



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

FILIERE : Sciences Biologiques

OPTION : Biochimie Appliquée

Présenté par : AYEB Djihane, MERDACI Amira, MERAH Ghada

Thème

**Caractérisation phytochimique et activités biologiques des extraits et des huiles essentielles du genévrier de Phénicie
(*Juniperus phonicea* L.)**

Soutenu le 22 /06/2024

Mémoire de Master académique soutenu devant le jury composé de :

Présidente	KRIM. M (MCB)	Univ. Abbès Laghrou – Khenchela
Encadrant	BOUHALIT.S (MCA)	Univ. Abbès Laghrou – Khenchela
Examineur	BADIS. Z (MCB)	Univ. Abbès Laghrou – Khenchela

Année universitaire 2023/ 2024

Remerciements

Je remercie Dieu le Tout-Puissant de m'avoir donné la santé et la volonté d'entamer puis terminer ce modeste travail.

*Je me ferai un agréable devoir de remercier mon encadreur Madame **BOUHALIT SAMIRA** (Maître de Conférences « A ») pour avoir dirigé ce travail de recherche et m'avoir fait bénéficier de son expérience et de ses précieux conseils. Tout au long de ce mémoire, ses conseils pertinents avec écoute, amabilité et patience ont permis à mon travail d'aboutir et de voir le jour.*

*Nous remercions Madame **KRIM.M** d'avoir accepté de présider le jury de soutenance.*

*Nous remercions également Monsieur **BADIS. Z** d'avoir accepté d'examiner ce travail c'est un honneur pour nous d'avoir l'opportunité de discuter avec vous des résultats de la recherche.*

*Nous souhaiterions également remercier Monsieur **CHENAKER HICHAM** pour l'aide apportée pour l'extraction de l'huile essentielle.*

Nous adressons aussi un grand merci pour toute l'équipe du laboratoire pour leur aide et leur patience et leurs conseils précieux durant ce travail.

*Toutes les expressions de ma reconnaissance s'adressent aux enseignants du Département
SNV*

J'adresse mes remerciements à toutes les personnes qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail À :

À mes très chers parents qui m'ont bien appris l'alphabet de la vie et qui ont été à mes côtés tout au long de mon parcours académique. Votre amour, votre soutien et votre encouragement ont été les éléments essentiels de ma réussite.

Ma mère et Mon père, je vous remercie pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour moi. Ils resteront à jamais gravés dans ma mémoire.

Je dédie également ce travail à mes très chères frère, **Mohamed Amine, Raid** et **Djawad**, qui ont été présentes pour moi dans les moments les plus difficiles et ont partagé avec moi les moments les plus joyeux. Merci d'être la source de mon inspiration et de ma motivation.

À Mon binome **Ghada** merci pour ton aide et ton soutien dans cette longue aventure.

À Mes plus proches amies : **Racha, Noura** et **Wiam**, Merci infiniment pour votre aide.

À Mes enseignants sans exception. Pour leurs efforts pour m'assurer une formation solide qui m'a permis de devenir ce que je suis.

Amira

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mes chers parents qui ont été toujours à mes côtés et
M'ont toujours aidé à devenir ce que je suis tout au long

De ces longues années d'études.

A la mémoire de mon grand-père paix à son âme.

A ma chère tante **Zakia** qui m'a toujours soutenu.

A mes frères **Djassem, Oussama** et **Amine**.

et à toutes mes copines et surtout **Sarah, Hadia** et **nada**.

A mon binôme **Djihane** et **Amira** pour son soutien moral,

Sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet. et à tout
ceux qui m'aiment.

Ghada

Dédicace

Je dédie ce travail

Ma famille, mes parents ; que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, aucun mot ne pourrait exprimer à leur juste valeur la gratitude et l'amour que je vous porte.

Je mets entre vos mains, le fruit de longues années d'études, de votre amour, votre tendresse, votre soutien et votre encouragement contenu m'ont toujours donné de la force pour persévérer et pour prospérer dans la vie.

A mes frères Abdelhak, Hamza et Salim et ma sœur.

A mes nièces **Aya & Lina & Adem**

A mes collègues de travail de Bureau personnel de la direction de la protection civile de la Wilaya de Khenchla

A tous ceux qui je l'aime et qui m'aime.

-Djihane-

Résumé

Résumé

La région de Bouhmama-Khenchela constitue un remarquable site de biodiversité végétale, caractérisés par des espèces médicinales utilisées par la population locale comme agent thérapeutiques. Ce travail vise à la valorisation de *Juniperus phoenicea* par la caractérisation chimique ainsi que l'étude de l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne des extraits aqueux, organiques (méthanolique, l'acétate d'éthyle et le n - butanol) et les huiles essentielles de cette plante.

Les tests phytochimiques réalisés sur *J. phoenicea* ont permis de mettre en évidence la présence des alcaloïdes, terpénoïdes, tannins, composés réducteurs, phénols et des quinones libres. L'analyse des extraits des feuilles par CCM a révélé la richesse de tous les extraits et les huiles en composés phénoliques qui présentent un taux très élevé dans les extraits aqueux et n-butanol. Le dosage des flavonoïdes montre que l'extraits méthanolique et l'acétate d'éthyle de *J. phoenicea* sont riches en flavonoïdes. Les deux extraits inhibent plus efficacement la dénaturation de SAB comparant aux autres extraits.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH des extraits montre que l'extrait n-butanol de *Juniperus phoenicea* possède un pouvoir antioxydant puissant par rapport aux autres extraits et aux huiles.

L'étude de l'activité antibactérienne de ces extraits sur des souches bactériennes en utilisant la technique de diffusion sur gélose a montré que les polyphénols de l'extrait méthanolique de *J. phoenicea* sont plus actifs que les autres extraits sur les souches d'*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylocoque aureus* et *Bacillus cereus*. L'huile de laboratoire a marqué une forte activité avec un spectre antimicrobien important une bonne action vis-à-vis les quatre souches et deux autres souches cliniques *Eneterbbacter* et *Proteus Spp*. Comparant aux autres extraits et l'huile commercial.

L'espèce de *Juniperus phoenicea* est l'une des espèces riches en substances bioactives. L'expérience menée dans le présent travail servira de manière conséquente dans le futur parcours scientifique.

Mots clés : *Juniperus phoenicea* L., flavonoïdes, huile essentielles, IC₅₀, anti-inflammatoire, antibactérienne.

Abstract

Abstract

The Bouhmama-Khenchela region is a remarkable site of plant biodiversity, characterized by medicinal species used by the local population as therapeutic agents. This work aims to valorize *Juniperus phoenicea* by chemical characterization and the study of the antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial activities of its aqueous, organic (methanolic, ethyl acetate, and n-butanol) extracts and essential oils.

Phytochemical tests conducted on *J. phoenicea* revealed the presence of alkaloids, terpenoids, tannins, reducing compounds, phenols, and free quinones. Analysis of leaf extracts by thin-layer chromatography (TLC) revealed the richness of all extracts and oils in phenolic compounds, with a very high concentration in aqueous and n-butanol extracts. The quantification of flavonoids showed that the methanolic and ethyl acetate extracts of *J. phoenicea* are rich in flavonoids. These two extracts inhibit the denaturation of bovine serum albumin (BSA) more effectively compared to other extracts.

Evaluation of the antioxidant activity by the DPPH method showed that the butanolic extract of *Juniperus phoenicea* possesses a powerful antioxidant capacity compared to other extracts and oils. The study of the antibacterial activity of these extracts on bacterial strains using the agar diffusion technique showed that the polyphenols in the methanolic extract of *J. phoenicea* are more active than other extracts on strains of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus cereus*. Laboratory-prepared oil demonstrated strong activity with a significant antimicrobial spectrum, showing good action against the four strains and two other clinical strains (*Enterobacter* and *Proteus spp.*) compared to other extracts and commercial oil.

Juniperus phoenicea is one of the species rich in bioactive substances. The findings of this study will significantly contribute to future scientific research.

Keywords: *Juniperus phoenicea* L., flavonoids, essential oils, IC₅₀, anti-inflammatory, antibacterial.

ملخص

تعد منطقة بوحمامة-خنشلة موقعًا متميزًا للتنوع البيولوجي النباتي، وتتميز بأنواعها الطبية التي يستخدمها السكان المحليون كعوامل علاجية. يهدف هذا العمل إلى تقييم نبات العرعر الفينيقي من خلال التوصيف الكيميائي ودراسة النشاط المضاد للأكسدة، والمضاد للالتهابات، والمضاد للبكتيريا لمستخلصاته المائية والعضوية (الميثانولية، وأسيتات الإيثيل، والبيوتانول) والزيوت الأساسية.

أظهرت الاختبارات الكيميائية النباتية التي أجريت على نبات العرعر الفينيقي وجود الفلويونات، والتربينويدات، والعفص، والمركبات السكرية المختزلة، والفينولات، والكينونات الحرة. كشفت تحليلات المستخلصات الورقية بواسطة الكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة عن غنى جميع المستخلصات والزيوت بالمركبات الفينولية، مع تركيز مرتفع جدًا في المستخلصات المائية والبيوتانول. أظهر قياس الفلافونويدات أن المستخلصات الميثانولية وأسيتات الإيثيل من نبات العرعر الفينيقي غنية بالفلافونويدات. يعمل هذين المستخلصين على منع تحلل ألبومين مصل البقر (BSA) بفعالية أكبر مقارنة بالمستخلصات الأخرى.

أظهرت تقييمات النشاط المضاد للأكسدة بواسطة طريقة DPPH أن المستخلص البيوتانولي لنبات العرعر الفينيقي يمتلك قدرة مضادة للأكسدة قوية مقارنة بالمستخلصات والزيوت الأخرى. أظهرت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا لهذه المستخلصات على السلالات البكتيرية باستخدام تقنية الانتشار على الأغار أن البوليفينولات في المستخلص الميثانولي لنبات العرعر الفينيقي أكثر نشاطًا من المستخلصات الأخرى على سلالات *Escherichia coli*، و *Pseudomonas aeruginosa*، و *Staphylococcus aureus*، و *Bacillus cereus*. أظهرت الزيوت المحضرة في المختبر نشاطًا قويًا مع نطاق مضاد للميكروبات كبير، وعمل جيد ضد السلالات الأربع والسلالتين السريرييتين (أخرين *Enterobacter*) و (*Proteus spp.*) مقارنة بالمستخلصات الأخرى والزيوت التجارية.

يُعد نبات العرعر الفينيقي من الأنواع الغنية بالمواد الفعالة بيولوجيًا. وستساهم نتائج هذه الدراسة بشكل كبير في الأبحاث العلمية المستقبلية.

الكلمات المفتاحية: العرعر الفينيقي، الفلافونويدات، الزيوت الأساسية، IC_{50} ، مضاد للالتهابات، مضاد للبكتيريا.

Liste des figures

Figure 1 . Aspect général du genévrier de Phénicie	9
Figure 2. Les feuilles et les fruits de <i>Juniperus Phoenicea</i> L.	11
Figure 3. Photo de la plante <i>Juniperus Phoenicea</i> A-Feuilles sèches ; B-Poudre.....	16
Figure 4. Préparation de l'extrait hydrométhanolique	20
Figure 5. Photo montrant la séparation liquide – liquide.....	20
Figure 6. Protocole expérimental résumant les différentes étapes de fractionnement des extraits.	21
Figure 7. Protocole de dosage des composés phénoliques	26
Figure 8. Protocole de dosage des flavonoïdes	27
Figure 9. Réduction du radical DPPH°.....	27
Figure 10. Chromatographie sur couche mince <i>Juniperus Phoenicea</i>	34
Figure 11. Teneurs en phénols totaux des extraits étudiés de la plante <i>Juniperus</i>	36
Figure 12. Teneurs en flavonoïdes des extraits étudiés de la plante <i>Juniperus</i>	37
Figure 13. Activité antiradicalaire (DPPH) des extraits des baies de <i>Juniperus Phoenicea</i>	39
Figure 14. Graphique de la concentration IC50% (mg/ml) des extraits de <i>Juniperus Phoenicea</i>	40
Figure 15. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA des extraits bruts du <i>Juniperus Phoenicea</i>	42

Liste des tableaux

Tableau 1. Classification botanique de *Juniperus Phoenicea* 10

Tableau 2. Souches utilisées dans l'activité antibactérienne..... 17

Tableau 3. Réactifs chimiques..... 17

Tableau 4. Rendement d'extraction de la plante de *Juniperus Phoenicea* L. 31

Tableau 5. Caractères organoleptiques des huiles des plantes 32

Tableau 6. Résultats des tests phytochimiques des extraits de la plante *J.phoenicea*..... 33

Tableau 7. Les mesures de rapport frontal Rf de la chromatographie sur couche mince des huiles et des extraits de *Juniperus Phoenicea*. 35

Tableau 8. Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Juniperus Phoenicea* L. sur la croissance d'*Escherichia coli* :..... 43

Tableau 9. Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Juniperus Phoenicea*. L. sur la croissance de *Staphylocoque aureus* 44

Tableau 10. Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Juniperus Phoenicea* L. sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* 44

Tableau 11. Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Juniperus Phoenicea* L. sur la croissance de *Bacilles subtilis* 45

Tableau 12. Diamètre de zone d'inhibition des deux extraits de l'huile essentielle et l'huile commerciale sur la croissance des deux souches cliniques *Eneterbbacter* et *Proteus Spp.* 46

Tableau 13. Diamètre de zone d'inhibition des deux extraits des huiles essentielles de plante *Juniperus Phoenicea*.L. sur la croissance des quatre souches référenciées..... 46

Tableau 14. Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *juniperus Phoenicea*L. Sur la croissance de *l'Aspargilus niger*..... 48

Tableau 15. Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Juniperus Phoenicea* L. Sur la croissance de *candida albicans* 48

Liste des abréviations

Abs : Absorbance.

AlCl₃ : chlorure d'aluminium.

Aq1 : Extrait par décoction.

Aq2 : Extrait par infusion.

BSA : Bovine sérum albumine.

C₂H₄O₂ : acide acétique.

CO₂ : dioxyde de carbone.

D : Diamètre.

DPPH : 2,2-Diphényle-1- Picrylhydrazyl.

FeCl₃ : chlorure ferrique

HCl : Acide chlorhydrique.

HE : Huile essential.

IC₅₀ : concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH.

MEOH : Extrait méthanolique.

MH: Muller Hinton.

NaOH : hydroxyde de sodium.

R% : Rendement en pourcentage.

Rf: Rapport frontale.

UV-VIS : ultra-violet visible.

µg EAG/ mg E : Equivalent microgramme acide gallique par mg d'extrait.

µg EQ /mg E : Equivalent microgramme de quercétine par mg d'extrait.

% PI : Pourcentage d'Inhibition.

Table des matières

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures i

Liste des tableaux ii

Liste des abréviations iii

Introduction 1

Chapitre 01

les huiles essentielles

I. les huiles essentielles..... 3

II. Origine et localisation des huiles essentielles 3

II. Composition chimique 4

V. Méthodes d'extraction 4

V.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau..... 5

V.2. Extraction par hydro distillation 5

V.3. Extraction assistée par micro-ondes..... 5

V.4. Expression à froid 6

V.5. Extraction par solvant organique 6

V.6. Extraction à l'état supercritique par fluide..... 6

VI. Application des huiles essentielles 7

Chapitre 2 Généralités sur la plante étudiée

I. La famille cupressacées..... 8

II. Le genre *Juniperus* 8

III. L'espèce *Juniperus Phoenicea* L. (Le genévrier de Phénicie) 8

III.1. Généralité sur le Genévrier 8

III.2. Noms vernaculaires 9

Table des matières

III.3. Taxonomie	10
III.4. Répartition géographique	10
III.5. Description botanique.....	10
III.6. La composition chimique	11
III.7. Usages thérapeutiques de <i>Juniperus Phoenicea</i>	12

Chapitre 03 : Les métabolites secondaires

I. Généralités.....	13
II. Classification des métabolites secondaires	13
II.1. Composées phénoliques	13
II.1.1. Les acides phénoliques	13
II.1.2. Les flavonoïdes.....	13
II.1.3. Les tanins.....	14
II.2. Les alcaloïdes	14
II.3. Terpènes et les stéroïdes.....	15

Matériel et méthodes

I. Matériel	16
I.1. Matière végétale	16
I.2. Matière microbienne.....	16
I.3. Produits utilisés	17
I.4. Matériel du laboratoire	18
II. Méthodes.....	18
II.1. Préparation des extraits	18
II.1.1. Préparation des extraits aqueux.....	19
II.1.2. Préparation des extraits organiques.....	19
II.1.2.1. Préparation des extraits méthanoliques brut.....	19
II.1.2.2. Fractionnement de l'extrait méthanolique brut.	20
II.1.3. Extraction de l'huile essentielle (hydrodistillation)	21

Table des matières

II.3. Criblage phytochimiques par chromatographie sur couche mince :	24
II.5. Dosage des flavonoïdes.....	26
II.6. Evaluation de l'activité antioxydante par diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH).....	27
II.7. Activité anti-inflammatoire	28
II.8. Activité antimicrobienne.....	29
II.9. Analyse statistique	30

Résultats et discussion

I. Analyse qualitatives des extraits la plante <i>Juniperus Phoenicea</i> L.	31
I.1. Rendement de l'extraction.....	31
I.2. Caractères organoleptiques.....	31
I.3. Tests phytochimiques préliminaires	32
I.4. Chromatographique sur couche mince CCM	34
II. Analyse quantitatives des extraits de la plante <i>Juniperus Phoenicea</i> L.	36
II.1. Teneur en phénols totaux des extraits de feuilles de <i>J. Phoenicea</i>	36
II.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	37
II.3. Activité antiradicalaire au DPPH	38
II.4. Activité Anti-inflammatoire (Inhibition de la dénaturation du BSA).....	41
II.5. Activité antibactérienne et antifongique de la plante <i>Juniperus Phoenicea</i> L.	43
Conclusion	50
Références bibliographiques	52
Annexes	67

Introduction

Introduction

Introduction

Depuis l'antiquité, les plantes ont servi de pharmacothèque naturelle et pragmatique pour l'homme. Elles ont été utilisées en phytothérapie comme remède contre plusieurs maladies, vue leur richesse en centaines, voire en milliers de composants ayant des vertus thérapeutiques. Elles constituent un patrimoine précieux et un véritable trésor pour l'humanité, et sont très demandées dans le monde et plus particulièrement dans les pays en voie de développement (Salhi et Fadli, 2006).

A l'heure actuelle, plusieurs travaux ont envisagé l'utilisation de ces composés bioactifs comme alternatives aux multiples substances synthétiques. Les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés à leurs métabolites secondaires, qui sont largement utilisés en thérapeutique comme agents préventifs anti-inflammatoires, antimicrobiens et antioxydants qui défendent contre le stress oxydatif (Ouelbani et *al.*, 2016).

Parmi les 800 000 espèces de plantes prospérant sur la planète, un nombre relativement important est capable de synthétiser des composants aromatiques que l'on appelle les huiles essentielles qui possèdent un large spectre d'activité antibactérienne, antifongique, antiparasitaire, insecticide.

Dans le cadre de la valorisation des essences d'espèces végétales, nous nous sommes intéressés à la plante de genévrier rouge (*Juniperus phoenicea*. L.) et ces huiles essentielles. Espèce appartient à la famille des cupressacées très présente dans la région méditerranéenne particulièrement en Algérie, largement utilisée dans la médecine traditionnelle de nombreux pays. Le genévrier fortifie le système digestif, soulage les coliques et stimule l'activité de l'estomac. Il possède des propriétés diurétiques mises à profit pour combattre toute sorte de maladies du système urinaire (infections et inflammations, calculs, goutte, etc.). Enfin, son huile essentielle fut grandement appréciée pour ses propriétés antiseptiques et antioxydants qui défendent contre le stress oxydatif (Bouzouita et *al.*, 2012).

Pour ce faire, nous avons envisagé d'organiser ce travail comme suit :

- La première partie composée de trois chapitres, se veut un premier chapitre sur les huiles essentielles, un deuxième chapitre sur les métabolites secondaires puis le troisième chapitre sur la plante *Juniperus phoenicea*.L.
- La deuxième partie expérimentale de notre travail, où on décrit le matériel et les méthodes utilisées dans nos travaux de l'extraction des huiles et la caractérisation

Introduction

phytochimique différents extraits aqueux et organiques, l'analyse de leurs compositions chimiques, criblage et dosage des polyphénols et flavonoïdes et l'étude de leur activité antioxydante, anti-inflammatoire et de leur activité microbiologique *In vitro*.

Une discussion des résultats obtenus lors de cette étude a été établie au dernier volet suivi par une conclusion et les perspectives.

Chapitre I :
Les huiles essentielles

I. Généralités sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des composés volatils peu colorés dégageant une odeur caractéristique et possèdent des saveurs généralement fortes, peuvent être présentes dans tous les organes de la plante. Elles sont formées en tant que sous-produits du métabolisme secondaire dans de nombreuses espèces végétales et sont habituellement à l'origine de l'odeur caractéristique de celles-ci (El Haib, 2011). Le rôle des HEs dans la physiologie de la plante reste mal connu. Toutefois, les parfums émis jouent un rôle attractif pour les insectes pollinisateurs (Deroin, 1988). De plus, en règle générale les HEs constituent un moyen de défense naturel contre les insectes prédateurs et les microorganismes.

Les huiles essentielles forment un groupe très homogène et généralement incolores ou jaune pâle. Elles se présentent sous forme liquide à température ambiante. Ces substances sont liposolubles, étant solubles dans les solvants organiques usuels et ont une densité inférieure à l'eau. (Endrias, 2006). Elle ne renferme ni protéines, ni lipides, ni glucides, et ne contient ni minéraux ni vitamines ce qui lui attribue une valeur nutritionnelle nulle. Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité (Duraffourd et *al.*, 1990). La teneur en composés aromatiques peut varier en fonction de nombreux facteurs liés aux techniques de culture, à l'environnement (climat, sol), à la maturité des fruits, aux méthodes de séchage pelliculaire et à la génétique (variétés et croisements). Ce changement dans la composition de l'huile peut entraîner une modification de l'arôme et donc des caractéristiques du fruit ou du produit transformé (Vincent ferrer, 2022).

II. Origine et localisation des huiles essentielles

Les HEs sont extraits de diverses plantes aromatiques généralement rencontrées dans les pays tempérés ou chauds, où elles représentent souvent une part importante de la pharmacopée traditionnelle (Bouyahya et *al.*, 2017). Elles peuvent être extraites à partir de tous les organes végétaux : écorces (cannelier), racines (iris), fruits (vanillier), bulbes (ail), rhizomes (gingembre) ou graines (muscade) (Bruneton, 1999).

Leur composition peut varier d'une partie de la plante à l'autre, elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule.

Elles sont alors stockées dans des cellules à HE (Lauraceae ou Zingiberaceae) ou dans des poils glandulaires (Lamiacées), dans des poches sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des canaux sécréteurs (Apiaceae ou Asteraceae). (Bruneton, 1999 ; Anton et Lobstein, 2005).

II. Composition chimique

Ces huiles sont présentes sous forme de mélanges variables constitués principalement par deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe de terpénoïdes, en particulier les monoterpènes et sesquiterpènes, et également les di terpènes. Le groupe des phénylpropanoïdes, beaucoup moins fréquent, comme le safrol, l'apiol, l'anisaldéhyde, l'eugénol, la vanilline et le cinnamaldéhyde. Comprennent plusieurs fonctions tels que les alcools, les phénols, les dérivés méthoxy, les composés méthylène dioxy. Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (qui contribuent souvent aux arômes des fruits) (Bouras, 2018).

IV. Toxicité des huiles essentielles

La toxicité des HEs est directement liée à leur composition chimique, les composés polyinsaturés étant plus toxiques que les autres (cétones, lactones, phénols). Certaines sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde ou phototoxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines) (Pierron, 2014 ; Pacchioni, 2014 ; Velé, 2015). D'autres HEs ont un effet neurotoxique, les cétones comme l' α -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux (Guba, 2001).

Les essences absorbées seules comme médicaments, en usage interne (aromathérapie) peuvent présenter une certaine toxicité. Les HEs doivent être prises à bon escient et à doses adaptées afin d'éviter de dommageables effets secondaires, l'efficacité et la toxicité ce n'est souvent qu'une question de quantité (Lambert et *al.*, 2001; Scimeca, 2007).

V. Méthodes d'extraction

Les plus utilisées sont la distillation par entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodistillation. D'autres techniques plus récentes ont été développées afin d'améliorer le rendement ou la qualité des huiles essentielles extraites, diminuer le temps d'extraction,

réduire la quantité du solvant utilisé et accélérer la cinétique d'extraction (Besombes, 2008).

V.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est en contact avec la vapeur d'eau saturée fournie par une chaudière. La vapeur provoque la rupture d'un grand nombre de glandes qui libèrent leurs composés aromatiques, donc les HEs diffusent à travers le végétal pour entrer en contact avec la vapeur d'eau circulant à l'extérieur. Les vapeurs chargées en composés volatils sont ensuite condensées avant d'être décantées (Bouras, 2018). L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale puis les molécules aromatiques évite phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Boukhatem et *al.*, 2019).

V.2. Extraction par hydro distillation

Elle implique l'immersion de la matière première dans un bain d'eau puis porter à ébullition. Par la suite, soit l'eau est placée au fond de la cuve avant d'être portée à ébullition pour qu'un courant de vapeur d'eau traverse la matière première, c'est la vapo-hydrodistillation ; soit la vapeur d'eau est générée dans une chaudière à l'extérieur de l'alambic, technique dite vapo-distillation. Dans ces divers cas, la vapeur d'eau chargée d'HEs est dirigée vers un condenseur puis la séparation se fait par décantation (Besombes, 2008). Le chauffage prolongé et puissant engendre une détérioration de certains végétaux et la dégradation de certaines molécules aromatiques. L'eau, l'acidité et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters mais aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations et/ou des oxydations (Bruneton, 1999).

V.3. Extraction assistée par micro-ondes

Dans ce procédé, la matrice végétale est chauffée sélectivement par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation (Piochon, 2008 ; Zenasni, 2014). On observe alors une importante réduction du temps d'extraction et la réduction de la température de chauffage permettant de mieux préserver les composés oxygénés de l'essence (Golmakani et Rezaei, 2008 ; Gavahian et *al.*, 2012). En fait, l'abondance des

composés oxygénés dans l'HE est liée au chauffage rapide des substances polaires avec les micro-ondes et à la faible quantité d'eau dans le milieu, ce qui empêche la dégradation des composés par réactions thermiques et hydrolytiques (Lucchesi, 2005).

V.4. Expression à froid

La technique est réservée à l'extraction des essences volatiles contenues dans les péricarpes d'agrumes en déchirant ces dernières par un traitement mécanique. Elle consiste à rompre ou dilacérer les parois des sacs oléifères contenus dans le mésocarpe situé juste sous l'écorce du fruit, l'épicarpe, pour en recueillir le contenu qui n'a subi aucune modification. Les systèmes récents, comme la « Food Machinery Corporation-in-line » (FMC), permettent d'extraire le jus de fruit et l'essence de manière quasi-simultanée sans contact des deux. C'est pourquoi l'expression à froid est la méthode de choix pour extraire ces essences, d'autant que la distillation n'est plus une technique très appropriée. En effet, la distillation produit des huiles aromatiques de moindre qualité principalement due à une présence importante d'aldéhydes, composés sensibles à l'oxydation et à la chaleur (Belsito et *al.*, 2007 ; Chemat, 2010 ; Sawamura, 2011 ; Ferhat et *al.*, 2016).

V.5. Extraction par solvant organique

Les solvants principalement utilisés actuellement incluent l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, avec moins de fréquence le dichlorométhane et l'acétone. L'extraction est effectuée à l'aide d'un appareil de Soxhlet, produisant des extraits riches en composés volatils et non volatils tels que des cires, des pigments et des acides gras (Hernandez, 2005). Différentes techniques et solvants produisent des types d'extraits variés, tels que des hydrolysats, des alcoolats, des teintures, des résinoïdes et des concrètes (Hubert, 1992). L'extraction par solvant, bien que plus productive que la distillation, est limitée en raison de son coût, des préoccupations de sécurité et de toxicité, ainsi que des réglementations environnementales.

V.6. Extraction à l'état supercritique par fluide

L'innovation de la méthode d'extraction par le fluide supercritique (SFE), provient d'utiliser des solvants dans leur condition supercritique. Il existe une variété de solvants qui peuvent être utilisés. Le dioxyde de carbone est utilisé pour produire 90% des SFE. En plus de sa facilité d'obtention due à ses pression et température critiques relativement

basses, le CO₂ est relativement non toxique, disponible à haute pureté et à faible prix, et il possède l'avantage d'être éliminé aisément de l'extrait (Leszczynska, 2007).

VI. Application des huiles essentielles

L'huile essentielle est un mélange complexe. On peut isoler des molécules d'intérêt, soit pour les utiliser ultérieurement comme produits naturels en une seule forme énantiomorphe, soit pour effectuer des hémi synthèses aboutissant à de nouvelles molécules économiquement plus rentables que les synthèses chimiques classiques aux rendements faibles (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012). Par ailleurs, les propriétés lipophiles des composés aromatiques facilitent la pénétration des huiles essentielles dans la peau, simplifiant ainsi l'administration des médicaments par voie transdermique (Edris, 2007).

Le potentiel thérapeutique de ces composés se manifeste par leurs bienfaits dans le traitement du cancer, des problèmes cardiovasculaires, neurodégénératives, des infections bactériennes et virales, du diabète, ainsi que dans la lutte contre le stress oxydatif, grâce à leurs rapports antifongiques, antibactériens, antioxydants, antiviraux, insecticides, et nématocides (Lopez-Reyes et *al.*, 2013 ; Tariq et *al.*, 2019). De plus, les HE possèdent diverses propriétés antiseptiques, relaxantes, rajeunissantes, énergisantes, régénérantes, purifiantes, désodorisantes, anti-inflammatoires, ainsi un stimulateur du système nerveux central (Tariq et *al.*, 2019). Elles démontrent aussi une grande efficacité contre les microorganismes résistants aux antibiotiques (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012 ; Nedjai, 2017).

Les huiles essentielles sont souvent ajoutées aux formulations de produits pharmaceutiques pour masquer le goût désagréable des médicaments et améliorer leur saveur lors de la consommation (Boehm et *al.*, 2012), certaines huiles essentielles sont potentiellement capables d'accélérer l'administration transdermique des médicaments (Tariq et *al.*, 2019). Elles sont utilisées en médecine dentaire sous forme de bain de bouche (Fine et *al.*, 2010),

Les secteurs de l'hygiène et de l'industrie cosmétique sont également des utilisateurs, avec la plupart des produits cosmétiques intégrant des huiles essentielles pour leur parfum et leur capacité à assurer une odeur agréable (Nedjai, 2017). De plus, elles jouent un rôle capital dans l'aromatization des aliments. Elles sont également très prisées en liquoristerie (boissons anisées, kummel) et en confiserie (bonbons, chocolat,) (Teissedre et *al.*, 2000).

Chapitre II

Juniperus phoenicea L

I. La famille cupressacées

La famille Cupressacée, occupent la troisième place en importance parmi les conifères, comprenant environ 135 espèces d'arbres et d'arbustes, est constituée de deux sous-familles qui se divise en trois tribus : les Cupressoideae, principalement dans l'hémisphère nord, et les Callitroideae, principalement dans l'hémisphère sud. Cette famille englobe une trentaine de genres, les plus importants étant *Juniperus*, *Cupressus*, *Chamaecyparis* et *Thuja*. Beaucoup de genres représentent peu d'espèces (16 sont monospécifiques) et ont donc souvent des aires de répartition localisées (Dris et *al.*, 2022).

L'écorce des Cupressaceae est généralement dans les tons orange, rouges et bruns avec une texture filandreuse. Les feuilles sont arrangées en spirale et souvent en forme d'aiguille. La plupart des feuilles sont sempervirentes et peuvent perdurer de 2 à 10 ans. Les graines ont un aspect de cuir ou de bois et sont parfois charnues. Cette famille joue un rôle écologique essentiel dans la lutte contre la désertification, étant largement plantée comme brise-vent dans le but de protéger le sol contre l'érosion éolienne (Rahmani, 2020).

II. Le genre *Juniperus*

Le genre *Juniperus* L., appartenant à la tribu des Junipereae (Koch), sous-famille des Cupressoideae, englobe environ 75 espèces (Adams, 2014). Sa répartition est la plus étendue parmi les genres de conifères, mais elle reste limitée à l'hémisphère Nord, se trouvant uniquement en Afrique où certaines espèces franchissent l'équateur (Mao et *al.*, 2010 ; Farjon et Filer, 2013). Il est divisé en trois sections :

- Sabina : est la section la plus importante, avec un total de 60 espèces.
- Caryocedrus : est caractérisée par la présence d'une seule espèce, à savoir *J. drupacea* Labill.
- Juniperus : aussi désigné sous le nom d'Oxycedrus, comprend 14 espèces (Adams et Schwarzbach, 2013).

III. L'espèce *Juniperus Phoenicea* L. (Le genévrier de Phénicie)

III.1. Généralité sur le Genévrier

Le Genévrier de Phénicie ou genévrier rouge (*J. phoenicea* L.) est un arbrisseau touffu ou un arbuste de 1 à 3 m de hauteur mais pouvant atteindre cependant jusqu'à 8 à 10 mètres (Bajes et *al.*, 2022). Sa capacité à pousser dans les anfractuosités des rochers lui

confère une résistance exceptionnelle, lui permettant de coloniser des zones très sèches et ensoleillées.

Le genévrier de Phénicie présente une forme conique et touffue avec un tronc portant des rameaux relativement denses, doté d'une écorce grisâtre. Ses feuilles, réduites à de petites écailles vertes, sont fortement imbriquées en six rangs, les plus anciennes ayant une partie centrale bordée de bandes plus sombres. Les fleurs femelles, regroupées en amas globulaires, naissent à la base des feuilles, tandis que les fleurs mâles, en cônes discrets, sont portées par d'autres rameaux. Ses fruits, appelés galbules (Marie-Jeanne et Alain, 2013).

C'est une espèce variable, caractérisée par une grande différenciation morphologiques et biochimiques, qui a permis de distinguer trois sous-espèces: *J. phoenicea* subsp *phoenicea*, *J. phoenicea* subsp *eu-mediterranea* et *J. phoenicea* var. *turbinata*. (Amaral, 1986 ; Lebreton et Rivera, 1989).



Figure 1 . Aspect général du genévrier de Phénicie (Photo originale).

III.2. Noms vernaculaires

- **En Arabe** : Arar عرعار (Bouزيد et *al.*, 2015).
- **En Français** : Genévrier rouge, Genévrier de Phénicie, genévrier de lycie (Rameau et *al.*, 2008).
- **En Anglais**: Phoenician Cedar, Berry Bearing Cedar.
- **En Kabyle** : taqa (tawrirt plus rarement) (Quezel et Gast ,1998).
- **En Chaoui** : zimba

III.3. Taxonomie

D'après Quezel et Santa (1962), la classification botanique de la plante *Juniperus Phoenicea* L., est la suivante :

Tableau 1. *Classification botanique de Juniperus Phoenicea*

Catégorie	Classement
Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Pinophyta
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinales
Famille	Cupessaceae
Genre	<i>Juniperus</i>
Espèce	<i>Juniperus Phoenicea</i>

III.4. Répartition géographique

Le genévrier de Phoenicea est largement répandu dans toute la région méditerranéenne, les îles Canaries et les montagnes de l'Atlas en Afrique et la côte atlantique du Portugal à l'ouest, et la Jordanie et l'Arabie saoudite à l'est (Mansouri et *al.*, 2011).

En Algérie, le genévrier rouge occupe une superficie estimée à 227.000 ha, soit 10% de la surface forestière algérienne. Il est commun sur l'ensemble du littoral, sur les hauts plateaux et l'Atlas saharien de l'oranaï, de l'algérois et du constantinois ainsi que les régions montagneuses les plus arides, formant des matorrals dans les Aurès et l'Atlas saharien. La principale couverture végétale dans les montagnes des Aurès, notamment dans le sud de ce massif où il occupe une superficie de 1950 ha (Abdelli, 2017).

III.5. Description botanique

L'arbre se ramifie la base et présente une couronne dense et allongée, avec une écorce brun rougeâtre, fibreuse et très épaisse. Se présentent en deux familles :

- Feuilles : des individus très jeunes sont en aiguilles (10 x 1 mm), piquantes, avec deux lignes blanches dessus et dessous. Les feuilles des rameaux, en petites écailles (1 mm),

sont ovales, bombées sur le dos, étroitement appliquées et bordées d'une marge cartilagineuse.

- Les fruits : improprement qualifiés de baies, débutent en vert pour évoluer vers un éclatant brun-rouge à maturité (après 2 ans). Ils présentent une forme globuleuse et charnue, avec un diamètre de 7 à 10 mm et une surface irrégulière. La chair est ferme, sèche, fibreuse, prenant une teinte jaune mêlée de vert puis de brun, émettant une odeur intense. Ils renferment de 4 à 9 graines ovales, aux extrémités pointues et entourées d'une enveloppe rigide. La période de fructification s'étend de septembre à décembre (Alhassane et Goundiam, 2020).



Figure 2. Les feuilles et les fruits de *Juniperus Phoenicea* L. (Bouزيد et al., 2015)

III.6. La composition chimique

Des études phytochimiques ont révélé que *Juniperus phoenicea* contient une grande variété de composés principalement des ditéropénoïdes, des biflavonoïdes, des lignanes, du phényl- propanoïde glucosides, des dérivés de furanone glucosides et du bis-furanone (Bekhechi et al., 2012). L'espèce contient de la résine, des acides gras, des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des stérols (Medini et al., 2013 ; Alzand et al., 2014 ; El-Sawi et al., 2014). Cette variété offre la possibilité d'incorporer ces composés dans les préparations pharmaceutiques.

La composition des huiles essentielles de ses feuilles est caractérisée par la présence de α -pinène, qui présente plusieurs activités biologiques : il est antibactérien, anti-inflammatoire, antiviral, expectorant, sédatif, herbicide, insectifuge, et aromatisant (Duke, 1998). Suivi des monoterpènes oxygénés tels que, α -terpinyl acétate, δ -3-carène, myrcène, α -phellandrène et β -phellandrène (Ennajjar et al., 2011) .

III.7. Usages thérapeutiques de *Juniperus Phoenicea*

Les plantes médicinales ont été utilisées depuis des siècles en tant que remèdes pour les maladies humaines en raison de la présence de composants chimiques ayant une valeur thérapeutique (Telaidji, 2018).

Ses feuilles sont utilisées sous forme de décoction pour soigner diabète, diarrhée, rhumatisme et troubles digestifs (Seigue, 1985 ; Bellakhdar, 1997 ; Allali et *al.*, 2008). En revanche, le mélange des baies et des feuilles est utilisé pour traiter l'hypoglycémie (Amer et *al.*, 1994 ; Mazari et *al.*, 2010). Outre, les feuilles peuvent guérir les affections broncho-pulmonaires et agir comme agent diurétique (Bellakhdar, 1997) et même contre les ulcérations de la peau et les abcès (Abdelli, 2017). Il est également utilisé pour traiter la goutte, les maux d'estomac, les infections gonococciques aiguës, l'eczéma, la dysménorrhée et l'insolation.

les HEs de genévrier rouge possèdent des propriétés, antimicrobiennes, antifongiques, anti obésité, antioxydants, hépato protectrice, cytotoxique et neuroprotectrice (Meriem et *al.*, 2022).

L'huile de cade connue aussi comme "goudron de genévrier" utilisé pour le traitement de plusieurs maladies de la lèpre, typhoïde au ver ruban (Menaceur et *al.*, 2013). Les fruits séchés et en poudre peuvent contribuer à la guérison des abcès et des ulcères cutanés (Mansouri et *al.*, 2011).

Chapitre III :
Les métabolites secondaires

I. Généralités

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques présents dans toutes les plantes supérieures (Hartmann, 2007), ils se trouvent en faibles quantités dans les plantes et jouent un rôle crucial dans les interactions entre la plante et son environnement, la communication intercellulaire et leur défense contre les agressions extérieures. Leur grande diversité structurale caractérise souvent un genre, une famille ou une espèce de plante de manière distinctive et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (Muanda, 2010). Plus de 8500 métabolites secondaires sont déjà connus, les plus grands groupes sont : les alcaloïdes, les terpénoïdes, et les composés phénoliques (Bezzaz, 2014).

II. Classification des métabolites secondaires

II.1. Composées phénoliques

Les composés phénoliques, également connus sous le nom de polyphénols, sont des micronutriments d'origine végétale synthétisés lors du métabolisme secondaire pour protéger les plantes des agressions environnementales. Ils se distinguent par la présence d'au moins un noyau benzénique lié à au moins un groupe hydroxyle (-OH), ainsi que par la présence de groupes fonctionnels (éther, ester, hétéroside...) (Abderazak et Guendouz, 2019). Les polyphénols, plus de 8000 composés naturels, sont divisés en plusieurs catégories :

II.1.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques, possèdent une ou plusieurs fonctions acides, ainsi que des fonctions hydroxy-phénolique. En nature, ils sont plutôt rares et incolores. Ces composés se classent en deux catégories : les dérivés de l'acide benzoïque C₆-C₁, très répandus, se trouvent aussi bien sous forme libre que combinée, sous forme d'esters ou d'hétérosides (Pawlowska et *al*, 2006) et les acides hydroxycinnamiques, tels que l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide sinapique, constituent un groupe crucial caractérisé par un cycle aromatique associé à trois carbones C₆-C₃ dans leur structure (Nagendran, 2006).

II.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent le groupe principal de polyphénols, comprenant plus de 5000 composés différents identifiés dans le monde végétal (Kalkoul et Mouhoubi,

2018). Ce sont largement répandus comme pigments dans le règne végétal, contribuant à la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On attribue à ces flavonoïdes des propriétés variées veinotonique, antitumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, antispasmodique, anti-bactérienne, hépatoprotectrice, oestrogénique et/ou anti-oestrogénique, anti-virale etc... Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires (Bouزيد et Lagha, 2020).

II.1.3. Les tanins

Cette catégorie d'acides tanniques fait référence à un ensemble de substances phénoliques très réactives dans le monde végétal. Ils sont souvent contenus dans l'écorce ou dans les feuilles. Usagée pour le tannage des peaux d'animaux en cuir (Dangles *et al.*, 1992). Il s'agit de molécules très hydroxylées qui partagent la capacité de se combiner avec les protéines et donc de les précipiter, ce qui explique leur capacité à tanner la peau. De plus, ils forment des complexes stables avec d'autres polymères organiques tels que les glucides, les acides nucléiques, les stéroïdes et les alcaloïdes (Aberrane et Mehalla, 2019).

II.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes (dérivé d'alcalin) sont des substances organiques azotées d'origine végétale, qui présentent une structure complexe hétérocyclique à caractère alcalin (Badiaga, 2011). On estime qu'il y a plus de 10 000 alcaloïdes différents déjà détectés à partir de sources végétales, animales ou de micro-organismes. On se limite à la classification générale basant sur la structure et l'origine de l'atome de l'azote. On distingue trois types d'alcaloïdes : les pseudo-alcaloïdes, les proto-alcaloïdes et les alcaloïdes vrais (Bruneton, 1999 ; Nacoulma, 2012).

Leurs propriétés biologiques, qui varient autant que leurs structures, restent bénéfiques dans le traitement de diverses maladies ou dysfonctionnements de l'organisme humain. Ils possèdent une activité pharmacologique significative qui s'exerce dans des domaines variés :

- Au niveau du système nerveux central, ils sont employés pour leurs propriétés analgésiques ou stimulantes.
- Au niveau du système nerveux autonome : sympathomimétiques (éphédrine) ou sympatholytiques, parasympathomimétiques, anticholinergiques et ganglioplégiques.

- On note aussi l'existence de curarisants, d'anesthésiques locaux, d'antifibrillants, d'antitumoraux, et d'antipaludiques (Bruneton, 1999).
- Dans le cadre de protocoles de sédation (anesthésie, antropline) souvent accompagnés des hypnotiques, ou comme agents antipaludéens (quinine, choroquinine) ou agents anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine) (Zenk et Jueng, 2007).

II.3. Terpènes et les stéroïdes

Les terpènes constituent un groupe de molécules très différentes tant du point de vue structurel du point de vue fonctionnel. Ils ont pourtant un caractère commun du fait qu'ils que sont tous formés d'unités isopréniques (unités en C₅, ramifiées). Sur le plan chimique, les terpènes ou hydrocarbures terpéniques sont des composés dont la formule générale est (C₅H₈). Ils sont subdivisés selon le nombre d'unités isopréniques en les hémiterpènes: (n=1, C₅H₈), les monoterpènes (n=2, C₁₀H₁₆), les sesquiterpènes: (n=3, C₁₅H₂₄), les diterpènes: (n=4, C₂₀H₃₂), les sesterpènes : (n=5, C₂₅H₄₀), les triterpènes: (n=6, C₃₀H₄₈), les tétraterpènes : (n = 8, C₄₀H₆₄) et les polyterpènes: (n unités isopréniques) (Randrianarivelo, 2010).

Les monoterpènes et les sesquiterpènes sont les types les plus fréquents dans les huiles essentielles en raison de leur faible masse moléculaire, ce qui leur permet d'être incorporés dans la fraction volatile de l'huile essentielle (Randrianarivelo, 2010).

Des diterpènes sont rencontrés plus rarement lorsque l'hydrodistillation est longue. Au-delà, les composés ne sont plus considérés comme volatils. La diversité des structures observées s'explique par la haute réactivité des carbocations (ion carbone) impliquées dans les processus biosynthétiques. En général, on trouve une grande variété de monoterpènes et de sesquiterpènes, acycliques, monocycliques, bicycliques ou tricycliques, résultant de réarrangements complexes du squelette hydrocarboné et de réactions de fonctionnalisation ultérieures. Ces processus conduisent à des molécules souvent intéressantes sur le plan olfactif et même biologique, telles que des alcools, des aldéhydes, des cétones, des esters, des éthers, des peroxydes et des phénols (kalkoul et Mouhoubi, 2018).

Les terpénoides ont plusieurs usages dans différents secteurs, ils sont largement utilisés dans le secteur de la nutrition humaine (saveur ; conservateur) et l'industrie du parfum (Van de Braak et Leijten, 1999).

Matériel et méthodes

Le travail expérimental ayant pour objet l'investigation phytochimique et l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydant, anti inflammatoire et antibactérienne pour divers huiles et extraits aqueux et organiques de la plante *Juniperus Phoenicea* L. L'étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie à l'université Abbes Laghrour–Khenchela, au cours du mois d'Avril 2024.

I. Matériel

I.1. Matière végétale

L'espèce sélectionnée *Juniperus Phoenicea* L. a été récoltée de la région de Bouhmama, Wilaya de Khenchela en mois de décembre 2023. Les feuilles ont été nettoyées et séchées à l'abri de l'humidité et la lumière du soleil pendant un mois. La partie utilisée de cette plante est les rameaux sur lesquels sont plaquées les petites feuilles. Après séchage, les feuilles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique pour l'obtention d'une poudre, cette dernière est conservée dans un flacon en verre bien hermétique jusqu'à son utilisation.

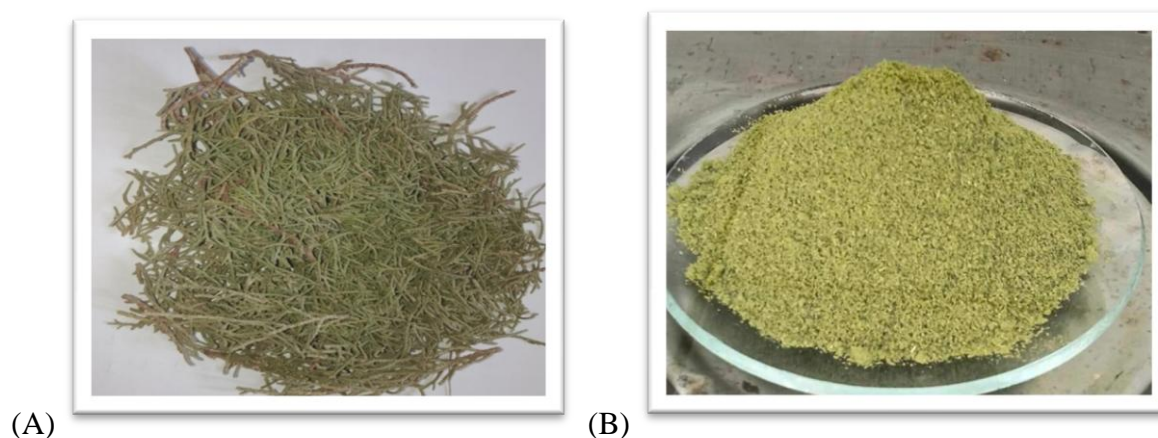


Figure 3. Photo de la plante *Juniperus Phoenicea* A-Feuilles sèches ; B-Poudre (**Photo originale**).

I.2. Matière microbienne

Les extraits et les huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* sont testées sur les six souches bactériennes et la levure *Candida albicans* et le champignon *Aspergillus niger*, pour leur fréquence élevée de contamination et de pathogénicité. Les souches bactériennes et fongiques proviennent du Laboratoire de Génie Microbiologie et Application, Université des Frères Mentouri Constantine.

Les souches sont des lots d'ATCC (Américain Type Culture Collection), elles sont entretenues par repiquage sur milieu nutritif gélosé favorable à leur croissance pendant 24h à 37°C et 48h à 25°C pour *Candida* et *Aspergillus*. Le tableau suivant présente les principales caractéristiques de ces bactéries.

Tableau 2. Souches utilisées dans l'activité antibactérienne.

Souches bactériennes	Références	Couleur de Gram	Type de Gram
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Rose	G (-)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Rose	G (-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Violette	G (+)
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 11778	Violet ou bleu foncé	G (+)
<i>Enterbacter spp</i>	Laboratoire de El-Hikma	Rose	G (-)
<i>Proteus spp</i>		Rose	G (-)

I.3. Produits utilisés

Une série de produits chimiques ont été utilisés pour la réalisation de ce travail de recherche. Ils sont représentés dans le tableau.

Tableau 3. Réactifs chimiques

Réactifs chimique	
<ul style="list-style-type: none"> -Fehling. -Serum bovine Albumine -Na₂HPO₄. -K₂H₂PO₄. -NaCl. -KCl. -n-butanol. -Toluène. -Chloroforme. -Acétate d'éthyle. -Acide formique ; Acide acétique. -éther de pétrole. 	<ul style="list-style-type: none"> -Acétone. -Réactif de Mayer ; Réactif Wagner. -Acide chlorhydrique (HCl) ; Acide acétique. -Chlorure de fer (FeCl₃). -Chloroforme (CHCl₃). -Chlorure d'aluminium. -Acide sulfurique (H₂SO₄) -l'ammoniaque. -Ninhydrine. -Légole. -chlorure ferrique ; Soude(NaOH).

I.4. Matériel du laboratoire

Appareillage utilisé	Matériel
-Spectrophotomètre (spectrum SP –UV 2005) -Chambre d'observation UV« 264/365 nm ». -Bain Marie. -Etuve universelle de 5 à 220 ° C avec ventilation. -Agitateur magnétique. -Balance. -Agitateur magnétique. -Vortex. -Balance analytique. -Réfrigérateurs. -Plaque chauffante. - Autoclave. -Congélateur. - pH mètre.	-Bécher. - Eprouvette graduée. - Pissette d'eau Ballon à fond rond. - Spatule. - Entonnoir. - Ballon à fond plat. - Fiole jaugée. - Tubes à essai. - Flacons. - Pince. - Papier filtre. - Pipette graduée. - Bec bunsen. - Micropipette. - Verre de montre. - Barreau Magnétique. - Boites de pétri. - Disque pour teste antibactérienne. - Fiole à vide.

II. Méthodes

II.1. Préparation des extraits

L'extraction est une étape très importante avant l'analyse quantitative et qualitative proprement dite. Varié selon la méthode d'extraction choisie et en fonction des composés photochimiques à étudier. Cette méthode est influencée par des facteurs comme le pH, la température, le rapport quantité de matière au volume du solvant, les intervalles de temps. Le nombre et les étapes d'extractions individuelles jouent également un rôle important dans cette procédure.

II.1.1. Préparation des extraits aqueux

L'extrait aqueux est préparé via les deux modes d'extraction traditionnelle : l'infusion, la décoction.

- **Extraction par infusion :**

30g de poudre est ajouté à 300 ml d'eau bouillon et mise en incubation pendant 30 min, le mélange obtenu est filtré sur papier filtre, le filtrat est mis dans l'étuve à 50°C pour l'évaporation jusqu'à ce qu'il sèche.

- **Extraction par décoction :**

300 ml d'eau est ajouté à 30 g de poudre et mis jusqu'à ébullition pendant 30 min puis filtré sur papier filtre avant d'être séché dans l'étuve à 50 °C.

II.1.2. Préparation des extraits organiques

Les solvants d'extractions les plus communément utilisés sont les alcools, l'acétone, le méthanol. Cependant, les composés très polaires tel que les acides phénoliques (benzoïque, cinnamique) ne peuvent pas être extraits complètement avec des solvants organiques purs. Les mélanges d'alcool eau ou acétone-eau sont recommandés. Les solvants moins polaires (dichlorométhane (DCM), chloroforme, hexane, benzène) sont utilisés pour extraire les composés apolaires (cires, huiles, stérols, chlorophylle...), l'acétate d'éthyle pour l'extraction des monoglycosides, le n-butanol pour la solubilisation des di- et les triglycosides (Wistel et *al.*, 2003). Les extractions se répéteront deux à trois fois et les extraits seront ensuite combinés.

II.1.2.1. Préparation des extraits méthanoliques brut

Le matériel végétal séché et broyé de masse 50 g a subi une macération dans un mélange hydro-méthanolique méthanol/eau distillée (8:2 V/V) 24 heures avec agitation continue à température ambiante. Après filtration à l'aide d'un papier Wattman, le résidu est macéré deux autres fois avec la même solution et le même volume. Les extraits bruts obtenu sont soumis à une évaporation de solvant à sec sous pression réduite à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif, l'extrait sec obtenu est en suite stocké à une température de +4°C.



Figure 4. Préparation de l'extrait hydrométhanolique (A- Macération 24h ; B- Filtration ; C-Evaporation au Rotavapeur (45°C)).

II.1.2.2. Fractionnement de l'extrait méthanolique brut.

L'extrait méthanolique brut est mélangé avec de l'eau distillée bouillante (500ml) et laissé à température ambiante pendant 24 heures. Après filtration, l'extrait brut est épuisé par des extractions liquide-liquide successives par deux solvants organiques de polarité croissante (acétate d'éthyle et n-butanol).



Figure 5. Photo montrant la séparation liquide – liquide.

Les différentes étapes de cette extraction sont résumées dans le protocole expérimental suivant :

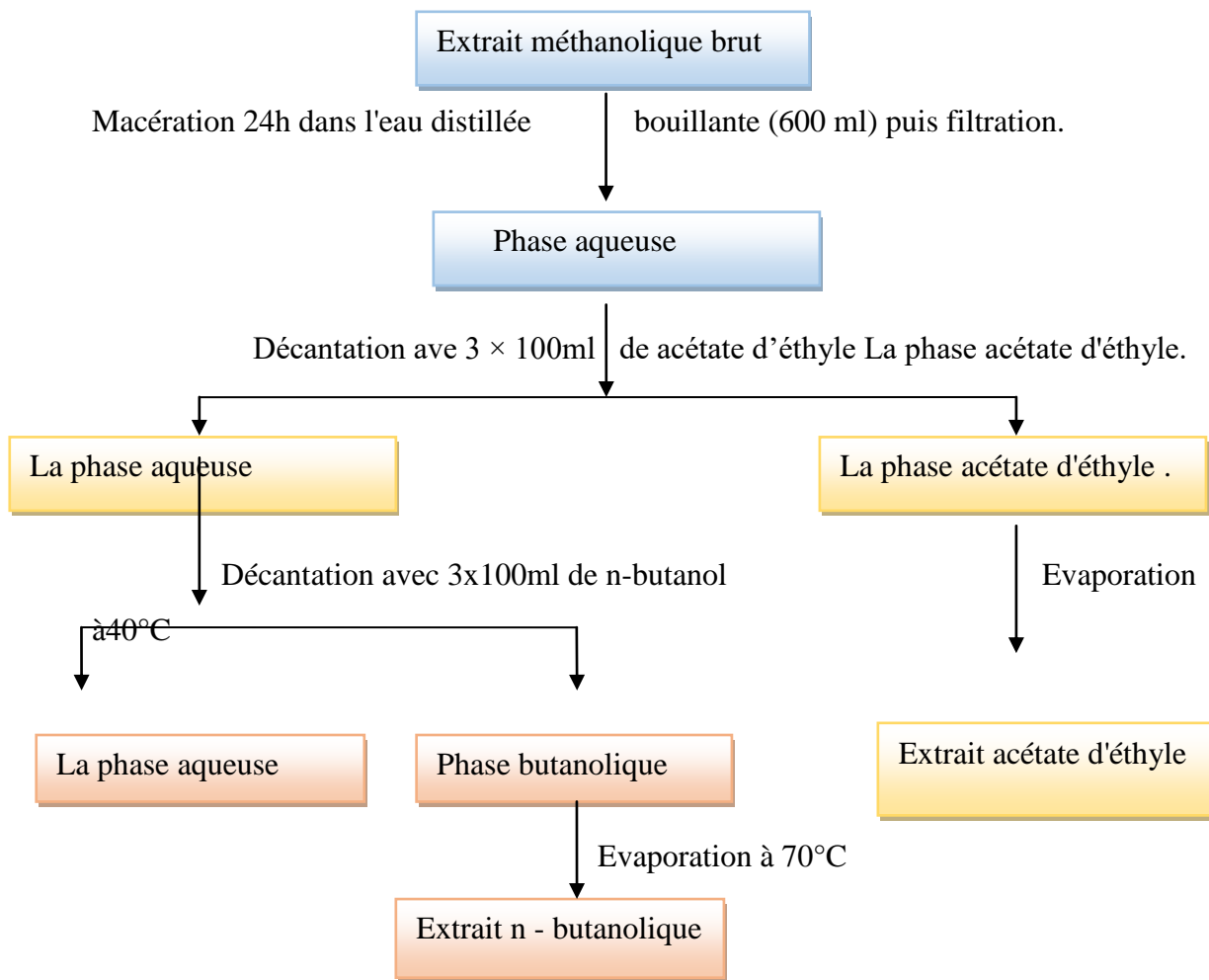


Figure 6. Protocole expérimental résumant les différentes étapes de fractionnement des extraits.

II.1.3. Extraction de l'huile essentielle (hydrodistillation)

Les huiles essentielles de genévrier sont obtenues par hydrodistillation de 100g de matière végétale (rameaux et feuilles). La durée de l'extraction est de 4 heures et l'opération est répétée à plusieurs reprises. La décantation de l'HE est réalisée dans une ampoule de 250ml, puis l'huile obtenue est séparée de la matière non organique en ajoutant à l'ensemble l'éther di-éthylique. Après évaporation du solvant organique, l'huile essentielle est conservée dans un flacon en verre à 4 °C.

L'huile commerciale testée possède plus de 60% d'huile végétale contenant de l'extrait de fruit de genièvre.

- **Calcul des rendements d'extraction**

Le rendement d'extraction correspond au pourcentage des principes actifs dissouts dans un solvant organique et/ou aqueux utilisé pour l'extraction. Il est déterminé à partir du poids de l'extrait sec ou d'huile essentielle obtenue par rapport au poids de la matière végétale sèche utilisée dans l'extraction.

Le rendement est exprimé en pourcentage massique par rapport à la quantité de matière sèche selon la formule :

$$R \% = m_0/m_1 \times 100$$

R % : Rendement en extraits exprimée en g /100g de matière sèche.

m₀: quantité de l'extrait récupérée exprimée en g.

m₁: quantité de la poudre végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g.

II.2. Screening phytochimiques

Le criblage phytochimique est un ensemble de réactions chimiques, basés sur des réactions de précipitations et / ou de colorations, qui permettent d'identifier la présence des principales catégories des substances chimiques naturelles contenues dans une plante et qui pourraient être responsables de propriétés pharmacologiques.

➤ **Les tanins :**

La détection des tanins est réalisée au moyen du test de Soulama et ces collaborateurs (2014). 2 à 3 gouttes de la solution de chlorure ferrique (FeCl₃ à 2%) sont ajoutées à 1ml de chaque extrait. L'apparition d'une coloration bleu foncé a signalé la présence des tanins galliques, tandis qu'une coloration vert foncé indique la présence des tanins catéchines. Une coloration bleu-verdâtre indique la présence des deux types de tanins.

➤ **Les alcaloïdes**

La présence d'alcaloïdes est révélée par la méthode d'Amana (2007), quelques gouttes du réactif de Bouchardât sont ajoutées à 2ml d'extrait. La formation d'un précipité brun-noir, brun - terne ou jaune - brun indique la présence de ces métabolites dans le milieu.

➤ **Les flavonoïdes**

2 à 3 gouttes de la solution de (AlCl₃ à 1%) sont ajoutées à 2ml de l'extrait aqueux de la plante. L'apparition d'une coloration jaune indique la présence des flavonoïdes (Edeaga et al., 2005).

➤ Les terpénoïdes

La méthode d'Aziman et *al.* (2012), permet de mettre en évidence la présence de terpénoïdes, 2.5 ml d'extrait est ajouté à 1 ml de chloroforme. Après homogénéisation, 1.5 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) est ajouté au mélange. La formation d'une couleur brun-rouge à l'interface indique la présence des composés.

➤ Les quinones libres :

2 ml d'extrait plus quelques gouttes de lessive de soude (NaOH 1 %) développent une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet en présence des quinones libres (Oloyede et Aina, 2005).

➤ Les composés phénoliques :

L'extrait (0.1 g) a été dissout dans 3ml d'eau distillée et 5 gouttes de FeCl₃ y ont été ajoutées. La présence des composés phénoliques a été marquée par l'apparition de la coloration bleu-verdâtre (Rosine et Momo, 2009).

➤ Les sucres réducteurs :

A 1 ml de chaque extrait on ajoute 2ml de solution Fehling puis les tubes sont incubés au bain marie pendant 20 min. Un test positif est indiqué par l'apparition d'un précipité de couleur rouge brique (Cai et *al.*, 2011).

➤ Les anthocyanes

La recherche des anthocyanes repose sur le changement de la couleur de l'infusé à 10 % avec le changement de pH: On ajoute quelques gouttes d'HCl, puis quelques gouttes d'ammoniac (NH₄OH). Le changement de la couleur indique la présence des anthocyanes (Debray et *al.*, 1971).

➤ Test de mousse pour les saponosides

La détection des saponines est réalisée au moyen du test de Yadav et Agarwala (2011) 1ml d'extrait, est ajouté a 3 ml d'eau distillée. Après agitation pendant 2 min la formation d'un mousse persistant indique la présence des saponines.

➤ Les anthraquinones

Ajoute 5 ml de NH_4OH à 10 ml d'extrait, après agitation leur présence est indiquée par une coloration violette (Okerulu et Aina, 2001).

➤ Les coumarines

L'extrait (1ml) plus 0,5 ml de NH_4OH à 25%, l'apparition d'une fluorescence intense sous une lampe UV à 366 nm dans le tube ou il a été ajouté l'ammoniaque indique la présence de coumarines (Okerulu et Aina, 2001).

➤ Les amines

On applique sur papier filtre une goutte de la solution méthanolique de l'extrait. Après séchage à 80°C dans l'étuve, le papier est pulvérisé avec quelques gouttes de ninhydrine puis séché à l'étuve à 110°C pendant 5 min. Des taches violettes sur le papier indiquent la présence des amines (Oloyede, 2005).

➤ Les mucilages

1ml d'infusé de la plante est ajouté à 5 ml d'éthanol après quelque minute. La formation d'un précipité indique la présence des mucilages (Études rwandaises, 1977).

➤ L'amidon

On ajoute quelque goutte de légole à 1ml d'infusé 5%, une coloration bleu foncé confirme la présence de l'amidon (Kanoun, 2011).

II.3. Criblage phytochimiques par chromatographie sur couche mince :

Nous avons effectué une chromatographie sur couche mince dans le but de séparer et identifier les différents composés des extraits hydro-méthanoliques, aqueux, la fraction d'acétate d'éthyle (FAC), butanolique (FBU) et les huiles essentielles de la plante gévrier. Six systèmes de solvants organiques à polarités différentes ont été testés pour la séparation des composés des extraits et des huiles de la plante composé de :

- **Système 1** : Toluène/ acide acétique/ Méthanol (10/6/2) (v/v/v).
- **Système 2** : Chloroforme/ Méthanol / Eau (13/3/4) (v/v/v)
- **Système 3** : Acétone/Eau (2/2) (v/v).
- **Système 4** : n-Butanol / Acide acétique glacial/ Eau (8/2/10) (v/v/v).
- **Système 5** : Chloroforme/ acétone/ Acétate d'éthyle (32/16/6) (v/v/v).

- **Système 6** : Acétate d'éthyle/ acide formique/ Acétate acétique / Eau (50/6/6/14) (v/v).

A l'aide d'une micropipette (10 µl) les échantillons à séparer qui sont préalablement solubilisés dans le méthanol (50 mg/ml), déposés sur la plaque d'une façon perpendiculaire et linéairement. Plusieurs dépôts successifs du même analyte en même endroit peuvent être effectués. A l'aide d'un crayon les différents spots sont marquées, et les plaques sont séchées, puis observées sous lumière UV à 264 et 365nm dans une chambre. Les plaques obtenues sont ensuite révélées par pulvérisation avec trichlorure d'aluminium (AlCl₃) 1%, obtenue par solubilisation du AlCl₃ dans l'éthanol.

La fluorescence sous UV, la coloration après révélation et le facteur de rétention (Rf) ; sont des caractéristiques propres pour chaque spot obtenu à la fin de migration et révélation.

Le facteur de rétention (Rf) est calculé via l'équation :

$$Rf = d/D$$

d : Distance parcourue par le constituant.

D: Distance parcourue par le solvant.

II.4. Dosage des composés phénoliques

Principe :

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et *al.*, 1999). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif de Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleu constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Boizot, 2006).

Mode opératoire :

Dans des tubes à essai, un volume de 100 µl de chaque extrait (1mg/ml) a été ajouté à 500 µl de réactif Folin Ciocalteu dilué 10 fois, après 5 minutes en obscurité, 400 µl d'une solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7,5 % a été ajouté, le mélange est incubé dans l'obscurité pendant 30 min. Un blanc est parallèlement préparé suivant le même protocole tout en remplaçant l'échantillon testé par le méthanol. L'absorbance est lue à 765 nm.

Chaque lecture est répétée trois fois. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0-200 µg/ml). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/ g).

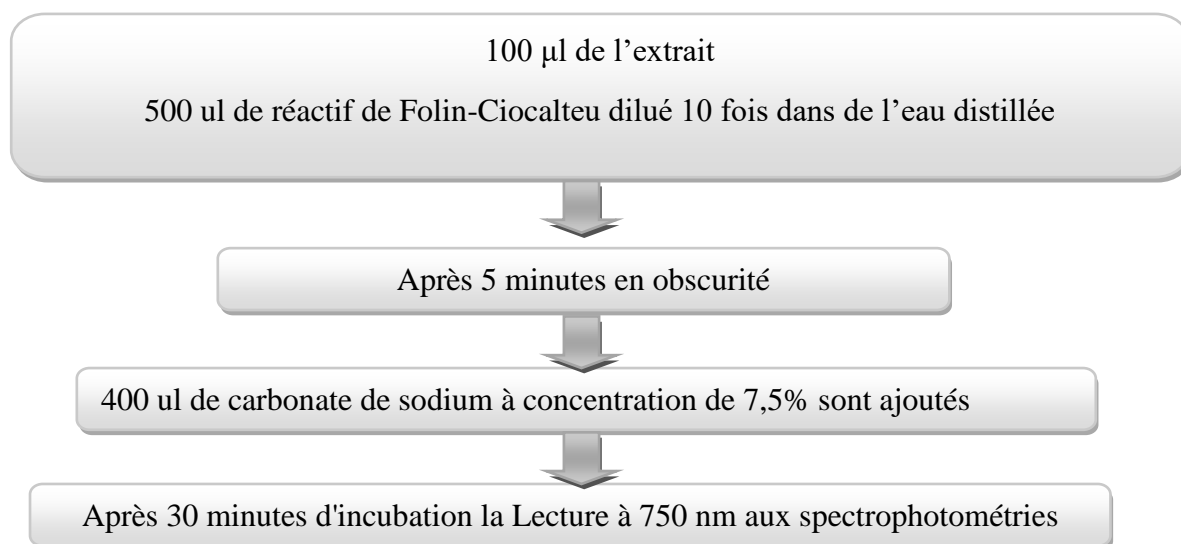


Figure 7. Protocole de dosage des composés phénoliques (Singleton et al., 1999).

II.5. Dosage des flavonoïdes

Principe :

La teneur en composés flavonoïdes dans les extraits étudiés de la plante de *Juniperus Phoenicea* est basée sur la formation d'un complexe entre $(AlCl_3)$ et les flavonoïdes (Topçu et al., 2007).

Mode opératoire :

0.5 ml d'extrait a été ajouté à 0.5 ml de la solution d' $AlCl_3$ (2% préparé dans le méthanol) le mélange est vigoureusement agité. Après 1h d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est lue à 430 nm. Une courbe d'étalonnage établie par la Quercétine, réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons, servira à la quantification des flavonoïdes.

Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent de la Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g).

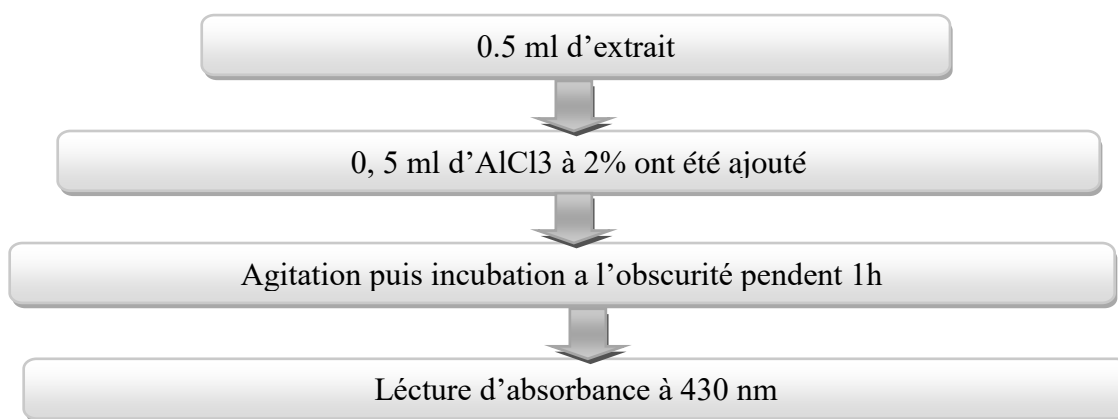


Figure 8. Protocole de dosage des flavonoïdes (Topçu *et al.*, 2007).

II.6. Evaluation de l'activité antioxydante par diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH)

L'activité du DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par Blois (1958), le principe de cette méthode est la réduction du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette en 2,2 diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune. La réduction du DPPH• en DPPH-H se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie a 517 nm (Popovici *et al.*, 2010).

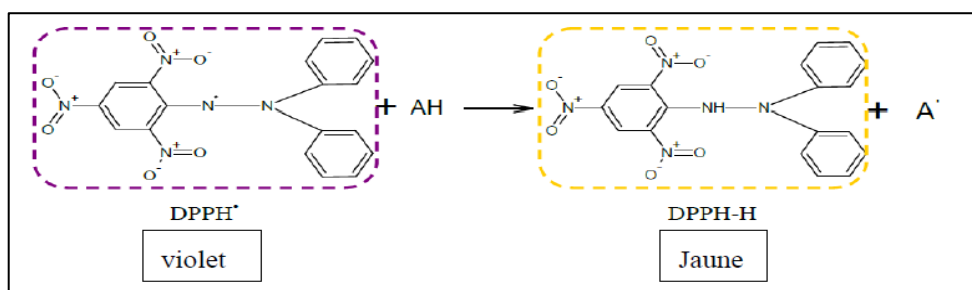


Figure 9. Réduction du radical DPPH°.

Brièvement, un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait (0.05 - 0.075 - 0.0125- 0.02 mg/ml) est ajouté à 1950 µl de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l) fraîchement préparée et le mélange est vortexé. Le témoin positif; acide ascorbique est. Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour l'Acide Ascorbique pris comme un antioxydant standard, préparé avec les mêmes concentrations et dans les mêmes conditions.

L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante:

$$Inhibition(\%) = \frac{A_{Blanc} - A_{Extrait}}{A_{Blanc}} \times 100$$

A_{Blanc} est l'absorbance de la réaction contenant que les réactifs.

$A_{Extrait}$ est l'absorbance de la réaction contenant l'extrait.

➤ Calcul des IC50

IC50 (Efficient concentration 50), permet de déterminer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH, une faible valeur de IC₅₀ correspondant à une grande efficacité de l'extrait. Elle est calculée graphiquement à partir des graphes tracés « pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations » de nos extraits en utilisant le logiciel de Microsoft Excel (Fabri et *al.*, 2009 ; Scherer et Godoy, 2009).

II.7. Activité anti-inflammatoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* consiste à préparer quatre solutions. Elle a été effectuée sur les extraits de la plante *juniperus phoenicea* selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (Sangita et Priyanka, 2012).

- **La solution d'essai** (Ts) (0,5 ml) composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (BSA) 5 % et 0,05 ml des extraits de la plante avec les concentrations 250,500 et 1000µg/ml.
- **La solution control test** (Tc) (0,5 ml) composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 5 % et 0,05 ml d'eau distillé.
- **La solution contrôle produit** (pc) (0,5 ml) composé de 0,45 ml d'eau distillé et 0,05 ml des extraits de la plante avec les concentrations 250,500 et 1000µg/ml.
- **La solution standard test** (ss) (0,5 ml) compose de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 5 % et 0,05 ml de la solution de standard diclofénac sodium avec les concentrations 250,500 et 1000µg/ml.

Les échantillons ont été incubés à 37 ° C pendant 20 min, ensuite la température était augmenté pour garder l'échantillon à 57°C pendant 3 min, après refroidissement des tubes, 2,5ml de la solution phosphate buffer saline « tampon » (pH 6,3 ajustée par une solution d'HCl (1N)) a été ajouté aux solutions ci-dessus, l'absorbance a été lue par le

spectrophotomètre UV –visible à 416 nm, et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé comme suit:

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 - \text{ATs} - \text{Apc} / \text{ATc} \times 100$$

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées ; et les résultats sont comparés avec le diclofénac sodium.

ATs : absorbance de la solution d'essai.

Apc : absorbance de la solution contrôle produit.

ATc : absorbance de la solution control test.

II.8. Activité antimicrobienne

Les différents extraits aqueux, organiques et les huiles ont été testés sur différentes souches de microorganismes, en vue de déterminer leur efficacité. L'activité antibactérienne et antifongique des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé cité par Treki et *al.* (2009) et Meddour et *al.* (2013).

- **Repiquage des souches testées**

Dans des conditions stériles, les différentes souches testées à l'aide d'un écouvillon stérile, ont été repiquées par la méthode des stries sur des boîtes de pétri contenant des milieux sélectifs appropriés aux souches microbiennes utilisées (le milieu PDA pour les champignons et gélose nutritive pour les bactérie), puis incubés à 37°C pendant 18 à 24 heures les bactéries et de 48h à 72h la levure, afin d'obtenir des colonies jeunes et bien isolées et représentatives. Il est possible de poursuivre la culture et le repiquage des souches à partir de ces boîtes fraîchement obtenues.

- **Préparation des suspensions microbiennes (l'incolum)**

A partir des cultures jeunes, prélever quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sur le milieu de culture à l'aide d'une anse de platine, puis les décharger dans l'eau physiologique 0.9% Na Cl. La suspension microbienne est bien agitée de telle manière à obtenir une densité optique comprise entre 0.1 à 0.2 pour une longueur d'onde de 620 nm (approximativement 10⁶ CFU/ml).

- **Préparation des milieux de cultures**

Nous avons coulé le milieu Mueller Hinton dans des boîtes de pétri (4 mm d'épaisseur) pour les souches bactériennes et Sabouraud pour la levure étudiée, et les laissons sécher.

- **Ensemencement**

Plonge un écouvillon stérile dans les différentes suspensions bactérienne/levure (l'inoculum), nous avons ensemencé des boîtes de Mueller Hinton et de Sabouraud par la méthode des quatre quadrants puis les incubés à 37°C.

- **Dépôt des disques**

Les disques des papiers Whatman N°1 ont été découpés avec diamètre égale à 6 mm, puis stérilisés dans une boîte en verre, ils ont été ensuite imprégnés avec chaque extrait à raison de 10µl des différentes concentrations des sept extraits. Des disques de DMSO utilisés comme témoins négatif ont été préparés. À l'aide d'une pince stérile les disques sont déposés aseptiquement à la surface du milieu ensemencé. Deux boîtes sont utilisées pour chaque souche. Les boîtes sont ensuite conservées pendant 12h à 4° C, puis incubées à 37°C pendant 18h-24h pour les bactéries et à 28°C pendant 48h pour la levure.

- **Lecture des résultats**

Après l'incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition d'une zone circulaire transparente autour de disque correspondant à l'absence de la croissance. L'activité antimicrobienne est déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque (Chbani et *al.*, 2011). Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (Choi et *al.*, 2006 ; Etobo et *al.*, 2017).

Selon (Ponce et *al.*, 2003 ; Moreira et *al.*, 2005), la sensibilité des germes a été classée par le diamètre des halos d'inhibition comme suit : non sensible (-) pour les diamètres moins de 8 mm ; sensible (+) pour les diamètres de 9 à 14 mm ; très sensible (++) pour les diamètres de 15 à 19 mm et extrêmement sensible (+++) pour les diamètres de plus de 20 mm.

II.9. Analyse statistique

Toutes les expériences ont été faites en triple. Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm L'écart-type.

Résultats et discussion

Notre travail consiste à effectuer une étude phytochimique et évaluer le rendement, le dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux et l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne et antifongiques des extraits et des huiles des feuilles de la plante *Juniperus Phoenicea*.

I. Analyse qualitatives des extraits la plante *Juniperus Phoenicea* L.

I.1. Rendement de l'extraction

Les résultats du rendement d'extraction des parties aériennes de *Juniperus Phoenicea* sont exprimés en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de matière végétale sèche. Ces rendements sont regroupés dans le tableau 4.

Tableau 4. Rendement d'extraction de la plante de *Juniperus Phoenicea* L.

Extrait	Masse initiale(g)	Masse finale(g)	Rendement (%)
Aq1 décocté	30	4	13.33%
Aq2 l'infusé	30	5	16.66%
Méthanolique	50	12	24%
a-Acétate	50	0,5	0.1%
n-butanol	50	0,32	0.08%
L'huile	3000	5	0,16%

Les rendements les plus élevés ont été observés pour l'extrait méthanolique avec 24%, suivi par l'extrait aqueux par infusion pour l'espèce étudiée avec 16.66 %, alors que les autres phases extraites ont été obtenues avec des rendements modérés.

I.2. Caractères organoleptiques

Les caractères organoleptiques de L'HEs des plantes, obtenus par hydrodistillation, sont présentés dans les tableaux, ci-dessous :

Tableau 5. Caractères organoleptiques des huiles des plantes

Origine	Caractères organoleptiques		
	Aspect	Couleur	Odeur
HE obtenus au Laboratoire	Liquide	Jaunâtre	Forte odeur
HE Commerciale	Liquide	Jaunâtre	Faible odeur

Le rendement obtenu des extraits de la plante *Juniperus phonique* étudiée varient de 0,08% à 20,4% et dépendent des facteurs mis en jeu (solvant et concentration).

Ce taux est relativement supérieur à celui des extraites de la même espèce de celui trouvé par l'étude d'Ennajar et *al.* (2009) qui a été de l'ordre de 26,2 % et Messaouidi (2017) qui a été de l'ordre de 11.72 % (feuilles) et 2.59 % (aqueux) et 0.64 butanolique et 1.52% d'acétate d'éthyle.

Les différences entre les rendements d'extraction obtenue pour les variétés poussant dans différentes régions d'études sont liées aux facteurs climatiques (chaleur, froid, stress hydrique), géographique (altitude, nature du sol, taux d'exposition au soleil) et génétique (Benzidi et Litim, 2016).

Le rendement obtenu des huiles essentielles extraites de la plante *Juniperus Phoenicea* étudiée est de l'ordre de 0,16 %. Toutefois, ces taux restent supérieure par rapport à ceux des genévriers rouges de la Grèce (0,58 % pour les rameaux) (Adams et *al.*, 1996), de la sous-espèce turbinât a d'Espagne (0,66 % pour les rameaux) (Adams et *al.*, 1996) et de la sous-espèce eu mediterranea du Portugal (0,41 % pour les rameaux) (Adams et *al.*, 1996) mais inférieure à ceux d'Égypte (0,96 % pour les fruits) (El-Sawi et *al.*, 2007) et de Tebassa (des feuilles 2.37 %) est le plus élevé par rapport à celui des autres pays (Ismaghil et Goundiam, 2020). Cette différence en teneurs des HEs peut être expliquée probablement par l'âge de la plante et par différents facteurs génétiques, climatologiques (température, humidité...), pédologiques (texture du sol, fertilisation...) et autres. De plus, la saison de récolte et la différence entre les étages climatiques et aussi la période de récoltées.

I.3. Tests phytochimiques préliminaires

Les tests phytochimiques permettent de déterminer les différentes familles de composés qui existent dans les extraits de *J.phoenicea* par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs

spécifiques à chaque famille de composés ainsi que des examens en lumière ultraviolette. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6. Résultats des tests phytochimiques des extraits de la plante *J.phoenicea*

Les composés	Existence	Couleur
Flavonoïdes	++	Jaune
Tanins	+++	Bleu foncé
Alcaloïdes	++	Brun terne
Terpènoïdes	+++	Brun rouge
Saponosides	+	Précipité blanc
Anthocyanes	--	Aucun changement
Quinones libres	++	Rouge
Composées phénoliques	+++	Bleu verdâtre
Coumarines	--	Aucune
Les sucres réducteurs	+++	Rouge brique
Mucilages	--	Aucune
Amidon	--	Aucune
Amines	--	Aucune

(-) : absence, (+) : présence faible, (++) : présence forte, (+++) : Présence hautement

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur *Juniperus phoenicea* ont montré la présence des alcaloïdes, terpènoïdes, tannins totaux, composés réducteurs, les composées phénoliques et les quinones libres en grand quantité. Les flavonoïdes sont présents en quantité modérée et les saponosides sont présents en faible quantité. Les coumarines, mucilages, amines, amidon et les anthocyanes sont absents.

Les résultats de Telaidji (2018) sur *Juniperus Phoenicea* sont comparable à nos résultats (la présence des tanins, flavonoïdes, les alcaloïdes, les saponines, Quinones libres, les composées phénoliques, les sucres réducteur). D'autres résultats reportés par Kalkoul et Mouhoubi (2018) ont montré l'absence des Saponines et les alcaloïdes dans les feuilles de *Juniperus Phoenicea*.

Les tests phytochimiques réalisés sur les feuilles de *Juniperus Phoenicea* de la région de Naâma ont démontré la présence des tanins et des saponosides et l'absence des anthocyanes et quinones libre (Bouyahyaoui, 2011 ; Kaddour et Irari, 2018). Les alcaloïdes

sont absents dans les résultats de Beddiar (2016) et Kaddour et Irari (2018) à l'inverse de Bouyahyaoui (2011) ceci est comparable à nos résultats.

La présence de ces polyphénols au niveau des deux plantes étudiées explique leur fort pouvoir thérapeutique. Notamment, la richesse de ces plantes en tanins qui ont un pouvoir bactériostatique ou bactéricide sur plusieurs souches bactériennes (Chung et Wei, 2001), ils permettent aussi de lutter contre les infections et drainer les sécrétions excessives comme les diarrhées (Ybert *et al.*, 2000).

I.4. Chromatographie sur couche mince CCM

Dans le but de séparer et savoir les compositions de Genévrier. Nous avons effectué une chromatographie sur couche mince pour les extrais aqueux (1) et (2), l'huile de laboratoire, l'huile commerciale, l'extrait hydro-méthanolique, la fraction acétate d'éthyle et butanolique, sur une plaque de gel de silice en utilisant six systèmes d'élution. La révélation est réalisée par l' AlCl_3 , et l'observation est faite sous lumière ultraviolette.

Le système solvant utilisé Toluène/ acide acétique/ Méthanol (10/6/2) (v/v/v) a permis d'obtenir une très bonne séparation chromatographique des extraits polaires, selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction. Les chromatogrammes obtenus lors du criblage phytochimique par CCM sont illustrés dans les figures 16.

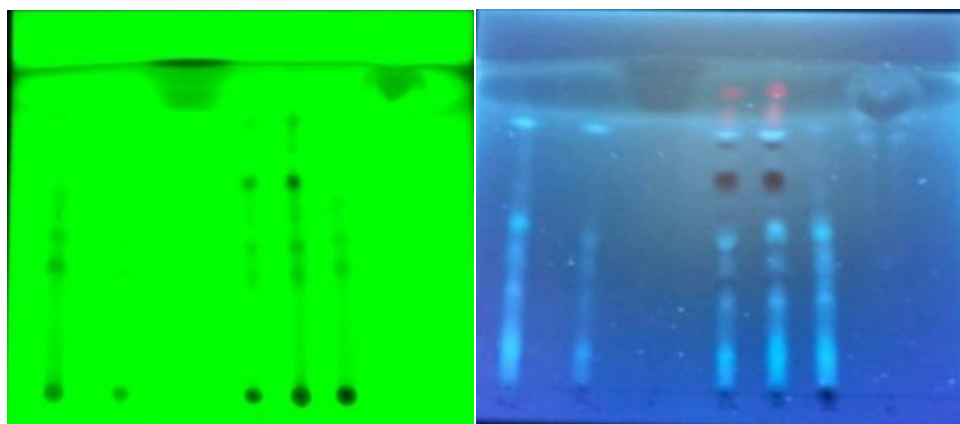


Figure 10. Chromatographie sur couche mince *Juniperus Phoenicea* (sous UV à 254 nm à 365 nm)

La révélation des spots sous UV permet la détection de plusieurs taches selon la polarité et l'élution des composés des huiles et des extraits de la plante.

Tableau 7. Les mesures de rapport frontal Rf de la chromatographie sur couche mince des huiles et des extraits de *Juniperus Phoenicea*.

Extraits	Système n° 01		
	N° des spots	Couleur	RFs cm
Aq1	01	Blanc	0,21
	02	Blanc	0,4
	03	Blanc	0,5
	04	Blanc	0,8
Aq2	01	Blanc	0,36
	02	Blanc	0,47
	03	Blanc	0,79
Huile	01	Noir	0,96
Huile c	01	Noir	0,96
MeOH	01	Noir	0,33
	02	Blanc	0,45
	03	Noir	0,65
	04	Blanc	0,75
	05	Rouge	0,83
	06	Rouge	0,93
a-Acétate	01	Blanc	0,34
	02	Blanc	0,45
	03	Noir	0,65
	04	Blanc	0,75
	05	Rouge	0,83
	06	Rouge	0,93
N-butanol	01	Blanc	0,38
	02	Blanc	0,47

A titre comparatif, les extraits poly phénoliques de MeOH sont plus riches en composés phénoliques (12 spots) que ceux des extraits aqueux (8 spots et 5 spots), avec variabilité des Rf et des couleurs.

Ces résultats ont été confirmés en aval par le dosage des polyphénols et l'activité antioxydante.

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

II.1. Teneur en phénols totaux des extraits de feuilles de *J. Phoenicea*.

La teneur en phénols totaux des extraits de genévrier est déterminée par la méthode colorimétrique de Folinciocalteu. Les composés phénoliques ont été quantifiés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique.

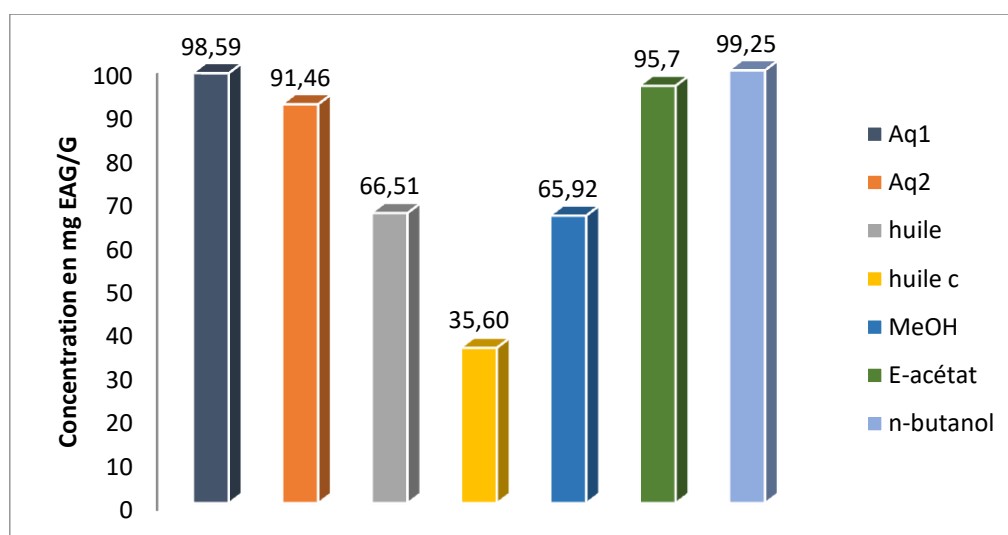


Figure 11. Teneurs en phénols totaux des extraits étudiés de la plante *Juniperus*.

Les résultats obtenus montrent que la plante *Juniperus Phoenicea* est riche en polyphénols avec une teneur en phénols totaux pour toutes les fractions qui varie entre 35,5 mg GAE/g et 99,25 mg GAE/g d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait. Nous constatons aussi que les fractions des extraits acétate d'éthyle et de n-Butanol renferment des concentrations assez élevées en polyphénols par rapport aux autres fractions.

Dans notre étude les teneurs en phénols et flavonoïdes totaux de *Juniperus phoenicea* sont respectivement ($15.27 \pm 0.57 \mu\text{g EAG/mg Ext}$) et ($3.504 \pm 0.05 \mu\text{g EQ/mg Ext}$) sont plus élevés par rapport une autre étude faite en Turquie Selon Elmhdwi et al (2015), il a été trouvé que la teneur totale en phénols et flavonoïdes trouvé dans l'extrait méthanolique (1,361, 1,266 à 500 $\mu\text{g} / \text{ml}$) respectivement.

Menaceur *et al.* (2013) a trouvé L'équivalent d'acide gallique représentant des constituants phénoliques totaux de l'extrait éthanolique de *Juniperus phoenicea* était de 308 mg EAG/g et l'équivalent de quercétine représentant les flavonoïdes totaux était de 20 mg QE/g.

II.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium en utilisant la courbe d'étalonnage obtenue avec la quercétine.

Les flavonoïdes ont été quantifiés en milligrammes équivalent de quercétine par gramme de la matière sèche (mgEQ/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de La quercétine.

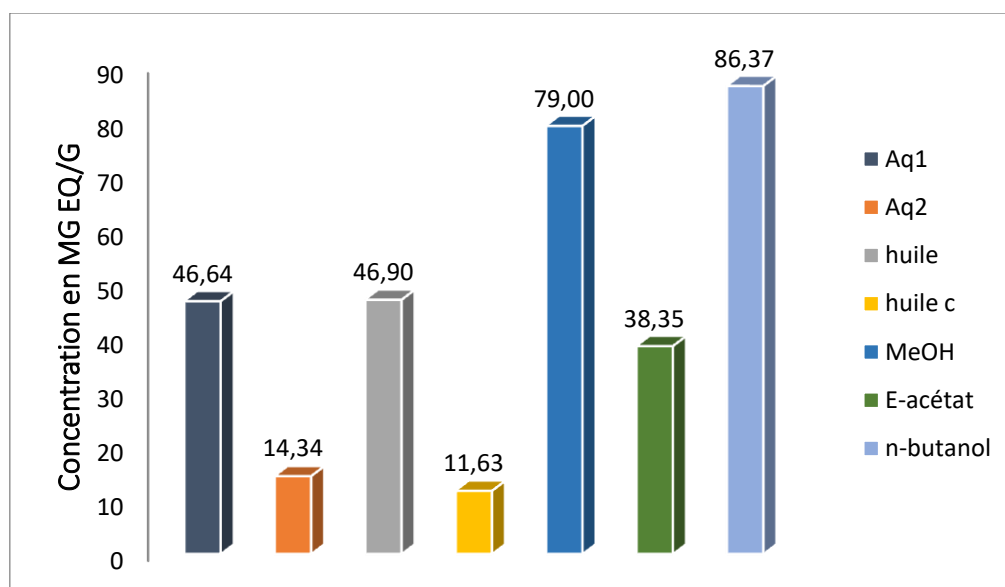


Figure 12. Teneurs en flavonoïdes des extraits étudiés de la plante *Juniperus*

Les résultats obtenus montrent que la plante de *Juniperus Phoenicea* est riche en flavonoïdes avec une teneur qui varie entre 11,62 mg EQ/g et 86,73mg EQ/g d'équivalent de la quercétine par gramme d'extrait. Nous constatons aussi que les fractions des extraits méthanolique et d'acétate d'éthyle renferment des concentrations assez élevées en flavonoïdes.

Nos résultats sont proches à ceux trouvés dans l'étude de Soltani *et al.* (2017) qui ont analysé la teneur de l'extrait méthanolique en composés phénoliques et flavonoïdes des feuilles du genévrier de Phénicie, les teneurs obtenues sont (114,00mg EAG/g) et 98,36 mg EQ/g d'extrait, respectivement. De même, KaddouretIrari (2018) a trouvé l'équivalent d'acide

gallique représentant des constituants phénoliques totaux de l'extrait méthanolique de *Juniperus Phoenicea* était de 100 mg EAG/g d'extrait.

Cependant, nos résultats montre des teneurs plus par rapport aux résultats trouvés par Djeridane et *al.* (2006) qui est de l'ordre de 12,7 mg EAG /g et 15.27 µg EAG /g de l'étude de Brahimi (2017).

Alors que l'étude menée par Keskes et *al.* (2014) indique que les teneurs en Polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux obtenues sont (extrait méthanolique : 265 mg EAG /g et 176 mg EQ/g d'extrait; extrait Acétate d'éthyl: 180.8 mg EAG /g et 104 mg EQ/g) respectivement. Ennajar et ces collaborateurs (2011) ont trouvé des teneurs de 217 mgEAG/g Ps et 20.9 mg EQ/g respectivement pour les extraits méthanolique des feuilles, la première teneur est relativement élevée et la deuxième est relativement faible à nos résultats.

Hayouni et *al.*(2007), ont constaté que la teneur en polyphénols, de genévrier de Phénicie provenant de la Tunisie, défère selon le solvant et la méthode d'extraction ils ont trouvé que la quantité de phénols totaux variait dans les différents extraits (de 66 à 202 mg GAE/g MS). Ainsi que les conditions (à chaud ou à froid), affectent tous le contenu total en phénols et flavonoïdes, et par conséquent affecté les activités biologiques méditées par ces métabolites (Okmu, 2005).

Néanmoins, les résultats du dosage des composés phénoliques ne donnent pas les valeurs exactes des teneurs en polyphénols, car malgré la grande sensibilité de la méthode de Folin-Ciocalteu, elle peut présenter des problèmes d'interférence. En effet, le réactif Folin-Ciocalteu peut réagir avec les acides aminés (tyrosine, tryptophane), et les sucres réducteurs comme le g glucose.

Les extraits	flavonoïdes	polyphénoles
Aq1	46.64±0.55	98.59±0.91
Aq2	14.34±0.2	91.46±0.89
Huile	46.90±0.52	66.51±0.58
Huile-c	11.63±0.08	35.60±0.69
MeOH	79±0.67	65.92±0.77
Extrait acétat	38.35±0.70	95.7±0.92
Extrait n-butanol	86.37±0.82	99.25±0.94

II.3. Activité antiradicalaire au DPPH

L'activité antiradicalaire des extraits vis-à-vis le radical DPPH a été évaluée par Spectrophotométrie à 517 nm, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune.

Les résultats sont présentés dans les courbes illustrées dans la figure19 :

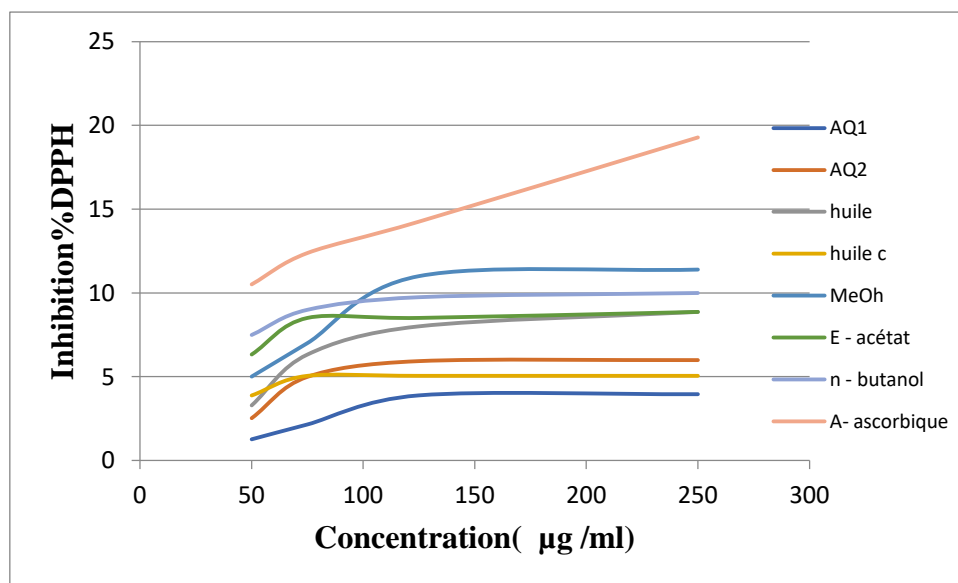


Figure 13. Activité antiradicalaire (DPPH) des extraits des baies de *Juniperus Phoenicea*.

D'après les résultats obtenus, on a constaté que les sept extraits présentent une augmentation proportionnelle de l'inhibition de DPPH par rapport aux concentrations utilisées.

Les extraits organiques du *Juniperus* ont montrés un pouvoir antioxydant nettement plus important que ceux des extraits aqueux par infusion ou décoction. L'extrait méthanolique et l'extrait butanolique ont été le plus actif suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle.

Pour mes huiles essentielles de l'espèce, le pouvoir antioxydant de l'huile de laboratoire est plus actif par rapport aux huiles commerciales.

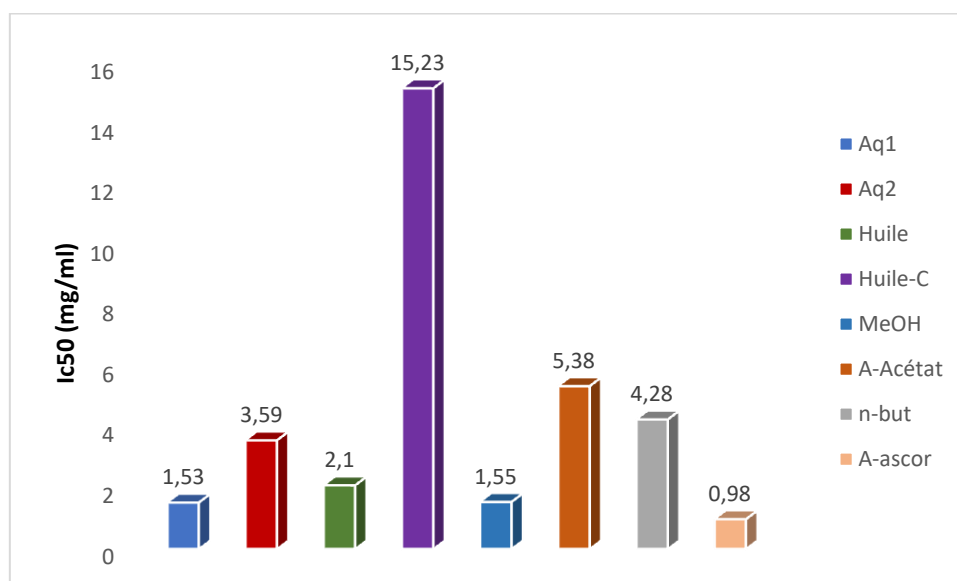


Figure 14. Graphique de la concentration IC₅₀% (mg/ml) des extraits de *Juniperus Phoenicea*.

Les valeurs des IC₅₀ exprimées en mg/ml, calculées graphiquement à partir des droites de régression obtenues, représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait testé. Cette activité est exprimée en IC₅₀, plus la valeur de IC₅₀ est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant. Les résultats des IC₅₀, inversement proportionnelles à l'activité antiradicalaire, sont compatibles avec les pourcentages d'inhibition.

D'après les résultats du tableau, nous constatons que l'extrait méthanolique possède des propriétés antioxydantes la plus forte (IC₅₀=1,55 mg/ml) en le comparant au standard l'acide ascorbique (IC₅₀=0,98 mg/ml), suivi par l'extrait butanolique et acétate d'éthyle avec des IC₅₀=4,28 mg/ml et IC₅₀=5,38 mg/ml, respectivement.

Les huiles essentielles de laboratoire à un IC₅₀ plus faibles que l'huile commerciale (IC₅₀ de 2,01 et 15,23 mg/ml, respectivement).

L'acide ascorbique utilisé comme référence standard, a la valeur IC₅₀ la plus basse de 0,98mg/ml. Ces résultats soulignent l'efficacité des extraits de *Juniperus Phoenicea* en tant qu'antioxydants puissants, comparables aux antioxydants standards comme l'acide ascorbique.

Nos résultats sont proches à ceux trouvés dans l'étude des recherches de Ennajar et *al.*, (2011) sur l'activité antioxydante de *J. Phoenicea* qui a montré que l'activité de piégeage des radicaux par DPPH pour les extraits, l'extrait au méthanol (IC₅₀ 8,5 ± 0,3 mg/L) était

supérieur à tous les échantillons testés ; éthanolique ($49,1 \pm 0,6$ mg/L), l'acétate d'éthyle ou le dichlorométhane qui présentent des effets modérés de piégeage des radicaux. (273 ± 4 mg/L et $1\ 052 \pm 12$ mg/L, respectivement). Les huiles essentielles de feuilles ($IC_{50} 5364 \pm 121$ mg/L, respectivement).

Une étude de l'activité antioxydante par la méthode DPPH a été faite par Elmhawi et *al* (2015) sur des extraits : acétonique, éthanolique et méthanolique de *Juniperus phoenicea*. Les résultats de pourcentage d'inhibition selon les concentrations (100,200,300,400,500 μ g/ml) sont (37,59,70,83,92%) respectivement de l'extrait méthanolique. L'acide ascorbique a utilisé comme antioxydant standard a une pourcentage d'inhibition de (72.3, 80.8, 89.1, 92.8, 96.7%) et l'huile essentielle présentait une capacité antioxydante relativement faible.

Medini et *al.* (2013) ont montré que les extraits méthanoliques des feuilles possèdent une activité oxydante moins actives que celle de la vitamine C (standard) (IC 50 entre 3.1 μ g/ml et 20.38 μ g/ml de différentes régions). Keskes et *al.*, (2016) ont montré aussi que l'extrait méthanolique des feuilles possède une activité antioxydante moins active que celle de BHT (IC 50 = 28.0 ± 0.1 μ g/mL ; 18.1 ± 0.2 μ g/ml).

Selon Menaceur et *al* (2013), l'extrait d'éthanol de *Juniperus Phoenicea* est révélé être efficace pour l'inhibition de DPPH, par rapport aux huiles essentielles et à l'antioxydant chimique BHT (IC = $9,8 \pm 0,1$ et $28 \pm 0,7$ mg /l) respectivement.

II.4. Activité Anti-inflammatoire (Inhibition de la dénaturation du BSA)

Le tableau montre les résultats de l'activité anti-inflammatoire des extraits bruts de *Juniperus Phoenicea* qui consiste à évaluer les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de Bovine sérum albumine (BSA).

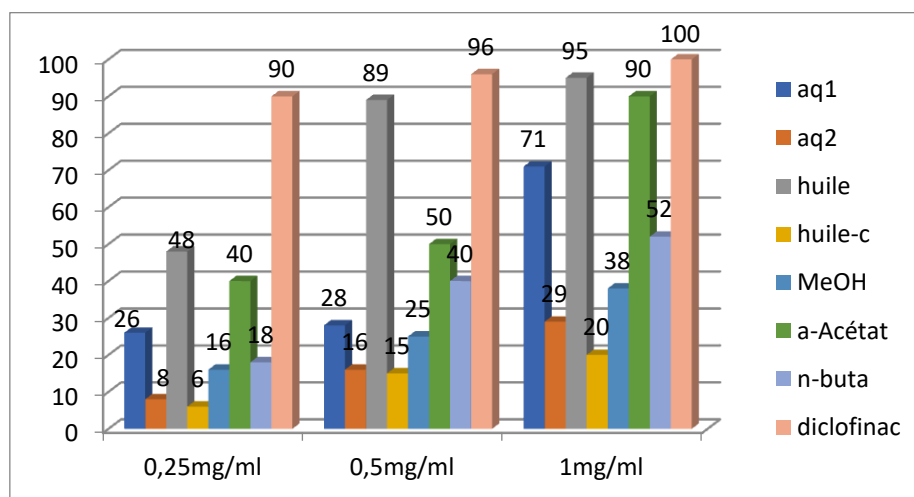


Figure 15. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA des extraits bruts du *Juniperus Phoenicea*.

D'après les résultats, il semble qu'il y a une relation proportionnelle entre l'augmentation de la concentration et le pourcentage de la dénaturation de BSA par le diclofénac et par les deux extraits de la plante étudiée.

Nos résultats montrent que le pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA pour les extraits était inférieur à celui du diclofénac pour toutes les concentrations utilisées. Pour une concentration de 1 mg/ml le diclofénac a relevé un pourcentage d'inhibition maximale de la dénaturation du BSA de 100%.

Une très forte activité anti-inflammatoire, atteignant presque plus de 9% à la concentration de 1 mg/ml, ce qui indique qu'ils sont presque aussi efficaces que le diclofénac. L'huile commerciale montre la plus faible activité anti-inflammatoire.

Huile-c et a-Acétat sont les extraits les plus prometteurs, avec des activités proches du diclofénac à des concentrations plus élevées. MeOH et n-buta montrent une efficacité croissante avec la concentration, mais restent inférieurs à Huile-c et a-Acétat. aq1, aq2, et huile montrent une activité anti-inflammatoire relativement faible comparée aux autres extraits et au contrôle positif. En résumé, les extraits Huile-c et a-Acétat présentent une activité anti-inflammatoire notable, surtout à des concentrations plus élevées, suggérant leur potentiel pour des applications anti-inflammatoires.

Selon Ghouti et *al.*, (2018) L'effet anti-inflammatoire a été quantifiées grâce auoxyde nitrique (NO)révélé l'inhibition du NO proproduction avec des valeurs IC₅₀ comprises entre 51 ± 4 et 122 ±6 µg / ml, la plus élevée a été pour l'extrait hydroéthanolique que l'extrait aqueux.

Cette activité pourrait être attribuée à la forte teneur en acide 3-p-coumaroylquinique et en dérivé flavonoltives trouvées dans cette espèce. Les résultats obtenus sont également enaccord avec ceux rapportés par Jeong et *al.*, (2012) qui ont trouvé une puissante activité anti-inflammatoire dans l'extrait méthanolique *Juniperrigida* Coréen et ses fractions (n-hexane, chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol).

D'après Ben Manseur et *al.*, (2023), les huiles essentielles ont démontré une capacité à inhiber les activités enzymatiques liées a la synthèse de la mélanine, indiquant ainsi des propriétés anti-inflammatoires.

II.5. Activité antibactérienne et antifongique de la plante *Juniperus Phoenicea* L.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits des plantes par la technique de diffusion sur milieu solide Muller Hinton (MH) se manifeste par l'apparition des zones d'inhibition de la croissance des bactéries autour des disques par les extraits de la plante. Les résultats obtenus sont présentés dans les figures et les tableaux suivant :

Tableau 8. Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Juniperus Phoenicea* L. sur la croissance d'*Escherichia coli*

Souche	Extraits	Concentration	
		100mg/ml	Sensibilité
		Diamètre de zone d'inhibition	
<i>E.Coli</i>	MeOH	11mm	+
	Aq1	0mm	-
	Aq2	0mm	-
	n-Butanol	0mm	-
	a-Acétat	9mm	+
	Huile	9mm	+
	Huile-c	8mm	-

$X \geq 8\text{mm}$: sensibilité (+) = activité. $X < 8\text{mm}$: résistance (-) = aucune activité.

L'*E. coli* (ATCC25922) présente une sensibilité vis à-vis des extraits des plantes. Nous remarquons que la meilleure activité antibactérienne est observée de l'extrait méthanolique à un diamètre d'inhibition (11 mm).

En considérant que l'extrait acétate d'éthyle et l'huile de *Juniperus phoenicea* sont sensibles contre *Escherichia coli* par rapport à l'extrait butanolique et les deux extraits aqueux aussi bien l'huile commerciale ne sont pas aussi sensibles.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par les travaux de (Lachlah, 2019). La souche *E. coli* s'est montrée résistante aux extraits méthanoliques.

Mansouri et al (2011), il note qu'il y a une efficacité d'inhibition plus marquée des huiles essentielles des rameaux de *Juniperus Phoenicea* des deux sous-espèces par rapport aux huiles essentielles des fruits. Ceci a été observé aussi par d'autres auteurs comme El-sawi et al (2007), sur des huiles essentielles des rameaux et des fruits de *Juniperus Phoenicea* d'Égypte. Il corrobore aussi les résultats d'Angioni et al (2003) et Brahim (2017). Elmhdwi et al (2015) a indiqué que l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Juniperus*

phoenicea sur *E.coli* a été enregistré des zones d'inhibition de (11 mm ± 0.02, 12 mm ± 0.11 13 mm ± 0.03) selon les concentrations (20, 30,40%).

Tableau 9. Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Juniperus Phoenicea*. L. sur la croissance de *Staphylocoque aureus*

Souche	Extraits	Concentration	
		100mg/ml	Sensibilité
		Diamètre de zone d'inhibition	
<i>Staphylocoque aureus</i>	MeOH	0	-
	Aq1	0	-
	Aq2	0	-
	n-Butanol	0	-
	a-Acétat	0	-
	Huile	8mm	-
	Huile-c	9mm	+

Les résultats présentes dans le tableau montre que l'activité antibactérienne est présente dans l'huile commerciale avec un diamètre de 9 mm par contre l'huile essentielle, les extraits des deux infusés, l'extrait méthanolique, l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait butanolique qui ne sont pas sensibles contre la bactérie *staphylocoque aureus*.

Telaidji (2018) ont signalés la présence de l'activité anti-bactérienne plus élevé dans l'extrait acétate (15mm) de la plante *Juniperus Phoenicea*. Dans une autre étude réalisée par Mazari et al. (2019) c'est de l'ordre 10.3mm.

Tableau 10. Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Juniperus Phoenicea* L. sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*

Souche	Extraits	Concentration	
		100mg/ml	Sensibilité
		Diamètre de zone d'inhibition	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MeOH	0mm	-
	Aq1	0mm	-
	Aq2	0mm	-
	n-Butanol	0mm	-
	a-Acétat	9mm	+
	Huile	10mm	+
	Huile-c	9mm	+

Les résultats obtenus dans le tableau montre que l'activité antibactérienne est remarqué dans l'extrait d'acétate d'éthyle, l'huile essentielle avec un diamètre de 10 mm et dans l'huile commerciale avec un diamètre de 9 mm par rapport les autres extraits les deux infusés,

l'extrait méthanolique et l'extrait butanolique qui sont non sensibles contre la souche *Pseudomonas aeruginosa*

Tableau 11. Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Juniperus Phoenicea* L. sur la croissance de *Bacillus subtilis*

Souche	Extraits	Concentration	
		100mg/ml	Sensibilité
		Diamètre de zone d'inhibition	
<i>Bacillus subtilis</i>	MeOH	10	+
	Aq1	0	-
	Aq2	7	-
	n-Butanol	9	+
	a-Acétat	9	+
	Huile	11	+
	Huile-c	10	+

Le résultat présent dans le tableau montre que l'activité antibactérienne est plus élevée dans l'extrait de l'huile essentielle avec un diamètre de 11 mm bien que dans l'huile commerciale, l'extrait méthanolique avec un diamètre de 10 mm et dans l'extrait d'acétate d'éthyle avec un diamètre de 9mm par contre les extraits des deux infusés et de l'extrait butanolique qui sont non sensibles contre la souche bactérienne *Bacillus* .

(Benattia et Hellali, 2019) ont signalés La fraction 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 est similaire à celui de Derwich et al. (2010) puisqu'il a trouvé des bactéries sensibles d'un diamètre de 10mm en Maroc.

Les travaux de Ennajar et son équipe (2010) sur l'extrait méthanolique des feuille de la plante ont révélés une forte activité inhibitrice sur les souches *B. subtilis*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* et ne présente aucune activité contre *Listeria* et *E. coli*.

Merradi et al (2018) ont étudié l'activité antibactérienne de l'extraits méthanolique de contre : *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* (SARM) et ils ont montré différents profils d'inhibition contre les bactéries gram positif, mais aucune activité de l'extrait a été détectés sur toutes les bactéries Gram-négatifs.

Cowan (1999) a rapporté que les différentes classes des flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les micro-organismes. Cette toxicité est fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles présents sur les molécules flavonoïdes.

Résultats et discussion

La plus grande sensibilité des bactéries Gram+ par rapport aux bactéries Gram- est signalée par plusieurs auteurs. Cela n'exclut pas une possible activité des extraits végétaux sur les bactéries Gram-, mais la dose doit être plus élevée. En plus, l'activité antimicrobienne est dépendante des caractères physico-chimiques des composés phytobiotiques et des souches employées (Afif Chaouche, 2015).

Tableau 12. Diamètre de zone d'inhibition des deux extraits de l'huile essentielle et l'huile commerciale de plante *juniperus phoenicea* .L. sur la croissance des deux souches cliniques *Enterbacter* et *Proteus Spp*

Souche	Extraits	Concentration		
		500mg/ml	700mg/ml	Sensibilité
		Diamètre de zone d'inhibition		
<i>Enterbacter (clinique)</i>	Huile	12 ,24 mm	9,18 mm	+
	Huile C	0mm	9,25 mm	+
<i>ProteusSpp (Clinique)</i>	Huile	9 ,77 mm	11,95 mm	+
	Huile C	0mm	10,38 mm	+

Dans le tableau au-dessous présente le pouvoir antibactérien des deux souches cliniques *Enterbacter* et *Proteus Spp* sur les extraits de l'huile essentielle et l'huile commerciale en deux concentrations, on observe plusieurs effets différents .les deux souches possède un grand effet dans le cas de l'huile essentielle sensible avec le diamètre de zone d'inhibition (9,18 - 12,24 mm) pour la souche *Enterbacter* et un diamètre de (11 ,95 - 9,77 mm) pour la souche *Proteus Spp* bien que l'huile commerciale est sensible contre les deux souche avec un diamètre de zone d'inhibition de (9,25 mm) contre la souche bactérienne *Enterbacter* et avec un diamètre de zone d'inhibition de (10,38 mm) contre la souche *Proteus Spp* .

Tableau 13. Diamètre de zone d'inhibition des deux extraits de l'huile essentielle et l'huile commerciale de plante *Juniperus Phoenicea*.L. sur la croissance des quatre souches référenciées.

Souche	Extraits	Concentration		
		500mg/ml	700mg/ml	Sensibilité
		Diamètre de zone d'inhibition		
<i>E-Coli</i>	Huile	8,39 mm	8,46 mm	+
	Huile C	6,53 mm	7,22 mm	-
<i>Staphylocoque aureus</i>	Huile	11,25 mm	10 mm	+
	Huile C	0	0	-
<i>Pseudomonas</i>	Huile	8,81 mm	12,25 mm	+

Résultats et discussion

<i>aeruginosa</i>	Huile C	9,15 mm	8,03 mm	+
<i>Bacillus subtilis</i>	Huile	9,62 mm	12,88 mm	+
	Huile C	0	8,44 mm	+

le tableau au-dessous présente le pouvoir antibactérien des quatre souches référenciés sur les extraits de l'huile essentielle et l'huile commerciale en deux concentrations, on observe plusieurs effets différents .les quatre souches possède un grand effet dans le cas de l'huile essentielle sensible avec le diamètre de zone d'inhibition(8,3mm-8,46) mm) pour la souche *E-Coli* et un diamètre de (10 mm-11,25 mm) pour la souche *Staphylocoque* et avec un diamètre de (8,81mm–12,25 mm) pour la souche *Pseudomonas* et pour la souche *Bacilles* avec un diamètre de (9,25 mm -12,88 mm) alors que l'huile commerciale est sensible seulement contre les deux souches *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis* avec un diamètre de zone d'inhibition de (8,03 - 9,25 mm) contre la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* et avec un diamètre de zone d'inhibition de (8 ,44 mm) contre la souche bactérienne *Bacillus*

Il a été démontré que l'activité antibactérienne des substances actives d'origine végétale dépend surtout de la nature des bactéries à Gram positif ou à Gram négatif ; les bactéries Gram + sont plus sensibles que les bactéries Gram- vis - à - vis des huiles essentielles testées (Zeraib, 2016).

Nos résultats constatés pour *Staphylococcus aureus* sont en adéquation avec ceux qui sont révélés par Balentine et al., (2006).

En revanche, nos résultats trouvés pour la résistance *Escherichia coli* sont en accord avec ceux des auteurs. Ceci est approuvé aussi par certaines études qui ont rapporté l'inefficacité des huiles essentielles de *Juniperus Phoenicea* contre certains germes incluant *Escherichia coli* (Ait-Ouazzou et al., 2012 ; Ramdani et al., 2013). Mais ce n'est pas le cas dans les travaux de Derwich et al. (2010) et ceux de Bouyahyaoui et al. (2016), qui ont constaté des zones d'inhibition avec des diamètres plus ou moins importants ont été obtenus pour *Escherichia coli* vis-à-vis l'huile essentielle de *Juniperus Phoenicea*.

Tableau 14. Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *juniperus Phoenicea* L. Sur la croissance de *l'Aspargilus niger*

	Extraits	Concentration	
		100mg/ml	Sensibilité
		Diamètre de zone d'inhibition	
<i>Aspargilus niger</i>	MeOH	8 mm	-
	Aq1	0	-
	Aq2	0	-
	n-Butanol	0	-
	a-Acétat	0	-
	Huile	0	-
	Huile-c	0	-

Dans le tableau au-dessous présente le pouvoir antifongique du champignon *Aspargilus* sur les extraits de la plante, on observe aucun effet, les extraits ne sont pas sensibles contre le champignon.

Les résultats obtenus par (Mansouri et al., 2011) sur *Juniperus Phoenicea* ont démontré l'activité antifongique de l'huile essentielle qui ne possède pas une activité contre l'Aspergillus.

Tableau 15. Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Juniperus Phoenicea* L. Sur la croissance de *candida albicans*

Champignon	Extraits	Concentration	
		100mg/ml	Sensibilité
		Diamètre de zone	d'inhibition
<i>Candida albicans</i>	MeOH	9 mm	+
	Aq1	0	-
	Aq2	0	-
	n-Butanol	8 mm	-
	a-Acétat	8 mm	-
	Huile	9 mm	+
	Huile-c	9 mm	+

Le tableau au-dessous présente le pouvoir antifongique du champignon *Candida* sur les extraits de la plante, on observe un effet pour les extraits huile essentielle, huile commerciale et l'extrait méthanolique avec un diamètre de zone de 9 mm par contre les extraits Aq1, Aq2, l'acétate d'éthyle, et le n-butanol ne sont pas sensibles contre le champignon.

L'effet antimicrobien exercé par l'HE de *J. phoenicea* est due à sa richesse en certaines substances réputées d'être des antimicrobiens puissants. L' α - pinène, composé majeur de l'HE, est connu pour son activité antibactérienne (Bourkhiss et al., 2007) .

Une étude réalisée par El-Sawi et al. (2007) sur l'huile essentielle de *Juniperus Phoenicea* égyptien, a montré qu'elle présente une bonne activité inhibitrice contre *Aspergillusnigeret Candida*. Aussi, en raison de la complexité de la composition chimique des huiles essentielles de cette espèce, cette activité antimicrobienne peut être due à la présence d'interactions entre les différents constituants. Les résultats trouvés par (Bouchenak et al. (2020) montre que l'huile essentielle de *j. Phoenicea* a exercé une action antifongique envers la levure *Candida* avec 18.5 mm qu'est plus grand que notre résultat.

Cette variation est due à certains facteurs écologiques ; à la partie de la plante utilisée, à l'âge de la plante et à la période du cycle végétatif et même à des facteurs génétiques (cavaleiro et al.2001; Rezzi et al., 2001; Thompson et al.,2003 et karousou et al.,2005).

Conclusion

Conclusion

Ce travail nous a permis en premier lieu de maîtriser des techniques analytiques universelles de base tels que l'analyse qualitative et quantitative des métabolites secondaires issus des feuilles de *Juniperus phoenicea*. L'analyse ainsi que sa valorisation par l'évaluation de son potentiel antioxydant, anti inflammatoire, antibactérien et antifongique.

Le criblage phytochimique des feuilles de *Juniperus phoenicea*. L'analyse a révélé la présence de différentes familles de métabolites secondaires. Il s'agit essentiellement des phénols, alcaloïdes, terpénoïdes, tannins totaux, saponosides, flavonoïdes, composés réducteurs, et les quinones libres. Ces constituants sont connus de par leurs diverses propriétés biologiques pouvant ainsi, contribuer à l'utilisation de *Juniperus phoenicea* comme remède en médecine traditionnelle.

Les rendements d'extraction réalisés sur la partie aérienne de la plante étudiée étaient relativement importants. Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes nous a permis d'évaluer la richesse de nos extraits en ces composés, le taux le plus élevé est enregistré dans l'extrait méthanoïque. La présence des flavonoïdes dans nos extraits est mise en évidence par un essai de caractérisation par CCM.

L'activité antioxydante de extraits et des huiles des feuilles de notre espèce a été évalué à différentes échèles par le test DPPH, ce qui nous a permis de confirmer leurs pouvoir scavenger de radicaux libres. Cette activité est liée en grande partie à la composition de l'extrait et sa richesse en composés phénoliques et flavonoïdes.

Pour l'activité anti-inflammatoire des différents extraits et des huiles ; des résultats considérables de 90 % et 95 % pour le test d'inhibition de la dénaturation de la protéine l'albumine bovine SAB, présenter par l'extrait d'acétate d'éthyle a concentration 100µg/ml et l'extrait de l'huile a concentration 100µg /ml.

En ce qui concerne le pouvoir antibactérien par la méthode de la diffusion de disque, les deux souches *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylocoque* sont résistantes à tous les extraits aqueux et organiques de la plante. Parcontre, l'*Echerichia coli* et *Bacillus cereus* sont des bactéries très sensible aux extraits méthanoliques *J. phoenicea*.

L'effet antibactérien et antifongique des huiles de la plante *J. phoenicea* est important sur les différentes souches testées (*Escherichia Coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterbacter spp*, *Proteus spp*, *Candida*, *Aspergillus*)

qui présentent des degrés variables de sensibilités vis-à-vis des concentrations des deux types des huiles utilisés.

En ce qui concerne l'huile commerciale de la plante aucune sensibilité pour les souches bactériennes (*Escherichia Coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterbacter spp*, *Proteus spp*) n'a été révélée, sauf dans le cas de *Pseudomonas et E.coli* qui a présenté une sensibilité moyenne vis-à-vis les mêmes concentrations de l'huile de laboratoire des feuilles de *J. phoenicea*. L'huile de laboratoire été le plus actif contre des souches bactériennes et les deux champignons.

Pour conclure, la variation dans les résultats obtenus pour les activités biologiques étudiées est principalement due à une variabilité de la composition chimique de l'huile essentielle en question et les extraits qui influent sur le potentiel de ces activités elle pourrait être utilisé dans le domaine pharmaceutique et médical.

Pour nos perspectives :

- Réalisant des séparations chromatographiques par d'autres méthodes pour quantifier et identifier les différentes molécules
- Étudier la toxicité des molécules sur différents modèles biologiques, afin de prévenir tout effet secondaire indésirable.
- Tester l'activité antimicrobienne de la plante *In vitro* sur d'autres souches microbiennes, et réalisation des études approfondies et complémentaires
- Tester les différentes familles ou molécules isolées, *in vivo* sur différents modèles biologiques afin de mettre en évidence d'autres activités antidiabétique, anticancéreuse ou autres.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdelli, W. (2017). Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. [Doctoral dissertation]. Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis.
- Abdelli, W., Bahri, F., Höferl, M., Wanner, J., Schmidt, E., & Jirovetz, L. (2018). Chemical composition, antimicrobial and anti-inflammatory activity of Algerian *Juniperus phoenicea* essential oils. *Natural Product Communications*, 13(2), 1934578X1801300227.
- Aberrane, S., & Mehalla, M. (2019). Etude de l'activité anti-inflammatoire et anti-hémolytique de l'extrait aqueux de feuilles de *Malva sylvestris* L. Master's thesis, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- Adams, R. P., & Schwarzbach, A. E. (2013). Phylogeny of *Juniperus* using nrDNA and four cpDNA regions. *Phytologia*, 95(2), 179-187.
- Afif Chaouche, T. (2015). *Etude ethno pharmacologique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de quelques plantes médicinales de la région de TiziOuzou–Algérie*. [Thèse de Doctorat]. Université de Tlemcen, Algérie. 141p.
- Ait-Ouazzou, A., Lorán, S., Arakrak, A., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, A., Pagán, R., & Conchello, P. (2012). Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. *Food Research International*, 45, 313-31.
- Alhassane, I. I., & Goundiam, B. (2020). Composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle du *Juniperus phoenicea* L. [mémoire de master]. Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana. P41.
- Alzand, K. I., Aziz, D. M., & Tailang, M. (2014). Isolation, structural elucidation and biological activity of the flavonoid from the leaves of *Juniperus phoenicea*. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 10, 951-965.

- Amaral, D. G. (1986). Amygdalohippocampal and amygdalocortical projections in the primate brain. In *Excitatory amino acids and epilepsy*. Boston, MA: Springer US.3-17
- Teuscher, E., Anton, R., & Lobstein, A. (2005). *Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Tec & Doc. (p. 552).
- Aziman, N., Abdullah, N., Noor, Z. M., Zulkifli, K. S., & Kamarudin, W. W. (2012). Phytochemical constituents and in vitro bioactivity of ethanolic aromatic herb extracts. *Sains Malaysiana*, 41(11), 1437-1444.
- Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali[thèse de doctorat]. Université de Bamako.
- Bajes, H. R., Oran, S. A., & Bustanji, Y. K. (2022). Chemical composition and antiproliferative and antioxidant activities of essential oil from *Juniperus phoenicea* L. cupressaceae. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 15(1), 153-159.
- Bekhechi, C., Atik Bekkara, F., Consiglio, D., Bighelli, A., & Tomi, F. (2012). Chemical variability of the essential oil of *Juniperus phoenicea* var. *turbinata* from Algeria. *Chemistry & Biodiversity*, 9(12), 2742-2753.
- Belsito, E. L., Carbone, C., Di Gioia, M. L., Leggio, A., Liguori, A., Perri, F., & Viscomi, M. C. (2007). Comparison of the volatile constituents in cold-pressed bergamot oil and a volatile oil isolated by vacuum distillation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19), 7847-7851.
- Benzid, A., & Litim, N. (2016). Etude comparative de l'activité antioxydante de deux variétés de *Ocimum basilicum* L. cultivées dans plusieurs régions d'Algérie. [Mémoire de master]. Université Kasdi Merbah-Ouargla.
- Besombes, C. (2008). *Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques Applications généralisées*. [Thèse de doctorat]. Université de La Rochelle.

- BEZZAZ, N. (2014). *Détermination structural des métabolites secondaires et extraction des huiles essentielles de Mentha rotundifolia*. [Thèse de doctorat]. Université de M'Sila-Mohamed Boudiaf.
- Boehm, J. K., & Kubzansky, L. D. (2012). The heart's content: the association between positive psychological well-being and cardiovascular health. *Psychological bulletin*, 138(4), 655.
- Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- Bouchenak, O., Yahiaoui, K., Laoufi, R., Benhabyles, N., El Haddad, D., & Arab, K. (2020). Caractérisation phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea*. *Revue Agriculture*, 11(1), 51-57.
- Boukhatem, M. N., Ferhat, A., & Kameli, A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: *revue de littérature*. *Une*, 3(4), 1653-1659.
- Bouras, M. (2018). Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de certaines plantes de l'est algérien sur des souches résistantes aux antibiotiques [Thèse de doctorat]. Université Badji Mokhtar-Annaba.
- Bourkhiss, M., Hnach, M., Bourkhiss, B., Ouhssine, M., & Chaouch, A. (2007). Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc. *Afrique Science*, 03(2), 232-242.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., & Dakka, N. (2017). Resistance to antibiotics and mechanisms of action of essential oils against bacteria. *Phytothérapie*, 1-11.
- Bouzid, N., Beladel, B., & Guit, B. (2015). Multi-element determination in medicinal Juniper tree (*Juniperus phoenicea*) by instrumental neutron activation analysis. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 1-4.

- Brahim, S. (2017b). Contribution à l'évaluation de l'effet toxique et thérapeutique des plantes médicinales: *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea* et *Urtica dioica*. [Thèse de doctorat]. Université Akli Mohand Oulhadj – Bouira.
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosy, photochemistry, medicinal plants (No. Ed.2). Intercept Limited.
- Cai, K., Sun, M., Yuan, C., Zhao, G., Xiao, W., Long, X., & Wu, F. (2011). Geochronology, petrogenesis and tectonic significance of peraluminous granites from the Chinese Altai, NW China. *Lithos*, 127(1-2), 261-281.
- Cavaleiro, C., Rezzi, S., Salgueiro, L., Bighelli, A., Casanova, J., & Proenca da Cunha, A. (2001). Intraspecific chemical variability of the leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* var. *turbinata* from Portugal. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29, 1175-1183.
- Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P., & Bhattacharya, S. (2012). Evaluation of anti-inflammatory effect of Ashwagandha: a preliminary study in vitro. *Pharmacognosy Journal*, 4(29), 47-49.
- Chbani, A., Mawlawi, H., & Etahiri, S. (2011). Activité antibactérienne des extraits d'une algue brune *Padina pavonica* de la côte méditerranéenne au Liban. *Phytothérapie*, 9(5), 283-286.
- Chemat, F., & Sawamura, M. (2010). Techniques for oil extraction. *Citrus essential oils: Flavor and fragrance*, 9-36.
- Chevallier, A. (1997). *Encyclopédie des plantes médicinales*. Sélection du Reader's Digest (Canada).
- Choi, H. J., Ju, W., Myung, S. K., & Kim, Y. (2010). Diagnostic performance of computer tomography, magnetic resonance imaging, and positron emission tomography or positron emission tomography computer tomography for detection of metastatic lymph nodes in patients with cervical cancer: meta-analysis. *Cancer Science*, 101(6), 1471-1479.

- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
- Debray, M., Jacquemin, H., & Razafindrambao, R. S. (1971). Contribution à l'inventaire des plantes médicinales de Madagascar (No. 8). Paris: Orstom.
- Deng, J., Cheng, W., & Yang, G. (2011). A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chemistry*, 125(4), 1430-1435.
- Deroin, T. (1988). *Aspects anatomiques et biologiques de la fleur des Annonacées*. [Thèse de doctorat]. Université de paris-Sud.
- Derwich, E., Benziane, Z., Taouil, R., Senhadji, O., & Touzani, M. A. (2010). Comparative Study of The Chemical Composition of The Leaves Volatile Oil of *Juniperus phoenicea* L and *Juniperus oxycedrus*. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 5(5), 416-424.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654-660.
- Dris, A., Soudani, M., & Zemmal, S. (2022). Effet larvicide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* chez *Culiseta longiareolata*. [Thèse de doctorat]. Université Larbi Tébessi-Tébessa.
- Duraffourd, C., d'Hervicourt, L., & Lapraz, J. C. (Eds.). (1990). *Examens de laboratoire, galénique, éléments thérapeutiques synergiques*. Masson.
- Edris, A. E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(4), 308-323.
- El Haib, A. (2011). *Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques*. [thèse de doctorat]. Université Toulouse.

Références bibliographiques

- Elmhdwi, M. F., Attitalla, I. H., & Khan, B. A. (2015). Evaluation of antibacterial activity and antioxidant potential of different extracts from the leaves of *Juniperus phoenicea*. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 6(9), 300.
- El-Sawi, S. A., Motawae, H. M., & Ali, A. M. (2007). Chemical composition, cytotoxic activity and antimicrobial activity of essential oils of leaves and berries of *Juniperus phoenicea* L. grown in Egypt. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 4(4), 417-426.
- El-Sawi, S. A., Motawae, H. M., Sleem, M. A. F., El-Shabrawy, A. R. O., Sleem, A., & Ismail, M. A. N. (2014). Photochemical screening, investigation of carbohydrate contents, and antiviral activity of *Juniperus Phoenicea* L. growing in Egypt. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 20(1), 83-91.
- Endrias, A. (2006). Bio-raffinage de plantes aromatiques et médicinales appliqué à *Hibiscus sabdariffa* L. et à *Artemisia annua*. [Thèse de doctorat]. Université de Toulouse.
- Ennajjar, M., Afloulous, S., Romdhane, M., Ibrahim, H., Cazaux, S., Abderraba, M., Raies, A., & Bouajila, J. (2011). Influence of the Process, Season, and Origin on Volatile Composition and Antioxidant Activity of *Juniperus Phoenicea* L. Leaves Essential Oils. *Journal of Food Science*, 76(2).
- Ennajjar, M., Afloulous, S., Romdhane, M., Ibrahim, H., Cazaux, S., Abderraba, M., Raies, A., & Bouajila, J. (2011). Influence of the Process, Season, and Origin on Volatile Composition and Antioxidant Activity of *Juniperus phoenicea* L. Leaves Essential Oils. *Journal of Food Science*, 76(2).
- Ennajjar, M., Bouajila, J., Lebrihi, A., Mathieu, F., Abderraba, M., Raies, A., & Romdhane, M. (2009). Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea* L. (Cupressaceae). *Journal of Food Science*, 74(7), M364-M371.

- Fabri, R. L., Nogueira, M. S., Braga, F. G., & Coimbra, E. S. (2009). Metacarpus frigidus aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial, and antioxidant effects. *Bioresource Technology*, 100(1), 428-433.
- Farjon, A., & Filer, D. (2013). *An atlas of the world's conifers: An analysis of their distribution, biogeography, diversity and conservation status*. Brill.
- Ferhat, M. A., Boukhatem, M. N., Hazzit, M., & Chemat, F. (2016). Rapid extraction of volatile compounds from Citrus fruits using a microwave dry distillation. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 8(3), 753-781.
- Ferrer, V. (2022). Étude de l'hérédité et des facteurs de variation du rendement, de la composition et des propriétés aromatiques des huiles essentielles d'oranges (*Citrus sinensis* L. Osbeck) et de bigarades (*C. aurantium* L.) [Doctoral dissertation, Corte].
- Gavahian, M., Farahnaky, A., Javidnia, K., & Majzoobi, M. (2012). Comparison of ohmic-assisted hydrodistillation with traditional hydrodistillation for the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 14, 85.
- Golmakani, M. T., & Rezaei, K. (2008). Comparaison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chemistry*, 109(4), 925-930.
- Guba, P. (2001). On the finite-amplitude steady convection in rotating mushy layers. *Journal of Fluid Mechanics*, 437, 337-365.
- Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food chemistry*, 105(3), 1126-1134.

Références bibliographiques

- Hernandez Ochoa, L. R. (2005). Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combiné (solvant/actif) d'origine végétale [Doctoral dissertation]. Institut National Polytechnique de Toulouse.
- Hubert, R. (1992). *Épices et aromates*. Edition Tec & Doc, Lavoisier.
- Kaddour, S., & Irari, S. (2018). Étude de l'effet antibactérien des extraits polyphénoliques de *Juniperus communis* et *Juniperus phoenicea*. [Master's thesis]. Université Bouira.
- Kalkoul, S., & Mouhoubi, M. (2018). Évaluation d'activité biologique de l'extrait méthanolique de *Juniperus phoenicea*. [Mémoire de master]. Université Abbes Laghrour-Khenchela.
- Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F. (2012). La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie. *Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée*. Springer.
- Kanoun, O., Lamiroux, F., & Wieber, P. B. (2011). Kinematic control of redundant manipulators: Generalizing the task-priority framework to inequality task. *Transactions on Robotics*, 27(4), 785-792.
- Karousou, R., Koureas, D. N., & Kokkini, S. (2005). Essential oil composition is related to the natural habitats: *Corido thymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. *Photochemistry*, 66, 2668-2673.
- Keskes, H., Mnafigui, K., Hamden, K., Damak, M., El Feki, A., & Allouche, N. (2014). In leaves from Tunisia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedecine*, 4, S649-S655.
- Kpemissi Amana, E. (2007). Les Anacardiaceae du Togo: Etudes botaniques, écologiques et propriétés antifongiques (Doctoral dissertation, Reims).

Références bibliographiques

- Lambert, M. J., Hansen, N. B., & Finch, A. E. (2001). Patient-focused research: Using patient outcome data to enhance treatment effects. *Journal of Consulting and Clinical Psychology, 69*(2), 159.
- Leszczynska, D. (2007). Management de l'innovation dans l'industrie aromatique: Cas des PME de la région de Grasse.
- Lopez-Reyes, J. G., Spadaro, D., Prella, A., Garibaldi, A., & Gullino, M. L. (2013). Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rots caused by fungi on different stone fruits in vivo. *Journal of Food Protection, 76*(4), 631-639.
- Lucchesi, M. E. (2005). *Extraction sans solvant assistée par micro-ondes: Conception et application à l'extraction des huiles essentielles*. [Thèse de doctorat]. Université de la Réunion.
- Mansouri, N., Satrani, B., Ghanmi, M., El Ghadraoui, L., Boukir, A., & Aafi, A. (2011). Effet de la provenance sur le rendement, la composition chimique et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des rameaux de *Juniperus Phoenicea* L. du Maroc. *Acta Botanica Gallica, 158*(2), 215-224.
- Mao, K., Hao, G., Liu, J., Adams, R. P., & Milne, R. I. (2010). Diversification and biogeography of *Juniperus* (Cupressaceae): Variable diversification rates and multiple intercontinental dispersals. *New Phytologist, 188*(1), 254-272.
- 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.
- Meddour-Sahar, O., & Bouisset, C. (2013). Les grands incendies de forêt en Algérie : problèmes humains et politiques publiques dans la gestion des risques. *Méditerranée. Revue géographique des pays méditerranéens/Journal of Mediterranean geography, (121)*, 33-40.

Références bibliographiques

- Medini, H., Manongiu, B., Aicha, N., Chekir-Ghedira, L., Harzalla-Skhiri, F., & Khouja, M. L. (2013). Chemical and antibacterial polymorphism of *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* and *Juniperus oxycedrus* ssp. *macrocarpa* (Cupressaceae) leaf essential oils from Tunisia. *Journal of Chemistry*, 2013(1), 389252.
- Menaceur, F., Benchabane, A., Hazzit, M., & Baaliouamer, A. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of Algerian *Juniperus phoenicea* L. extracts. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 3(1), 87-96.
- Muanda, F. N. (2010). *Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques*. [thèse de doctorat]. Université Paul Verlaine-Metz.
- Bouzouita, N., Kachouri, F., Ben Halima, M., & Chaabouni, M. M. (2008). Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Société Chimique de Tunisie*, 10, 119-125.
- Nacoulma, A. P., Compaoré, M., De Lorenzi, M., Kiendrebeogo, M., & Nacoulma, O. G. (2012). In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae) leafy galls induced by *Rhodococcus fascians*. *Journal of Phytopathology*, 160(11-12), 617-621.
- Nagendran, B., Kalyana S., & Samir, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191-203.
- Okmu, D. E. (2005). Vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. *International Journal of Molecular Advanced Sciences*, 1, 375-381.
- Oloyede, O. (2005). Quasiclassical studies of chemical reaction dynamics with inclusion of tunneling and nonadiabatic transition.

Références bibliographiques

- Ouelbani, R., Bensari, S., Mouas, T. N., & Douadi, K. (2016). Ethnobotanical investigation on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria). *Journal of Ethnopharmacology*, *194*, 196-218.
- Pacchioni, G. (2014). Ketonization of carboxylic acids in biomass conversion over TiO₂ and ZrO₂ surfaces: A DFT perspective. *ACS Catalysis*, *4*(9), 2874-2888.
- Pawlowska, A. M., De Leo, M., & Braca, A. (2006). Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits: Identification of anthocyanins and gallic acid derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(26), 10234-10238.
- Pierron, C. (2014). *Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France: exemples d'applications en gériatrie-gérontologie et soins palliatifs*. [thèse de doctorat]. Université de Lorraine.
- Piochon, M. (2008). *Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse*. [Mémoire de master]. Université du Québec à Chicoutimi.
- Ponce, F. A., Srinivasan, S., Bell, A., Geng, L., Liu, R., Stevens, M., & Tanaka, S. (2003). Microstructure and electronic properties of InGaN alloys. *Physica Status Solidi* *240*(2), 273-284.
- Popovici, J., Moreira, L. A., Poinsignon, A., Iturbe-Ormaetxe, I., McNaughton, D., & O'Neill, S. L. (2010). Assessing key safety concerns of a Wolbachia-based strategy to control dengue transmission by *Aedes* mosquitoes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, *105*, 957-964.
- Quezel, P., & Gast, M. (1998). Genévrier. *Encyclopédie Berbère*, (20), 3016-3023.
- Ramdani, M., Lograda, T., Zeraib, A., Chalard, P., Figueredo, G., Bouchaala, M., & Zerrar, S. (2013). Characteristics of essential oils of *Juniperus phoenicea* from Eastern

- Algeria. *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine*, 2(9), 613-623.
- Rameau, J. C., Mansion, D., Dumé, G., & Gauberville, C. (2008). Flore forestière française tome 3, région méditerranéenne: Guide écologique illustré (Vol. 3). CNPF-IDF.
 - Randrianarivelo, R. (2010). Etude d'activité antimicrobienne une plante endémique de Madagascar *Cinnamosma fragrans*, alternative aux antibiotiques en crevetticulture.[these de doctorat].Université d'antananarivo.
 - Rosine, C., & Momo, D. (2009). Évaluation de l'activité antidermatophytique des extraits au méthanol et fractions d'*Acalypha mahirtum* (Melastomataceae). Université de Dschang, Master en biochimie clinique et pharmacologie.
 - Rwandaises, É. (1977). Médecine traditionnelle et pharmacopée rwandaise. Butare, UNR.
 - Salhi, S., & Fadli, M. (2006). Plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa*, 31, 131-146.
 - Sawamura, M. (2011). *Citrus essential oils: flavor and fragrance*. John Wiley & Sons.
 - Schauenberg, P., & Paris, F. (2006). *Guide des plantes médicinales*. Ed. Dalachaux et Nieslé. Paris.
 - Scherer, R., & Godoy, H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112(3), 654-658.
 - Seigue, A. (1985). La campagne feux de forêts 1984. *Forêt Méditerranéenne*, 7(1), 81-84.
 - Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in Enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178).
 - Tariq, S., Wani, S., Rasool, W., Shafi, K., Bhat, M. A., Prabhakar, A., & Rather, M. A. (2019). A comprehensive review of the antibacterial, antifungal, and antiviral potential of

- essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 134, 103580.
- Teipisode, P. L., & Waterhouse, A. L. (2000). Inhibition of oxidation of human low-density lipoproteins by phenolic substances in different essential oils varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 3801-3805.
 - Telaidji, A. N. (2018). Caractérisation chimique et activité biologique (in vitro et in vivo) de l'extraction méthanolique de *Juniperus Phoenicea*. [Mémoire de Master]. Université des Frères Mentouri Constantine. p. 9.
 - Thompson, J. D., Chalchat, J. C., Michet, A., Linhart, Y. B., & Ehlers, B. (2003). Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. *Journal of Chemical Ecology*, 29(4), 859-880.
 - Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., & Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*, 103(3), 816-822.
 - Van de Braak, S. A. A. J., & Leijten, G. C. J. J. (1999). Essential oils and oleoresins: a survey in the Netherlands and other major markets in the European Union. *CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries*. Rotterdam.
 - Witsel, M. (2003). Teaching and learning issues in the multicultural classroom. In *Effective Teaching and Learning Conference*. Griffith University.
 - Soltani, Y., Ali-Bouzidi, M., Toumi, F., & Benyamina, A. (2017). Activités antioxydante des extraits de trois organes de *Juniperus phoenicea* L. de l'ouest algérien. *Phyothérapie*. Lavoisier SAS.
 - Yadav, R. N. S., & Agarwala, M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*, 3(12).

Références bibliographiques








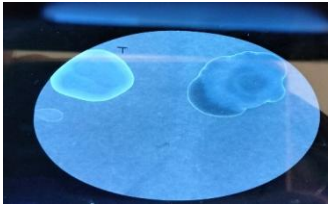


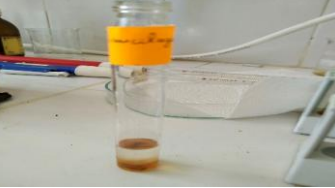

- Zenasni, L. (2014). *Etude de polymorphisme chimique des huiles essentielles de Thymus satureioides Coss et d'Origanum compactum Benth et du genre Nepeta et évaluation de leur propriété antibactérienne*. [thèse de doctorat]. Université Mouhammed V-Agdal.
- Zeraib, A., Ramdani, M., Boudjedjou, L., Chalard, P., & Figuredo, G. (2016). *Etude phytochimique et chimio systématique de Juniperus thurifera L.*[thèse de doctorat]. Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Annexes

Annexes

Annexes

Les tests phytochimiques de différents extraits de *J.phoenicea*

Extraits Phytoconstituants	Illustrations	Extraits Phytoconstituants	Illustrations
Flavonoïdes		Anthocyanes	
Tanins		Quinones libres	
Alcaloïdes		Composées phénoliques	
Terpènoïdes		Coumarins	
Saponosides		Les sucres réducteurs	
Mucilages		Amidon	

Annexes

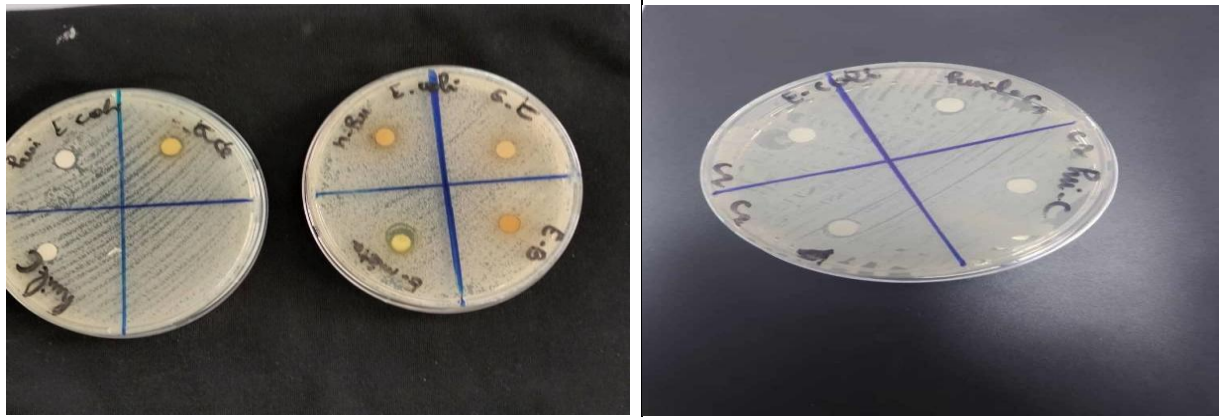


Figure 01 : L'effet des extraits de plante *Juniperus Phoenicea* L. sur la souche bactérienne *E. coli* testée en présence de différentes concentrations d'extraits.

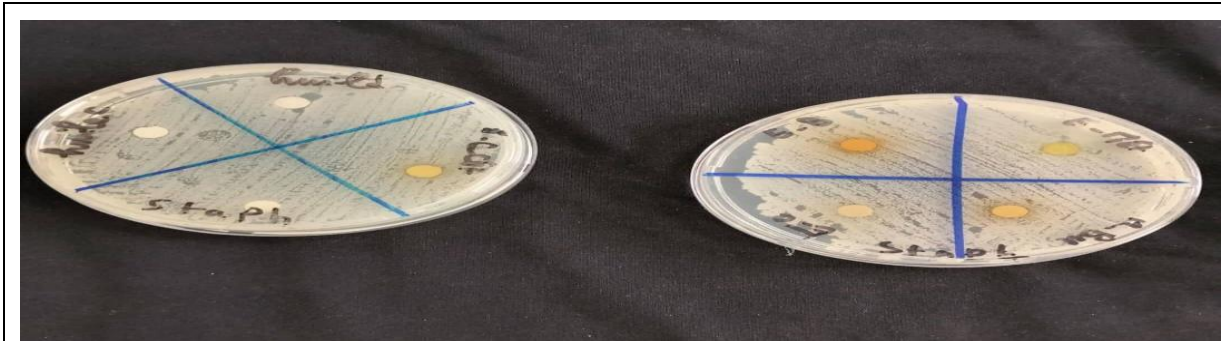


Figure 02 : L'effet des extraits de plante *Juniperus Phoenicea* L. sur la souche bactérienne staphylocoque testée en présence de différentes concentrations d'extraits.

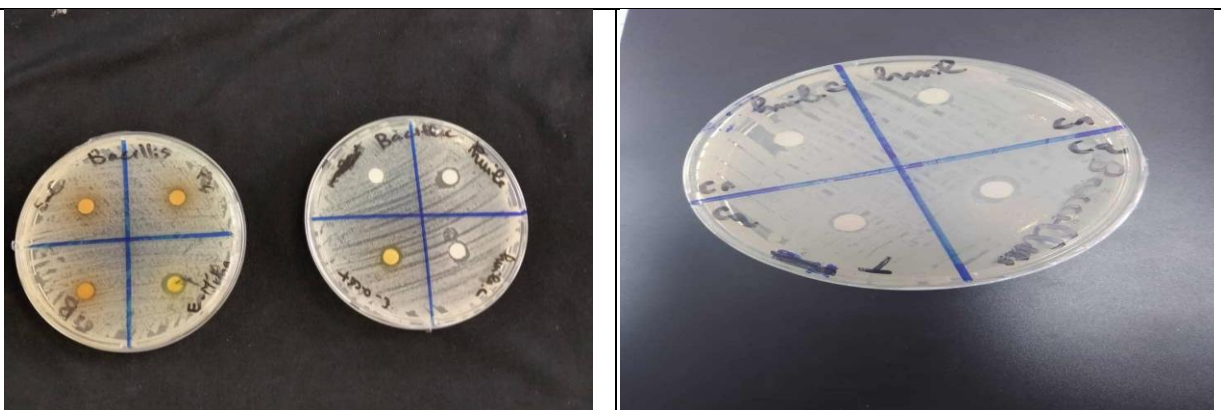


Figure03 : L'effet des extraits de plante *Juniperus Phoenicea* L. sur la souche bactérienne *Bacillus* testée en présence de différentes concentrations d'extraits.

Annexes



Figure 04 : L'effet des extraits de plante *Juniperus Phoenicea* L. sur la souche bactérienne *Pseudomonas* testée en présence de différentes concentrations d'extraits.

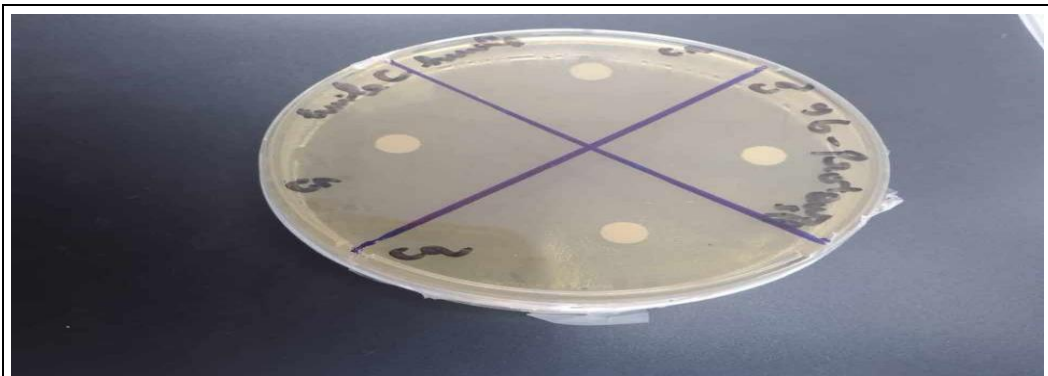
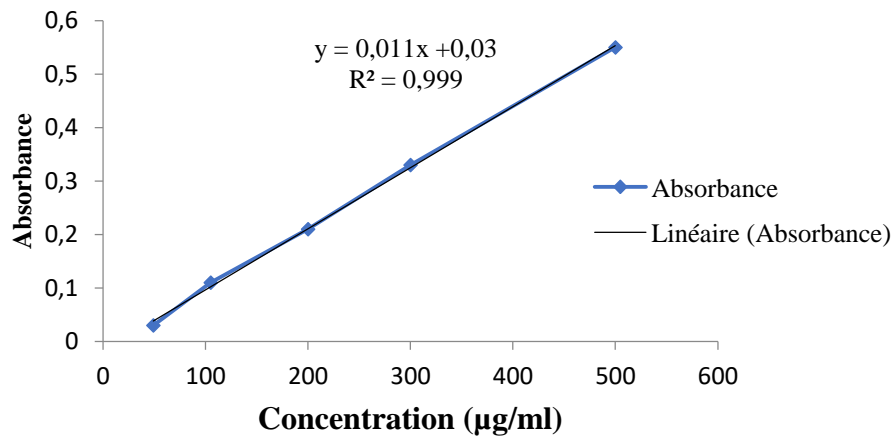
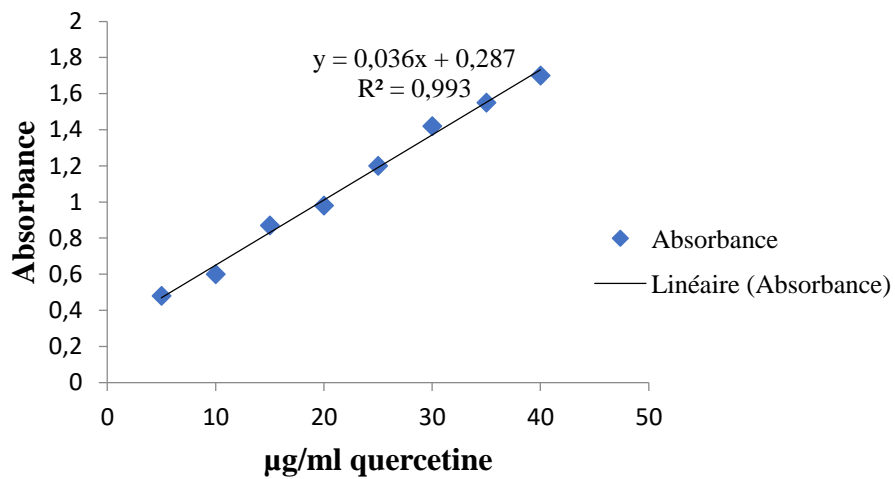


Figure 05 : L'effet de l'huile H et l'huile C de plante *Juniperus Phoenicea* L. sur la souche bactérienne clinique *Proteus Spp* testée en présence de différentes concentrations.

Annexes



Annexe 02 : Droite d'étalonnages de l'acide gallique (moyenne \pm SD).



Annexe 03 : Droite d'étalonnages de la quercetine (moyenne \pm SD)