

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE



N° :

DOMAINE : SCIENCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE
FILIERE : BIOLOGIE
OPTION : BIOTECHNOLOGIE
VEGETALE

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par: Benattia Zoulikha et Hellali Ahlam

Intitulé

**Evaluation de l'activité antioxydant et
antimicrobienne des différents
extraits de la plante
Juniperus phoenicea L.**

Soutenu devant le jury composé de:

SMAILI Tahar	MCA	Université M.B de M'Sila	Président.
BELKASSAM Abdelouahab	MCB	Université M.B de M'Sila	Encadreur.
HADJI Abasse	MAA	Université M.B de M'Sila	Examineur.

Année universitaire : 2018 /2019

TABLE DES MATIERES

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction01

Partie 01 : Etude bibliographique

Chapitre I : Présentation de la plante étudiée

I. La famille Cupressacées03

 I.1. Caractéristique des Cupressacées.....03

 I.2. Le genre *juniperus*.....04

II. L'espèce de plante *Juniperus phoenicea* L.....05

 II.1. Taxonomie de la plante *Juniperus phoenicea* L.....05

 II.2. Classification de la plante *Juniperus phoenicea* L.....06

 II.3. Principales caractéristiques botaniques de la plante *Juniperus phoenicea* L.....06

 II.4. Utilité de la plante *Juniperus phoenicea* L07

 II.5. Culture de la plante *Juniperus phoenicea* L08

 II.6. Habitat de la plante *juniperus phoenicea* L.....09

 II.7. Ecologie de la plante *juniperus phoenicea* L.....09

 II.8. Reproduction de la *juniperus phoenicea* L.....09

 II.9. Répartition géographique de la plante *juniperus phoenicea* L.....09

 II.10. Composition chimique de la plante *juniperus phoenicea* L.....10

Chapitre II : Métabolite secondaire

I. Métabolisme..... 11

 I.1. Métabolites primaires..... 11

 I.2. Métabolites secondaires.....11

 I.2.1. Les différents groupes de métabolites secondaires.....11

a. Les composés azotés.....11

a.1. Les alcaloïdes.....	11
a.1.1. Classification des alcaloïdes.....	12
a.1.2. Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes.....	12
b. Les composés phénoliques	12
b.1. Classification des composée phénoliques.....	13
b.1.1. Les flavonoïdes.....	13
b.1.2. Les tanins	16
b.1.3. Les lignanes	16
b.1.4. Les Saponines	16
b.1.5. Les Stilbènes.....	17
b.1.6. Les coumarines	17
b.1.6.1. Propriétés physico-chimiques de coumarines.....	18
b.1.6.2. Propriétés biologiques.....	18
b.1.6.2. Classification des coumarines.....	18
c. Huiles essentielles.....	20
c.1. Définition.....	20
c.2. Localisation dans la plante.....	21
c.3. Caractéristique physico-chimiques des huiles essentielles	21
c.3.1. propriétés physiques.....	21
c.3.2. Composition chimique	21
c.4. Les principaux constituants des huiles essentielles sont les suivants	22
 Chapitre III : Activité biologique	
I. Activité biologique.....	24
I.1. L'activité antioxydant.....	24
I.1.1. Les Antioxydants.....	24
I.1.2. Définition du stress oxydant	24
I.1.3. Les radicaux libres.....	25
I.1.4. Mécanismes d'action des antioxydants	26
II. Activité antimicrobienne.....	26
II.1. Définition des bactéries	26

II.2. Culture des bactéries.....	26
II.3. Antibiotiques	27
II.4. Description des bactéries étudiée.....	27
Partie 02 : Partie expérimentale	
Chapitre I : Matériel et Méthodes	
I. Matériel végétal.....	30
II. Extraction	31
II.1. Principe la macération.....	31
II.2. L'extraction des principes actifs.....	31
II.2.1. Préparation de l'extrait brut par extraction type solide -liquide (ESL).....	31
II.2.2 . Fractionnement de l'extrait hydromethanolique par extraction type liquide-liquide (ELL).....	32
II.3. Extraction des coumarines de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	33
II.4. Extraction de l'huile essentielle de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	35
II .4.2. Procède d'extraction.....	36
II .4.3. Conservation de l'huile essentielle obtenue de la <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	36
III. Analyses qualitatives de <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	37
III.1. Préparation des plaques CCM.....	37
IV. Activités biologique.....	38
IV.1. Evaluation de l'activité antioxydant de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> L	38
IV.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> L	41
Chapitre II : Résultats et discussion	
I. Evaluation des techniques d'extraction.....	44
I.1. Extaction des polyphénols de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	44
I.1.1. Rendement des extraits de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	44
I.2. Extraction des coumarines de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	45

I.3. Extraction des huiles essentielles de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	45
I.3.1. Rendements en huiles essentielles de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	45
II. Analyse quantitatives des extraits de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> L	46
II.1. Chromatographique sur couche mince CCM.....	46
III. Résultats des tests biologiques.....	51
III.1. Activité antioxydant d'extrait de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	51
III.2. Activité antibactérienne d'extrait de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	53
Conclusion.....	59

Référence bibliographique

Annexe

Résumé



Remerciement

قبل كل شيء، الشكر لله الذي أمدنا بالإرادة والقوة لتحقيق هذا العمل المتواضع، فالحمد
و الشكر ! أولا وأخرا على عونته وفضله لإتمام هذا العمل

*Avant toute chose nous remercions Allah le tout puissant de nous
avoir accordé la force et les moyens afin de pouvoir réaliser ce travail.*

*Je remercie chaleureusement mon encadreur Dr. **BELKASSEM
Abdelouahab** pour avoir dirigé ce travail. Sa compétence scientifique
a largement contribué à la réalisation de ce travail. Je lui suis
également très reconnaissante pour m'avoir témoignée sa confiance.*

*Je tiens à remercier, maître de Dr. **SMAILI Tahar** conférence pour
m'avoir fait' honneur d'accepter la présidence du jury. Qu'il trouve ici
mes sincères impressions de gratitude et de respect.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à Dr. **HADJI Abasse**
d'avoir accepté d'examiner notre travail*

*Un merci spécial à Dr. **Miloud Ghadhban, Monsieur El Hocine Hellali***

*Nous adressons nos remerciements aux personnes qui nous ont aidés
dans la réalisation de ce mémoire*

Nous remercions également les personnes de la bibliothèque

Ibtissam, Nouralhouda et Aïssa

*J'aimerais remercier toutes les personnes qui ont contribué, de près ou
de loin, à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail.*

Ahlam et zoulíkha



DEDICACES

إلى الذين أخذوا بيدي ووفروا لي سبيل التعلم وكانوا عوناً لي "والدائي الكريمين"

A ma mère: Massouda

Sans son amour je ne serai pas arrivée à ce niveau.

A mon père: Ramedane

Qui, j'espère, serait fier de moi.

Mon kamarad: Sedik qui m'a soutenu et m' donné du courage dans ce travail;

A mes sœurs: Warda, Houria, Aicha et Ikram

Et mes frères : Mourad, Rabeh, Rafik, Haytham

Qui je sais, seront toujours là pour moi

Les maris de mes frères: Farid et Mohammad

La femme de mon oncle : Noura

Mon oncle : Mohammed et Saïd et Salim et Fatah

Ma tante Farida, Salima, Samira. La marie de ma tante halim

Mes Gratuites : lahssan, Elhadj et Abdellah,

A mes adorables neveux : Abderrahmane et Yasser

A toute ma famille et a tous mes collègues et amis. Surtout Fatima et Jahida, ahlam, sara, Fouzia et Nessrine, Nedjet.



Ahlam

DEDICACE

*À la bougie qui est la source de la lumière de ma vie, qui se
fond*

*toujours pour éclairer ma route, à mon cher père Kouidar je
dédie ce travail et je lui souhaite une longue belle vie;*

*À la fleur qui rehausse et aromatise mes jours, qui garde les
nuits pour que je me rendorme,*

*A ma très chère mère Saadaouia je dédie ce travail et je lui
souhaite une longue belle vie.*

*A mes chères sœurs :Fayala, Zouhra, Aicha, Fatima, Soad et
Salima*

A mes chères frères : Mokhtar, Moussa ,Mohamed et Boualam

A mes neveux et nièces

A mes très chères amies

A ma promotion de Master 2018-2019

A tous les membres de ma famille Benattia .



Zoulikha

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation.

ATCC : American type culture collection.

Ax 25 : Amoxicilline 25.

BHT : Butylhydroxytoluène.

CCM : Chromatograie sur couche mince.

CHCl₃ : Chloroforme.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.

DMSO : Diméthyle sulfoxyde.

EBrt : L'extrait brut (hydro-méthanolique).

EAcOEt : L'extrait d'acétate d'éthyle.

En-BuOH : L'extrait butanolique.

MeOH : Méthanol

HE : Huile essentiel.

Hcl : Acide chlorhydrique.

IC₅₀: Concentration inhibitrice de 50 %.

mg/ml : Milligramme par millilitre.

mm : Millimètre.

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium.

Ox 1 : oxacilline 1.

P : Poids.

p/p : Poids sur poids.

Rf : Rapport frontal.

R : Le rendement.

UV : Ultraviolet.

µl : Microlitre.

Liste des figures

Figure n°01 : Photo original de <i>J. phoenicea</i> L.....	07
Figure n°02 : Feuilles et fruits de <i>J. phoenicea</i> L.....	07
Figure n°03 : Carte chronologique pour la distribution de <i>J. phoenicea</i> L.....	09
Figure n°04 : Structure de base des flavonoïdes.....	14
Figure n°05 : Structures de base des sous-classes de flavonoïdes.....	15
Figure n°06 : Structures chimiques (a) d'un tanin condensé et (b) d'un tanin hydrolysable.....	16
Figure n°07 : Structure de base des stilbènes	17
Figure n° 08 : Structure de base des coumarines.....	18
Figure n° 09 : Structure de coumarine simple.....	19
Figure n° 10 : Structures de quelques pyranocoumarines.....	19
Figure n°11 : Structures des quelques dicoumarines.....	20
Figure n°12 : L'espèce bactérienne <i>Candida albican</i>	27
Figure n°13 : Vue sous le microscope électronique de <i>Bacillus subtilis</i>	28
Figure n°14 : Vue sous le microscope électronique de <i>Staphylococcus aureus</i>	28
Figure n°15 : Vue sous le microscope électronique de bactérie <i>Pseudomonase aeruginosa</i> ...	29
Figure n°16 : Localisation géographique de M'sila.....	30
Figure n°17 : Appareil du rotavapeur rotatif de type (BÜCHI R- 120).....	31
Figure n°18 : Extraction liquide-liquide Par l'acétate d'éthyle du fruit	32
Figure n°19 : Extraction liquide- liquide Par l'acétate d'éthyle de la feuille	32
Figure n°20 : Extraction liquide-liquide par n-butanol du fruit.....	33
Figure n°21 : Extraction liquide- liquide Par n-butanol de la feuille	33
Figure n°22 :Extraction des coumarines de la feuille par Hcl.....	34

Figure n° 23 : Extraction des coumarines de la feuille par Hcl.....	34
Figure n°24 : Extraction des coumarines la feuille par NH ₄ OH.....	34
Figure n°25: Extraction des coumarines de la fruit par NH ₄ OH.....	34
Figure n°26: L'extraction de la coumarine de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	35
Figure n°27: 100g matière végétal sèche.....	36
Figure n°28: photo original de Appareil d'hydrodistillation de type de clévenger.....	36
Figure n°29: Appareil de l'Ultra-violet pour l'observation des couleur de la séparation.....	38
Figure n°30: Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant	39
Figure n°31: l'appareil de spectrophotométrie.....	40
Figure n°32: Rendement des différents extraits de l'espèce <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	42
Figure n°33: Rendement des coumarines de <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	45
Figure n°34: Rendement des huiles essentielles de l'espèce <i>Juniperus phoenicea</i> L	46
Figure n°35 : Révélation de plaque CCM de gel de silice de EAcOEt des feuilles et des fruits sous lampe UV365 nm (05 systèmes de solvants).....	47
Figure n°36 : Révélation de plaque CCM de gel de silice des Coumarines des feuilles et des fruits sous lampe UV365 nm (05 systèmes de solvants).....	47
Figure n°37 : Révélation de plaque CCM de gel de silice de EnBuOH des feuilles et des fruits sous lampe UV365 nm (05 systèmes de solvants).....	48
Figure n°38: Représentation de l'Inhibition du radical DPPH par l'estimation des valeurs d'IC ₅₀ des différents extraits de <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	52
Figure n°39: L'effet de l'extrait butanolique de feuille de plante <i>juniperus phoenicea</i> L. sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits.....	54
Figure n°40: L'effet de l'extrait butanolique de fruit de plante <i>juniperus phoenicea</i> L. sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits.....	54

- Figure n°41:** L'effet de l'extrait d'acétate d'éthyle de feuille de plante *juniperus phoenicea* L. sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits.....54
- Figure n°42:** L'effet de l'extrait d'acétate d'éthyle de fruit de plante *juniperus phoenicea* L. sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits.....55
- Figure n°43:** L'effet de coumarine Hcl de feuille de plante *juniperus phoenicea* L. sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits.....55
- Figure n°44:** L'effet de coumarine Hcl de fruit de plante *juniperus phoenicea* L. sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits.55

Liste des Tableaux

Tableau n° 01: Position systématique de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	06
Tableau n°02 Les différents systèmes utilisés pour la CCM de gel de silice.....	38
Tableau n°03 : Les souches testées pendant l'évaluation des activités antimicrobiennes.....	42
Tableau n°04 : Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre d'inhibition.....	43
Tableau n°05 : Les Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les 5 systèmes par CCM dans l'extrait d'acétate de plante <i>juniperus phoenicea</i> L.....	49
Tableau n°06 : Les Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les trois systèmes par CCM dans l'extrait n-butanol de la plante <i>juniperus phoenicea</i> L.....	50
Tableau n°07 : Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les quatre systèmes par CCM dans les coumarines de plante <i>juniperus phoenicea</i> L	51
Tableau n°08 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante <i>juniperus phoenicea</i> L sur la croissance de <i>Condida albican</i>	56
Tableau n°09 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante <i>juniperus phoenicea</i> L sur la croissance de <i>Bacillus subtilus</i>	56
Tableau n°10 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante <i>juniperus phoenicea</i> L sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Tableau n°11 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante <i>juniperus phoenicea</i> L sur la croissance de <i>P.aeruginosa</i>	57
Tableau n°12: Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante <i>juniperus phoenicea</i> L sur la croissance de <i>Salmonella enterica</i>	58
Tableau n°13 : Les antibiotique utilisée dans l'évaluation antibactérienne.....	58



Introduction

Introduction

Depuis l'origine des temps, l'homme s'est tourné vers les végétaux pour y trouver l'essentiel de sa nourriture, de sa médication et de sa survie (**Guy, 2002**).

Les plantes médicinales sont définies par la pharmacopée comme des plantes dont au moins une partie possédée des propriétés médicamenteuses. Plus précisément, une partie de plante ou la plante entière est explicitement désignée comme pouvant être utilisée en thérapeutique, et est appelée « drogue végétale » (**Gazengel et Orecchioni, 2013**).

Au XXI^e siècle, à côté des médicaments fabriqués seulement par synthèse chimique, d'autres sont obtenus par traitement chimique de substances naturelles, végétales le plus fréquemment ou animales, mais également des remèdes purement naturels qui sont rarement d'origine animale (comme le miel) ou minérales (comme la tourbe médicinale) mais qui proviennent presque exclusivement de plantes. Parmi celles-ci, cependant, seules certaines sont médicinales et la substance thérapeutique efficace n'est, en outre, logée que dans un certain organe déterminé, qu'on cueille alors à cet effet. Il arrive particulièrement rarement d'utiliser la plante entière.

On sert à désigner sous le nom de « drogue » le produit de la préparation de la partie végétale cueillie (**Bruneton, 1999**).

De même il s'est avéré, que les principe actifs des plantes médicinales sont souvent liés à leurs métabolites secondaires, qui sont largement utilisés en thérapeutique comme agents préventifs anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiseptiques, diurétiques et antioxydants qui défendent contre le stress oxydatif (**Ouelbani et al., 2016**).

Notre étude consiste à l'évaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne de l'extrait et les huiles essentielles de la plante *Juniperus phoenicea*. L, qui appartient à la famille cupressacées . La sélection de cette plante est pressée par le fait qu'elle est parmi les plantes médicinales les plus populaires utilisées dans le monde entier, Ces plantes médicinales plus intéressants dans le domaine de médecine traditionnelle et celui de culinaire et, aussi leurs huiles essentielles dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques.

Notre travail de recherche comporte deux parties :

v La première partie se compose une étude bibliographique avec trois chapitres

- Présentation de la plante étudiée ;
- Métabolisme secondaire ;
- Activités biologiques, l'activité antioxydants et antibactériennes.

v La deuxième partie présente les matériel et les méthodes d'extraction des composés Phénoliques et les huiles essentielles qui utilisés dans notre travail. Et l'évaluation de leurs activités antioxydants et antibactériennes et présentation des résultats obtenus et leurs discussions. En fin, une conclusion générale comporte les principaux résultats obtenus.



Partie 01 :
Etude
bibliographique



***Chapitre I:
Présentation de la
Plante étudiée***

Chapitre I : présentation de la plante étudiée

I. La famille des Cupressacées

La famille des Cupressacées (Cupressaceae) appelée également Cupressinées, est une famille de plantes gymnospermes très ancienne dont on trouve des traces dans les couches datant du Jurassique. Elle a été autre fois divisée entre les Cupressacées sensu stricto (un genre avec des feuilles opposées dans quatre rangs) et les Taxodiacées (feuilles alternées) (**Achak, 2006**).

La famille des Cupressacées comprend de 135 espèces appartenant à 29 genres, parmi lesquels le genre *Juniperus* avec environ 70 espèces (**Akkol et al., 2009**).

La famille des Cupressacées est divisée en 7 sous-familles:

- Cupressoideae : Thuja, Thujopsis, Chamaecyparis, Fokienia, Calocedrus, Tetraclinis, Microbiota, Platycladus, Callitropsis, Cupressus, Juniperus ;
- Cunninghamioideae : Cunninghamia ;
- Athrotaxidoideae : Athrotaxis ;
- Taiwanioideae : Taiwania ;
- Sequoioideae : Sequoia, Sequoiadendron, Metasequoia ;
- Taxodioideae : Taxodium, Glyptostrobos, Cryptomeria ;
- Callitroideae : Callitris, Actinostrobus, Neocallitropsis, Widdringtonia, Diselma, Fitzroya, Austrocedrus, Libocedrus, Pilgerodendron, Papuacedrus (**Abdelli, 2017**).

I.1. Caractéristiques des Cupressacées

La famille des Cupressacées est une famille des plantes gymnospermes. Ce sont des arbres et des arbustes résineux à :

- Feuilles persistantes ou décidues, en spirale, opposées formant un angle de 90° avec celles qui sont insérées sur les faces supérieures et inférieures du rameau, ou bien disposées groupe de trois; décussées ou verticillées(3-4), linéaires, aciculaire ou en écaille (juvénile en aiguilles), plus ou moins apprimées parfois (**Bellkacem, 2015**).

- Elles sont de forme simple, sessiles ou pétiolées, parfois dimorphe.

- Les Cupressacées sont des plantes monoïques (sauf les *juniperus* qui sont le plus souvent dioïques).

- Leur écorce est fibreuse et s'exfolie quelque fois par plaques (**Bellkacem, 2015**).

- Cônes ovulifères terminaux, sur les parties les plus vieilles, solitaires ou groupés, elleptiques ou globuleux, avec quelques écailles en coin ou peltées, opposées ou spiralées, avec ou sans bractées distinctes ou bractées et écailles fusionnées, ou avec quelques écailles opposées, décussées sans bractées distinctes(fusionnées), imbriquées, seules les inférieures fertiles dans certains genres, avec ovules dressés ; écailles souples ou coriaces d'abord puis ligneuses, s'ouvrant pour libérer les graines, ou devenant charnues et coalescentes *Juniperus* et parfois résineuses (Bellkacem, 2015).

-Cônes pollunifères ressemblant des chatons, en groupes ou solitaires, terminaux ou axillaires, avec plusieurs microsporophylles minces, en spirale verticillées ou en paires, avec 6sacs polliniques (Bellkacem, 2015).

-Graines non ailées ou avec aile étroite.

- Les inflorescences sont unisexuées :

Les fleurs mâles sont réunies en petits chatons d'écailles peltées verticillées portant sur la face inférieure 2 à 12 sacs polliniques.

Les fleurs femelles sont assemblées en cônes d'écailles peltées (bractée-mère et feuille carpellaire sont soudées) et portent chacune de 3 à 10 ovules orthotropes.

- Le fruit :

* indéhiscent : fausse baie formée par la condescence des écailles devenues charnues : *Juniperus*.

* déhiscent, sec : les écailles sont devenues ligneuses, graines nombreuses, ailées : Cupressus, Tuja (Bellkacem, 2015).

I.2. Le genre *Juniperus*

Les genévriers (*Juniperus*) occupent une place importante dans le paysage nord-africain, essentiellement en raison de leur rusticité et de leur dynamisme ; ce sont en effet des espèces pionnières peu exigeantes du point de vue écologique et présentes depuis le bord de mer jusque sur les sommets des Atlas. Leur rusticité leur permet de résister tant bien que mal aux agressions humaines intenses dont ils sont l'objet car dans de nombreuses régions, ils représentent le seul élément arboré ou arbustif susceptible

d'être exploité pour le bois ou le feuillage, voire à des fins industrielles ou médicinales (**Quezel et Gast 1998**).

En Algérie, cinq espèces indigènes sont énumérées, à savoir, *J. communis*, *J. phoenicea*, *J. oxycedrus*, *J. sabina* et *J. thurifera* (**Quezel et Santa, 1963**).

Boudy, 1950 constate que les genévriers, sont les seules essences résineuses pouvant constituer en montagne dans les plus mauvaises conditions de sol et de climat de véritables peuplements forestiers.

II. L' espèce de *Juniperus phoenicea* L

Le genévrier de Phénicie *Juniperus phoenicea* L. est un arbrisseau ou un petit arbre fréquent dans les régions méditerranéennes, où il pousse dans les lieux rocaillieux, surtout sur le calcaire (**Abdelli, 2017**).

Le Genévrier de Phénicie porte plusieurs noms : Genévrier de Lycie, Genévrier rouge, Cèdre de Lycie. Originaire du bassin de la Méditerranée, cet arbuste touffu appartient à la famille des Cupressacées qui comprend une vingtaine d'espèces. Il présente un feuillage écaillé ou épineux avec des feuilles courtes et d'un vert vif (**Bernard, 2019**).

II.1.Taxonomie de la *Juniperus phoenicea* L

Juniperus phoenicea L., appelée *phoenicean juniper* (anglais), phönizischer Wacholder (allemand), genévrier rouge (Français), araâr (عرعار) (arabe) (**Beddiar, 2016**).

II.2. Classification de la plante *Juniperus phoenicea* L.

Tableau n° 01: Position systématique de la plante *Juniperus phoenicea* L. (Quezel et Santa, 1962).

Règne	Plantas
Sous règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermaphytes
Sous Embranchement	Gymnosperme
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinales
Famille	Cupressaceae
Genre	<i>Juniperus</i>
Espèce	<i>Juniperus phoenicea</i> L.

II.3. Principales caractéristiques botaniques de la *Juniperus phoenicea* L.

- Feuilles

Les feuilles sont toutes ou presque squamiformes (de 0.7 à 1 mm), ovales ou rhomboïdales, obtuses, convexes, sillonnées sur le dos, glanduleuses et de couleur vert foncé. Elles sont non articulées, groupées par trois et étroitement imbriquées les unes sur les autres sur 4 ou 6 rangées faisant corps avec le rameau (Zereg, 2011).

- Fleurs

Les fleurs mâles et les fleurs femelles sont souvent réunies sur les mêmes pieds (rarement sur des individus différents). Les premières forment de très nombreux petits chatons ovales ou arrondis, munis d'écailles pédicellées, portés sur de courts pédoncules feuillés et disposés latéralement le long des rameaux. Les fleurs femelles sont beaucoup moins

nombreuses, leurs écailles sont épaisses, aigues et disposées sur 4 rangs. La floraison s'étend de février à avril et finit par produire de fausses baies sphériques rouge sombre à maturité (Zereg, 2011).



Figure n°01 : Photo original de *J. phoenicea* L.



Figure n°02: Feuilles et fruits de *J. phoenicea* (Abdelli, 2017).

• Fruits

Les fruits, improprement qualifiés de baies, sont d'abord de couleur verte virant au brun rouge luisant à maturité (au bout de 2 ans), de forme globuleuse et charnue, d'un diamètre de 7 à 10 mm, à surface irrégulière. Leur chair est ferme, sèche, fibreuse, jaune teinté de vert puis de brun, à odeur forte et contenant de 4 à 9 graines ovales, aux extrémités aigues avec une enveloppe dure. La période de fructification a lieu de septembre à décembre (Zereg, 2011).

II.4. Utilité du Genévrier de Phénicie

Depuis l'Antiquité, et dans la tradition populaire, le Genévrier de Phénicie est considéré comme une plante qui peut repousser les esprits mauvais. Contrairement à d'autres espèces de sa famille, le Cèdre de Lycie n'est pas comestible. L'arbuste est toxique et dégage une odeur repoussante. Ce qui limite son utilisation. Cependant, c'est une plante médicinale qui traite la colique et autre gastrite. Ses baies sont utilisées pour les problèmes de rétention urinaire. On s'en sert aussi dans la fabrication d'eau-de-vie. Le Genévrier de Phénicie est le symbole végétal d'El Hierro, une île d'Espagne située dans l'océan Atlantique (Bernard, 2019).

Par ailleurs, dans certaines régions, le Cèdre de Lycie est utilisé comme

- Perche pour les constructions ;
- Coffrage des puits.
- Bois de feu.

Lorsqu'elles sont séchées et légèrement broyées, ses feuilles à écailles peuvent servir dans la fabrication d'un tabac à fumer. On peut également mélanger les feuilles du Genévrier aux feuilles d'un tabac local et aux feuilles de chanvre indien. Ces derniers doivent être séchés et broyés. Ce produit est prisé dans certaines régions de l'Algérie (**Bernard, 2019**).

II.5. Culture du Genévrier de Phénicie

- Le climat idéal pour le Genévrier de Phénicie

Le Genévrier de Phénicie se plaît dans les conditions difficiles, voire extrêmes. Il résiste aux conditions arides et semi-arides. Son nom latin *Juniperus* est issu du Celte *juniperus* qui signifie rude ou âpre. Il aime le plein soleil et pousse aussi bien sur le littoral que sur des sites ventés. L'arbuste peut résister à des températures allant jusqu'à -28 °C. Pour cela, il a réussi à développer des stratégies qui lui permettent de survivre dans un environnement très hostile. Il change de sexe en fonction de l'environnement et peut rester en vie même si la plus part de ses racines sont détruites (**Jarry, 1993**).

- Le sol recommandé pour la bonne croissance du Genévrier de Phénicie

En somme, l'arbuste tolère une grande diversité de sols, mais fait défaut sur les sols profonds, très présent en Afrique du Nord, il pousse sur les dunes littorales. D'anciens auteurs avaient fait de cette plante le symbole de l'aridité.

- L'emplacement du Genévrier de Phénicie

Le Genévrier de Phénicie aime le soleil et la mi-ombre. Du fait de ces caractéristiques, il peut survivre dans des environnements hostiles. Son feuillage touffu lui assure une place dans le jardin et dans les massifs arbustifs.

- Multiplication du Genévrier de Phénicie

La plantation du Genévrier de Phénicie s'effectue en début d'automne ou au printemps. Si l'emplacement se trouve dans le jardin, la zone de culture doit être ensoleillée ou mi ombragée. Au début, il faudrait penser à drainer le sol. La multiplication peut se faire par :

- Semis de graines fraîches
- Bouturage à talon
- Marcottage

II.6. Habitat de la *Juniperus phoenicea* L.

Le Genévrier de Phénicie appartient à la région méditerranéenne. Il est situé sur les rochers et les coteaux arides (**Jarry, 1993**).

II.7. Ecologie de la *Juniperus phoenicea* L.

Cette espèce est présente sur les sols rocailloux, dans les garrigues calcaires, sur les grandes parois des falaises et sur les sommets rocheux battus par les vents. Ce Genévrier est essentiellement présent sur du calcaire, dans des stations très sèches et en plein soleil où les sols sont très minces, rocheux et à pH élevé (**Adams et al., 1996**).

II.8. Reproduction de la *Juniperus phoenicea* L.

La saison de reproduction de l'espèce s'étale de février à avril. C'est une espèce monoïque, c'est-à-dire que c'est une plante à fleurs unisexuées mâles et femelles séparées, portées par le même pied). La pollinisation se fait de manière anémogame et la dissémination des propagules se fait par zoochorie (**Adams et al., 1996**).

II.9. Répartition géographique de *Juniperus phoenicea* L.

Juniperus phoenicea L. est une espèce qui se trouve dans les différentes régions du monde, mais il est plus fréquent dans la partie Ouest des régions méditerranéennes au Sud de l'Europe (également dans l'Est de Portugal jusqu'en Turquie) (**Adams et al., 1996**).

En Algérie, (**Quezel et al., 1962**) a mentionné que le *Juniperus phoenicea* L. est très commun dans tout l'Algérie.



Figure n°03 : Carte chorologique pour la distribution de *juniperus phoenicea* L.

(Adams *et al.*, 2013, Jalas *et al.*, 1973, Mazur *et al.*, 2010).

II.10. Composition chimique de *juniperus phoenicea* L.

Les investigations chimiques réalisées sur *J. Phoenicea* dans différentes régions de part et d'autre du bassin méditerranéen, telles que l'Espagne, le Portugal et la Grèce, la Corse, la Tunisie, la Libye, l'Égypte, l'Arabie saoudite, et l'Algérie. Ont indiqué que le constituant majeur dans ses huiles est le : α - pinène, qui présente plusieurs activités biologiques : il est antibactérienne, anti-inflammatoire, antiviral, expectorant, sédatif, herbicide, insectifuge, et aromatisant. Suivi des monoterpènes oxygénés tels que, α -terpinyl acétate, δ -3-carène, myrcène, α -phellandrène et β -phellandrène.

Des études phytochimiques ont montré que l'espèce contient également de la résine, des acides gras, des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des stérols et triterpènes et des glucides, notamment, trois phenylpropanes glycosides (juniperosides, rosarin et skimmin) et deux dérivés furanones glucosides (psydrin et phoenicéine). La présence de phoenicerosides (un pseudo dimère des deux furanones précédents) et de dérivés phenylisopropanes a aussi été démontrée par certaines études (Telaidji, 2018).



***Chapitre II:
Métabolisme
Secondaire***

Partie 02 : Métabolismes

I. Métabolismes des végétaux

Le métabolisme est un processus très dynamique. Les molécules sont en continuel renouvellement ; la composition d'une cellule à un instant donné est un équilibre entre synthèse et dégradation. L'essentiel des synthèses est orienté vers la production de molécules qui sont importantes pour la structure et le fonctionnement de la cellule. Cependant, chez les plantes une quantité importante du carbone et de l'énergie est allouée à la synthèse de molécules dont la fonction est moins claire (Hopkins, 2003).

I.1. Métabolisme primaire

Métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ils sont classés en quatre grandes catégories: les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques

I.2. Métabolisme secondaire

Le métabolisme secondaire se définit comme l'ensemble des voies de synthèse de la plante non communes à toutes les plantes supérieures, se différenciant en fonction de leurs appartenances taxonomiques. Les composés issus de ce métabolisme, contrairement à ceux issus du métabolisme primaire, ne sont pas considérés comme des nutriments pour les insectes et les autres organismes vivants en général. Définit le rôle de cette substance comme celui de composés associés à un système de défense des plantes contre les insectes et les autres organismes. Il est actuellement admis que le métabolisme secondaire est associé non seulement aux mécanismes de résistance des plantes, aux stress biotiques, mais également aux stress de l'environnement (Nicolas *et al.*, 2013).

I.2.1. Les différents groupes de métabolites secondaires

a. Les composés azotés

a.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique. Depuis l'identification du premier alcaloïde - à savoir la morphine- à partir de l'opium en 1806, plus de dix mille alcaloïdes ont été isolés des plantes.

Les alcaloïdes sont principalement extraits des plantes fleurissantes, mais on les trouve également chez quelques animaux.

Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques.

Les alcaloïdes peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais selon l'espèce de la plante, ils s'accumulent uniquement dans les écorces, dans les racines, dans les feuilles (Mauro, 2006).

a.1.1. Classification des alcaloïdes

-**Les alcaloïdes vrais**, existent à l'état de sel et ils sont bio synthétiquement formés à partir d'un acide aminé.

-**Pseudo-alcaloïdes** présentant le plus souvent toutes les caractéristique des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés.

-**Les proto-alcaloïdes** sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans système hétérocyclique ; ils ont une réaction basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acides aminés (Gravot, 2009).

a.1.2. Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont de poids moléculaires extrêmement variables : de 100 à 900 Dalton, et certains peuvent atteindre un poids de 1000 g/mol. Ils sont le plus souvent des solides cristallisables, rarement colorés, la plupart sont doués de pouvoir rotatoire. Certains sont des liquides à température ordinaire, ce sont des composés à caractère basique. Ils donnent des sels avec les acides minéraux, ou organiques. Leur solubilité dans les différents solvants varie en fonction du pH, c'est à dire selon leur état (Bruneton, 2009).

b. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Ils sont des produits de métabolites secondaires des plantes depuis les racines jusqu'aux fruits. Malgré qu'ils n'exercent pas une fonction directe dans l'organisme végétal (croissance ou reproduction) mais ils jouent un rôle fondamental aux niveaux sensoriel (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnel. Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment à cause de leurs effets sur la santé. En effet, leurs rôles d'antioxydants naturels suscitent de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, des maladies cardiovasculaires et des maladies neurodégénératives. Ils sont également utilisés comme additifs pour l'industrie Agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

Les polyphénols sont communément subdivisés en acides phénoliques, en coumarines, en quinones, en flavonoïdes, en lignanes et en tanins (Zakri, 2017).

Bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles.

Alors les composés phénoliques sont une classe qui constitue 8000 composés. Ils sont divisés en plusieurs catégories:

- les flavonoïdes;
- les tanins ;
- les lignines ;
- Les Saponines ;
- Les stilbènes ;
- Les coumarines ;

b.1. Classification des composés phénoliques

b.1.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques généralement produits par cyclisation d'un intermédiaire dérivé de l'acide cinnamique et de trois molécules de malonyl-CoA. Ils interviennent probablement pour protéger les plantes des herbivores et contrôler le transport des auxines. Les flavonoïdes sont beaucoup utilisés en systématique des plantes, probablement parce que leur extraction et leur identification sont assez faciles. On les rencontre chez tous les embryophytes (ainsi que chez des algues charophytes) ; ils possèdent divers groupements latéraux insérés sur un système commun de cycles. Bien que surtout utilisés pour estimer les relations entre espèces étroitement apparentées (ou dans les recherches sur la variation interspécifique), les flavonoïdes sont parfois utiles pour estimer les relations phylogénétiques aux niveaux supérieurs. Par exemple, la présence de certains 5-désoxyflavonoïdes chez *Amphipterygium* est en faveur du classement de ce genre dans les Anacardiaceae. La chimie des flavonoïdes a également servi d'argument en faveur d'une relation hypothétique entre Fabacées et Sapindales. Enfin, on a montré que les profils de flavonoïdes sont très utiles pour étudier l'hybridation interspécifique (**Judd et al., 1999**).

▪ **Structure des flavonoïdes**

Flavonoïde, est un terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 atomes de carbone qui fait de deux cycles phényles C₆, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C₆-C₃-C₆). Ce dernier est situé entre les cycles A et B et est communément cyclisé pour former le cycle C (cycle centrale). Les atomes de carbone dans les cycles C et A sont numérotés de 2 à 8, et dans le cycle B de 2' à 6' (Figure ci-dessous) (**Bruneton, 1999**).

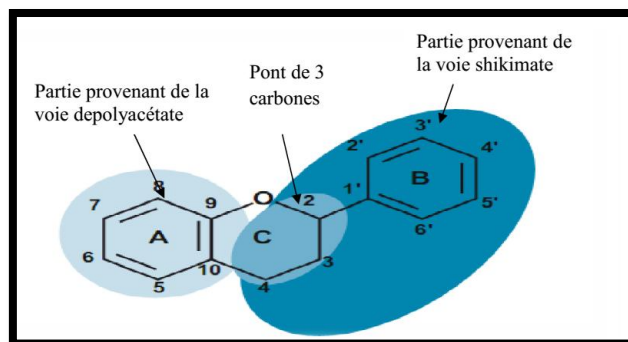


Figure n°04 : Structure de base des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

▪ **Les différentes classes de flavonoïdes**

✓ **Flavones et Flavonols**

Dans plus de 90% des cas, le cycle A des flavones et flavonols est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C-5 et en C-7. D'autres substitutions sont possibles avec des fréquences variables: hydroxyles libres ou étherifiés en C-7 et/ou en C-8, méthylation en C-7 ou en C-8, implication du C-6 et/ou C-8 dans une liaison carbone-carbone avec un sucre. D'autre part, dans plus de 80% des cas, le cycle B est substitué en C-4' ou disubstitué en C-3' et C-4', ou moins fréquemment 3',4',5'-trisubstitué; ces substituants peuvent être des groupes hydroxyles (OH) comme peuvent être des méthoxyles (OCH₃). Les autres positions (C-2' et C-6') ne sont qu'exceptionnellement substituées. En plus, les flavonols se distinguent des flavones par la présence d'un groupement OH en position C-3.

✓ **Flavanones et Dihydroflavanonols**

Les flavanones et les dihydroflavanonols sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3 et par la présence de centres d'asymétrie. Les variations structurales sont de même nature que celles décrites pour les flavones et les flavonols. Les dihydroflavanonols se distinguent des flavanones par l'hydroxylation de la position C-3. Cette classe de flavonoïdes semble un peu moins fréquente que son homologue insaturé rassemblant les flavones et flavonols (Berreghioua, 2016).

✓ **Flavan-3-ols, Flvan-3,4-diols**

A la différence des flavonoïdes décrits au-dessus, ces deux groupes de molécules sont toujours hydroxylés en position 3 et se caractérisent par l'absence du groupe carbonyle en C-4. Cette position peut être libre (cas des flavan-3-ols et anthocyanidols) ou hydroxylée (cas des flavan-3,4-diols). Les flavan-3-ols et les flavan-3,4-diols sont à l'origine des polymères flavaniques appelés proanthocyanidols ou tanins condensés (Berreghioua, 2016).

✓ **Chalcones**

Les chalcones sont différentes des autres types de flavonoïdes cités au-dessus, par l'ouverture du noyau pyranique central, elles sont constituées par deux unités aromatiques reliées par une chaîne tricarbonée, cétonique, α,β -insaturée. Le noyau B est assez fréquemment non substitué, alors que les substitutions sur le cycle A sont le plus souvent identiques à celles des autres flavonoïdes.

✓ **Anthocyanes**

Le terme « anthocyanes » a une valeur générale désignant, soit les formes naturelles Glycosylées, soit les molécules non glycosylées. Chez les anthocyanes, en plus de la position 3 qui est toujours glycosylée, il y a aussi préférentiellement la position 5 est glycosylée. La partie phénolique seule est désigné sous le nom d'anthocyanidine, alors que l'hétéroside (molécule phénolique + sucre associé) est appelé anthocyanine (**Bruneton, 1999**).

▪ **Propriétés biologiques des flavonoïdes**

La propriété fondamentale des flavonoïdes est leur caractère antioxydant offrant des fonctions biochimiques particulièrement intéressantes pour notre santé. Les flavonoïdes ont la capacité de piéger les radicaux libres comme les superoxydes, les radicaux peroxydes ou les radicaux hydroxyles par transfert d'hydrogène, qui sont générés par notre organisme en réponse aux agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections, etc.) et qui favorisent le vieillissement cellulaire. Ces composés renforcent nos défenses naturelles en protégeant les constituants tissulaires (**Zakri, 2017**).

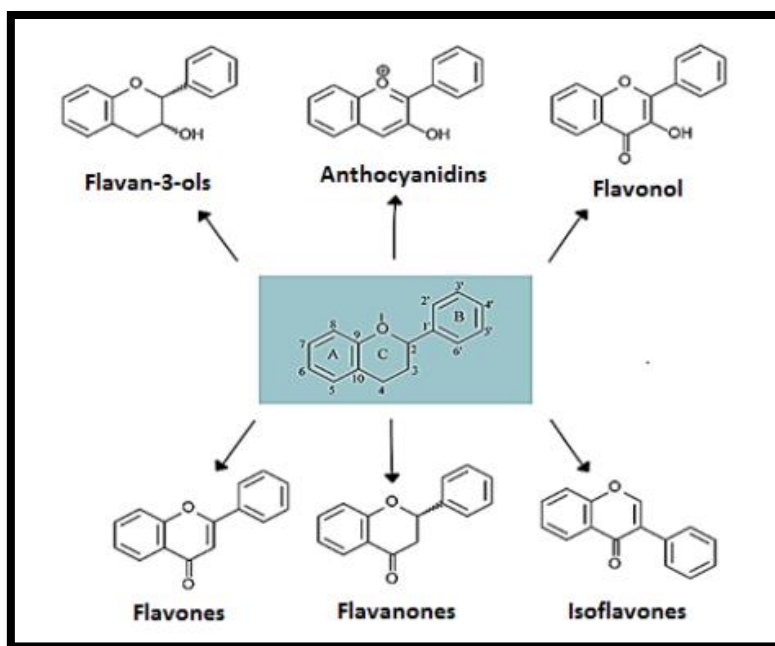


Figure n°05 : Structures de base des sous-classes de flavonoïdes (**Beddiar, 2016**).

b.1.2. Les tanins

Ces substances de composition chimique variable ont une caractéristique commune : leur faculté de coaguler les albumines, les métaux lourds et les alcaloïdes.

Les tanins sont hydrosolubles. Leur intérêt médicinal réside principalement dans leur caractère astringent : leur propriété de coagulants des albumines des muqueuses et des tissus, qui créent ainsi une couche de coagulation isolante et protectrice, qui réduit l'irritation et la douleur, et contient également les petites hémorragies (**Blot et Bernard, 2012**).

Les tanins se classent généralement en deux groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**CIEA, 1989**).

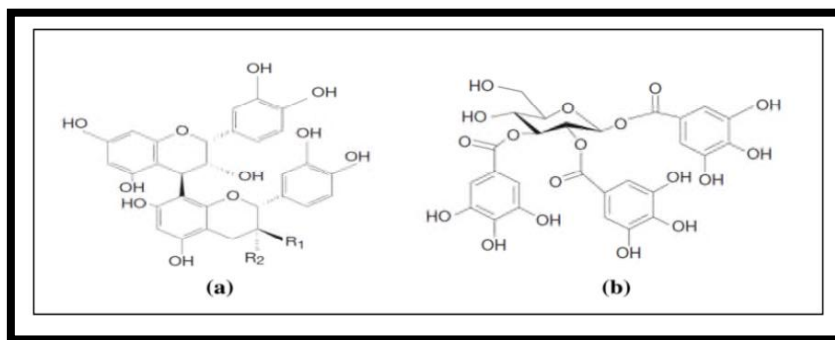


Figure n°06 : Structures chimiques (a) d'un tanin condensé et (b) d'un tanin hydrolysables (Favier, 2003).

b.1.3. Les lignanes

Les lignanes résultent de la condensation d'unités phénylpropaniques. Quatre groupes peuvent être considérés : les lignanes (liaison entre deux carbones β des chaînes latérales de deux unités dérivées du phénylpropane), les néolignanes (un seul carbone β est en jeu), les "oligomères", (condensation de 2 à 5 unités phénylpropaniques) et enfin les norlignanes avec un squelette en C17. Les néolignanes sont surtout présents chez les espèces primitives (Magnoliales, Pipérales) alors que les lignanes se trouvent souvent dans le bois des Gymnospermes et dans les tissus soumis à lignification chez les Angiospermes (**Sabrina, 2003**).

b.1.4. Les Saponines

Les saponines sont très fréquentes dans les plantes médicinales. D'un point de vue chimique, elles se caractérisent également par la présence d'un radical glucide (glucose, lactose) associé à un radical aglycone. Sa principale propriété physique est la forte réduction

de la tension superficielle de l'eau. toutes les saponines sont très moussantes et font d'excellents émulsifiants. Elles possèdent une autre propriété caractéristique, qui est de produire l'hémolyse, la destruction des globules rouges (érythrocytes) par la libération de leur hémoglobine : cela explique la toxicité de certaines d'entre elles, toxicité qui les rend inutilisables.

Les saponines irritent les muqueuses, produisent un relâchement intestinal, accroissent les sécrétions muqueuses bronchiques (elles sont expectorantes) : fleur de molène, racine de réglisse et de saponaire. Elles sont employées comme diurétiques et désinfectantes des voies urinaires (pédoncule foliaire de l'herniaire, feuille du bouleau, racine de la bugrane). La célèbre racine de ginseng (*Panax ginseng*), originaire de Chine, de Corée et des régions les plus orientales de l'ancienne Union soviétique, est également riche en saponines (**Blot et Bernard, 2012**).

b.1.5. Les Stilbènes

Les stilbènes sont des composés phénoliques qui ont une structure C₆-C₂-C₆, avec deux noyaux benzéniques reliés par un pont éthylène. Ils sont produits par les plantes en réponse à des attaques fongiques, bactériennes ou virales. Ils sont présents dans les bryophytes, les ptéridophytes, les gymnospermes et les angiospermes (**Landrault et al., 2002**).

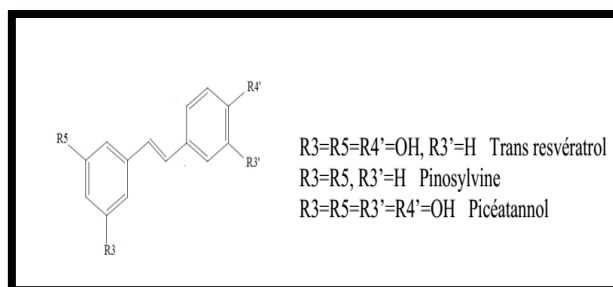


Figure n°07: Structure des stilbènes (**Saffidine, 2015**).

b.1.6. Les coumarines

La coumarine est un composé chimique organique appartenant à la famille des benzopyrones, dont le nom selon l'IUPAC est 2H-1-benzopyrane-2-one. Dans son état normal (standard), elle est caractérisée par une structure cristalline et incolore. Différents résidus peuvent être ajoutés à ce squelette formant la famille des coumarines. Les coumarines sont considérées comme un groupe de métabolites secondaires des plantes (www.aquaportail.com).

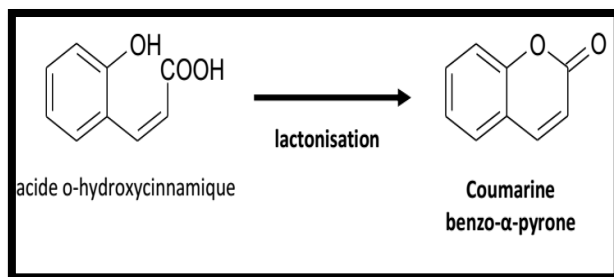


Figure n° 08 : structure de base des coumarines (Macheix *et al*, 2005).

b.1.6.1. Propriétés physico-chimiques

Les coumarines sont sous forme de cristaux orthorhombiques de couleur blanche ou jaunâtre. Elles sont assez solubles dans les alcools et les solvants organiques (dioxyde d'éthyle ou les solvants chlorés). Les coumarines hydroxylées (umbelliférones) possèdent une intense fluorescence bleue en lumière UV. Leur spectre UV est également caractéristique et sert à leur identification (Feryel, 2015).

b.1.6.2. Propriétés biologiques de coumarine

Les coumarines et leurs dérivées sont connues pour leurs nombreuses utilisations dans l'industrie des cosmétiques (comme additifs), l'industrie pharmaceutique et agro-chimique. Elles possèdent diverses propriétés biologiques, elles sont utilisées comme agents anti coagulants et sont très fluorescentes, elles sont employées aussi dans la préparation des insecticides.

La majorité des coumarines et leurs dérivées ont été soumises à de profondes investigations dans le but d'évaluer leurs effets sur la santé humaine, les recherches ont montré qu'elles peuvent être des agents anti HIV, anti tumoraux, anticancéreux, antimicrobiens, anti-inflammatoires (Feryel, 2015).

b.1.6.3. Classification de coumarine

Les coumarines sont substituées par un hydroxyle ou plus sur les six positions disponibles. La majorité des coumarines sont substituées en C-7 par un hydroxyle. Les auteurs ont classé les coumarines selon la nature des substituants sur leurs structures en cinq catégories : (Harkati, 2011).

✓ **Coumarines Simples**

Les coumarines simples sont les plus répandues dans le règne végétal et possèdent des Substitutions (OH ou OCH₃) en 6 et 7. Cette classe comporte deux sous classes, les génines et les hétérosides (**Harkati, 2011**).

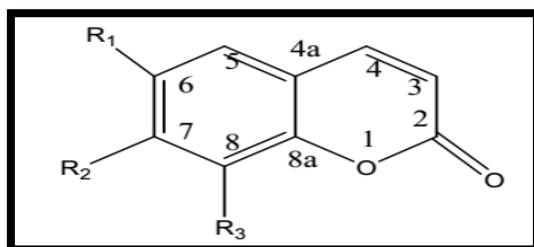


Figure n° 09 : Structure de coumarine simple.

✓ **Furanocoumarines**

Les furanocoumarines (appelées encore furocoumarines) constituent une famille de composés synthétisés par certaines espèces de végétaux supérieurs elles dérivent principalement de l'Ombelliféracée par condensation isopronoïdes en C5, sont souvent liposolubles, On désigne :

-**Les Furanocoumarines linéaires** : dérivant de la molécule de psoralène

- **les Furanocoumarines angulaires** : basées sur la structure de l'angélicine.

✓ **Pyranocoumarines**

Les pyranocoumarines des Composés formés par la fusion d'un hétérocycle pyrane avec la coumarine, soit dans le prolongement (forme linéaire) comme le xanthylétine ou latéralement (forme angulaire) comme les séseline, visnadine (**Harkati, 2011**).

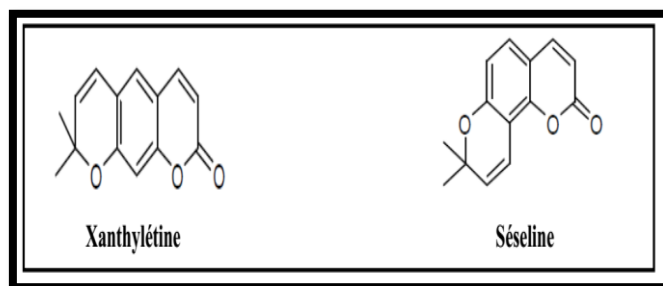


Figure n° 10 : Structures de quelques pyranocoumarines (**Harkati, 2011**).

✓ **Dicoumarines (coumarines dimériques)**

Les dicoumarines sont des composés formés par la liaison de deux unités coumariniques simples

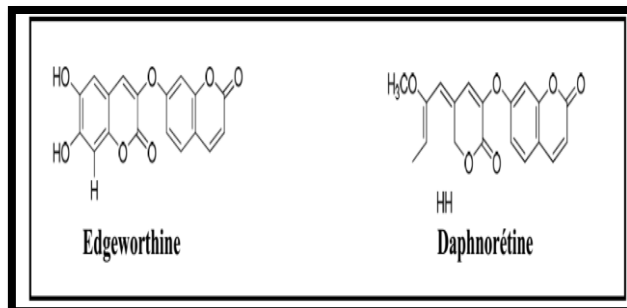


Figure n° 11: Structures des quelques dicoumarines (Harkati, 2011).

✓ **Tricoumarines (coumarines trimériques)**

Ce sont des composés issus de l'union de trois entités coumariques.

c. Huiles essentielles

c.1. Définition

Les huiles essentielles sont des substances aromatiques ; parfumées, à la consistance huileuse, produites par le métabolisme des plantes .Elles se forment avec l'acide de l'énergie solaire qui agit sur les cellules sécrétoires des plantes .la plante retient l'huile essentielle dans une minuscule cavité glandulaire qui s'ouvre, par exemple, lorsque la plantes est soumise à la chaleur ou à la lumière intense.

Selon les standards ISO et AFNOR, d'octobre 1987, une huile essentielle est :<un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, après séparation de la phase aqueuse par précédés physiques ; soit par entrainement de la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche.

Presque toutes les plantes contiennent des huiles essentielles qui sont les condensations de leur force vitales. Dans les plantes, les différents composants des huiles essentielles sont utilisés normalement comme hormones stimulantes, régulatrices de la croissance et de la reproduction (Federico et al., 2013).

c.2. Localisation dans la plante

Les huiles essentielles sont produites dans le protoplasme cellulaire des plantes aromatiques et représentent les produits du métabolisme cellulaire dit "secondaire". La synthèse et l'accumulation de ces métabolites dans un organe sont associées à la présence de structures histologiques spécialisées qui selon l'espèce botanique peuvent être des cellules sécrétrices, des poches sécrétrices, des poils sécréteurs ou des canaux sécréteurs (**Dorosso, 2002**).

c.3. Caractéristique physico-chimiques des huiles essentielles

c.3.1. Propriétés physiques

- Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiantes dans la plupart des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau à laquelle, toute fois, elles communiquent leur odeur.
- Leur point d'ébullition varie de 160° à 240°C.
- Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0,75 à 0,99 (les huiles essentielles de sassafras, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions).
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont dextrogyres ou lévogyres, rarement inactives sur la lumière polarisée.
- Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels.
- Ce sont des parfums, et sont de conservation limitée.
- Sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas).
- Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voire rétinoides, très odorantes et volatiles.
- A température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaunes pâles, il existe, cependant, quelques exceptions, exemple : huile essentielle à azulène de coloration bleue.
- Ce sont des produits stimulants, employés à l'intérieur, comme à l'extérieur du corps, quelquefois purs, généralement en dissolution dans l'alcool ou un solvant adapté (**Abdelouahid, et al., 2010**).

c.3.2. Composition chimique

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

Les huiles essentielles sont des mélanges plus ou moins complexes dont les constituants jouent du point de vue parfum des rôles d'inégale importance : les uns contribuent puissamment à l'arôme de l'essence, certains participent simplement à l'harmonie du mélange. D'autres sont complètement inodores ou peu odorants, ceux-ci ont un rôle tout à fait effacé.

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

c.4. Les principaux constituants des huiles essentielles sont les suivants

✓ Les terpénoïdes

Dans le cas des huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils : mono- et sesquiterpènes.

-les monoterpènes

Constituants les plus simples de la série, les monoterpènes sont issus du couplage de deux unités <isopréniques>. Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène) mono cycliques (α et γ -terpinène, p-cymène) ou bicycliques (pinène, camphène, sabinène). Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle. Les variations structurales justifient l'existence de nombreuses molécules : alcools (géraniol, α -terpinéol, bornéol, trans-trans-farnésol), phénols (thymol), aldéhydes (citronellal), cétones (carvone, β -vétivone), ester (Acétate de cédryle), éthers (1,8-cinéol).

- Les sesquiterpènes

Un grand nombre de sesquiterpènes sont des constituants habituels des huiles essentielles des végétaux supérieurs. Ils peuvent intervenir dans les propriétés pharmacologiques attribuées à ces fractions volatiles.

Biologiquement, bon nombre de structures sesquiterpéniques sont des phytoalexines, d'autres semblent agir comme des régulateurs de croissance, d'autres enfin attirent les insectes ou agissent à l'encontre de ceux-ci comme des facteurs anti-nutritifs.

✓ **Les composés aromatiques :**

Les dérivés du phénylpropane (C6-C3) sont beaucoup moins fréquents que le précédent. Ce sont très souvent des allyles et des propénylphénols, parfois des aldéhydes.

On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en (C6-C1) comme la vanilline ou comme l'antranilate de méthyle. (**Abdelouahid et al., 2010**).



Chapitre III:
Activité biologique

Chapitre III : Activités biologique

I. Activité biologique

L'étude des activités biologiques des substances bioactives des plantes médicinales se trouve à la base des médecines dites alternatives, de nombreux procédés utilisés dans la conservation des produits alimentaires crus ou cuits, de substances actives exploitées dans les produits pharmaceutiques. La présente étude, s'intéresse particulièrement à l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de *Juniperus phoenicea* (**Hammoudi, 2015**).

I.1. Activités antioxydant

I.1.1. Les antioxydants

▪ Définition

Un antioxydant est par définition une espèce chimique plus ou moins complexe diminuant le stress oxydant au sein de l'organisme. Un antioxydant peut donc : prévenir la synthèse de radicaux libres en inhibant l'initiation des chaînes réactionnelles ou désactiver directement les ROS. Les antioxydants peuvent être classés selon leurs modes d'actions : systèmes enzymatiques, inhibiteurs d'enzymes oxydantes, chélateurs de métaux et piègeurs de radicaux libres.

Les antioxydants sont un groupe hétérogène composé de systèmes antioxydants endogènes, enzymatiques ou non, de vitamines, d'oligo-éléments ou encore de polyphénols (**Thomas, 2016**).

✓ Les antioxydants endogènes (enzymatiques)

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydants (Superoxydedismutase, Catalase et Glutathion peroxydase) élaborés par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge.

✓ Les antioxydants exogènes (non enzymatiques)

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydante. Les antioxydants exogènes, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matières de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture (**Labiod, 2016**).

I.1.2. Définition de stress oxydant

Le stress oxydant se définit quand il y a un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydant et antioxydants endogènes ayant pour conséquence des dommages intracellulaires. Il est impliqué dans de nombreuses pathologies allant de l'infection à la maladie

d'Alzheimer. L'évolution de la médecine avec la compréhension de l'apparition des pathologies a permis de mieux cibler des thérapeutiques et c'est ainsi que les antioxydants ont trouvé leur intérêt dans le traitement ou la prévention de plusieurs maladies. Une source majeure d'antioxydants est notamment la Nature. Elle est d'autant plus importante à l'homme qu'elle lui en fournit une quantité significative via l'alimentation. Les domaines d'application des antioxydants sont multiples. Ils sont largement utilisés pour leur capacité à empêcher l'oxydation dans l'industrie, l'agroalimentaire mais également en cosmétologie où ils jouent un rôle marketing du fait de leur origine naturelle.

Dans ce manuscrit, après une définition du stress oxydant endogènes et exogènes est décrit. Par la suite, les méthodes communes d'analyse du pouvoir antioxydant sont présentées. Enfin la dernière partie est consacrée aux diverses applications des antioxydants et plus particulièrement en médecine humaine (Thomas, 2016).

I.1.3. Les radicaux libres

▪ Définition

Le radical libre (RDL) est une molécule ou un atome qui possède un ou plusieurs électrons non appariés ou célibataires au niveau de ses orbitales externes. Il réagit spontanément avec d'autres atomes ou molécules pour former un nouveau radical provoquant ainsi une réaction en chaîne qui n'est interrompue que lorsque deux RDL réagissent entre eux. Les RDL sont des espèces instables, très réactives, et qui possèdent un temps de demi-vie extrêmement court : 10^{-9} . 10^{-6} sec (Pierre et al., 1997).

▪ Les principaux radicaux libres

-Le radical superoxyde : il naît de la combustion des sucres et des graisses.

-Le radical peroxydinitrite : il est produit à partir de l'azote par les globules blancs, ces cellules contenues dans le sang et dont le principal rôle est de protéger l'organisme contre les infections.

Le radical hydroxyle : il résulte de l'action du rayonnement solaire sur notre peau, notamment quand celui-ci n'est pas bien filtré par la couche d'ozone. Il peut aussi être synthétisé par réaction du fer ou du cuivre avec la vitamine C. C'est à ce radical que l'on attribue la plupart des lésions du vieillissement.

Monoxyde d'azote, peroxyde d'oxygène, oxygène singulet... sont d'autres radicaux libres qui interviennent à différents niveaux (Céline, 2004).

▪ Le rôle de radicaux libre

Les radicaux libres jouaient un rôle dans le processus de vieillissement chez l'homme. Aujourd'hui, "The Free Radical Theory of Aging" (La Théorie des radicaux libres du Vieillissement) est bien connue, mais il n'y a pas de preuve convaincante que les radicaux libres sont une cause primaire du vieillissement. Cependant, il y a une multitude de preuves que les radicaux libres sont impliqués dans les aspects secondaires des maladies et des changements relatifs à l'âge.

I.1.4. Mécanisme d'action des antioxydants

La présence d'antioxydants peut d'abord conduire à une diminution de la formation d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. Les antioxydants peuvent aussi capturer les espèces réactives ou leurs précurseurs. La vitamine E est un exemple de ce comportement car elle inhibe l'oxydation des lipides en réagissant avec des intermédiaires radicaux formés à partir d'acides gras polyinsaturés. Certains antioxydants peuvent se lier aux ions métalliques nécessaires à la catalyse de la formation des oxydants réactifs. D'autres antioxydants peuvent réparer les dommages causés par oxydation aux biomolécules ou peuvent influencer des enzymes qui catalysent les mécanismes de réparation (**Donald et al., 2015**).

II. Activités antimicrobienne

II.1. les bactéries

▪ Définition

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes. On distingue aussi les bactéries proprement dites (Bacteria) des bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bactérie et ce sont de ces bactéries seulement qu'il sera question dans cet ouvrage.

Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1 μm . On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique (**Nauciel et Validé, 2005**).

II.2. Culture des bactéries

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides

(bouillons) ou solides. La solidification des milieux est obtenue par l'addition de gélose, un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à l'ébullition et se solidifier à des températures inférieures à 40°C. En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, les bactéries se déposent à la surface. Lorsque la quantité de bactérie est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'œil nu, que l'on appelle colonie (Si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe) (Nauciel et Validé, 2005).

II.3. Antibiotiques

Ce sont des substances chimiques élaborées par des microorganismes; ces substances possèdent le pouvoir d'inhiber la croissance ou le développement d'autres microorganismes (bactéries), dans lesquelles elles pénètrent en perturbant le métabolisme ou en agissant spécifiquement sur une étape essentielle de ce dernier, mais qui sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules humaines ou animales. Le cadre des antibiotiques était limité d'abord à des substances d'origine biologique produites par des champignons, s'est élargi plus tard et comprend actuellement d'autres produits possédant la même action antibactérienne, mais obtenus par synthèse (Benzeggouta, 2005).

II.4. Description des souches bactériennes étudiées

✓ *Candida albicans*

Est une levure faisant partie de la flore commensale gastro-Intestinale, buccale et vaginale de l'être humain. Ce champignon microscopique peut cependant devenir pathogène chez les personnes qui possèdent des mécanismes de défense naturels déficients. Les facteurs prédisposant comprennent la thérapie antibactérienne, le traumatisme cutané, le diabète, la grossesse, la chimiothérapie et l'immunodéficience. De nos jours, l'infection la plus grave et potentiellement mortelle est la candidose systémique apparaissant chez les patients à SIDA. Cliniquement, on distingue encore les infections superficielles cutanées et muco-cutanées et les infections profondes locales (Julien, 2002).



Figure n°12 : L'espèce bactérienne *Candida albican*

✓ *Bacillus subtilis*

Est une bactérie aérobie à Gram positif, sporogène, se présentant sous forme de bâtonnets généralement mobiles. Ce germe, parfois responsable de toxi-infections alimentaires ou d'infections opportunistes chez l'homme, peut être aisément manipulé de manière sûre en laboratoire. L'intérêt de son utilisation dans nos tests de routine réside dans le fait qu'une espèce voisine, *B. anthracis*, est l'agent du charbon, souvent évoqué lorsqu'on brandit la menace de guerre bactériologique. Cette infection peut atteindre de nombreuses espèces animales, y compris l'homme, mais cependant avec une nette prédilection pour les herbivores. On peut espérer que, par réaction croisée, des molécules actives contre *B. subtilis* le soient également contre *B. anthracis* et d'autres bactéries Gram positif (**Julien, 2002**).



Figure n°13 : Vue sous le microscope électronique de *Bacillus subtilis*

✓ *Staphylococcus aureus* :

C'est une espèce de la famille de Micrococcaceae, constituée de cellules arrondies (cocci à gram positif) disposées en amas ou en grappes de raisin d'où le nom staphylos en grec. Ces bactéries survivent et prolifèrent du fait de leur particulière résistance aux conditions hostiles de l'environnement telles que la chaleur, la sécheresse ou la salinité de l'eau. Ces caractères ubiquitaire et saprophytique expliquent que ces germes soient aussi des commensaux occasionnels ou permanents de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux.

Les *Staphylococcus aureus* peuvent causer des infections intestinales superficielles, infections des plaies et du sang, comme elles acquièrent facilement des résistances aux antibiotiques, en particulier à la méthicilline et à la pénicilline (**Berreghioua, 2016**).



Figure n°14 : Vue sous le microscope électronique de *Staphylococcus aureus*.

<http://www.cdc.gov/media/dpk/2013/images/untreatable/img17.jpg>.

✓ *Pseudomonas aeruginosa*

C'est un germe appartenant au groupe des bacilles à Gram négatif, il pousse facilement sur les milieux usuels, cette espèce se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ces colonies.

Ces microorganismes vivent dans le tube digestif de l'homme, ils sont mobiles et possèdent une ciliature polaire. Ce germe est considéré comme germe-type des infections hospitalières ou nosocomiales. Les *Pseudomonas* vivent à l'état saprophytique dans l'eau, le sol humide et sur les végétaux et sont utilisées dans les applications des recherches biologiques (Berreghioua, 2016).

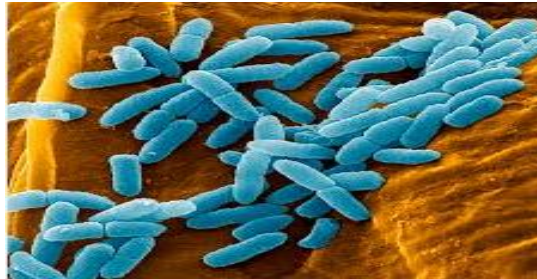


Figure n°15 : Vue sous le microscope électronique de bactérie *Pseudomonase aeruginosa* (Elmeskini, 2011).

✓ *Salmonella enterica*

Les bactéries du genre *Salmonella* forment une seule espèce, à l'intérieur il y a plusieurs sous espèces, chaque sous espèce est divisée en sérotypes caractérisés par une formule antigénique spécifique. Les sérotypes peuvent être subdivisés à leur tour en biotypes. Les sérotypes de *Salmonella*, sont identifiés par leurs réactions antigéniques. Certaines *Salmonella* sont strictement adaptées à l'homme, responsables de la fièvre typhoïde et paratyphoïde humaine, et ne manifestent pas de pouvoir pathogène en dehors de l'espèce humaine, ce sont les "salmonelles majeures". Et il y a d'autres sérotypes, qui peuvent engendrer des toxico-infections alimentaires, qui sont connues comme des "salmonelles mineures", qui peuvent déterminer des infections chez de nombreuses espèces animales. Un manque d'hygiène est très souvent à l'origine de la transmission (Benzeggouta, 2005).



***Partie 02: Partie
expérimental***

A decorative border resembling a scroll, with a grey shaded area at the top-left and bottom-left corners, and rounded ends on the right side.

Chapitre I: Matériels Et Méthodes

Introduction

Pour l'analyse phytochimique et l'évaluation de l'activité biologique In vitro de l'espèce étudiée, une extraction des principes totaux comportant les grands groupes chimiques a été nécessaire. L'extraction a été faite dans le Laboratoire de biodiversité et biotechnologie végétale, département de science de la nature et de la vie, faculté de sciences, Université de Mohamed Boudiaf à M'sila.

L'objectif

Cette étude expérimentale se divise en parties :

- **La 1^{ème} partie** : L'activité antioxydante des différents extraits et d'huile essentielle en utilisant la technique suivante : la réduction du piégeage du radical libre DPPH.
- **La 2^{ème} partie** : Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion de disque.

I. Matériel végétal

Cette étude a été réalisée sur les parties aériennes (feuilles ; fruits) du *Juniperus phoenicea* L. Ces parties de cette plante ont été cueillies en 2019 de la wilaya M'sila, que les feuilles et les fruits ont été récoltés en mois de Mars 2019. Le séchage à l'abri de la lumière solaire. Après ces dernières deux parties de la *Juniperus phoenicea* L ont été broyées séparément et stockées soigneusement dans un endroit sec en vue de leurs analyses.

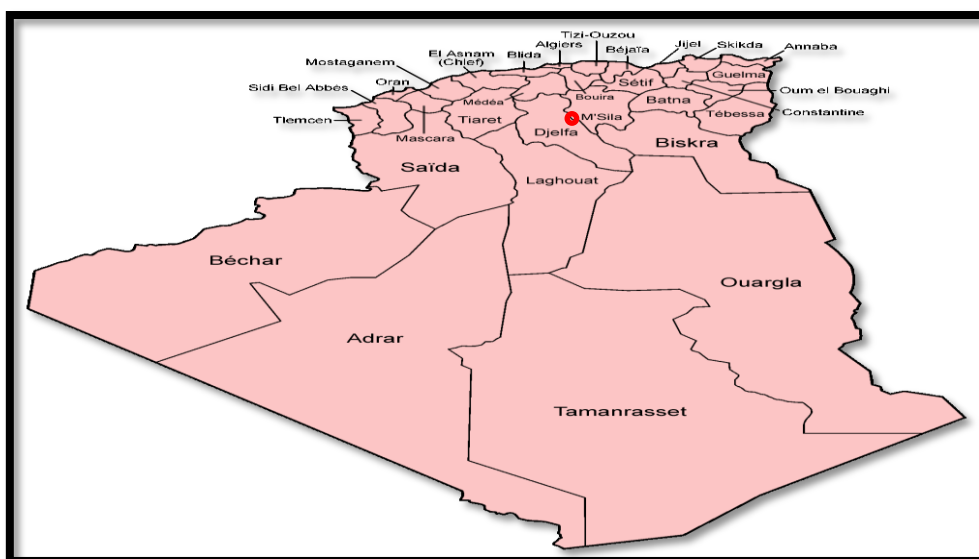


Figure n°16 : Localisation géographique de M'sila.

II. Extraction

II.1. Macération

➤ Le principe

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante.

II.2. L'extraction des principes actifs

II.2.1. Préparation de l'extrait brut par extraction type solide -liquide (ESL)

Une quantité de 100 g de poudre des feuille et 50 g des fruits de la plante est macéré dans une solution contient de 70 ml de méthanol et 30 ml d'eau distillé, pendant 48 heures, cette opération est répétée trois fois à température ambiante, l'extrait est ensuite filtré par papier filtre puis, évaporé sous pression réduite à sec, ($T= 40\text{ C}^\circ$) par un évaporateur rotatif (BÜCHI - R -120). Le résidu sec est repris par quelques millilitres de méthanol et conservé à $+ 4\text{ C}^\circ$, à fin de cette méthode on obtenait donc l'extrait hydrométhanolique brut des feuilles (EBr.Fel.) et des fruits (EBr. Flr.).



Figure n°17: Appareil du rotavapeur rotatif de type (BÜCHI R- 120).

II.2.2. Fractionnement de l'extrait hydrométhanolique par extraction type liquide-liquide (ELL)

L'extrait brut de la plante (EBr.Fel. et EBr .Fr.) est fractionné en utilisant une série de solvants à polarité croissante. Les extraits bruts sont initialement mélangés avec 30 ml d'acétate d'éthyle dans une ampoule à décanter, après la décantation (quelques heures), la phase d'acétate d'éthyle (organique) supérieur est récupérée, la phase aqueuse inférieure obtenue dépigmentée avec trois lavage successive a l'acétate d'éthyle, et soumis à un autre fractionnement par le n-butanol, en suivant les mêmes étapes que le premier fractionnement par l'acétate d'éthyle. Les extraits obtenus sont ensuite évaporés à sec et pesés pour un éventuel traitement.

Cette série d'extraction a permis d'obtenir quatre extraits organiques bruts :

- Extrait d'acétate d'éthyle des feuilles *juniperus phoenicea* L.
- Extrait d'acétate d'éthyle des fruits *juniperus phoenicea* L.
- Extrait n-butanol des feuilles de *juniperus phoenicea* L.
- Extrait n-butanol des fruits de plante *juniperus phoenicea* L.

Qui seront récupérés dans des boîtes pétrie en verre puis conservés jusqu'à l'utilisation.

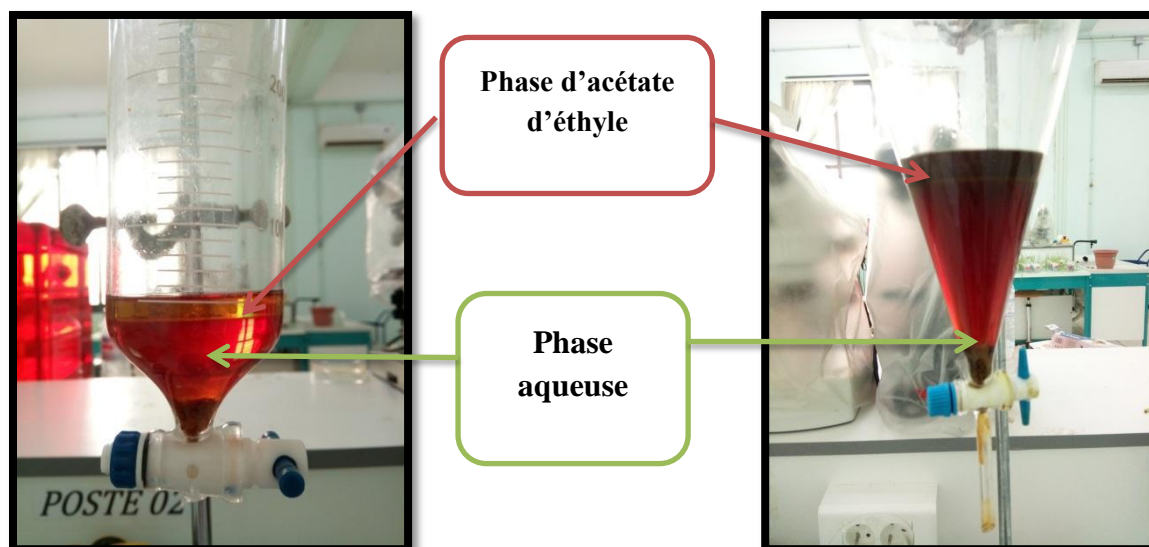


Figure n°18 : Extraction liquide-liquide
Par l'acétate d'éthyle du fruit

Figure n° 19: Extraction liquide-liquide
Par l'acétate d'éthyle du feuille

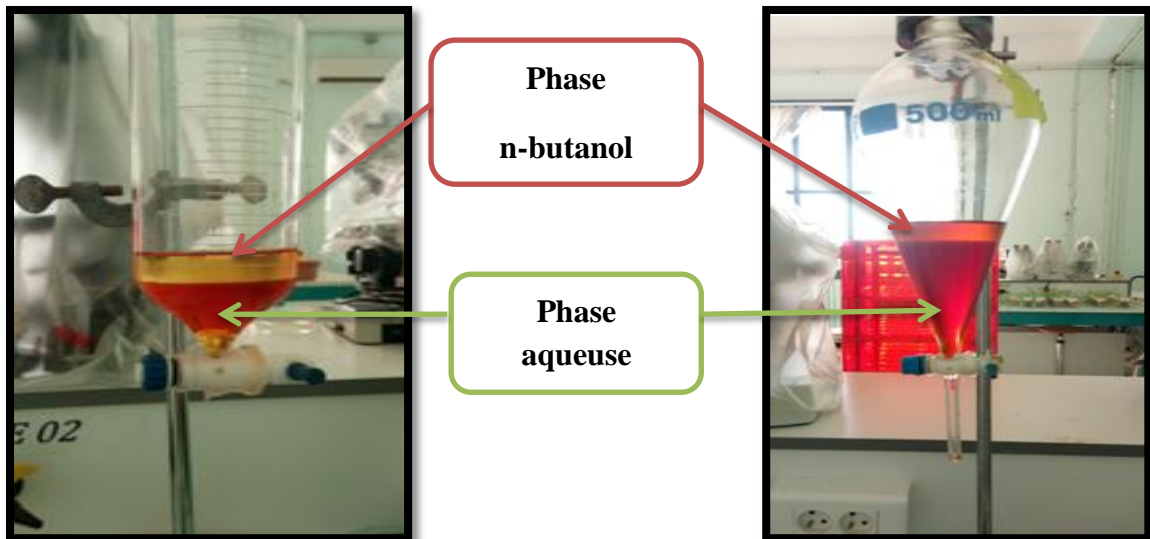


Figure n°21 : Extraction liquide-liquide
liquide Par n-butanol du feuille

Figure n°20 : Extraction liquide-
par n-butanol du fruit

➤ **Calcul du rendement des extraits**

Le rendement de différents extraits obtenus a été déterminé en calculant le rapport entre la masse des extraits bruts à l'acétate et celle de la matière végétale utilisé

$$\text{Le taux de matière extraite (\%)} = (P1 - P0)100/P$$

Avec ;

- ❖ P=poids initial de l'échantillon (g) ;
- ❖ P0=poids de boîte pétri vide (g) ;
- ❖ P1=poids de boîte pétri après évaporation total (g) ;

II.3. Extraction des coumarines

La méthode de travail est réalisée selon les étapes suivantes :

- On pose 150 g de matière broyée de la plante *juniperus phoenicea* L. dans un erlenmeyer ;
- On l'ajoute un mélange de solvant (MeOH, H₂O) avec le pourcentage de (80/20) respectivement et on laisse 24 heure ;
- Après chaque 24 heure, on fait la filtration à l'aide d'un papier filtre et un entonnoir, cette étapes pour trois fois successives ;

- Après la filtration total ; prendre le reste et passe par la Rotavapor pour l'obtention de l'extrait brut de les feuilles et les fruits pour le test suivante :
- Poser l'extrait brut de la (Feuille ou Fruit) dans un bécher, mesure le PH par le papier de PH, puis on ajoute quelques gouttes de la (NH_4OH) jusqu'à l'obtention de PH basique (PH=9), après la régulation de PH; on pose l'extrait dans une ampoule à décanter, verser (30ml) de chloroforme et le laisser pendant quelque heure, afin d'obtenir deux phases, phase organique (1) et phase aqueuse (1). Répéter cette étape trois fois.
- Diminuer le PH de la phase aqueuse (1) jusqu'à l'obtention de PH acide (PH=2) par l'Hcl diluer (5.6 %), On pose l'extrait dans une ampoule à décanter, verser (20ml) de chloroforme puis agité et pendant quelque heure, afin d'obtenir deus phase, phase organique (2) et phase aqueuse (2) Répéter cette étape trois fois.

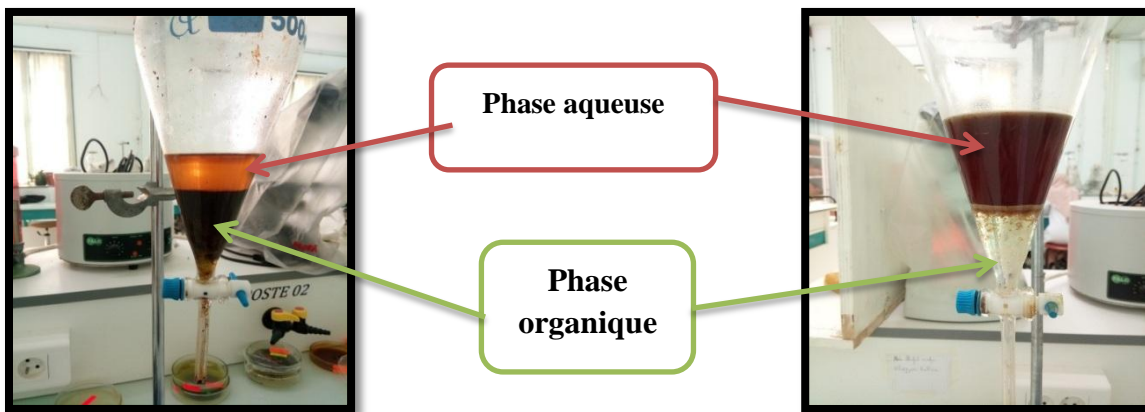


Figure n°22 : Extraction des coumarines de la feuille par Hcl

Figure n° 23:Extraction des coumarines de la feuille par Hcl.

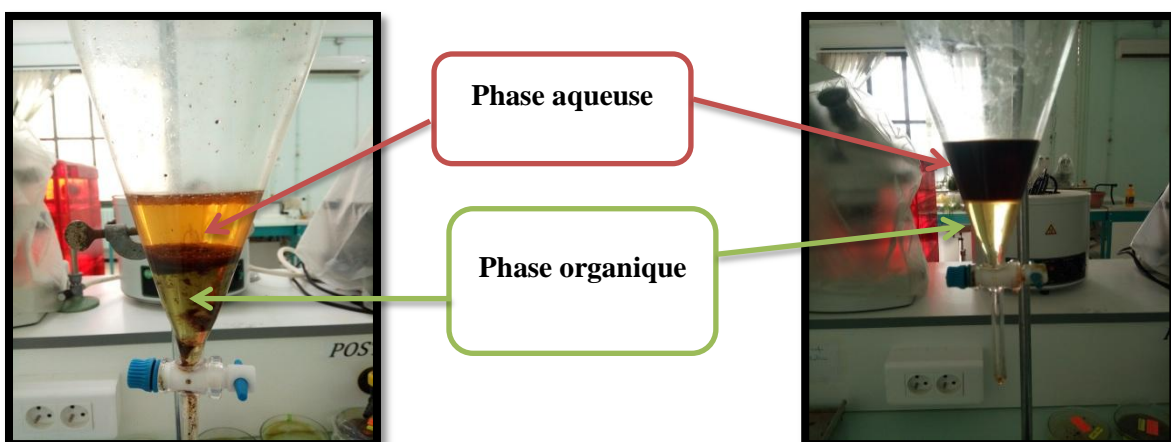


Figure n°24 :Extraction des coumarines de la feuille par NH_4OH .

Figure n°25: Extraction des coumarines de la fruit par NH_4OH .

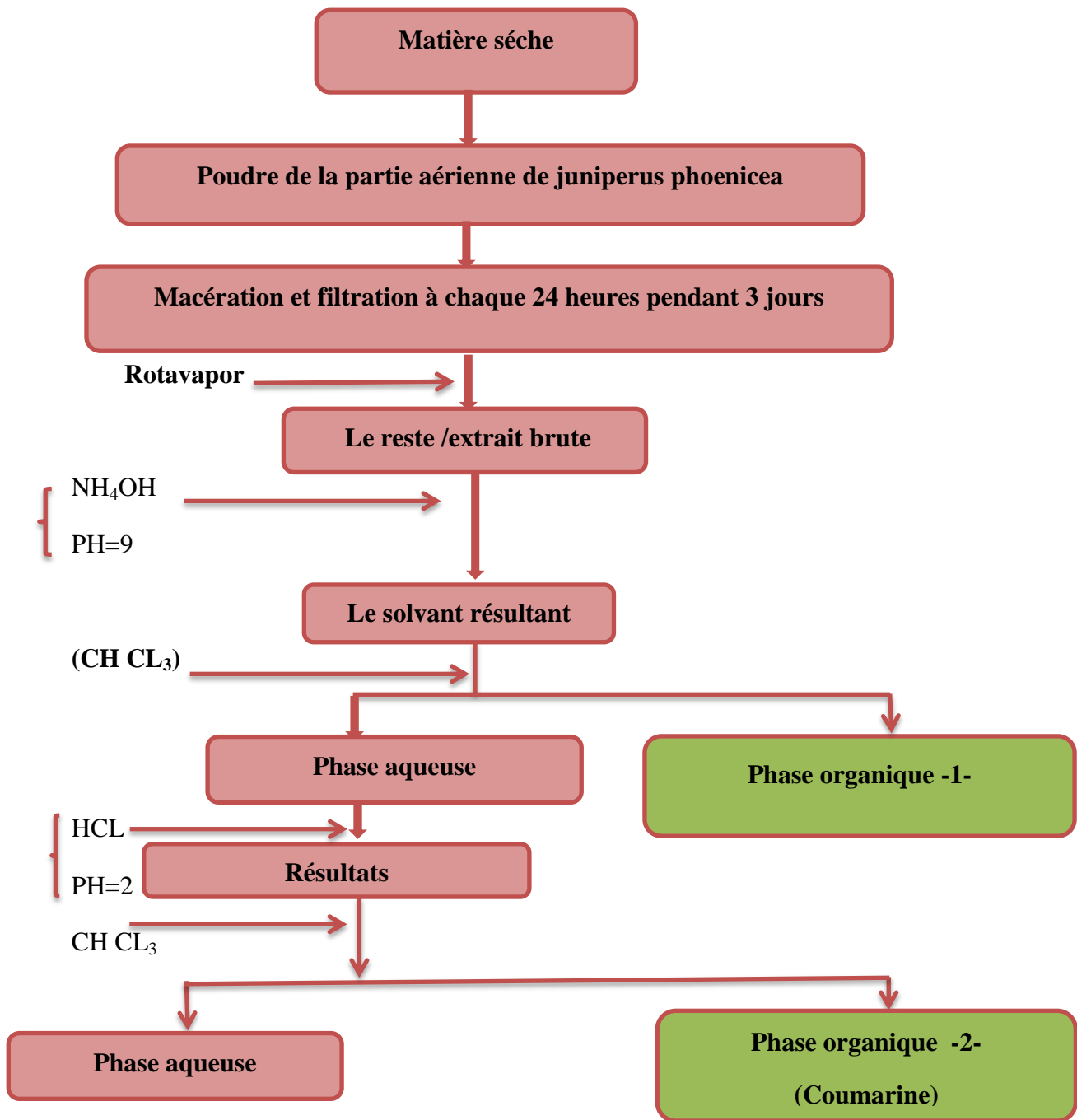


Figure n°26: L'extraction de la coumarine de la plante *Juniperus phoenicea* L.

II.4. Extraction de l'huile essentielle de la plante *Juniperus phoenicea* L.

L'objectif de ce travail est d'obtenir l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* L. Par la méthode d'Hydrodistillation pour faire l'évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydant.

Principe

Les huiles essentielles de la plante étudiée a été extraite par hydrodistillation grâce à un appareil du type Clevenger (**Figure n°28**). «Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans l'eau distillée qui est portée à l'ébullition. Les principes volatiles sont alors entraînés par la vapeur d'eau et après condensation du distillat, sont séparés par décantation».

II .4.2. Procède d'extraction

Les feuilles et les fruits sèches (100g et100g) ont été mises dans une fiole de 1000 ml qui fut remplie avec 1L d'eau distillée ; la fiole avec son contenu a été mise sur le chauffe-ballon.

Les huiles essentielles entraînées par les vapeurs d'eau générées dans la fiole sont dirigées vers le col de cygne, qui relie la fiole avec le réfrigérant .une fois arrivées dans le réfrigérant, elles se condensent rapidement et se retrouvent dans l'ampoule a décantation qui permet la séparation immédiate de l'essence par sa densité. Après 3 heures d'extraction, l'huile essentielle a été recueillie dans un petite flacon en verre hermétique et recouvert de papier aluminium pour le protéger de la lumière et conservée à 4 C°.



Figure n°27 :100g matière végétal sèche



Figure n°28 :Photo original de Appareil d'hydrodistillation de type de clévenger.

II.4.3. Conservation de l'huile essentielle obtenue de la *Juniperus phoenicea*

La conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables. C'est pour cela on lui recommande de stocker des huiles (photosensibles) en verre ombré, hermétiques,

enveloppés de papier aluminium, mis en communication alors contre la lumière et l'air (oxydation) et dans les endroits frais afin d'éviter leur polymérisation à une température 4°C

▪ Calcul le rendement de l'huile essentielle

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 :

$$\text{RHE}(\%) = M_1 / M_0 \times 100$$

Avec :

RHE :Rendement en l'huile essentielle de la feuille et de la fruit ;

M₁ :Masse des huiles essentielle en recueilli en (g) ;

M₀ :Masse de matière végétale utilisée en (g).

III. Analyses qualitatives de *Juniperus phoenicea* L.

L'objectif de cette étude à savoir la présence de quelque groupe chimique (polyphénols, flavonoïdes) dans nos extraits.

Principe

La chromatographie est aujourd'hui, une méthode analytique largement utilisée pour la séparation, l'identification et éventuellement le dosage des constituants chimiques dans des mélanges complexes (analyse qualitative et quantitative). Les facteurs qui interviennent dans le partage des molécules à séparer entre la phase stationnaire et la phase mobile sont: la solubilité dans un solvant liquide, la taille (la forme), la polarité, la charge électrique et la présence de groupements d'atomes formant des sites particuliers (**Iagnika, 2006**).

III.1. Préparation des plaques CCM

Les plaques utilisées sont des plaques en gel de silice de 0.25 mm d'épaisseur, déposées sur feuille d'aluminium. Ces plaques sont découpées selon les dimensions : 2.5 cm de large, et 10 cm de long.

La phase mobile est constituée par un mélange de solvants organique, 5 cinq systèmes ont été essayés pour les meilleures séparations des extraits de la plante *Juniperus phoenicea* L.

Tableau n°02 : Les différents systèmes utilisés pour la CCM de gel de silice.

Systèmes solvants	N°	Proportion	Référence
Chloroforme /Méthanol	01	a (6 ; 2, v/v)	(Belkassam, 2009)
		b (2 ; 2, v/v)	
		c (9 ; 1, v/v)	
Hexane /chloroforme/Méthanol	02	a (7 ; 4 ; 0.2, v/v)	
		b (7 ; 4 ; 0.5, v/v)	
Dichlorométhane/Méthanol	03	a (4 ; 0.5, v/v)	
Dichlorométhane/Heptane	04	a (4 ; 1, v/v)	
Heptane / Acétate d'éthyle	05	a (2 ; 6, v/v)	
		b (2 ; 8, v/v)	



Figure n°29: Appareil de l'Ultra-violet pour l'observation des couleur de la séparation.

IV. Activités biologique

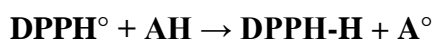
IV.1. Evaluation de l'activité antioxydant

L'activité anti-radicalaire des différents composés extraits a été évaluée *in vitro*, par le test au DPPH*.

Test de radical libre DPPH (2,2-diphényl 1-1-picrylhydrazyl)

Principe

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des extraits (Wu *et al* 2007). Le DPPH initialement violet, se décolore lorsque l'électron libre s'apparie selon la réaction suivante :



où AH est un composé capable de donner un H⁺ au radical DPPH (**Figure n°12**). Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres, loin de toutes activités enzymatiques.

Dans ce test, le substrat est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule antioxydante se transforme en DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) avec perte de son absorbance caractéristique à 517 nm. Les réactions ont lieu en milieu éthanolique à température ambiante, cela permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants. Ce test est très utilisé car il est rapide, facile et non couteux (**Hadbaoui, 2012**).

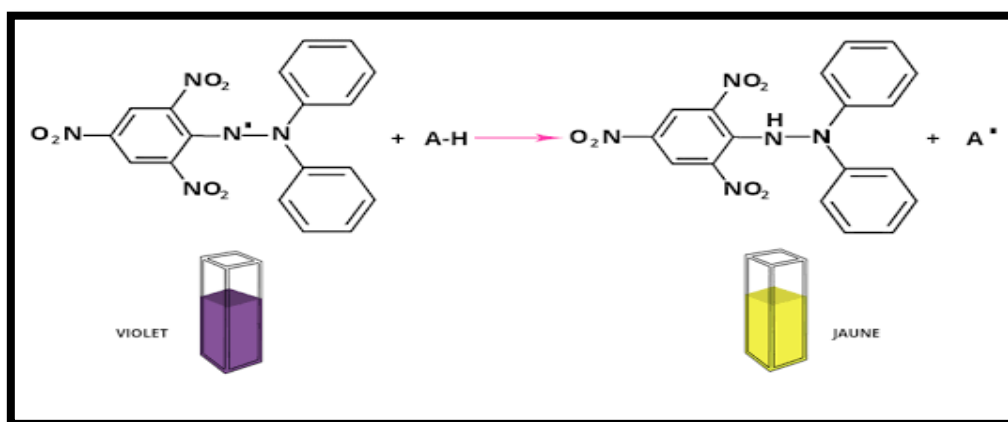


Figure n°30 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant

(Molyneux, 2004).

Mise en œuvre pratique

- Le DPPH est solubilisé dans le éthanol pour avoir une solution 4000ppm (4g de DPPH avec 100ml d'éthanol), et mélangée avec différents concentration des extraits de *Juniperus phoenicea* L. (10, 25, 50,100µg/ml);
- Mettre (2, 5, 10,20µl/ml) respectivement de chaque dilution de ces extraits dans un tube ;
- Ajouter l'éthanol (38, 35, 30,20µl);
- Ajouter 160µl de solution éthanolique de DPPH ;
- Le mélange est vigoureusement agité, puis les sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes ;
- Pour préparer le contrôle négative, on mélange (2, 5, 10,20µl) d'éthanol respectivement avec 160ul de DPPH ;

- Répéter les même opérations avec le changement d'extrait de *Juniperus phoenicea* L. par un BHT (contrôle positif) ;
- La réduction du DPPH s'accompagne par le passage de la couleur violette à couleur jaune de la solution. Toutes les lectures sont effectuées à 517nm par un spectrophotomètre.

Toutes les opérations sont répétées trois fois.

Expression des résultats

L'activité antioxydante, qui exprime la capacité de l'extrait à piéger le radical libre DPPH est donnée par la formule suivante (**Burits et Bucar, 2000**).

$$\text{Inhibition \%} = \frac{(\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{test}}) \times 100}{\text{Abs}_{\text{control}}}$$

Avec :

Abs_{control} : Absorbance du control négatif à longueur d'onde 517 nm ;

Abs_{test} : Absorbance de l'échantillon à la longueur d'onde 517 nm.

Calcul des concentrations inhibitrices à 50 % " IC₅₀ "

IC₅₀ (Concentration inhibitrice de 50 %), aussi appelée EC₅₀ (Concentration efficace 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées (**Torres et al, 2006**).



Figure n°31 : Appareil de spectrophotométrie

IV.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Les différents extraits de plantes ont été testés sur 5 microorganismes pathogènes multi résistants comprenant 2 bactéries Gram+, 2 bactéries Gram- et une levure, fournis par le laboratoire de Biotechnologie, les bactéries testées sont :

Salmonella enterica, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilus* et une levure *Condida albican*.

➤ Principe

L'activité antimicrobienne consiste tout d'abord la détermination de la concentration minimale inhibitrice (C.M.I.) des extraits qui détruit le microorganisme. Les extraits sont déposés sur les disques de papier qui sont déposés sur la gélose en boîtes pétries. En fin on pose les boîtes pétries dans l'incubateur à 37C° pendant 24 heures pour les bactéries et 48 heures pour la levure.

➤ Application

Selon les méthodes utilisées dans l'essai et selon les souches, nous avons utilisé les milieux suivants:

- Bouillon Nutritif pour l'activation et l'entretien des souches bactériens ;
- La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits.
- La gélose Nutritif pour optimiser la croissance des bactéries.
- Sabouraud pour optimiser la croissance de levure.

❖ Stérilisation du matériel

Les tubes à essai utilisés dans la préparation des suspensions bactériennes (Inoculums) ainsi que dans la préparation des dilutions de nos échantillons, ont été stérilisé à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.

❖ Préparation des dilutions d'extraits de *Juniperus phoenicea* L.

Les extraits de *Juniperus phoenicea* L. ont été dissous dans le DMSO avec des dilutions successives au demi pour avoir quatre concentrations C1=2, C2=4, C3=8, C4=16.

❖ Les souches testées

Les souches testées proviennent de laboratoire de microbiologie de l'Université de M'sila, elles représenté dans le tableau suivant :

Tableau n°03 : les souches testées pendant l'évaluation des activités antimicrobiennes.

Souche	Code	Gram
<i>Bacillus subtilus</i>	ATCC 6633	positive
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	négative
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 14028	négative
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	positive
<i>Condida albican</i>	ATCC 10231	levures

❖ Préparation des disques :

On utilise des disques de 6 mm de diamètre découpés sur papier Wattman N°1 pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer. Les disques une fois préparés, sont introduit dans un flacon en verre et placés dans l'autoclave pendant 20 minutes à 120 C°.

❖ Préparation de l'inoculum

- L'ensemencement des souches bactériennes sur la gélose nutritive et l'incubateur à 37C°pendant 24h.
- On prélevé à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette pasteur scellée, 3 à 5 colonies bien isolées.
- Décharger l'anse ou la pipette pasteur dans 5 ml d'eau physiologique stérile, bien homogénéisé la suspension bactérienne (la DO de suspension bactérienne entre 0.08 à 0.12 à 625 nm).

❖ L'ensemencement

- La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzen ;
- Immerge un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- En fait Frotter l'écouvillon sur les boites pétrie qui contient la gélose nutritif (Mueller Hinton) ;

- L'opération doit se faire deux fois en tournant la boîte de pétrie d'un angle de 60° à chaque fois. sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (**Benzeggouta, 2005**).
- même les étapes pour la levure avec le changement de gélose à Sabouraud.
- **L'application des disques**

Une fois les géloses Muller-Hinton sont ensemencées, les disques sont disposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec benzen, en effet de chaque dilution on prélève 10 µl et on la met dans les disques. (Dans chaque boîte quatre 4 disques ont été réalisées à différentes concentrations d'extraits). Pour le contrôle négatif (témoin) on met une 5^{ème} disque de l'antibiotique au centre de la boîte pétrie.

- **Finalement**

Les boîtes de Pétri sont laissées dans l'incubateur (37C° pour les bactéries et 25C° pour la levure).

- **Lecture des résultats**

L'apparition d'une zone claire autour des puits (à l'intérieur duquel aucune croissance bactérienne n'est observée) indique l'action antibactérienne de l'extrait de la plante vis-à-vis la souche bactérienne testée. Les diamètres de la zone claire sont mesurés à l'aide d'une règle graduée, et les résultats obtenus sont exprimés en millimètre. Les bactéries seront classées selon le diamètre d'inhibition dans l'une des catégories suivantes : résistance, sensibilité limitée, sensibilité moyenne et très sensible (**Beddiar, 2016**).

Tableau n°04 : Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre d'inhibition.

Diamètre du halo d'inhibition (x)	Degré de sensibilité des germes	Résultat
$X \leq 8$ mm	Résistance	-
$8 \text{ mm} < X < 14$ mm	Sensibilité limité	+
$14 \text{ mm} < X < 20$ mm	Sensibilité moyenne	++
$X \geq 20$ mm	Très sensible	+++



Chapitre II:
Résultats
Et discussions

I. Evaluation des techniques d'extraction

I.1. Extraction des polyphénols

I.1.1. Rendement des extraits

La méthode d'extraction par macération des différents parties de *Juniperus phoenicea* L. (feuilles, fruits) a été réalisée par les solvants suivants : Méthanol, acétate d'éthyle, n-butanol.

Cette méthode a permis d'obtenir des extraits de chaque partie : l'extrait brut (EBr.Fel et EBr.Fr), l'extrait d'acétate d'éthyle (EAcOEt.Fel et EAcOEt.Fr), l'extrait de butanol

(En-BuOH. Fel. En, En-BuOH.Fr).

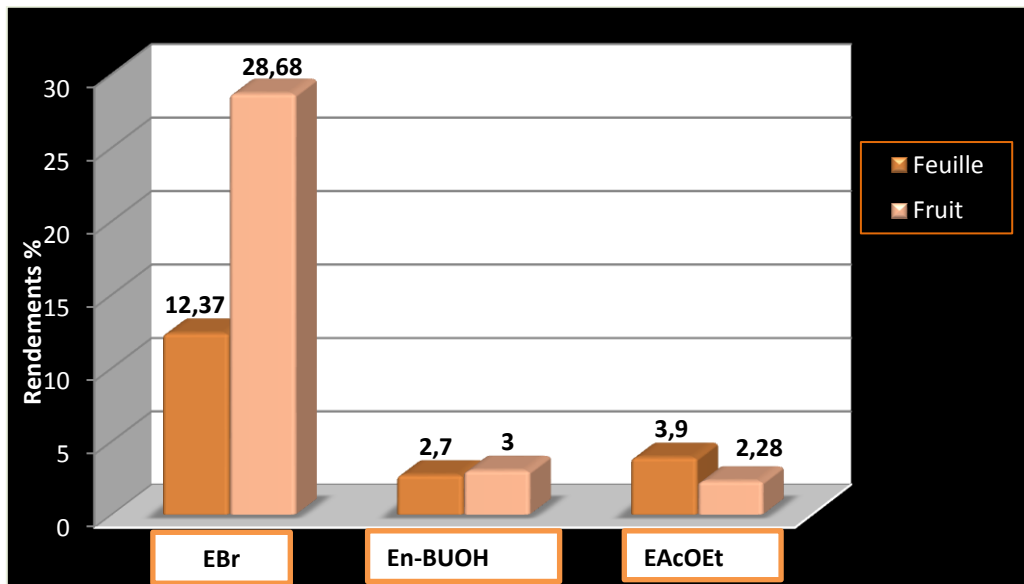


Figure n°32 : Rendement des différents extraits de l'espèce *Juniperus phoenicea* L.

Le rendement a été déterminé par rapport au poids du matériel végétal sec rendu en poudre, les résultats ont été exprimés en pourcentage. Les résultats obtenus montrent que les rendements des extraits sont variables dans les différentes parties de la plante *Juniperus phoenicea* L. le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait méthanolique brut de fruit (28.68%), suivi par l'extrait méthanolique brut de feuille (12.37%). La fraction acétate d'éthyle de la feuille présente un rendement important (3.9%) par rapport à la fraction du fruit (2.28%), et l'extrait butanolique de la feuille est faible (2.7%) par rapport au fruit (3%).

Les résultats obtenus montrent que les rendements en extraits des deux parties fruit et feuille de la plante *Juniperus phoenicea* L. sont plus ou moins variables et sont plus importants dans la partie fruit par rapport à la feuille. Le plus grand rendement déterminé est

raisonnablement celui de l'extrait brut. Ces rendements de l'extraction varient en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites et de la nature du solvant.

Les rendements de 10.51%, 2.5%, 1.1% correspondent respectivement l'extrait brut méthanolique, l'extrait butanolique et l'extrait d'acétate d'éthyle ont été obtenus à partir de la partie aérienne de la même espèce lors d'une étude entreprise par (Beddiar, 2016) sont des pourcentages nettement inférieur à celui obtenus dans notre cas (12.37%, 2.7%, 3.9%).

I.3.Extraction des coumarines de la plante *Juniperus phoenicea* L.

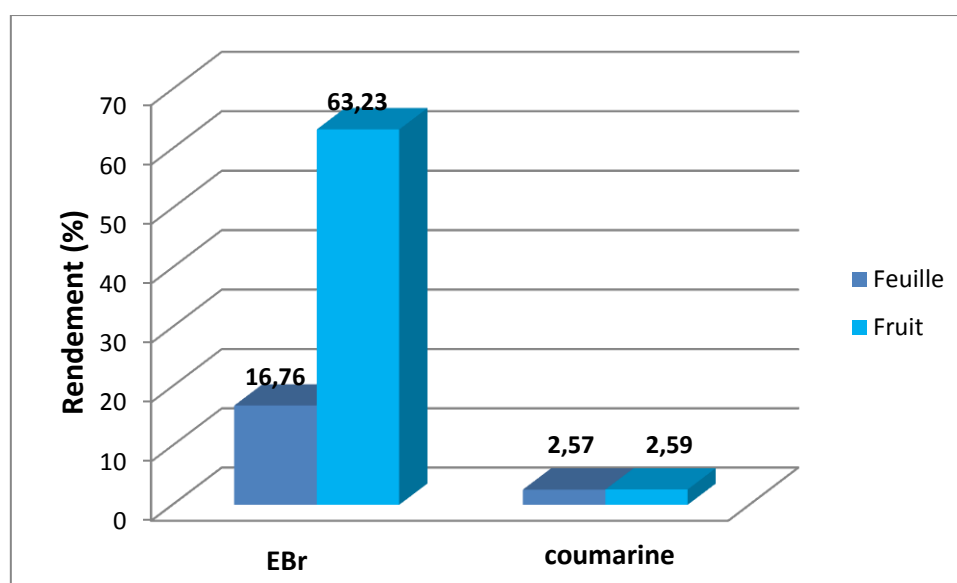


Figure n°33 : Rendement des coumarines de *Juniperus phoenicea* L.

Les résultats obtenus ont été exprimés en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de la plantes .Pour les deux parties feuille et fruit de plante *Juniperus phoenicea* L, le plus grand rendement de l'extrait brute par le fruit (63.23%) et la feuille (16.76%), le résultat faible obtenus par extrait de coumarine feuille et fruit respectivement de l'ordre (2.57%,2.59%).

I.2. Extraction des huiles essentielles de la plante *Juniperus phoenicea* L.

I.2.1. Rendements en huiles essentielles

La méthode d'extraction en huiles essentielles ce fait par hydrodistillation sur un appareil de Clevenger. Les résultats obtenus sont représenté dans la formule suivant :

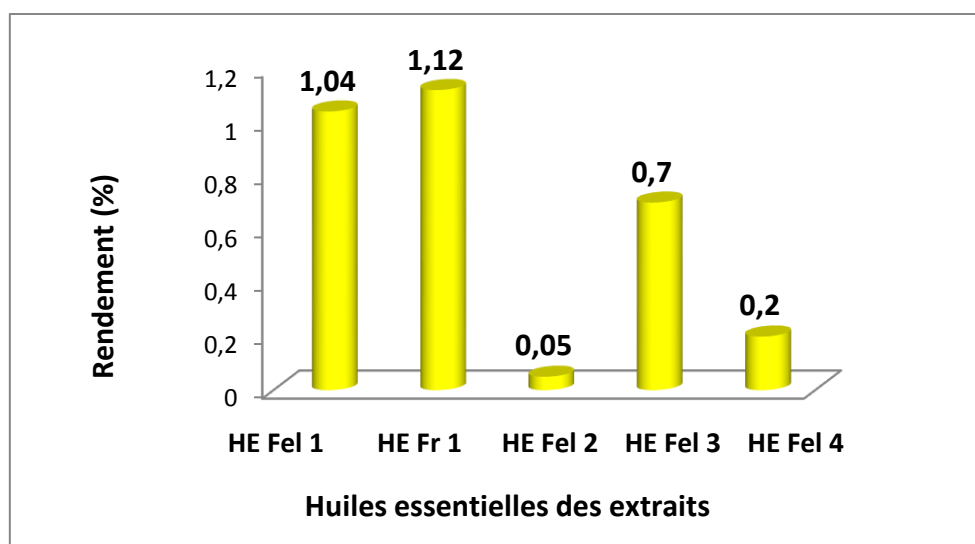


Figure n°34: Rendement des huiles essentielles de l'espèce *Juniperus phoenicea* L.

- ❖ **HE Fel1:** Huile essentielle extraite dans notre étude (feuille) ;
- ❖ **HE Fr1 :** Huile essentielle extraite dans notre étude (fruit) ;
- ❖ **HE Fel2 :** Huile essentielle extraite de feuilles dans Dalmatie (0.05%) ;
- ❖ **HE Fel3 :** Huile essentielle extraite de feuilles e dans Maroc (0.7%) ;
- ❖ **HE Fel4 :** Huile essentielle extraite de feuilles dans Italie (0.2%).

Nous avons observé le rendement d'extraction des huiles essentielles est important, il est égal à 1.04 %. Ce résultat est différent que le résultat trouvé par **Milos et Radonic (2000)** de l'ordre (0.05), **Barrero et al. (2006)** de l'ordre (0.7), **Valentini et al. (2003)** de l'ordre (0.2)

Les facteurs qui influencent sur le rendement et la qualité d'huile essentielle sont : la zone géographique de collecte, le climat, la génétique de la plante, l'organe utilisé, le stade de développement, le degré de fraîcheur, la période de séchage, la méthode ainsi que le matériel d'extraction utilisés.

II. Analyse quantitatives des extraits de la plante *Juniperus phoenicea* L.

II.1. Chromatographie sur couche mince CCM

Pour un essai d'analyse qualitative du contenu phénolique de nos différents extrait- (EAcOEt, EnBuOH, coumarine) à partir de deux parties (feuille et fruit) de la plante *Juniperus phoenicea* L. On a utilisé chromatographie sur couche mince (CCM) puisqu'elle est l'une des méthodes habituelles pour la séparation et la purification des différents constituants d'un extrait végétal et qui est plutôt simple à mettre en œuvre.

Les résultats représentés dans les figures, et les tableaux suivants :

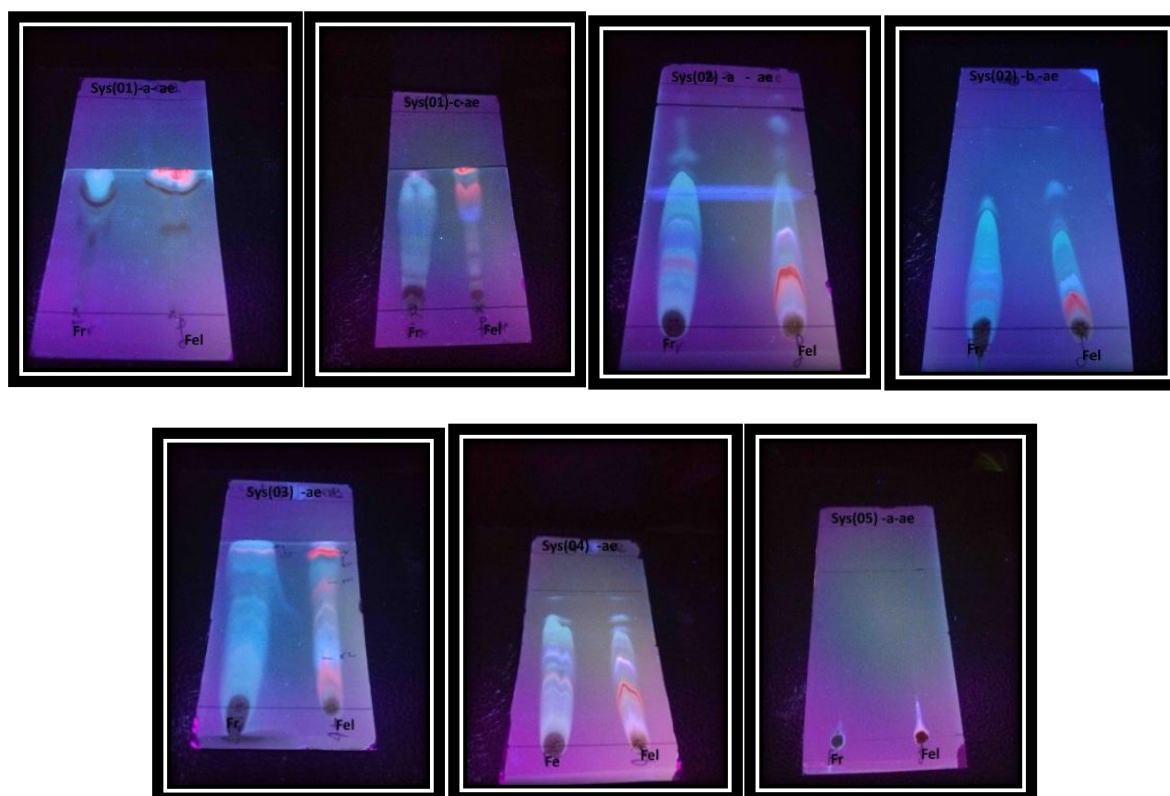


Figure n°35 : Révélation de plaque CCM de gel de silice de EAcOEt des feuilles et des fruits sous lampe UV365 nm (05 systèmes de solvants).

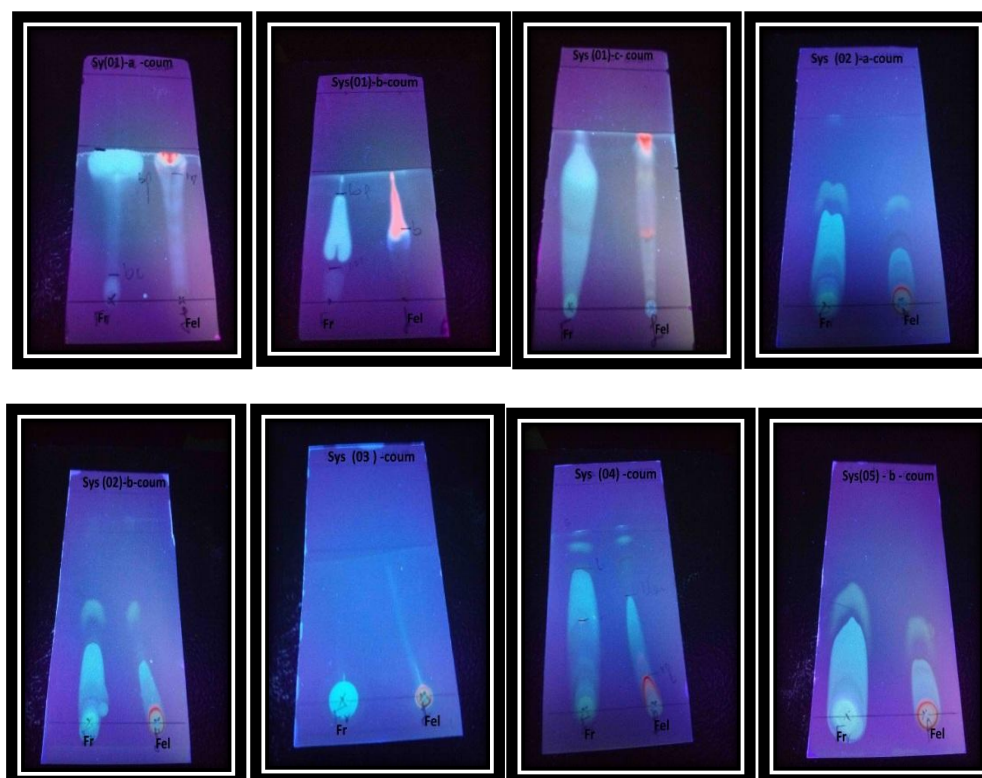


Figure n°36 : Révélation de plaque CCM de gel de silice des Coumarines des feuilles et des fruits sous lampe UV365 nm (05 systèmes de solvants).



Figure n°37 : Révélation de plaque CCM de gel de silice de EnBuOH des feuilles et des fruits sous lampe UV365 nm (05 systèmes de solvants).

Résultats et discussions

Une chromatographie analytique sur couche mince a été réalisée en utilisant 5 systèmes solvants. Sous lumière UV à 365 nm Les différentes taches de produits qui se présentent sur les chromatogrammes ont été délimitées. Les couleurs des spots et leurs Rf observés sous UV suite à une analyse par CCM, dans le résultat obtenu de la différente partie de la plante (feuille et fruit) de *juniperus phoenicea* L .on observe plusieurs taches avec différent coloration.

Tableau n°05: les Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les 5 systèmes par CCM dans l'extrait d'acétate d'éthyle de plante *juniperus phoenicea* L.

N° des systèmes de solvants	Extrait d'acétate d'éthyle					
	Feuilles			Fruits		
	N° des spots	Couleur des spots	RF	N° des spots	Couleur des spots	RF
01	01	Marron	0.55	01	Marron	0.72
	02	Marron	0.80	02	Bleu	0.97
	03	Rouge	0.97	03	Mauve	0.25
	04	Marron	0.36	04	Verts	0.38
	05	Rouge	0.59	05	Bleu	0.88
	06	Rose	0.94	06	Marron	0.11
	07	Marron	0.11	07	Mauve	0.25
	08	Mauve	0.36	08	Bleu	0.94
	09	Mauve	0.69			
	10	Rouge claire	0.88			
02	01	Rouge bréque	0.21	01	Marron	0.24
	02	Mauve	0.35	02	Mauve	0.38
	03	Verts	0.48	03	Bleu	0.64
	04	Bleu	0.94	04	Marron	0.16
	05	Rouge bréque	0.16	05	Mauve	0.22
	06	Bleu	0.41	06	Bleu	0.51
03	01	Rouge claire	0.24	01	Mauve	0.67
	02	Bleu	0.36	02	Bleu	0.93
	03	Rouge claire	0.68			
	04	Rouge foncé	0.90			
04	01	Rouge bréque	0.33	01	Mauve	0.43
	02	Mauve	0.5	02	Mauve	0.58
	03	Bleu	0.68	03	Bleu	0.8
	04	Mauve	0.73			
05	01	Bleu	0.20	01	Bleu	0.08

Dans le système de solvants N°01 : chloroforme /Méthanol (9/1), le nombre des spots est semblable dans les feuilles et des fruits, avec variabilité des Rf et différents couleur.

Dans le système de solvants N°02 : Hexane /chloroforme/ Méthanol (7/4/0.2), le nombre des spots dans la fraction d'acétate d'éthyle de *juniperus phoenicea* L. sont égales dans les fruits et dans les feuilles, avec variabilité des Rf et de différents couleurs.

Résultats et discussions

Les feuilles donnent une meilleure séparation des composés phénoliques. Dans le système de solvants N°03 : dichlorométhane / Méthanol (4/0.5) ou le nombre des spots est supérieur (5 spots) que les fruits (2 spots). et dans le système de solvants N°04 : dichlorométhane/Heptane (4/1) ou le nombre des spots est (4 spots), que les fruits (3 spots), avec variabilité des Rf.

Dans le système de solvants N°05 : Heptane /Acétate d'éthyle (1/3), le nombre des spots est égale dans les feuilles (1 spots) et les fruits (1 spots), avec variabilité des Rf.

Dans le système n-hexane/ acétate d'éthyle/ acide acétique (31:14:5) (v/v/v) des travaux antérieurs par **Mazari, K.** présentent 7 spots pour la fraction de AcOEt de la partie feuille de *J.phoenicea* et le même résultat pour *J.oxycedrus*, *C.sempervirens* ces résultats sont différents que notre travail 10 spots dans le système n°1.

Tableau n°06 : les Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les trois systèmes par CCM dans l'extrait n-butanol de la plante *juniperus phoenicea* L.

N°des systèmes de solvants	Extrait n-Butanol					
	Feuilles			Fruits		
	N° des spots	Couleur	RF	N° des spots	couleur	RF
01	01	Marron	0.58	01	Bleu clair	0.58
	02	Mauve	0.76	-	-	-
	03	Marron	0.83	-	-	-
	04	Bleu	0.60	-	-	-
	05	Marron	0.94	-	-	-
02	01	Mauve	0.24	01	bleu	0.15
03	01	Marron	0.73	01	marron	0.35

Dans le système de solvant N°01 : chloroforme /Méthanol (3/1), les feuilles donnent une meilleure séparation des composés phénoliques, où le nombre des spots est supérieur (5 spots) ; par contre dans les fruits (1 spots), avec variabilité des Rf.

Dans le système de solvant N°02 : dichlorométhane /méthanol (4/0.5),et dans le système de solvants N°03 :dichlorométhane / Heptane (4/1), le nombre des spots dans la fraction de n-butanol de *juniperus phoenicea* L. est égale dans les fruits et dans les feuilles, avec variabilité des Rf.

Dans le système n-hexane/ acétate d'éthyle/ acide acétique (31:14:5) (v/v/v) des travaux antérieurs par **Mazari, K.** présentent 2 spots pour la fraction de n-Butanol de la partie feuille de *J.phoenicea* ,6 spots pour *J. oxycedrus*, et 1 spot pour *C.sempervirens*, ces résultats sont différents que notre travail qui donne 5 spots dans le système n°1.

Tableau n°07 : Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les quatre systèmes par CCM dans les coumarines de plante *juniperus phoenicea* L.

N° des systèmes de solvants	Extrait des coumarines					
	Feuilles			Fruits		
	N° des spots	Couleur	RF cm	N° des spots	couleur	RF cm
01	01	Vert	0.62	01	Mauve	0.66
	02	Bleu	0.88	02	Rouge bréque	0.98
	03	Bleu	0.47	03	Mauve	0.23
	04	Mauve	0.78	04	Bleu foncée	0.76
	-	-	-	05	Bleu clair	0.14
	-	-	-	06	Bleu foncée	0.97
02	01	Rouge	0.08	01	Mauve	0.13
	02	Bleu	0.25	02	Bleu	0.43
	03	Mauve	0.43	03	Bleu clair	0.40
	04	Bleu	0.31	04	mauve	0.12
03	01	Rouge bréque	0.16	01	Mauve	0.43
	02	Bleu	0.58	02	bleu	0.75
04	01	Bleu	0.3	01	Mauve	0.2
	02	Rouge	0.08	02	Bleu foncée	0.58
	-	-	-	03	Bleu clair	0.78

Dans le système de solvants N°01 : chloroforme / Méthanol (9/1), les fruits sont riches en composée phénolique (6 spots), que les feuilles (4 spots), avec variabilités des Rf et différents couleurs.

Dans le système de solvants N° 02 : Hexane/chloroforme/Méthanol (7/4/0.2), le nombre des spots est semblable dans les feuilles et dans les fruits, avec variabilité des Rf et de différents couleurs.

Dans le système de solvants N°03 : Dichlorométhane /Heptane (4/1), le nombre des spots dans la faction des coumarines de *juniperus phoenicea* L. sont égales dans les feuilles et dans les fruits, avec variabilité des Rf et différents couleurs. Les fruits donnent une meilleure séparation des composées phénoliques dans le système de solvants N°04 : Heptane/Acétate d'éthyle (1/3), ou le nombre des spots est supérieur (4 spots), que les feuilles (2 spots).

III. Résultats activité biologiques de la plante *Juniperus phoenicea* L.

III.1. Activité antioxydant

✓ Détermination de l'activité anti-radicalaire des extraits de *Juniperus phoenicea* L. par la méthode DPPH

L'activité antioxydants des différents extraits de la *Juniperus phoenicea* L. a été testée par la méthode du radical libre DPPH à l'aide d'un spectrophotomètre.

Les résultats obtenus sont représentés sous forme de droites dont les équations sont les suivants :

- **Extrait de coumarine :**

Fruit : $y = 0.418x + 9.59$ $R^2 = 0.838$

- **Extrait butanolique :**

Fruit : $y = 0.282x + 49.25$ $R^2 = 0.980$

Feuille : $y = 0.225x + 49.76$ $R^2 = 0.887$

- **Extrait d'acétate d'éthyle :**

Fruit : $y = 0.251x + 10.07$ $R^2 = 0.755$

Feuille : $y = 0.623x + 9.605$ $R^2 = 0.914$

- **Huile essentielle :**

Fruit : $y = 0.091x + 9.926$ $R^2 = 0.996$

Feuille : $y = 0.091x + 9.926$ $R^2 = 0.996$

- **BHT :** $y = 0.557x + 11.45$ $R^2 = 0.998$

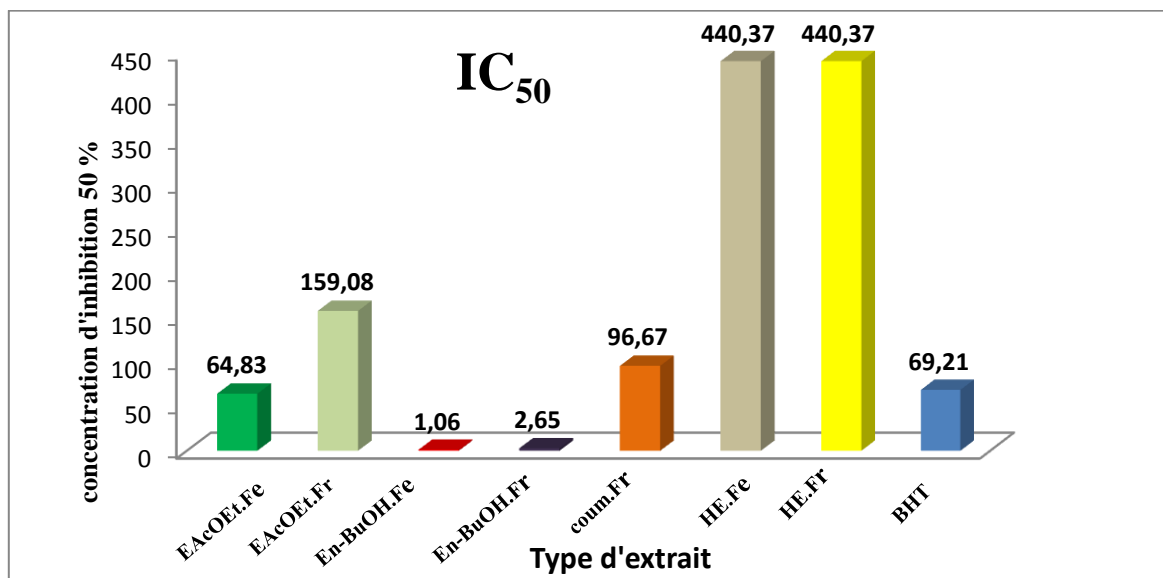


Figure n°38 : Représentation de l'Inhibition du radical DPPH par l'estimation des valeurs d'IC₅₀ des différents extraits de *Juniperus phoenicea* L.

Les résultats obtenus de IC_{50} de notre extraits, montre que l'extrait *n*-butanol des feuilles et des fruits de *Juniperus phoenicea* L. présente une meilleure activité antioxydante d' $IC_{50} = 1.06 \mu\text{g/ml}$ et $IC_{50} = 2.65 \mu\text{g/ml}$, respectivement par rapport aux autres extraits et les huiles possèdent une faible activité antioxydante.

D'après les résultats de **Telaidji, A.N. (2018)**. Le BHT possède des propriétés antioxydantes supérieures ($22.32 \mu\text{g/ml}$) que le résultat de notre travail ($69.21 \mu\text{g/ml}$).

D'après **Loizzo et al. (2007)** l' $IC_{50} = 7.42 \mu\text{g/ml}$ d'huile essentielle possède une activité antioxydante plus importante que le résultat de notre travail ($IC_{50} = 440.37$).

III.2. Activité antibactérienne de la plante *Juniperus phoenicea* L.

Dans notre étude, nous avons évalué l'action des extraits de fruit et feuille de la plante *Juniperus phoenicea* L. avec cinq souches bactériennes et une levure par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide MH.

La méthode d'antibiogramme standard ou diffusion sont les plus utilisées en bactériologie médicale, appelée encore méthode des disques. Cette technique a permis de déterminer l'action des différents extraits de plante dissouts dans le DMSO sur différents souches par la présence ou l'absence d'une zone d'inhibition autour du disque de papier.

Les résultats obtenus sont présentés dans les figures et les tableaux suivants :

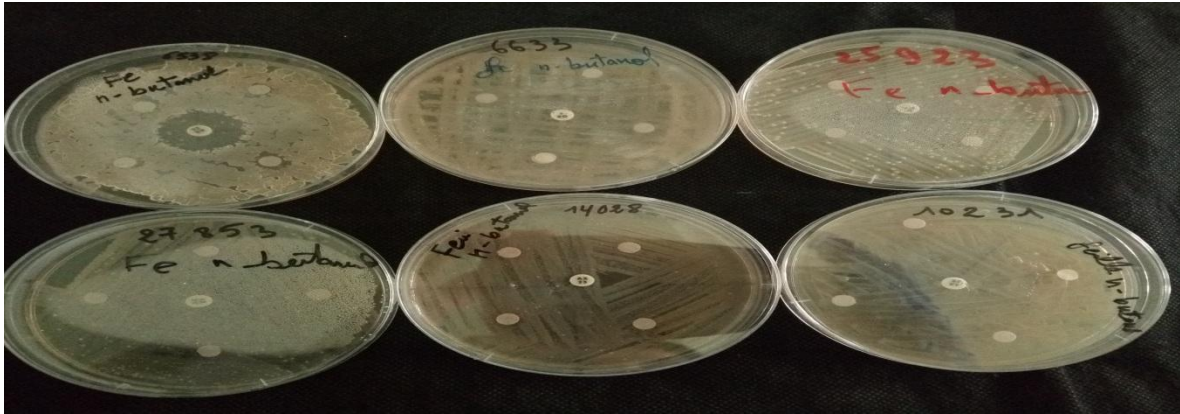


Figure n°39: L'effet de l'extrait butanolique de feuille de plante *juniperus phoenicea* L. sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits.



Figure n°40: L'effet de l'extrait butanolique de fruit de plante *juniperus phoenicea* L. sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits.

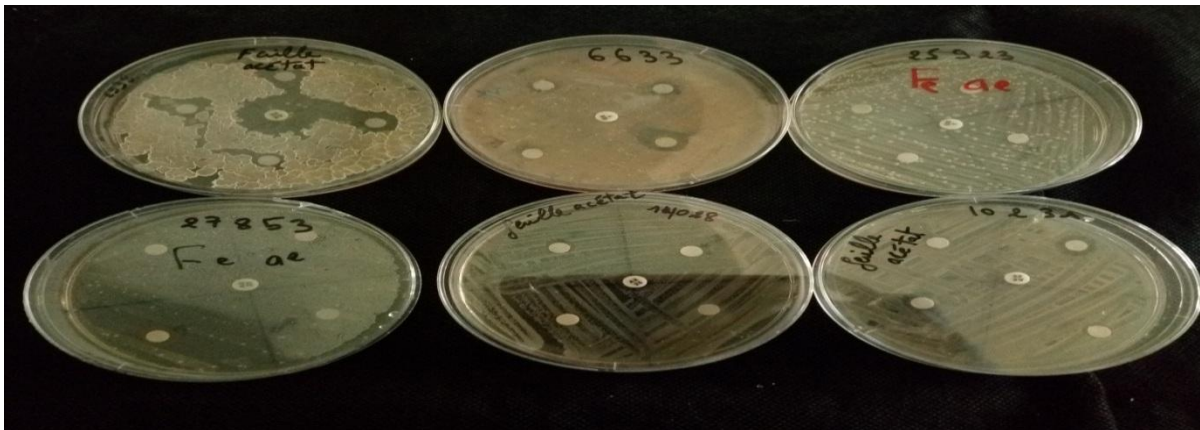


Figure n°41: L'effet de l'extrait d'acétate d'éthyle de feuille de plante *juniperus phoenicea* L. sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits.

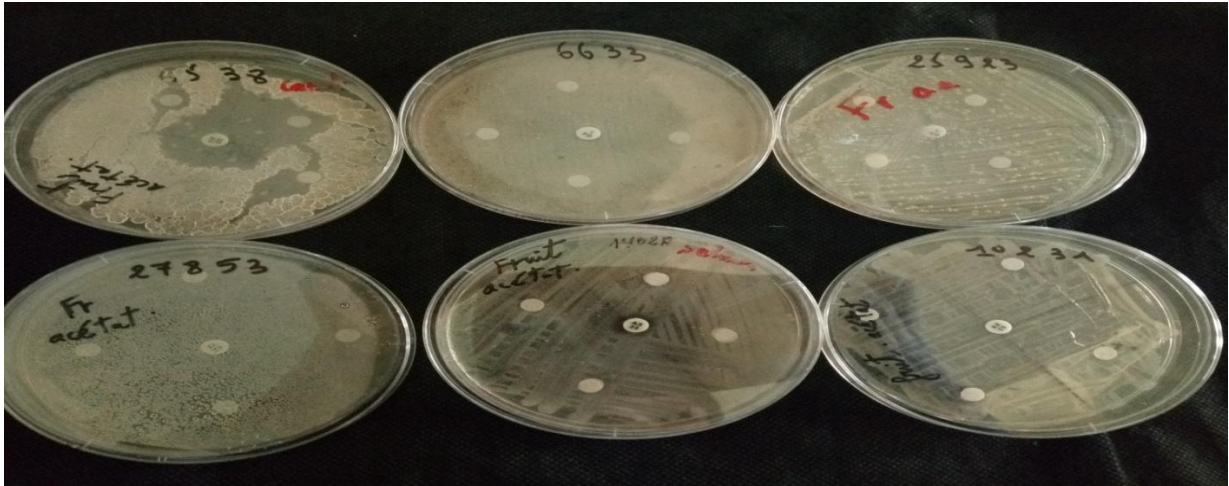


Figure n°42: L'effet de l'extrait d'acétate d'éthyle de fruit de plante *juniperus phoenicea* L. sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits.

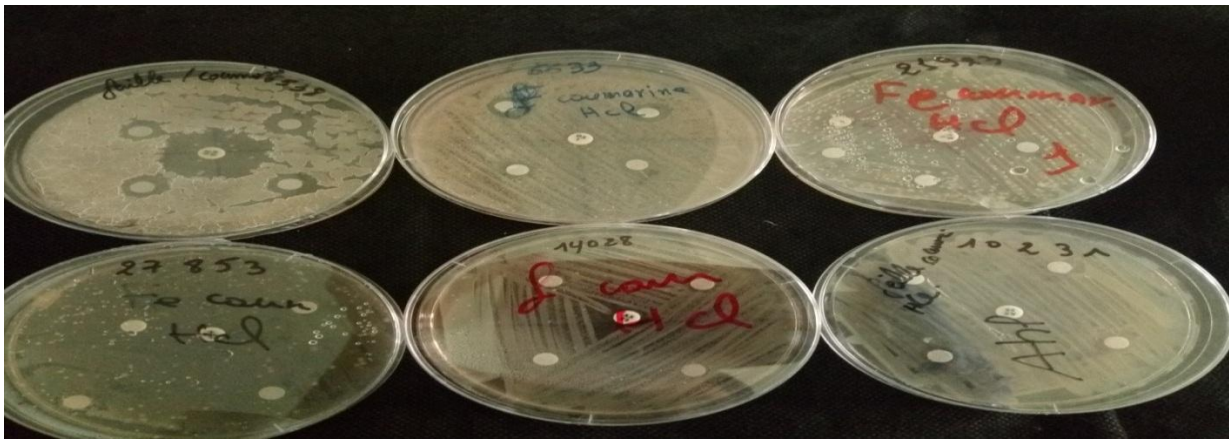


Figure n°43: L'effet de coumarine Hcl de feuille de plante *juniperus phoenicea* L. sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits.



Figure n°44: L'effet de coumarine Hcl de fruit de plante *juniperus phoenicea* L. sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits.

Résultats et discussions

Tableau n°08 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *juniperus phoenicea* L. sur la croissance de *Condida albican*.

Souche bactérienne	Partie	Extrait	Concentration				Sensibilité
			16 mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	
Diamètre de zone d'inhibition en mm							
<i>Condida albican</i>	Feuille	EAcOEt	10	6	6	1	+
		EnBuOH	0	0	0	0	-
		Ecoum	8	7	7	7	+
	Fruit	EAcOEt	6	6	6	6	-
		EnBuOH	0	0	0	0	-
		Ecoum	0	0	0	0	-

Les résultats d'activité antimicrobienne des différentes extraites sont présentées dans le tableau au-dessous, dans le feuille la fraction acétate d'éthyle et l'extrait de coumarine sont sensible contre *Condida albican* par rapport l'extrait butanolique de fruit est non sensible et aussi bien l'extrait de *coumarine* de fruit et extrait butanolique de feuille sont non sensible, l'extrait acétate d'éthyle de fruit est non sensible contre la bactérie avec diamètre 6 mm.

Tableau n°09 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *juniperus phoenicea* L. sur la croissance de *Bacillus subtilus*.

Souche bactérienne	Partie	Extrait	Concentration				Sensibilité
			16 mg/ml	8 mg/ml	4mg/ml	2 mg/ml	
Diamètre de zone d'inhibition en mm							
<i>Bacillus subtilus</i>	Feuille	EAOEt	15	10	0	0	++
		EnBuOH	0	0	0	0	-
		coumarine	11	10	9	7	+
	Fruit	EAcOEt	0	0	0	0	-
		EnBuOH	14	9	6	6	+
		coumarine	10	9	8	7	+

Dans le tableau au-dessous présente le pouvoir antibactérienne de la souche *B. Subtillus* sur les différent extraits on observe plusieurs effets différent .Cette bactérie possède grand effets dans le cas fruit est marque la fraction n-butanol sensible avec le diamètre de zone d'inhibition (9-14mm) aussi l'extrait coumarine est sensible contre le bactérie et l'extrait acétate d'éthyle non sensible, par rapport l'extrait coumarine de feuille est sensible ,la fraction

Résultats et discussions

n-butanol de feuille est non sensible alors que diffèrent la fraction de feuille .puis l'extrait acétate d'éthyle de feuille c'est très sensible avec le diamètre (15mm).

le résultat de notre travail de la partie feuille est plus important (15mm) que les résultat trouvé par **Derwich et al. (2010)** de l'ordre 10 mm en Maroc.

Tableau n°10 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *juniperus phoenicea* L. sur la croissance d' *Staphylococcus aureus*

Souche bactérienne	Partie	Extrait	Concentration				Sensibilité
			16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	
Diamètre de zone d'inhibition en mm							
<i>Staphylococcus aureus</i>	Feuille	EAcOEt	15	10	9	7	++
		EnBuOH	9	8	7	4	+
		coumarine	11	11	9	12	+
	Fruit	EAcOEt	14	10	6	2	+
		EnBuOH	0	0	0	0	-
		coumarine	11	10	10	6	+

Les résultats présente dans le tableau montre que l'activité antibactérienne est plus élevé dans l'extrait d'acétate d'éthyle de feuille (15 mm) par rapport d'extrait de coumarine (Ecoum) de feuille et de fruit, extrait d'acétate d'éthyle de fruit, et le seul extrait non sensible est l'extrait butanolique de fruit (EnBuOH).

Le résultat de notre travail de la partie feuille est plus faible (15mm) que les résultats trouvé par **Mazari et al. (2010)** de l'ordre 10.3mm en Algérie.

Tableau n°11 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *juniperus phoenicea* L. sur la croissance de *P.aeruginosa*

Souche bactérienne	Partie	Extrait	Concentration				Sensibilité
			16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	
Diamètre de zone d'inhibition en mm							
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Feuille	EAcOEt	9	4	3	1	+
		EnBuOH	0	0	0	0	-
		coumarine	0	0	0	0	-
	Fruit	EAcOEt	10	8	0	0	+
		EnBuOH	0	0	0	0	-
		coumarine	0	0	0	0	-

Résultats et discussions

Les résultats obtenus dans le tableau montre que l'activité antibactérienne est remarqué dans l'extrait d'acétate d'éthyle de feuille et de fruit par rapport les autres extraits non sensible de cette souche EnBuOH (feuille et fruit), et Ecoum (feuille et fruit).

Le résultat de notre travail de la partie feuille est faible (9mm) que le résultat trouvé par **Derwich et al. (2010)** de l'ordre 10 mm en Maroc.

Tableau n°12: Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *juniperus phoenicea* L. sur la croissance de *Salmonella enterica*.

Souche bactérienne	Partie	Extrait	Concentration				Sensibilité
			16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	
Diamètre de zone d'inhibition en mm							
<i>Salmonella enterica</i>	Feuille	EAcOEt	6	5	0	0	-
		EnBuOH	0	0	0	0	-
		Ecoum	0	0	0	0	-
	Fruit	EAcOEt	0	0	0	0	-
		EnBuOH	8	0	0	0	-
		Ecoum	0	0	0	0	-

Les résultats obtenus dans le tableau au-dessous montrent que tous les extraits EnBuOH (feuille et fruit), et Ecoum (feuille et fruit) ; EAcOEt (feuille et fruit) sont non sensibles de cette souche.

Tableau n°13 : les antibiotiques utilisés dans l'évaluation antibactérienne de la plante *Juniperus phoenicea* L.

Souche bactérienne	partie	Extrait	Les antibiotiques		Sensibilité
			Ax 25	Ox 25	
Diamètre de zone d'inhibition en mm					
<i>Salmonella enterica</i>	Feuille	EAcOEt	9	12.5	+
		EnBuOH	0	12.3	+
		Ecoum	9	12.2	+

Les résultats obtenus dans le tableau montrent que l'antibiotique Ax 25 est sensible de cette souche dans partie feuille dans les EAcOEt, Ecoum de même diamètre 9mm.

Par contre, l'antibiotique Ox 25 donne des résultats plus importants dans les extraits EAcOEt, EnBuOH, Ecoum de diamètre 12.5, 12.3, 12.2mm respectivement.



Conclusion

Conclusion :

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Leur utilisation est en progression constante, étant donné la toxicité et les effets secondaires indésirables des molécules de synthèse.

Dans le présent travail, nous avons déterminé le rendement des huiles essentielles et différents extraits, activité antioxydante et les propriétés antibactériennes de la partie feuilles et fruits de l'espèce *Juniperus phoenicea* L. récoltée de la wilaya de M'sila.

La détermination du rendement en extraits a montré que les rendements d'extractions varient en fonction du solvant utilisé entre les fruits et les feuilles de notre plante. Les bons résultats sont remarqués chez l'extrait méthanolique brut de fruit avec un pourcentage de 28,68% et de feuille avec un pourcentage de 12,37%. Ensuite les rendements les plus faibles sont l'acétate d'éthyle et n-butanol de feuilles et de fruits, avec un pourcentage de 3,9 et 2,28% pour l'acétate d'éthyle et 2,7 et 3% pour l'extrait de n-butanol respectivement. Tandis que le rendement d'huile essentielle est important par rapport aux autres pays avec 1,04 et 1,12% de feuille et de fruit respectivement.

L'analyse de chromatographie CCM indique la présence des différents composés phénoliques dans les différents extraits de notre plante *J.phoenicea* avec différents nombres de spots et des couleurs avec des 5 systèmes solvants. Le système N°1 est le système qui donne une meilleure séparation des molécules avec 10 spots.

Les résultats montrent que les extraits butanoliques possèdent une activité antioxydante bien intéressante dans la partie fruit et feuille avec une $IC_{50}=1,06$ et $IC_{50}=2,65$ respectivement par rapport aux extraits des huiles essentielles possédant une faible activité antioxydante.

L'activité antibactérienne des extraits est mise en évidence par la méthode de diffusion ou aromatochrome en présence de 4 espèces bactériennes pathogènes : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella enterica*, et une levure *Candida albicans*. Les souches et la levure sont résistantes aux différents extraits testés qui est peut-être due à plusieurs facteurs tels que la méthode d'extraction.

Références:

- Abdelli, W. (2017).** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. thèse de doctorat, p 24-25.
- Abdelouahid, D., Bekhechi, C. (2010).** Les huiles Essentielles. Ed. office des publication universitaires .I.S.B.N :978.9961.0.1394.6 , p 17-18.
- Achak , N. (2006).** Contribution à la valorisation des substances naturelles : Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région Tensift Al Haouz-Marrakech. Thèse de doctorat, Univ. de Marrakech, Marco, p304
- Adams, R.P., Barrero, A.F., Lara, A. (1996).** Comparisons of the leaf essential oils of *Juniperus phoenicea*, *J. phoenicea subsp. Eu-mediterranea* Lebr. et Thiv. and *J. phoenicea var. turbinata* (Guss) Parl. *J. Essent. Oil Res . 8: 367-371.*
- AFNOR (Association Française de Normalisation). (1986).** Recueil des normes françaises “huiles essentielles”. Paris, p 57.
- Akkol, E.K., Güvenç, A., Yesilada, E. (2009).** A comparative study on the antinociceptive and anti-inflammatory activities of five *Juniperus* taxa. *Journal of Ethnopharmacology*, 125(2): 330-336.
- Barrero, A. F., Herrador, M. M., Arteaga, P., Quflez del Moral, J. F., Sánchez Fernández, E. (2006).** Chemical Composition of the Essential Oil from the Leaves of *Juniperus phoenicea* L. from North Africa. *J. of Essent. Oil Res.*, 18,168-169.
- Beddiar, H. (2016).** Etude de *juniperus phoenicea* L de la région de tébessa: composition chimique, Activités antioxydantes, et Activités microbiologiques. Mémoire de Master, Université Larbi Tébessi-Tébessa, p33-53.
- Bellkacem, Z. (2015).** Contribution à l'étude du cortège floristique de l'espèce *Juniperus oxycedrus* (Cupressacées). dans la région de Tlemcen, Université Abou Bekr Belkaid, p 6,7.
- Belkessam, A. (2009).** L'effet des facteurs climatiques de métabolisme secondaires dans une plante médicinale *Ruta montana* L. Thèse de Magistère. Université Oum ElBouaghi.
- Belbache, H. (2009).** Investigation phytochimique de l'extrait chloroforme de *centaurea parviflora* desf. Thèse de doctorat, Univ. Mentouri Constantine, p 40.
- Benzeggouta, N. (2005).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme Aliments. Thèse de magister en pharmacochimie, Université Mentouri de Constantine, p14-18.
- Bernard, (2019).** Genévrier de Phénicie: plantation, entretien, prix, culture.

- Berreghioua, A. (2016).** Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux Brassicaceae médicinales du sud Algérien : *Moricandia arvensis* et *Zilla macroptera*. Thèse de doctorat en Chimie Organique, Université de Tlemcen, p37-38-208.
- Blot, N., Bernard, G.J. (2012).** Atlas illustré des Plantes médicinales et curatives. De Borée, Asie, 19p.
- Boudy, P. (1950).** Guide du forestier en Afrique du nord. Tome IV, Paris, p 274.
- Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales ,4 édition, TEC et DOC. Paris.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales, 3^{ème} édition, Tec et Doc. Paris, p311-666.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie des Plantes médicinales, 3^{ème} Ed, THC et DOC, 1120 p.
- Burits, M., Bucar, F. (2000).** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother. Res* : 14, 323-328.
- Caudullo, G., de Rigo, D. (2016).** *Juniperus phoenicea* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: San-Miguel-Ayanz. J., de Rigo, D., Caudullo, G., Houston Durrant, T., Mauri, A. (Eds), *European Atlas of Forest Tree Species. Publ. Off. EU, Luxembourg*.
- Céline, C. (2004).** Les secrets de santé des antioxydants. Alpen Editions s. a. m., p15.
- CIEA (Centre Internationale pour l'Eelvage en Afrique), (1989).** Bullen du Cipea, Addisaba, Ethiopie, p 4.
- Derwich, E., Benziane, Z., Taouil, R., Senhadji, O., Touzani, M. A. (2010).** Comparative Study of The Chemical Composition of The Leaves Volatil Oil of *Juniperus phoenicea* L and *Juniperus oxycedrus*, *Middl-East J. Res*,5(5): 416-424.
- Donald, M.W, Douglas, A. Skoog, (2015).** Chimie analytique. De Boeck Supérieur, p522.
- Elmeskini, M. K. (2011).** Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de Doctorat Université Mohammed V – Rabat, P4.
- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, p108.
- Federico, T., Victoire, M. (2013).** Huiles essentielles. L'encyclopédie .Ed. judena, p25.
- Feryel, D. (2015).** Synthèse et caractérisation des dérivés quinoniques. Application du tannage et test biologiques. Thèse de Doctorat. Université M'hamed Bougara, Boumerdés.p8.
- Gazengel, J.M., Orecchioni. A.M. (2013).** La préparateur pharmacie. ISBN 978-2-7430-

1371- 4, 2^{ème} Ed. Lavoisier, paris, p1255.

Gravot, A. (2009). Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux, Rennes : Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV., p15.

Guy, F. (2002). arbre et plante médicinales du jardin ; Ed. Fernand Lanore, paris. p9.

Hadbaoui, Z. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des fractions lipidiques, proteiques et phenoliques de sorgho et de mil locaux. These de Doctorat, Universite de Kasdi Merbah OuarglaAlgérie.

Hammoudi, R. (2015). Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien. Thèse de Doctorat en biologie Université Kasdi Merbah-Ouargla, p 57.

Harkati, B. (2011). Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille astéracée : *Scorzonera Undulata*. Université Mentouri Constantine, Thèse de doctorat en chimie organique P29, 30 ,31,32,36.

Hopkins, W. G. (2003). Physiologie végétale. De Boeck Supérieur. Paris. p267.

<https://books.google.dz/books?id=hRrTeGIL4uYC&pg=PA73&dq=rôle+des+radicaux+libres&hl=ar&sa=X&ved=0ahUKEwi5lrDGv63iAhUrA2MBHUzpbTsQ6AEINDAD#v=onepage&q=rôle%20des%20radicaux%20libres&f=false>

Jarry, C. (1993). Deux genevriers toxiques *juniperus sabina* L. et *juniperu phoenicea* L. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Limoges,p43.

Judd, W., S.,Campbell, C. S., kellogg, E. A., Stevens, P. F. (1999). Botanique systématique une perspective phylogénétique, De boeck université, paris, p87.

Julien, F. (2002). Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles : *Gnidia involucrata* Steud. Ex A. Riche. Thèse de doctorat, Université de Lausanne, p178-180.

Labiod, R. (2016). Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse de doctorat en biochimie appliquée, Université d'Annaba, p29-30.

Lagnika, L . (2005). Etude Phytochimique et Activité Antipaludique de Substances Naturelles issues de Plantes Béninoises. Thèse de Doctorat Université Louis Pasteur de Strasbourg, Université d'Abomey-calavi, Bénin.

Landrault, N., Larronde, F. and Delaunay J. C. (2002). Levels of stilbene oligomers and astilbin in French varietal wines and in grapes during noble rot development. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 50(7): 2046-2052.

- Loizzo, M. R., Rosa T., Filomena, C. A. M., Saab G. A., Statti, F. M. (2007).** Comparative chemical composition, antioxidant and hypoglycaemic activities of *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* L. berry and wood oils from Lebanon. *Food Chemistry* 105: 572–578.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A. et Jay, A. C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. p4.
- Mazari, K., Bendinerad, N., Benkhechi, C., Fernandez, X. (2010).** Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil Isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L and *Cupressus sempervirens*, *Medicinal Plants Research*, 4(10): 959-964.
- Mazur, K., Boratynska, K., Marcysiak, K., Didukh, A., Romo, P., Kosinski, A. (2010).** *Dendrobiology*. p 21-63.
- Milos, M., Radonic, A. (2000).** Gas chromatography mass spectral analysis of free and glycosidically bound volatile compounds from *Juniperus oxycedrus* L. growing wild in Croatia. *Food Chemistry*, 68, 333-338.
- Molyneux, P. (2004).** The use of the stable radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, vol: 26(2), p211-219.
- Nicolas, S., Paul, André, C., Denis, T., Frédéric, M. (2013).** Interactions-plantes, Ed. Quae, France, p218.
- Ouelbani, R., Bensari, S., Mouas, T. N., Douadi, K. (2016).** Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria). *Journal of Ethnopharmacology*.
- Pierre, S., Charles, M. (1997).** L'enfant et le sport. De Boeck Supérieur, p141.
- Quezel, P., Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 2, Ed. C. N. R. S., Paris, France.
- Quezel, P., Gast, M. (1998).** Genévrier. encyclopedie berbère, Éditeur Peeters Publishers ISBN: 2-7449-0028-1- ISSN: 2262-7197. <http://encyclopedieberber.revues.org/1863>
- Sabrina, K. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal. Thèse de doctorat, Muséum national d'histoire naturelle, Ouganda, p20.
- Saffidine, K. (2015).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus* L. et de *Plantago major* L. Thèse de Doctorat, Univ. Ferhat Abbas Sétif, p 8.
- Thomas, D. (2016).** Les antioxydants de nos jours : définition et applications. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Limoges, p29-174.
- Torres, R., Faini, F., Modak, B., Urbina, F., Labbe, C., Guerrero, J. (2006).** Antioxydant

activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius*.
Phytochemistry. 67: 984–987.

Telaidji, A. N. (2018). Caractérisation chimique et activités biologiques (in vitro et in vivo) de l'extrait méthanolique de *juniperus phoenicea*. *L. mémoire de master*, Univ. des Frères Mentouri, Constantine, p 6.

Valentini, G., Bellomaria, B., Maggi, F., Manzi, A. (2003). The Leaf and Female Cone Oils of *Juniperus oxycedrus* L. ssp. *oxycedrus* and *J. oxycedrus* ssp. *macrocarpa* (Sibth. et Sm.) Bali. From Abruzzo. *J. Essent. Oil Res.*, 15, 418-421.

WWW.aquaportail.com.

Wu, C., Huang, M., Lin, Y., Ju, H., Ching, H. (2007). Antioxidant properties of Cortex fraxini and its simple coumarins. *Food Chem*, 104: 1464–1471.

Zereg, S. (2011). Diagnostic écologique, mise en valeur et conservation des Junipéraies de *Juniperus phoenicea* de la région de Djerma (nord_est du parc national de Belezma), Thèse de doctorat en pharmacie, Batna, p 5.6.

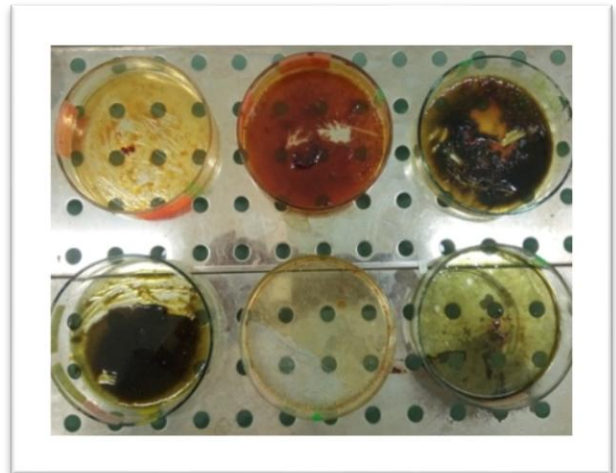
Zekri, N. (2017). Étude phytochimique et Activités Biologiques des Huiles Essentielles et des Extraits des *M. pulegium* L. *M. suaveolens* (Ehrh.) et *M. spicata* (L.) du Moyen-Atlas Marocain. Thèse de Doctorat en chimie de l'environnement, Université Mohammed v Faculté des sciences Robot, p9.



Annexe



Annexe 01 : Test antioxydant de l'espèce *junperuse phoencea* L.



Annexe 02 : Différents extraits de la Plante *junperuse phoencea* L.



Annexe 03 : Extrait méthanolique des feuilles et fruits

Résumé

Juniperus phoenicea L. est une plante médicinale, appartenant à la famille des Cupressacées. L'extraction des huiles essentielles nous a révélé que le rendement en huile essentielle de fruit (1.12%) est plus élevé par rapport à ceux de feuille (1,04). Et le rendement le plus grand dans la plante est l'extrait brut 28.68% de partie fruit. Pour les coumarines les rendements de fruit et feuilles presque le même dont (1.59% et 1.57%) respectivement. Le screening phytochimique a mis en évidence la présence des composés phénoliques, avec des meilleurs rendements (3.9 et 2.28%) dans la fraction EAcOEt des deux parties feuilles et fruits respectivement. L'analyse par la chromatographie sur couche mince nous a permis de révéler la présence des molécules des composés phénoliques et le meilleur système (CHCl₃/MeOH), pour séparation. L'activité antioxydant a été estimée à l'aide de la DPPH. Les résultats montrent que les extraits butanolique possèdent une activité antioxydant bien intéressant dans la partie fruit et feuille avec une IC₅₀= 1.06, IC₅₀=2.65 respectivement par contre les extraits des huiles essentielles possèdent une faible activité antioxydant. L'activité antibactérienne, contre 4 souches bactériennes montre que le diamètre de zone d'inhibition déferent de souche à l'autre. Le bon résultat dans la souche bactérienne Bacillus subtilus dans l'extrait brut de feuille de la fraction

Mots clés : *juniperus phoenicea* L, activité antioxydant, activité antibactérienne, DPPH, Coumarines.

المخلص

العراعر الفينيقي هو نبات طبي ينتمي الى العائلة السروية . أظهرت دراسة استخراج الزيوت الأساسية أن مردود الزيت من الثمار 1.12 أعلى مقارنة بمردود الزيت في الأوراق 1.04 بالمئة. وأكبر مردود في النبتة هو مردود الثمار بنسبة % 28.68. أما بالنسبة للكومارين فإن مردود الثمار و الأوراق تقريبا نفسه يوافق على التوالي % 1.59 و % 1.57. أثبت الفحص الكيماي وجود مركبات فينولية 3.9 و 2.28 بالمئة للأوراق والثمار على التوالي بجزء EAcOEt. كما كشف أيضا التحليل الكروماتوغرافي وجود جزيئات فينولية وأفضل نظام يوافق نظام CHCl₃/MeOH للفصل . تم تقدير نشاط مضاد الأوكسدة باستخدام DPPH . أظهرت النتائج أن المستخلصات البوتانولية لها نشاط مضاد للأوكسدة مهم في جزئي الثمار و الأوراق مقارنة بمستخلص الزيت. أظهر النشاط المضاد للبكتيريا ضد 4 سلالات بكتيرية. أن قطر منطقة التثبيط يختلف من سلالة لأخرى واحسن قطر (15مم) يوافق مستخلص الأوراق لجزء EAcOEt.

كلمات مفتاحية

DPPH, Coumarines, نشاط مقاوم للبكتيريا , نشاط مضاد للأوكسدة , العراعر الفينيقي.

Abstract

Juniperus phoenicea L. is a medicinal plant, belonging to the Cupressaceae family. The extraction of essential oils revealed to us that the yield of essential oil of fruit (1.12%) is higher compared to those of leaf (1.04). And the biggest yield in the plant is the raw fruit extract 28.68%. For coumarines fruit yields and leaves almost the same of which (1.59% and 1.57%) respectively. The phytochemical screening showed the presence of phenolic compounds, with better yields (3.9 and 2.28%) in the EAcOEt fraction of the two leaf and fruit parts respectively. Thin layer chromatography analysis revealed the presence of the molecules of the phenolic compounds and the best system (CHCl₃ / MeOH) for separation. Antioxidant activity was estimated using DPPH. The results show that the butanolic extracts have a very interesting antioxidant activity in the fruit and leaf part with an IC₅₀ = 1.06, IC₅₀= 2.65 respectively against the extracts of the essential oils have a low antioxidant activity. The antibacterial activity, against 4 bacterial strains shows that the diameter of deferent inhibition zone strain to another. The good result in the bacterial strain Bacillus subtilus in the raw leaf extract of the EAcOEt fraction with 15mm diameter.

Keywords :

Juniperus phoenicea L, Antioxidant activity, antibacterial activity, DPPH, coumarines.