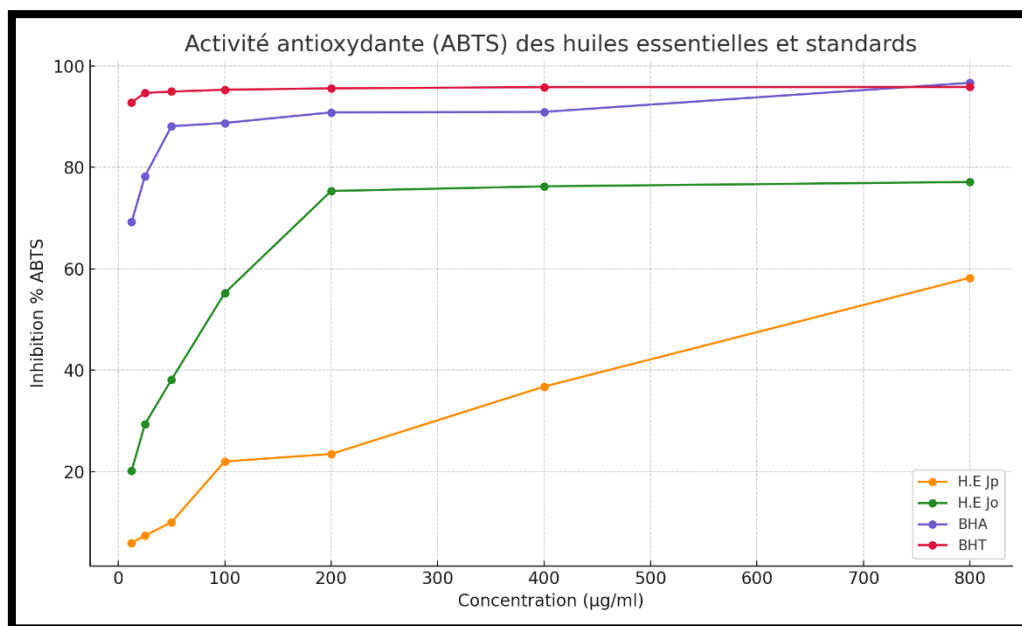
#### IV.1.2 -Activité d'inhibition de radicalaire cation ABTS•+

Les résultats de l'activité antiradicalaire ABTS sont représentés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50% (voir tableau ci dessous).

Les deux huiles essentielles, de *Juniperus oxycedrus* et de *Juniperus phoenicea*, ont présenté une activité inhibitrice du radical ABTS•+ (voir tableau VII et fig. 14). L'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* a montré une activité antiradicalaire ( $90.22 \pm 0.97 \mu\text{g/ml}$ ) nettement meilleure que celle de *Juniperus phoenicea* ( $649 \pm 2.46 \mu\text{g/ml}$ ). Toutefois, leurs  $CI_{50}$  restent largement supérieures comparées à celles des standards BHT et BHA ( $1.29 \pm 0.30 \mu\text{g/ml}$ ).

**Tableau VII :** Activité antiradicalaire (ABTS) des H.E de *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea*

Échantillon	Inhibition % ABTS							A <sub>0.50</sub> (µg/ml)
	5.92 ± 1.47	7.35 ± 0.62	10.01 ± 0.18	21.99 ± 0.33	23.46 ± 1.48	36.76 ± 1.12	58.22 ± 1.03	
<b>H.E Jp</b>	5.92 ± 1.47	7.35 ± 0.62	10.01 ± 0.18	21.99 ± 0.33	23.46 ± 1.48	36.76 ± 1.12	58.22 ± 1.03	649 ± 2.46
<b>H.E Jo</b>	20.14 ± 3.08	29.31 ± 2.78	38.14 ± 2.5	55.21 ± 2.62	75.34 ± 4.18	76.26 ± 2.35	77.12 ± 3.45	90.22 ± 0.97
<b>BHA</b>	69.21 ± 0.40	78.23 ± 1.34	88.12 ± 1.28	88.76 ± 3.07	90.85 ± 1.74	90.95 ± 0.51	96.68 ± 0.39	1.29 ± 0.30
<b>BHT</b>	92.83 ± 1.42	94.68 ± 0.42	94.95 ± 0.90	95.32 ± 0.25	95.59 ± 0.47	95.83 ± 0.15	95.86 ± 0.10	1.81 ± 0.10



**Figure 14 :** Activité antiradicalaire (ABTS) des H.E de *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea*

### IV.1.3 - Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)

Les résultats de la capacité antioxydante par réduction du cuivre sont calculés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration à l'absorbance 0,5 (Voir tableau ci-dessous).

Les résultats de la capacité de réduction du cuivre montrent que seule l'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* (H.E Jo) exhibe une activité inhibitrice du CUPRAC intéressante ( $80.26 \pm 2.12$   $\mu\text{g/ml}$ ), bien qu'elle reste inférieure aux valeurs obtenues pour les standards BHA et BHT ( $5.35 \pm 0.71$   $\mu\text{g/ml}$  et  $8.97 \pm 3.94$   $\mu\text{g/ml}$ , respectivement) (voir tableau VIII). En revanche, l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* (H.E Jp) n'a présenté aucune activité détectable dans les conditions du test.

**Tableau VIII** : Inhibition du CUPRAC par les huiles essentielles *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea*

Échantillon	Absorbance % CUPRAC							A0.50 ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ )
	01	00	01	01	01	18	07	
H.E Jo	0.17±0.01	0.22±0.00	0.33±0.01	0.55±0.01	0.89±0.01	1.56±0.18	2.78±0.07	80.26±2.12
H.E Jp	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
BHA	1.12±0.05	1.95±0.31	3.14±0.46	3.58±0.42	3.35±0.20	3.77±0.19	3.92±0.13	5.35±0.71
BHT	1.41±0.03	2.22±0.05	2.42±0.02	2.50±0.01	2.56±0.05	2.86±0.07	3.38±0.13	8.97±3.94

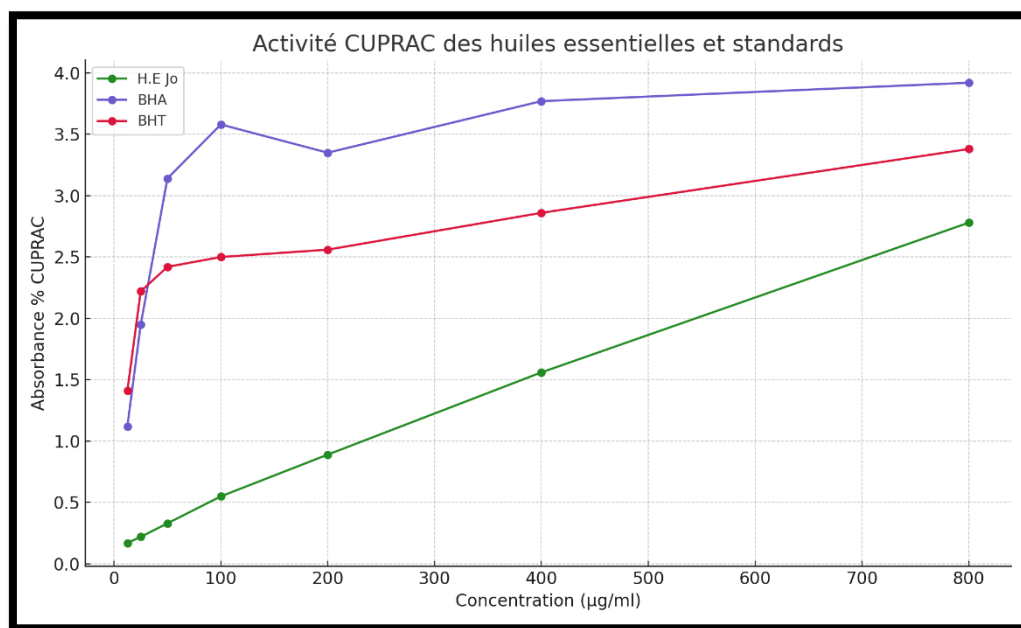
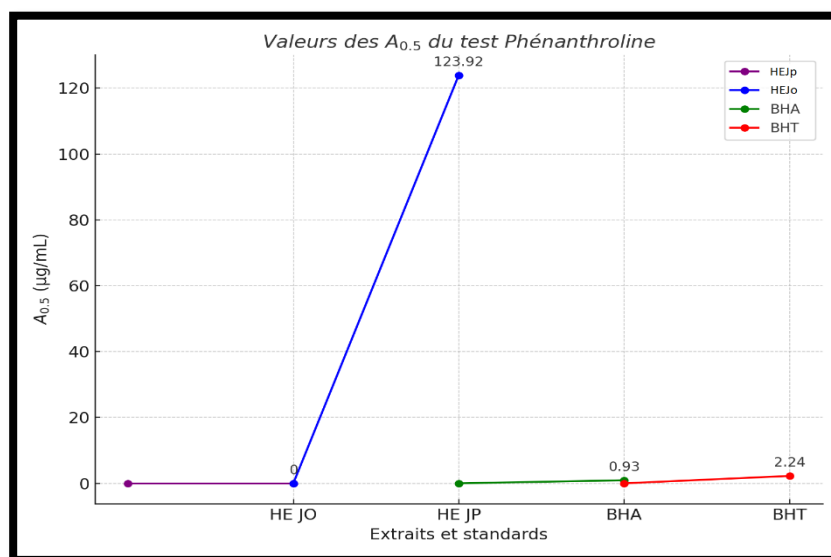


Figure 15 : Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC) Par les H.E Jo et H.E Jp

#### IV.1.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe +2 Phénanthroline

En présence d'un antioxydant, le fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) est réduit en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>), qui forme un complexe stable de couleur rouge-orangé avec la phénanthroline, présentant un maximum d'absorbance à 510 nm. Cette capacité réductrice a été évaluée à travers la détermination des valeurs de A<sub>0,5</sub> des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* (HE Jo) et *Juniperus phoenicea* (HE Jp), ainsi que des standards antioxydants BHA et BHT. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau (ci-dessous).

Échantillon	Test phénanthroline							A <sub>0,5</sub> µg/mL
	0,30 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,34 ± 0,00	0,35 ± 0,00	0,38 ± 0,01	0,41 ± 0,00	0,43 ± 0,02	
HE Jp	0,32 ± 0,01	0,34 ± 0,00	0,35 ± 0,02	0,39 ± 0,00	0,40 ± 0,01	0,48 ± 0,01	0,69 ± 0,16	> 200
HE Jo	0,49 ± 0,01	0,59 ± 0,01	0,73 ± 0,02	0,93 ± 0,01	1,25 ± 0,04	2,10 ± 0,05	4,89 ± 0,06	123,92 ± 0,60
BHA	0,47 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,53 ± 0,03	1,23 ± 0,02	1,84 ± 0,01	3,48 ± 0,03	4,84 ± 0,01	0,93 ± 0,07
BHT								2,24 ± 0,17

**Tableau IX.** Pourcentage d'inhibition et l'A0.5 pour le test phénanthroline.**Figure 16.** Valeurs de A0.5 du test de phénanthroline

Plus la valeur de l'A0.5 est petite, plus la capacité de l'antioxydant est meilleur.

Les résultats représentés dans la **figure 16** montrent que l'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* (HE Jo) présente une faible activité réductrice avec une valeur de  $A_{0.5} = 123,92 \pm 0,60 \mu\text{g/mL}$ , soit une activité environ 133 fois plus faible que celle du standard BHA ( $A_{0.5} = 0,93 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$ ) et 55 fois plus faible que celle du standard BHT ( $A_{0.5} = 2,24 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$ ). En revanche, l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* (HE Jp) n'a présenté aucune activité réductrice détectable ( $A_{0.5} > 200 \mu\text{g/mL}$ ), ce qui indique une absence d'effet antioxydant dans les conditions du test.

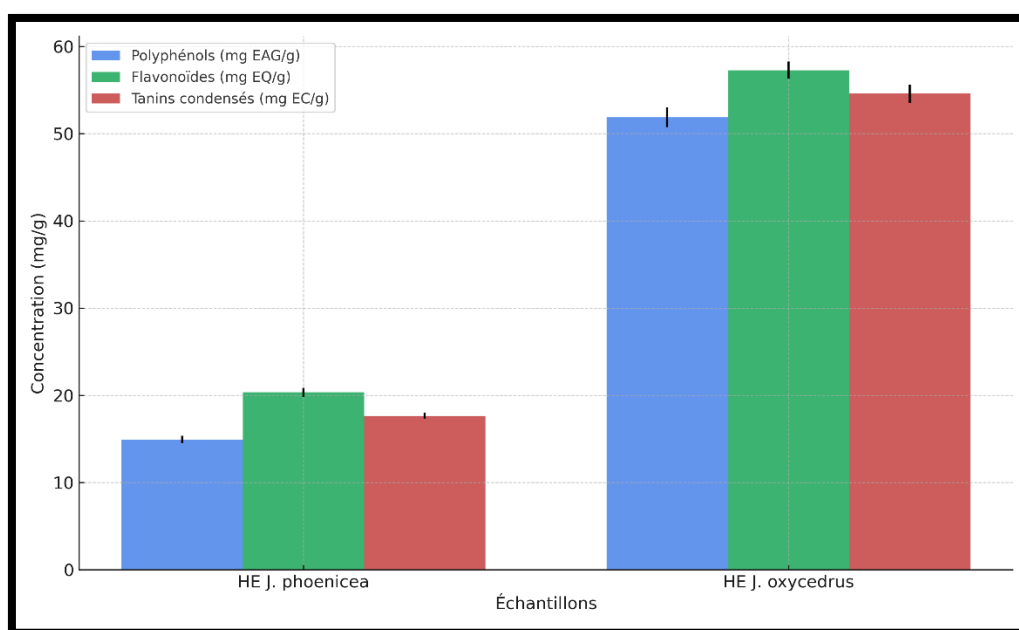
## IV.2 dosage de molécules bioactives

Les résultats du dosage des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea*, exprimés respectivement en équivalent acide gallique (EAG), équivalent quercétine (EQ) et équivalent catéchine (EC), sont présentés dans le tableau (ci-dessus).

Echantillon	Polyphénols totaux ( mg EAG/g)	Flavonoïdes ( mg EQ/g)	Tanins condensés (mg EC/g)
HE <i>Juniperus phoenicea</i> (mg/g)	14,95 ± 0,40	20,34 ± 0,52	17,64 ± 0,35
HE <i>Juniperus oxycedrus</i> (mg/g)	51,88 ± 1,12	57,27 ± 0,98	54,57 ± 1,05

**Tableaux X :** dosage de molécules bioactives Polyphénols totaux, Flavonoïdes, Tanins condensés

L'huile essentielle de *J. oxycedrus* présente une teneur significativement plus élevée en polyphénols ( $51,88 \pm 1,12$  mg EAG/g), en flavonoïdes ( $57,27 \pm 0,98$  mg EQ/g) ainsi qu'en tanins condensés ( $54,57 \pm 1,05$  mg EC/g) comparée à celle de *J. phoenicea*, dont les valeurs respectives sont bien inférieures ( $14,95 \pm 0,40$  ;  $20,34 \pm 0,52$  ; et  $17,64 \pm 0,35$  mg/g).



**Figure 17 :** dosage des composés phénoliques totaux des HE *J. oxycedrus* et *J. phoenicea*

### IV.3 activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase

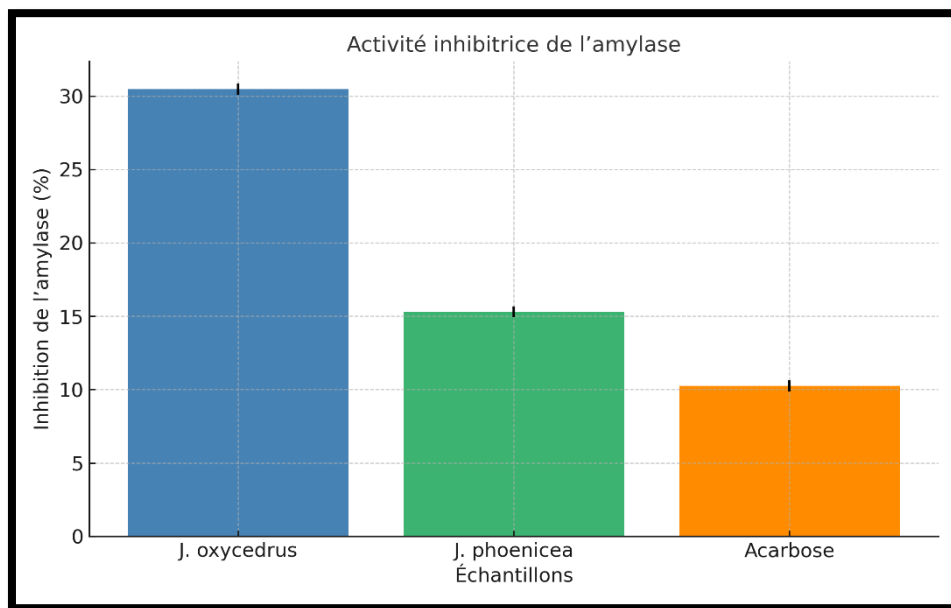
L'inhibition de l' $\alpha$  amylase par les huiles essentielles des différentes plantes étudiées est exprimée en mg équivalent acarbose par gramme d'huile essentielle ( $\mu\text{g EA.g}^{-1}$  HE), L'Acarbose a été utilisé comme témoin positif pour l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase. La concentration

de l'extrait nécessaire pour inhiber 50% de l'activité de l' $\alpha$ -amylase dans les conditions de dosage a été définie comme la valeur IC<sub>50</sub>. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau (ci-dessus).

Échantillon	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml) $\pm$ E.S.
<i>HE J. oxycedrus</i>	30,46 $\pm$ 0,37
<i>HE J. phoenicea</i>	15,29 $\pm$ 0,37
Acarbose	10,25 $\pm$ 0,37

**Tableau XI:** IC<sub>50</sub> d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase

Les résultats montre que l'huile essentielle la plus active est celle de *Juniperus oxycedrus* (30,459 % d'inhibition), suivie de *Juniperus phoenicea* (15,293 %), tandis que l'activité la plus faible est observée avec l'acarbose, utilisé comme référence (10,247 %). Cette hiérarchie d'efficacité suggère que l'HE de *J. oxycedrus* possède une composition chimique particulièrement favorable à l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase, probablement en raison de la présence de certains composés bioactifs spécifiques. Ces résultats confirment le potentiel pharmacologique de cette huile essentielle dans le cadre de la gestion du diabète de type 2.



**Figure 18 :** Pourcentages d'inhibition de l'alpha-amylase

### Conclusion

L'objectif principal de notre travail a été de comparer les activités biologiques in vitro des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* et de *Juniperus phoenicea*, à travers une série de tests antioxydants et l'évaluation de leur activité inhibitrice sur l'enzyme  $\alpha$ -amylase.

Les résultats obtenus démontrent que l'huile essentielle de *J. oxycedrus* possède des propriétés antioxydantes supérieures à celles de *J. phoenicea*, ce qui s'observe à travers les quatre méthodes utilisées (DPPH, ABTS, CUPRAC, et phénanthroline). Ces différences peuvent s'expliquer par la richesse plus élevée de *J. oxycedrus* en composés bioactifs tels que les polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés.

Concernant l'activité anti-enzymatique, les deux huiles ont montré une capacité d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase, avec une meilleure efficacité observée pour *J. phoenicea*. Toutefois, l'huile de *J. oxycedrus* demeure plus riche en composés phénoliques, ce qui renforce son potentiel antioxydant global. Ces résultats suggèrent que les deux espèces possèdent un intérêt pharmacologique non négligeable, notamment en tant qu'antioxydants naturels et agents hypoglycémiant potentiels.

Dans un contexte où les consommateurs et l'industrie cherchent à remplacer les antioxydants et inhibiteurs synthétiques par des alternatives naturelles, les huiles essentielles de genévriers méditerranéens, traditionnellement utilisées en médecine populaire, offrent une piste prometteuse pour le développement de produits à visée thérapeutique ou de conservation alimentaire.

En perspective, une caractérisation plus poussée des composés actifs à travers des analyses chromatographiques (GC/MS pour les HE, LC/MS pour les extraits), serait essentielle pour identifier les molécules responsables de ces effets biologiques. Le fractionnement de ces huiles et l'étude de leurs synergies pourraient également aboutir à l'isolement de principes actifs majeurs, ouvrant la voie à de futures applications en phytothérapie ou en agroalimentaire.

## Références Bibliographiques

1. Adams, R. P. (2000). Systematics of *Juniperus* based on leaf essential oils and random amplified polymorphic DNAs (RAPDs). *Biochemical Systematics and Ecology*, 28, 515–228.
2. Adams, R. P. (2011). *Junipers of the World: the genus Juniperus* (3rd ed.). Trafford Publishing.
3. Adams, R. P. (2014). *Junipers of the world: The genus Juniperus* (4th ed.). Trafford Publishing.
4. Akkol, E. K., Güvenç, A., & Yesilada, E. (2009). A comparative study on the antinociceptive and anti-inflammatory activities of five *Juniperus* taxa. *J Ethnopharmacology*, 125(2), 330–336.
5. Alan, S., Kürkçüoğlu, M., & Şener, G. (2016). Composition of the essential oils of *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus* growing in Turkey. *Turk J Pharm Sci*, 13(3), 300–303.
6. Allen, D. E., & Hatfield, G. (2004). *Medicinal plants in folk tradition. An ethnobotany of Britain & Ireland*. Timber Press.
7. Angell, M., & Kassirer, J. P. (1998). Alternative medicine—The risks of untested and unregulated remedies. *N Engl J Med*, 339(12), 839–841.
8. Angioni, A., Barra, A., Russo, M. T., Coroneo, V., Dessia, S., & Cabras, P. (2003). Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 3073–3078.
9. Anton, R., & Lobstein, A. (2005). *Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Tec & Doc.

10. Aprotosoai, A. C., Spac, A. D., Hancianu, M., Miron, A., Tanasescu, V. F., Dorneanu, V., & Stanescu, U. (2010). The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.). *FARMACIA*, 58(1), 46–54.
11. Arpino, P., Prévôt, A., Serpinet, J., Tranchant, J., Vergnol, A., & Witier, P. (1995). *Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse*. Edition Masson.
12. Bais, S., Gill, N. S., Rana, N., & Shandil, S. (2014). A Phytopharmacological Review on a Medicinal Plant: *Juniperus communis*. *International Scholarly Research Notices*, volume, 1–6.
13. Baranauskiene, R., Venskutonis, P. R., Viskelis, P., & Dambrauskiene, E. (2003). Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris*). *J.Agr. Food Chem*, 51(26), 7751–7758.
14. Barrero, A. F., Herrador, M. M., Arteaga, P., Quilez del Moral, J. F., Sanchez-Fernandez, E., Akssira, M., Aitigri, M., Mellouki, F., & Akkad, S. (2006). Chemical composition of the essential oil from the leaves of *Juniperus phoenicea* L. from North Africa. *Journal of Essential Oil Research*, 18(2), 168–169.
15. Becker, M., Picard, J.-F., & Timbal, J. (1982). *Larousse des arbres et arbustes*. Librairie Larousse.
16. Bekhechi, C., Atik Bekkara, F., Consiglio, D., Bighelli, A., Tomi, F. (2012). Chemical variability of the essential oil of *Juniperus phoenicea* var. *turbinata* from Algeria. *Chemistry & Biodiversity*, 9(12), 2742–2753.
17. Belaqqiz, R. (2007). *Contribution à la valorisation de substances naturelles : Étude de certaines lamiacées. Synthèse chimio-enzymatique de thiols d'intérêt organoleptique*. (Thèse de doctorat, Université de Marrakech, Maroc).
18. Bellakhdar, J. (1997). *La pharmacopée marocaine traditionnelle*. Edition Ibis Press.

19. Benabid, A. (2000). *Flore et écosystèmes du Maroc. Évaluation et préservation de la biodiversité*. Ibis Press.
20. Bensouilah, J., & Buck, P. (2006). *Aromadermatology: Aromatherapy in the treatment and care of common skin conditions*. Radcliffe Publishing.
21. Berche, P., Gallard, J. L., & Simonnet, M. (1991). Les infections nosocomiales d'origine bactérienne et leur prévention. *Bactériologie des infections humaines de la biologie à la clinique*. Flammarion.
22. Bernadet, M. (2000). *Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles. Dictionnaire thérapeutique de 530 affections courantes*. Dangles.
23. Berrebi, W. (2009). *Diagnostics et thérapeutique de poche : Guide pratique du symptôme à la prescription (5ème édition)*. ESTEM.
24. Berset, C., & Cuvelier, M. E. (1996). Méthodes d'évaluation du degré d'oxydation des lipides et de mesure du pouvoir antioxydant. *Science des Aliments*, 16, 219–245.
25. Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical [10]. *Nature*, 181(4617), 1199–1200.
26. Bolou, G. E. K., Attioua, B., N'Guessan, A. C., Coulibaly, A., N'Guessan, J. D., & Djaman, A. J. (2011). Évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* Planch. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 80, 772–790.
27. Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales (2ème édition)*. Tec & Doc. Lavoisier.
28. Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales (3ème édition)*. Tec & Doc, Lavoisier.

29. Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4ème édition). Tec & Doc, Lavoisier.
30. Burt, S. (2004). Essential oils: Antibacterial properties and potential applications in food: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.
31. Caillet, S., & Lacroix, M. (2007). *Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire*. Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS- Institut Armand- Frappier, Université de Laval.
32. Calcagno, F., & Lacroix, R. (2011). *Pharma-memo infectiologie*. Vernazobres-Greco.
33. Campbell, P. G. C., Pelletier, E., & Denizeau, F. (2004). *Écotoxicologie moléculaire : Principes fondamentaux et perspectives de développement*. PUQ.
34. Carette, A. S. (2000). *La lavande et son huile essentielle*. (Thèse de doctorat, Université de Toulouse, France).
35. Carillon, A. (2009). Place de la phytothérapie dans les systèmes de santé au XXIème siècle. In *Conférence SIPAM, Djerba, Tunisie*.
36. Carlson, L. H. C., Machado, R. A. F., Spricigo, C. B., Pereira, L. K., & Bolzan, A. (2001). Extraction of lemongrass essential oil with dense carbon dioxide. *J. Supercrit. Fluids*, 21, 33–39.
37. Cavalli, J.-F. (2002). *Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar*. (Thèse de doctorat en chimie organique et analytique, Université de Corse, France).
38. Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Atik-Bekara, F., Ksouri, R., Azzi, R., Boucherit, Z., Tefiani, C., & Larbat, R. (2014). Antioxidant, haemolytic activities and HPLC–

- DAD–ESI–MS<sup>n</sup> characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. *Industrial Crops and Products*, 51, 6–10.
39. Chao, L. K., Hua, K.-F., Hsu, H.-Y., Cheng, S.-S., Liu, J.-Y., & Chang, S.-T. (2005). Study of anti-inflammatory activity of essential oil from leaves of *Cinnamomum osmophloeum*. *J. Agric. Food. Chem*, 53, 7274–7280.
40. Cosentino, S., Barra, A., Pisano, B., Cabisa, M., Pirisi, F., & Palmas, M. (2003). Composition and antimicrobial properties of Sardinian *Juniperus* essential oils against foodborne pathogens and spoilage microorganisms. *J. Food. Prot*, 66, 1288–1291.
41. D’Auria, F., Tecca, M., Strippoli, V., Salvatore, G., Battinelli, L., & Mazzanti, G. (2005). Antifungal activity of *Lavandula angustifolia* essential oil against *Candida albicans* yeast and mycelial form. *Medical Mycology*, 43(5), 391–396.
42. Daferera, D. J., Ziogas, B. N., & Polissiou, M. G. (2000). GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *J. Agric. Food Chem*, 48(6), 2576–2581.
43. Davidson, P. M. (2001). Chemical preservatives and naturally antimicrobial compounds. In M. P. Doyle, L. R. Beuchat, & T. J. Montville (Eds.), *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers* (2nd ed., pp. 593–628). ASM Press.
44. Dayan, F. E., Cantrell, C. L., & Duke, S. O. (2009). Natural products in crop protection. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17, 4022–4034.
45. Degryse, A. C., Delpla, I., & Voinier, M. A. (2008). *Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles*. Atelier santé environnement-IGS-EHESP.
46. Dayer, J.-M., & Schorderet, M. (1998). Physiopathologie de la fièvre, de la douleur et de l’inflammation : Analgésiques, antipyrétiques, anti-inflammatoires et immuno-suppresseurs. In M. Schorderet (Ed.), *Pharmacologie, des concepts*

- fondamentaux aux applications thérapeutiques* (3ème édition, pp. 569–581).  
Frison-Roche, Slatkine.
47. Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines*, 3(4), 25.
48. Digrak, M., Ilcim, A., & Alma, M. H. (1999). Antimicrobial Activities of Several Parts of *Pinus brutia*, *Juniperus oxycedrus*, *Abies cilicia*, *Cedrus libani* and *Pinus nigra*. *Phytother. Res.*, 13, 584–587.
49. Djaber, S., & Madani, I. (2020). *Etude bibliographique sur la phytochimie et les vertus thérapeutique du Juniperus oxycedrus*. (Mémoire de master science de la matière, Option: biochimique, Université Mohamed Boudiaf Msila).
50. Dob, T., Dahmane, D., & Chelghoum, C. (2006). Essential oil composition of *Juniperus oxycedrus* growing in Algeria. *Pharm Biol*, 44(1), 1–6.
51. Dob, T., Dahmane, D., & Chelghoum, C. (2008). Chemical Composition of the Essential Oil of *Juniperus phoenicea* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 20(1), 15–20.
52. EFSA. (2019). *Scientific Opinion on the safety evaluation of essential oils in food applications*. European Food Safety Authority Journal.
53. El-Sawi, S. A., Motawae, H. M., & Ali, A. M. (2007). Chemical composition, cytotoxic activity, and antimicrobial activity of essential oils of leaves and berries of *Juniperus phoenicea* L. grown in Egypt. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 4(4), 417–426.
54. Eljemli, M., Kamal, R., Marmouzi, I., Zerrouki, A., Cherrah, Y., & Alaoui, K. (2016). Activity and Ferric Reducing Ability of *Juniperus thurifera* [L.], *J.*

- oxycedrus* [L.], *J. phoenicea* [L.] and *Tetraclinis articulata* [L.]. *Adv Pharmacol Sci*.
55. Elshafie, H. S., Mancini, E., Sakr, S., & et al. (2015). Antifungal Activity of Some Constituents of *Origanum vulgare* L. Essential Oil against Postharvest Disease of Peach Fruit. *Journal of Medicinal Food*, 18(8), 929–934.
56. Ennajjar, M., Bouajila, J., Lebrihi, 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). *Journal of Food Science*, 74(7), 364–371.
57. Ennajjar, M., Bouajila, J., Lebrihi, A., Mathieu, F., Savagnac, A., Abderraba, M., Raies, A., & Romdhane, M. (2010). The influence of organ, season, and drying method on chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of *Juniperus phoenicea* L. essential oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(3), 462–470.
58. Fadel, H., Benayache, F., Chalchat, J. C., Figueredo, G., Chalard, P., Hazmoune, H., & Benayache, S. (2019). Essential oil constituents of *Juniperus oxycedrus* L. and *Cupressus sempervirens* L. (Cupressaceae) growing in Aures region of Algeria. *Natural Product Research*.
59. G. Zengin et al. (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*, 53, 244–251.
60. Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction methods on the phenolic contents and biological activities

- in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105(3), 1126–1134.
61. Iserin, P., & Vican, P. (2001). *Encyclopédie des plantes médicinales/ Identification, préparations, soins*. Larousse édition.
62. Jordán, M. J., Martínez, R. M., Goodner, K. L., Baldwin, E. A., & Sotomayor, J. A. (2006). Seasonal variation of *Thymus hyemalis* Lange and Spanish *Thymus vulgaris* L. essential oils composition. *Industrial Crops and Products*, 24(3), 253–263.
63. OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (1998). *Réglementation des médicaments à base de plantes : La situation dans le monde*. (WHO/TRM/98.1). Genève, Suisse.
64. OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2013). *Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023*. Genève, Suisse.
65. R. Randhir and K. Shetty. (2007). Improved  $\alpha$ -amylase and *Helicobacter pylori* inhibition by fenugreek extracts derived via solid-state bioconversion using *Rhizopus oligosporus*. *Asia Pac J Clin Nutr*, 16(3), 382–392.
66. 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 Radical Bio. Med.*, 26, 1231–1237.
67. Roberts, L., & Sindhu, K. (2009). Oxidative stress and human health: Implications for disease and therapy. *Biochemical Society Transactions*, 37, 1295–1301.
68. Saci, F., Bachir Bey, M., Louaileche, H., Gali, L., & Bensouici, C. (2020). Changes in anticholinesterase, antioxidant activities and related bioactive compounds of carob pulp (*Ceratonia siliqua* L.) during ripening stages. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(2), 937–945.

69. Singleton, V. L., & Rossi, J. A. J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144–158.
70. Szydłowska-Czerniaka, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szlyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, *76*, 899–905.
71. Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarikürkcü, C., Öztürk, M., & Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*, *103*(3), 816–822.

# **Annexes**

**Annexe 1 :**

Solution tampon : (sodium phosphate)

1- 8,890 g de ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$ ) + 500 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  → V1

2- 1,56 g de ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$ ) + 100 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  → V2

V1 +V2 → Solution Tampon comme le montre le tableau suivant

On ajoute du NaOH pour augmenter la valeur du PH

pH	5,8	6,2	6,4	6,6	6,8	7,0	7,2	7,4	7,6	7,8	8,0
$\text{NaH}_2\text{PO}_4$ (ml)	92	81,5	73,5	62,5	51	39	28	19	13	8,5	5,3
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (ml)	8	18,5	26,5	37,5	49	61	72	81	87	91,5	94,5



pH-mètre

Réactifs :

DTNB (5,,-Dithiobis (2-nitro-benzoic acid)) Solution :

16 mg DTNB + 1 ml (PH=7) + 7,5 mg  $\text{NaHCO}_3$  + 1 ml (PH=7) + 2 ml (PH=7) + 4 ml (PH=8) →

volume total 8 ml

ACI (Acetylthiocholine iodide) substrate Solution:

16 mg ACI +4 ml H<sub>2</sub>O+ 4 ml Tampon (PH =8)

BuCI (S-Butyrylthiocholine iodide) substrate Solution:

4 mg BuCI +4 ml H<sub>2</sub>O+4 ml Tampon (PH =8)

### **Annexe 2 : standard 0.5 mg**

0.5mg extrait brute = 500 ppm

La centration dans le mélange du puit X en µg

$X = 500x (40 \mu\text{l ex dans DPPH}) / 200\mu\text{l} = 100$

La concentration Mère Si on démarre Avec 0.5 mg ----100 µg/ml

100/50/25/12.5/6.25/3.125/1.5625

### **Annexes 3 Standard de 4mg**

4000 Partie par million

La concentration

Dans le mélange du puits

X en µg

$X = 4000 X (40\mu\text{l par ex dans DPPH}) / 200 \mu\text{l}$

La concentration mère 800 µg/ml

800/400/200/100/50/25/12.5/6.25

200ul représente le volume totale Du puits Du mélange réactionnel

### **Préparation des délutions**

Selon le standard expérimental en prépare les délutions : dans le méthanol

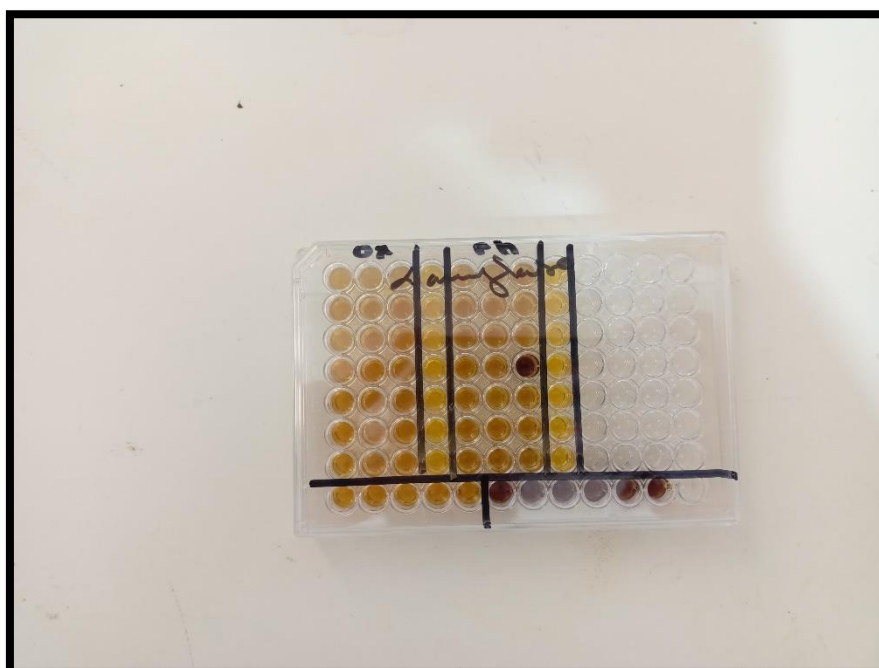
Ex : standard 0.5 mg : en peson 0.5mg de l'extrait /1 ml de méthanol (concentration initiale). Prise

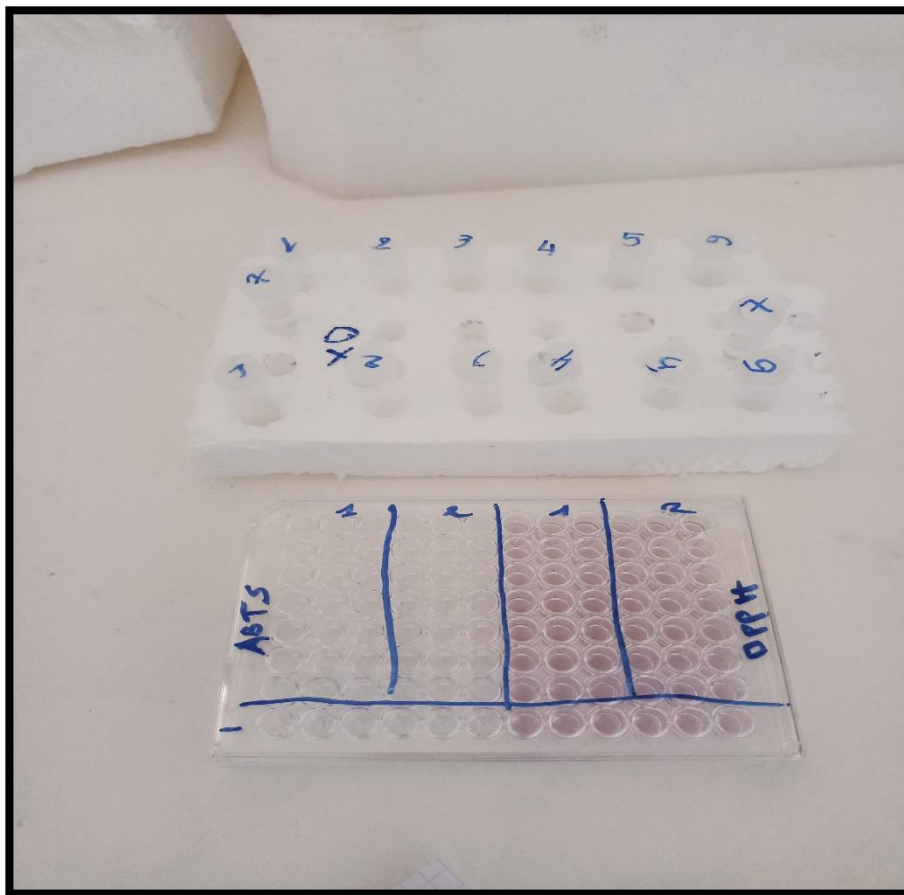
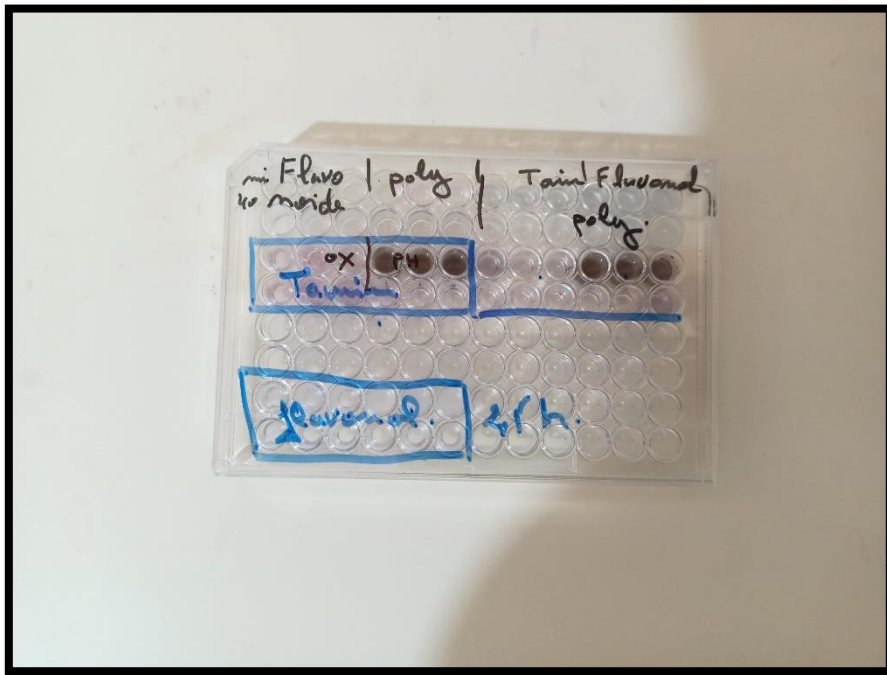
0.5ml de concentration initiale/.05ml solvant (méthanol). Puis 0.5ml de concentration secondaire

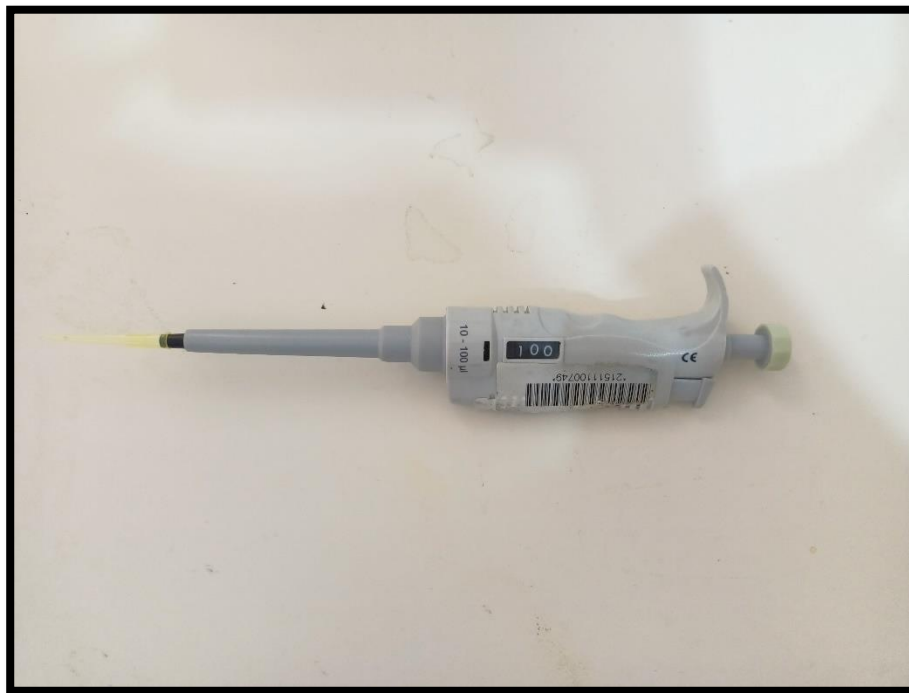
dans .05ml méthanol jusqu'à en obtient 7 déluitions.



Lecteur Microplaque 96puits







Micropipette de 10 à 100 u

