



République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieure Et De La



Recherche Scientifique

Université Abbès Laghrour-Khenchela

Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie

Département De Biologie Moléculaire Et Cellulaire

MÉMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Master Académique

FILIERE : Sciences Biologiques

OPTION: Biochimie appliquée

THÈME

Etude de l'activité biologique des extraits de
la partie aérienne de *Juniperus thurifera* L.
var. aursiaca

Présenté par:

MAOU Amina

GUIDOUM Nour-El-houda

Encadré par:

ZERAIB Azzeddine

Soutenu le : / /2021

Membres du jury :

Présidente : Dr. DOUAOUIA Lilia MCB Univ. Abbès Laghrour *Khenchela*

Promoteur : Dr. ZERAIB Azzeddine MCB Univ. Abbès Laghrour *Khenchela*

Examineur: Mr. RAHAL Khaled MAA Univ. Abbès Laghrour *Khenchela*

Promotion : 2020/2021

Laboratoire où le travail a été réalisé: laboratoire de l'université Abbes Laghrour *Khenchela*





Remerciements


قبل كل شيء، الشكر لله الذي أمدنا بالإرادة والقوة لتحقيق هذا العمل المتواضع، فالحمد

و الشكر ! أولا وأخرا على عونه وفضله لإتمام هذا العمل

*Avant toute chose nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé la force et les moyens afin de pouvoir réaliser ce travail. Je remercie chaleureusement mon encadreur **Dr. Zeraib Azzeddine** pour avoir dirigé ce travail. Sa compétence scientifique a largement contribué à la réalisation de ce travail. Je lui suis également très reconnaissante pour m'avoir témoigné sa confiance.*

*Nous remercions les membres du jury : **Dr. Douaouia Lilia** et **Mr. Rahal Khaled**, que nos faits l'honneur de juger ce modeste travail ainsi qu'aux enseignants du département de biologie.*

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



DEDICACE :

Je remercie tout d'abord mon DIEU de m'avoir donné la santé, la volonté, le courage, la patience et la conscience afin de bien rédiger ce modeste travail Je dédie le fruit de mon travail à :

♥ *La lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ; ma mère : Z. DJAMILA, qui a œuvré pour ma réussite, qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, qui m'ont donné la confiance, le courage et la sécurité, Que dieu te protège et te donne la santé et je te serai reconnaissante toute ma vie ♥.*

♥ *Je le dédie particulièrement à mon père: ABDERRAHMANE qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour ses conseils et ses encouragements ♥.*

♥ *À mes chers frères et sœurs : ISRA, TAHA -EL-AMINE, MOHAMED SALAH. Pour leurs confiance encouragements et leurs aide.*

♥ *À mon enseignant ZERAIB .A, un grand merci monsieur notamment pour ta patience et ta motivation dans tous les cas ♥.*

♥ *Un remerciement particulier à mon binôme NOUR -EL-HOUDA, qui a partagé avec moi les beaux et difficiles moments de ce travail ♥.*

♥ *À ma meilleure amie MERIEM DERBAL ♥.*

♥ *À tous les membres de ma famille MAOU et ZOUAGHI ♥.*

À mes collègues Biochimie appliquée de la promotion

♥2020-2021 ♥

♥AMINA ♥

DEDICACE :

Je remercie tout d'abord mon DIEU de m'avoir donné la santé, la volonté, le courage, la patience et la conscience afin de bien rédiger ce modeste travail Je dédie ce travail :

♥ *La lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ; ma mère : OUCHENE ZARFA, ma meilleure amie, qui a œuvré pour ma réussite, qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son Sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité et toujours présente à côté de moi, Que dieu te protège et te donne santé et je te serai reconnaissante toute ma vie ♥.*

♥ *Je le dédie particulièrement à mon grand-père: OUCHENE KHELIFA qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour ses conseils et ses encouragements ♥.*

♥ *Mes Parents : A mon père LAZHARI et ma mère SORIA, pour ses précieux conseils et encouragements ♥.*

♥ *A mes chers frères : FATEH, ZOHIR, KAMEL pour leurs confiance encouragements et leurs aide.*

♥ *À mon enseignant ZERAIB .A, un grand merci monsieur notamment pour ta patience et ta motivation dans tous les cas ♥.*

♥ *un remerciement particulier à mon binôme AMINA qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce Travail ♥.*

Enfin je le dédie à tous mes amis. Qu'ils trouvent à travers ce travail ma sincère reconnaissance.

♥ NOUR-EL-HOUDA ♥

Sommaire

	Page
Abréviations.....	III
Liste des figures.....	IV
Liste des tableaux	V
Résumé	VI
Abstract.....	VII
المخلص.....	VIII
I/ Introduction	
	01
II/ Matériel et Méthodes	
	04
II-1- Matériel.....	04
II-1-1- Matériel végétal.....	04
II-1-2- Matériel utilisé pour les tests des activités biologiques	04
II-1-3- Matériel de laboratoire.....	05
II-1-3-1. Réactifs chimiques.....	05
II-1-3-2. Appareillage et Instruments.....	05
II-2- Méthodes.....	06
II-2-1- Préparation des extraits de <i>J. thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i>	06
a- Broyage et tamisage.....	06
b- Préparation des extraits hydro-méthanolique.....	06
c- Calcul du rendement.....	08
II-2-2-Dosage des métabolites des extraits de <i>J.thurifera</i> L.....	08
II-2-2-1. Dosage des polyphénols totaux.....	08
II-2-2-2. Dosage des flavonoïdes.....	09
II-2-3-Étude des activités biologiques.....	10
II-2-3-1. Evaluation de l'activité anti diabétique.....	10
II-2-3-2. Evaluation de l'activité anti inflammatoire.....	11
a- Préparation de la Suspension des Globules Rouges Humaines	11
b- Le test de l'activité anti-inflammatoire.....	11
II-2-3-3. Activité anti arthritique.....	12
II-2-3-4. Activité anti-oxydante	13
II-2-4. Analyse statistique	13

III/ Résultats et Discussion.

III-1- Etude phytochimique.....	14
III-1-1. Rendement d'extraction.....	14
III-1-2. Dosage des polyphénolstotaux et les flavonoïdes.....	15
III-2- Les activités biologiques.....	17
III-2-1. Effet anti-diabétique des extraits de <i>J. thurifera</i>	17
III-2-2. Activité anti-inflammatoire par la méthode des globules rouges humaines	19
III-2-3. Activité anti-arthritique par la méthode de dénaturation des proteins...	21
III-2-4. L'activité anti-oxydante.....	23
Conclusion	26
Références bibliographique	27
Annexes	

Liste des abréviations

Abs: Absorbance.

AC: Absorbance de la solution contrôle.

AG: Acide gallique.

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium.

AT: Absorbance de test.

DO: Densité optique.

DPPH: Diphénylpicryl-hydrate.

E: Extrait.

EAG: Equivalents d'acide gallique.

EC: Concentration effective.

EQ: Equivalent de quercétine.

F: Femelle.

I %: Pourcentage d'inhibition.

IC₅₀: La concentration du substrat qui inhibe 50% de l'activité.

J. th: *Jeniperus thurifera*.

M: Mâle.

ns: non significatif.

OMS: l'Organisation Mondiale de la Santé.

PBS: Solution tampon phosphate.

PE: Poids de l'extrait.

PS: Poids du matériel végétal sec.

PV: Poids du matériel végétale.

Q: Quercétine.

R: Rendement.

SGRBH: Suspension des globules rouges humaines.

UV: Ultra violet.

Liste des figures

	Page
Figure 01: la partie aérienne de l'espèce <i>J. thurifera</i>	04
Figure 02: protocole de la préparation des extraits hydro-méthanoliques.....	07
Figure 03: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique	09
Figure 04: La courbe d'étalonnage de la Quercétine	10
Figure 05: Rendement de l'extraction par macération	14
Figure 06: Effet de différentes concentrations des extraits sur l'absorption du glucose par les cellules de la levure	18
Figure 07: Pourcentage de protection de la membrane par le déclofenac.....	20
Figure 08: Pourcentage de protection de la membrane par l'extrait de l'individu Femelle	20
Figure 09: Pourcentage de protection de la membrane par l'extrait Mâle	20
Figure 10: Activité anti-arthritiques des extraits de <i>J. thurifera</i> de différentes concentrations	21
Figure 11: Activité anti radicalaire des extraits de la partie aérienne de l'espèce <i>J.</i> <i>thurifera</i> L. Var. <i>aurasiaca</i> vis-à-vis du radical DPPH.	23
Figure 12: Résultats du test antioxydant des extraits de l'espèce <i>J. thurifera</i> L. var. <i>aurasiaca</i>	24

Liste des Tableaux

	Page
Tableau 01: Teneur en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits de la partie aérienne de l'espèce <i>J. thurifera</i> L. var. <i>aurasiaca</i>	16
Tableau 02: Pourcentage d'absorption de glucose dans les cellules de levure traitées avec des extraits de <i>J. thurifera</i> L. Var. <i>aurasiaca</i>	18
Tableau 03: Résultats de l'activité anti inflammatoire des extraits hydro-méthanolique de la partie aérienne de l'espèce <i>J. thurifera</i> L.	19
Tableau 04: Les valeurs de l'IC50 des extraits de <i>Juniperusthurifera</i> L.	21
Tableau 05: Les valeurs de l'IC50 des extraits de la partie aérienne de l'espèce <i>J. thurifera</i> L. Var. <i>aurasiaca</i>	25

Résumé

La présente étude vise à valoriser une espèce endémique et à usage médicinal en Algérie (*Juniperus thurifera* L. var. *aurasiaca*), en évaluant les activités biologiques : anti-diabétique, anti-inflammatoire et anti-oxydante des extraits hydro-méthanoliques issus de la partie aérienne des deux sexes mâle et femelle.

Dans un premier temps, l'extraction par macération a montré que les deux sexes ont donné un rendement important, il est de l'ordre de 14.66 % et 15.01 %. La quantification des polyphénols par le Folin-Cicalteu révèle la présence de quantité importante en polyphénols chez les deux sexes mâle et femelle. Le dosage des flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 nous a mené à conclure que cette plante contient une quantité considérable de ces métabolites dépendante du sexe de l'arbre. L'effet antidiabétique a été évalué en utilisant la levure de boulanger. Les extraits de *J. thurifera* possèdent un effet très important comparé avec le standard. L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par la méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges et la dénaturation des protéines. Les deux méthodes révèlent une activité anti-inflammatoire considérable dépendante de la concentration de l'extrait. L'activité antioxydant évaluée in vitro a révélé que les extraits testés sont dotés de pouvoir anti-radicalaire intéressant vis-à-vis du radical DPPH.

En conclusion, l'espèce *J. thurifera* peut être considérée comme une source prometteuse de nouvelles substances anti-oxydantes et antidiabétiques et anti-inflammatoires.

Mots-Clés:

Juniperus thurifera, Polyphénols, Flavonoïdes, anti-diabétique, anti-oxydant, anti-inflammatoire.

Abstract

The present study aims to valorize an endemic species with medicinal use in Algeria (*Juniperus thurifera* L. var. *aurasiaca*), by evaluating the biological activities such as anti-diabetic, anti-inflammatory, and anti-oxidant of hydro-methanolic extracts from the aerial part of both male and female sexes.

Firstly, the extraction by maceration showed that both sexes gave a significant yield, which is in the order of 14.66% and 15.01%. The quantification of polyphenols by Folin-Cicalteu reveals the presence of a large amount of polyphenols in both sexes, male and female. The flavonoids assay by the method of $AlCl_3$ led to conclude that this plant contains a considerable amount of these metabolites dependent on the sex of the tree. The anti-diabetic effect was evaluated using baker's yeast. The extracts of *J. thurifera* have a very important effect compared with the standard. Anti-inflammatory activity was assessed by the red blood cell membrane stabilization and protein denaturation methods. Both methods show considerable anti-inflammatory activity depending on the concentration of the extract. The in vitro antioxidant activity revealed that the extracts tested are endowed with interesting anti-radical power against the DPPH radical.

In conclusion, the *J. thurifera* species can be considered as a promising source of new anti-oxidant and anti-diabetic and anti-inflammatory substances.

Key words:

Juniperus thurifera, Polyphenols, Flavonoids, anti-diabetic, anti-oxidant, anti-inflammatory.

المخلص

تهدف هذه الدراسة إلى تثمين نوع من النباتات المستوطنة و ذات الاستخدام الطبي في الجزائر (*Juniperus thurifera* L. var. *aurasiaca*) ، من خلال تقييم الأنشطة البيولوجية: المضادة لمرض السكر ، مضادة للالتهابات ومضادة للأكسدة، لمستخلصات الجزء الهوائي لأشجار من الجنسين ذكورا وإناثا.

أظهر الاستخلاص بالنقع أن كلا الجنسين أعطيا مردودا هاما بلغ 14.66% و 15.01%. يكشف القياس الكمي للبوليفينول بواسطة Folin-Cicalteu عن وجود كمية كبيرة من مادة البوليفينول في كلا الجنسين ، الذكور والإناث. تحديد مركبات الفلافونويد بواسطة طريقة AICI3 يقودنا إلى الأستنتاج أن هذا النبات يحتوي على كمية كبيرة من هذه المركبات التي تتأثر بجنس الشجرة. تم تقييم التأثير المضاد لمرض السكر باستخدام خميرة الخبز. تمتلك مستخلصات *J. thurifera* تأثيرا مهما جدا مقارنة بالمعيار. تم تقييم النشاط المضاد للالتهابات عن طريق تثبيت غشاء خلايا الدم الحمراء وطريقة هدم البروتين. تُظهر كلتا الطريقتين نشاطا كبيرا مضادا للالتهابات اعتمادا على تركيز المستخلص. كشف النشاط المضاد للأكسدة الذي تم تقييمه في المختبر أن المستخلصات المختبرة تتمتع بقوة مثيرة للاهتمام ضد الجذور ضد جذور DPPH.

في الختام ، يمكن اعتبار أنواع *J. thurifera* مصدرا واعدًا لمضادات الأكسدة الجديدة والمواد المضادة للسكري والالتهابات.

الكلمات الدالة

Juniperus thurifera، البوليفينول، الفلافونويد، : المضادة لمرض السكر ، مضادة للالتهابات ومضادة للأكسدة



Introduction

I- Introduction

Le diabète sucré est devenu un problème majeur de la santé publique à l'échelle mondiale. Il touche environ 25% de la population mondiale (les pays développés et en développement) (**Rahimi, 2015**). Cette maladie est considérée comme un ensemble de troubles métaboliques ayant différentes causes, qui se caractérisent par un déséquilibre dans les glucides, les protéines et le métabolisme des graisses qui ont un effet sur l'action ou la sécrétion de l'insuline (**American Diabetes Association, 2007**).

Dans la médecine moderne, il n'existe toujours pas de thérapie ou de médicament efficace pour guérir le diabète. Les agents antidiabétiques actuels comprennent les sulfonyles, la thiazolidinedione, les inhibiteurs de la α -glycosidase tels que le miglitol et l'acarbose. Néanmoins, ces médicaments ne parviennent pas à guérir la maladie, en plus, ils provoquent plusieurs complications diabétiques et effets secondaires tels que les douleurs abdominales, la diarrhée et des selles molles dans le côlon (**Davis et Granner, 2001**).

Les êtres vivants ont besoin de dioxygène pour assurer leur existence, alors que l'oxygène peut produire des radicaux libres qu'on appelle aussi des espèces réactives de l'oxygène (ROS, pour *Reactive Oxygen Species*) qui sont toxiques pour l'intégrité de la cellule (**Sies, 1997**). Cependant, l'organisme possède un système d'antioxydants et d'enzymes qui agissent ensemble pour empêcher l'endommagement des composants des cellules comme l'ADN, les lipides et les protéines. Les ROS sont impliqués dans la pathogenèse de nombreuses maladies, notamment le cancer, la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, l'athérosclérose, l'insuffisance cardiaque, l'infarctus du myocarde, le vitiligo et le syndrome de fatigue chronique (**Genuis et Kyrillos, 2017**). Ces dernières années, plusieurs études épidémiologiques ont confirmé que l'apport d'antioxydants exogènes est efficace pour prévenir ou supprimer ces maladies (**Smida et al., 2017**).

L'inflammation et l'oxydation sont étroitement liées: les radicaux libres qui endommagent les cellules entraînent une inflammation (**Ferrero-Miliani et al., 2007**). Le terme anti-inflammatoire fait référence à l'attribut d'une substance chimique associée à un traitement qui peut réduire l'inflammation. Environ la moitié des analgésiques sont des anti-inflammatoires, soulageant la douleur en réduisant l'inflammation (**Yasmin et al., 2020**).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont parmi les médicaments les plus couramment utilisés, et beaucoup sont disponibles en vente libre, en raison de leurs propriétés analgésiques et anti-inflammatoires. Ils manifestent leurs effets en empêchant la production de diverses prostaglandines via l'inhibition des enzymes cyclooxygénases (COX) (**Ross et al., 2017**).

Les anti-inflammatoires sont connus pour avoir des effets indésirables sur la muqueuse gastro-intestinale (GI), augmentant la probabilité de développer un ulcère gastro-duodéal et des saignements gastro-intestinaux. En outre, leur potentiel d'impact négatif sur les patients, en particulier ceux souffrant d'insuffisance cardiaque, en raison de la promotion de la rétention d'eau, de l'élévation de la pression artérielle et de l'altération de la fonction rénale est également bien reconnu (**Aw et al., 2005 ; Scott et al., 2008 ; Schmidt et al., 2016 ; Ross et al., 2017**).

Les effets indésirables et parfois l'inefficacité des médicaments de synthèse et l'insuffisance des infrastructures dans les pays en voie de développement, font qu'une large tranche de la population mondiale dépend essentiellement de la médecine complémentaire. Selon l'Organisation mondiale de la santé **OMS (2002)**, environ 80% de la population mondiale dépend de la médecine traditionnelle pour répondre à ses besoins en soins de santé primaires, en raison de la pauvreté et du manque d'accès aux soins de santé modernes. Prestations de service médecine (**Ma WG et al., 1997**).

L'Algérie est l'un des pays africains qui ont une flore très diversifiée, où de nombreuses espèces possèdent des propriétés curatives, présentent des intérêts divers et constituent de ce fait un axe de recherche scientifique plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles.

Le genre *Juniperus* est une composante importante des écosystèmes arides et semi-arides de tout l'hémisphère nord. Il est présent au sud de la Méditerranée dans l'Atlas marocain et les Aurès de l'Algérie et dans le nord de la Méditerranée en Espagne, en France et en Italie. Ce genre est composé d'environ 75 espèces (**Adams, 2014**), il est le deuxième plus grand genre de conifères en nombre d'espèce après le genre *Pinus* (**Farjon, 2010**).

En Algérie, le genre *Juniperus* est représenté par deux sections et cinq espèces; Sect. *Oxycedrus* (*J. communis* L., *J. oxycedrus* L.), et la section *Sabina* (*J. thurifera* L., *J. phonicea* L., *J. sabina* L.) (**Quézel et Santa, 1962**).

Juniperus thurifera L., est une plante médicinale utilisée en médecine populaire en Algérie et dans de nombreux pays pour le traitement de diverses maladies (Stassi *et al.*, 1996 ; Zeraib *et al.*, 2014a-b). Cette espèce est un arbre ou un arbuste dioïque endémique du sud-ouest de l'Europe et de l'Afrique du Nord (Gauquelin *et al.*, 2003 ; Zeraib, 2016).

La population algérienne (var. *aurasiaca*) est génétiquement plus semblable à la population européenne (subsp. *thurifera*), mais phytochimiquement et morphologiquement elle est proche de la population marocaine (var. *africana*). Vela et Schäfer (2013) ; Zeraib *et al.* (2014) ont proposé de nommer la population algérienne : *Juniperus thurifera* L. Var. *aurasiaca* Vela & P. Schäfer, dans le rang variétal.

La caractérisation phytochimique du genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.), a fait l'objet de plusieurs études, la plupart d'entre elles ont porté sur les populations de Maroc (Nord d'Afrique), et de l'Espagne en Europe. Cependant, très peu d'études se sont intéressées au taxon algériens *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* (Zeraib *et al.*, 2014a-b, Boudjedjou *et al.*, 2018 ; Merradi *et al.*, 2018), et aucune étude n'a été menée sur les activités antidiabétique et anti-inflammatoire.

L'objectif de ce travail est d'évaluer les activités biologiques : antioxydante anti-inflammatoire et antidiabétique des extraits hydrométhanoliques obtenus à partir de la partie aérienne des individus mâles et femelles de *Juniperus thurifera* L. var. *aurasiaca*.

A decorative border with intricate scrollwork and floral patterns, rendered in a dark brown color, framing the central text.

Matériel et Méthodes

II- Matériel et Méthodes

II-1- Matériel

II-1-1- Matériel végétal

Le matériel végétal comprend la partie aérienne de l'espèce *Juniperus thurifera* L. Var. *aurasiaca* récoltée à partir des individus mâles et autres femelles (**Figure 01**) dans la région de T'kout, Wilaya de Batna, durant le mois d'avril 2021.

L'identification de l'espèce a été faite par Dr. Zeraib Azzeddine, Maître de conférences à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Abbas Laghrour, Khenchela.

Après la récolte et l'identification, le matériel végétal est nettoyé des impuretés, séché à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant 15 jours.



Figure 01: la partie aérienne de l'espèce *J. thurifera* (à droite, individu femelle ; à gauche, individu mâle)

II-1-2- Matériel utilisé pour les tests des activités biologiques

La levure de boulanger (*Saccharomyces cerevisiae*) a été utilisée pour l'évaluation de l'activité anti diabétique, tandis que le blanc d'œuf et les globules rouges prélevés d'un volontaire sain et qui n'a pas pris d'anti-inflammatoire durant les derniers quinze jours, ont été utilisés pour les tests de l'activité anti-inflammatoire des extraits de *J. thurifera* var. *aurasiaca*.

II-1-3- Matériel de laboratoire

II-1-3-1- Réactifs chimiques

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi eux;

- Méthanol
- éther de pétrole
- Déclofinac de sodium
- AlCl_3 (1%)
- Folin ciocalteau
- carbonate de sodium (Na_2CO_3 à 20%)
- Dextrose
- Citrate de sodiome
- 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle (DPPH)
- L'acide citrique
- KH_2PO_4 , KCl , NO_2 , HPO_4 , NaCl , HCl (1%)
- Tampon phosphate salin (BPS)
- Eau physiologique
- Eau distillée

II-1-3-2. Appareillage et Instruments

- Rotavapeur (HAHNVAPOR)
- Spectrophotomètre UV- VIS à double visceau (JENWAY 6305)
- Bain Marine(MEMMERT)
- Etuve
- Ph mètre (HANNA)
- Agitateur magnétique (SCIOLOGEX)
- Vortex(VELP)
- Balance électrique (OHAUS)
- Pipettes de pasteur
- Micropipettes
- Disque de papier filtre Wattman N°3(6mm de diamètre)
- Ecouvillons stériles
- Anse de platine

- Autoclave 120 C°
- Etuve électrique à 37°C
- Réfrigérateur
- Chauffe ballon
- Ballon
- les embouts
- Verrerie de laboratoire: Ballons de 50, 100 et 500ml, Entonnoirs, Eprouvettes graduées de 5, 25 et 200 ml, Bêchers de différent volume (80, 100, 200, 500 et 1000 ml), Tubes à essai et Verre de montre.

II- 2- Méthodes

II-2-1- Préparation des extraits de *J. thurifera* var. *aurasiaca*

a- Broyage et tamisage

Après séchage, le matériel végétal a été broyé à l'aide d'un broyeur électrique. Le tamisage a été effectué à l'aide d'une série de tamis, et les poudres obtenues ont été conservées dans des flacons en verre fumé propres et stériles et conservés à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation.

b- Préparation des extraits hydro-méthanolique

L'extraction solide-liquide a été adoptée selon la procédure **d'Owen et Johns (1999)** avec de légères modifications. Une quantité de 10 g de la poudre, est mise à macérer dans un mélange de 100 ml de solvant hydro-méthanolique (l'eau distillée/méthanol, 3/7: V/V) sous agitation mécanique pendant 24 heures à température ambiante. Après filtration, les extraits récupérés ont été soumis à une délipidation par l'éther de pétrole (20 ml d'éther de pétrole pour 100 ml de filtrat), cette opération est répétée plusieurs fois. La phase hydro-méthanolique obtenue subit une évaporation à l'aide d'un Rotavapeur à 45°C jusqu'à évaporation complète et obtention d'un extrait sec (**Figure 02**).

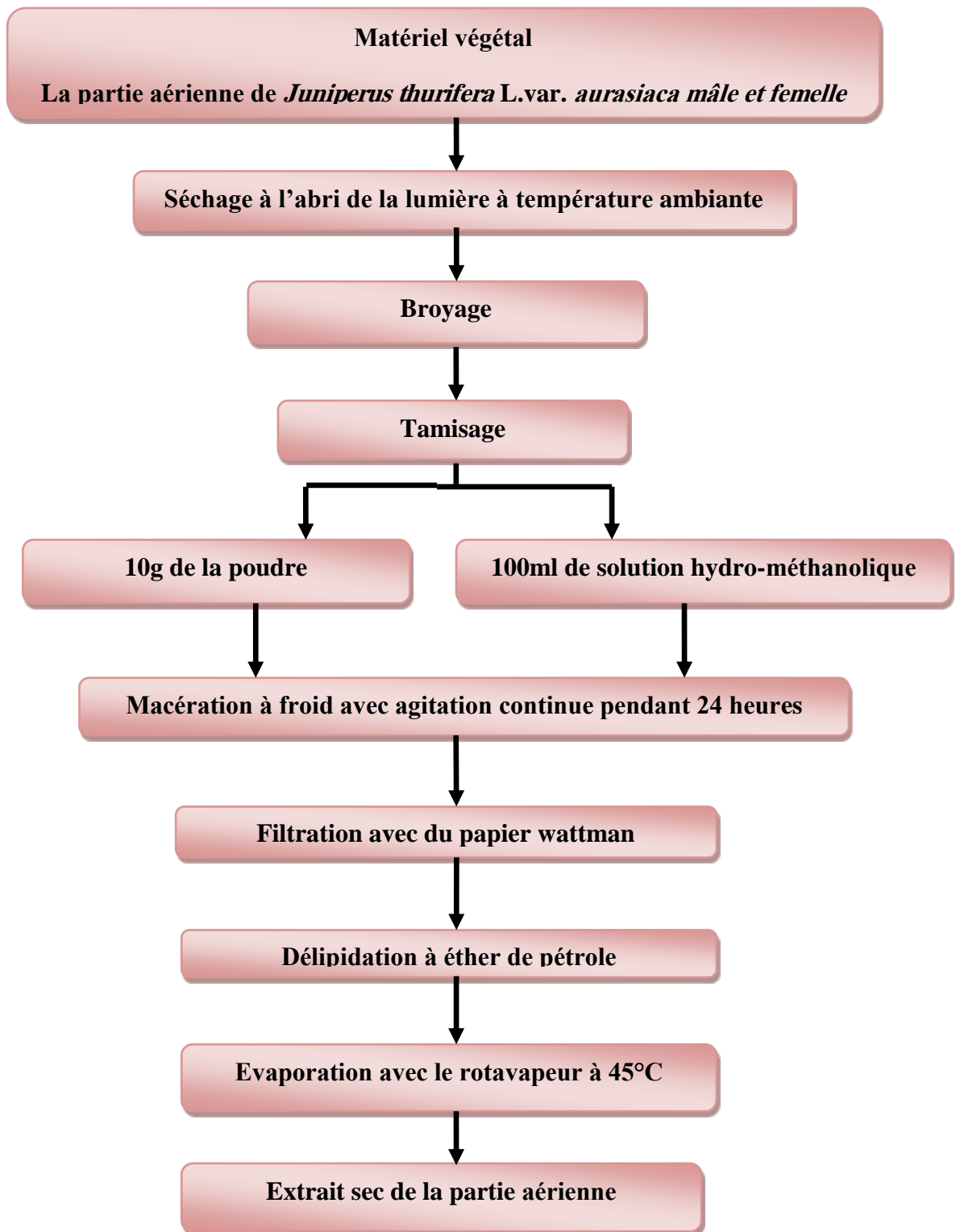


Figure 02: protocole de la préparation des extraits hydro-méthanoliques.

c- Calcul du rendement

Le rendement de la plante en extraits est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids du matériel végétal sec (Akrouf, 2004). Il a été calculé par la formule suivante :

$$R = PE/PS \times 100.$$

Où :

R=Rendement de l'extrait en pourcentage ;

PE=Poids de l'extrait en gramme ;

PS=Poids du matériel végétal sec en gramme.

II-2-2-Dosage des métabolites des extraits de *J. thurifera* L.

II-2-2-1. Dosage des polyphénols totaux

La quantification des polyphénols totaux se fait par la méthode de Folin-Ciocalteu citée par Moufouk *et al.* (2020) avec de légères modifications.

Une quantité de 200 µl d'extrait ou standard (préparés dans le méthanol) avec des dilutions convenables sont ajoutés à 1000µl de réactif de Folin-ciocalteu (dilué 10 fois v/v) et après 4 min, 800µl d'une solution de carbonate de sodium de 7.5% (m/v) de concentration sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 765nm. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (1-5mg/ml) (Figure 03). Elle est exprimée en milligramme d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (mg EAG/mg d'extrait).

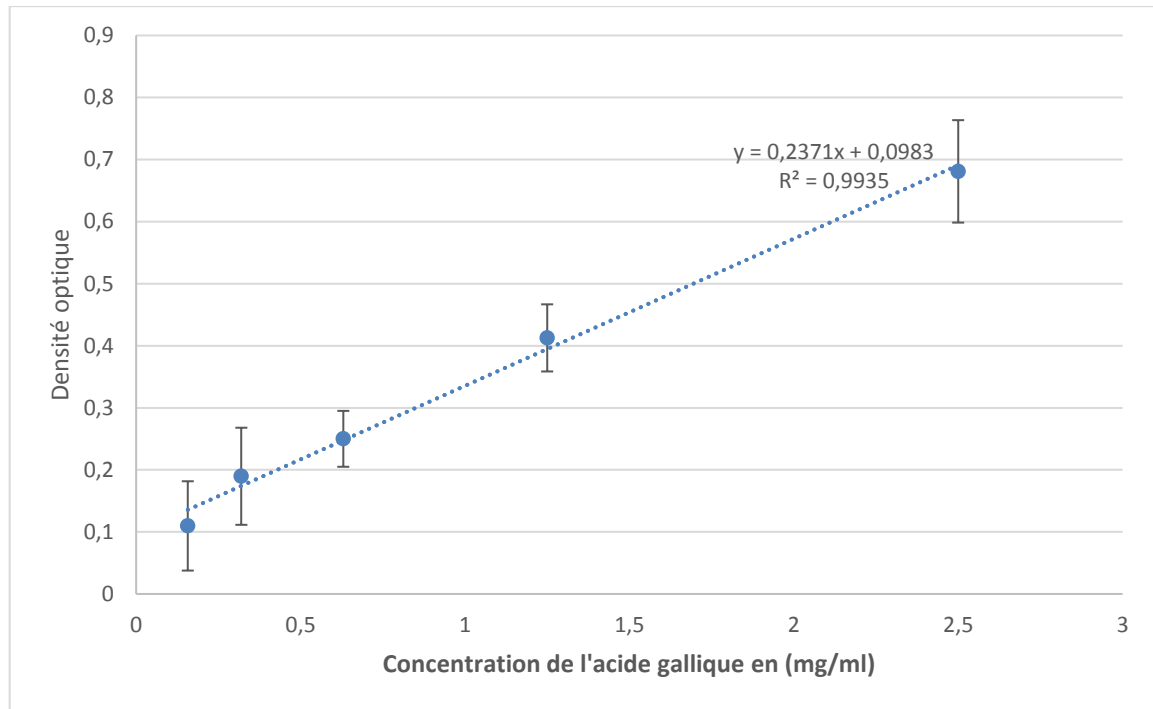


Figure 03: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne \pm SD de trois mesures).

II-2-2-2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes contenus dans les extraits de *J. thurifera* L. var. *aurasiaca* estimés par la méthode d' AlCl_3 (Moufouk *et al.*, 2020) avec de légères modifications. 1 ml de trichlorure d'aluminium à 2% préparé dans le méthanol a été ajouté à 1 ml de différents extraits de la plante, l'ensemble est incubé à l'ombre à température ambiante pendant 10 minutes, l'absorbance est lue à 430 nm. La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard (Quercétine: 6.26-50 $\mu\text{g/ml}$) (Figure 04). La teneur en flavonoïde est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme de matière sèche ($\mu\text{g EQ} / \text{mg E}$).

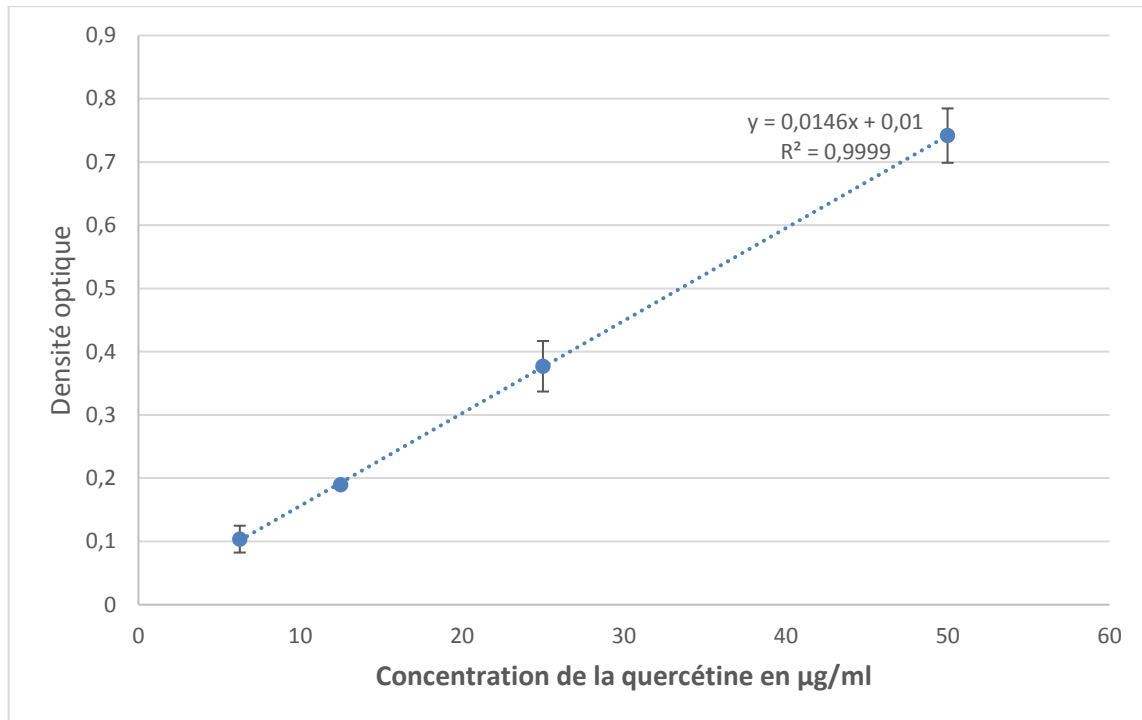


Figure 04: La courbe d'étalonnage de la Quercétine (moyenne \pm SD de trois mesures).

II-2-3-Étude des activités biologiques

II-2-3-1. Evaluation de l'activité anti diabétique

L'activité antidiabétique des extraits de *J. thurifera* a été évaluée en quantifiant la consommation du glucose par la levure de boulanger (*Saccharomyces cerevisiae*) (Shettar *et al.*, 2017 ; Yasmin *et al.*, 2020).

Les cellules de la levure ont été préparées selon la méthode de Cirillo (1962) avec de légères modifications. 4 g de levure de boulangerie commerciale a été lavée par centrifugation répétée 3 fois (3000 g, 5 min) dans l'eau distillée jusqu'à ce que le surnageant fluides devient claire et une suspension de 10% (Levure / l'eau distillée stériles, 1/9 : V/V). 1 ml de l'extrait, ont été ajoutées à 1 ml de solution de glucose et incubés pendant 10 min à 35°C.

La réaction a été initié par addition de 100 µl de la suspension de levure, chaque tube est mélangé avec le vortex et incubée à 37° C pendant 60 min. Les tubes ont été ensuite centrifugés à (2500 g, 5 min) et le glucose dans le surnageant a été estimé en mesurant l'absorbance à 540 nm.

Le pourcentage de captation de glucose par les cellules de levure a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\%d'absorption\ de\ glucose = 100 \times (Abs_{\text{contrôle}} - Abs_{\text{échantillon}}) / Abs_{\text{contrôle}}$$

II-2-3-2- Evaluation de l'activité anti inflammatoire

L'effet antiinflammatoire des extraits de *J. thurifera* a été évalué par la méthode de la stabilisation de la membrane des globules rouges humains (Ajithkumar *et al.*, 2020 ; Yasmin *et al.*, 2020).

a- Préparation de la Suspension des Globules Rouges Humaines (SGRH)

Le sang a été prélevé sur des volontaires humains sains et mélangé avec un volume égal de solution d'Alsever (2 % de dextrose, 0,8 % de citrate de sodium, 0,5 % d'acide citrique et 0,42 % de NaCl). Tous les échantillons de sang ont été conservés à 4 °C pendant 24 h avant utilisation. Ces derniers ont été centrifugés à 2000 tr/min pendant 5 minutes trois fois et lavés avec un volume égal de solution saline normale (iso-saline) à chaque fois. Enfin, le volume de sang sédimenté a été mesuré et reconstitué sous forme de suspension à 10 % V/V avec une solution saline normale.

b- Le test de l'activité anti-inflammatoire

Le principe impliqué ici était la stabilisation de la membrane des globules rouges humains par une lyse membranaire induite par une hypotonie.

Le mélange contient 1 ml de tampon phosphate (pH 7,4, 0,15 M), 2 ml d'hypo saline (0,36 %), 0,5 ml de suspension SGRH (10 % V/V) et 0,5 ml d'extrait (100, 200, 400 et 800 µg/ml) ou du standard (diclofénac sodique) à différentes concentrations. (50, 100, 200 µg/ml). Le blanc (control) a été préparé en remplaçant l'extrait par l'eau distillée.

Les mélanges ont été incubés à 37°C pendant 30 minutes et centrifugés à 3000 rpm pendant 5 minutes. L'absorbance a été lue par le spectrophotomètre U.V- Vis à 560nm (Chippada *et al.*, 2011).

Le pourcentage de stabilisation de la membrane des globules rouges a été calculé comme suit :

$$\% \text{ Hemolysis} = \frac{\text{OD of test}}{\text{OD of control}} \times 100$$

$$\% \text{ Protection} = 100 - \frac{\text{OD of test}}{\text{OD of control}} \times 100$$

II-2-3-3- Activité antiarthritique

Un test antiarthritique *in-vitro* a été réalisé par la méthode de dénaturation des protéines selon la méthode de **Mizushima et Kobayashi (1968)**, adoptée dans les travaux d'**Ajithkumar et al. (2020)** et **Yasmin et al. (2020)**.

Le mélange réactionnel (5 ml) est composé de 0,2 ml d'albumine d'œuf, 2,8 ml de solution saline tamponnée au phosphate (PBS avec pH 6,4) et 2 ml de l'extrait à différentes concentrations (10, 20, 50, 100 mg / L). Puis le mélange a été incubé à 37° C pendant 15 minutes puis chauffé à 45 ° C pendant 5 minutes. Après refroidissement, leur absorbance a été mesurée à 660 nm.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé en utilisant la formule suivante:

$$\text{Inhibition} = (\text{AC}_{660} - \text{AT}_{660}) / \text{AC}_{660} \times 100$$

AC=Absorbance de la solution de contrôle.

AT=Absorbance de la solution test.

II-2-3-4- Activité anti-oxydante

Le DPPH est un radical libre stable qui possède une coloration violet foncé, lorsqu'il est réduit la coloration devient jaune pâle. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par **Benariba *et al.* (2013)** avec de légères modifications. La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 4 mg de DPPH dans 100ml du méthanol. Un volume de 100µl de chaque extrait est ajouté à 900 µl de la solution méthanolique du DPPH (0,1 mM) fraîchement préparée. Le contrôle négatif est préparé en mélangeant 100 µl du méthanol avec 900 µl d'une solution méthanolique de DPPH. Les tubes sont incubés pendant 30 min à l'obscurité et à température ambiante. La lecture des absorbances est effectuée à 517 nm.

L'activité antioxydant, qui exprime la capacité de piéger le radical libre est exprimée en pourcentage et donnée par la formule suivante :

$$AA\% = \frac{Abs_{517\text{contrôle}} - Abs_{\text{échantillon } 517}}{Abs_{517\text{ contrôle}}} \times 100$$

II-2-4. Analyse statistique

Toutes les expériences ont été faites en triple, les résultats ont été exprimés en moyenne avec son écart-type (n=3). Les valeurs EC50 (concentration effective à 50%) sont calculées en utilisant l'équation de la régression linéaire [% inhibition=f (concentrations)]. Les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification au seuil de 0.05.



**Résultats et
Discussion**



III- Résultats et discussion

III-1-Etude phytochimique

III-1-1. Rendement d'extraction

L'extraction des polyphénols est une étape très importante dans l'isolement aussi bien que dans l'identification des composés phénoliques. En conséquence, beaucoup d'auteurs ont étudié l'influence des différentes conditions d'extraction sur les rendements d'extraction de composés phénoliques de source végétale.

Dans la présente étude, l'origine du matériel végétal (récolté à partir des individus mâles ou femelles) est prise en compte. Le rendement de l'extraction par macération à partir des individus femelle est supérieur légèrement de celui récolté des individus mâles (R = 15,01% et R = 14,66% respectivement) (**figure 05**)

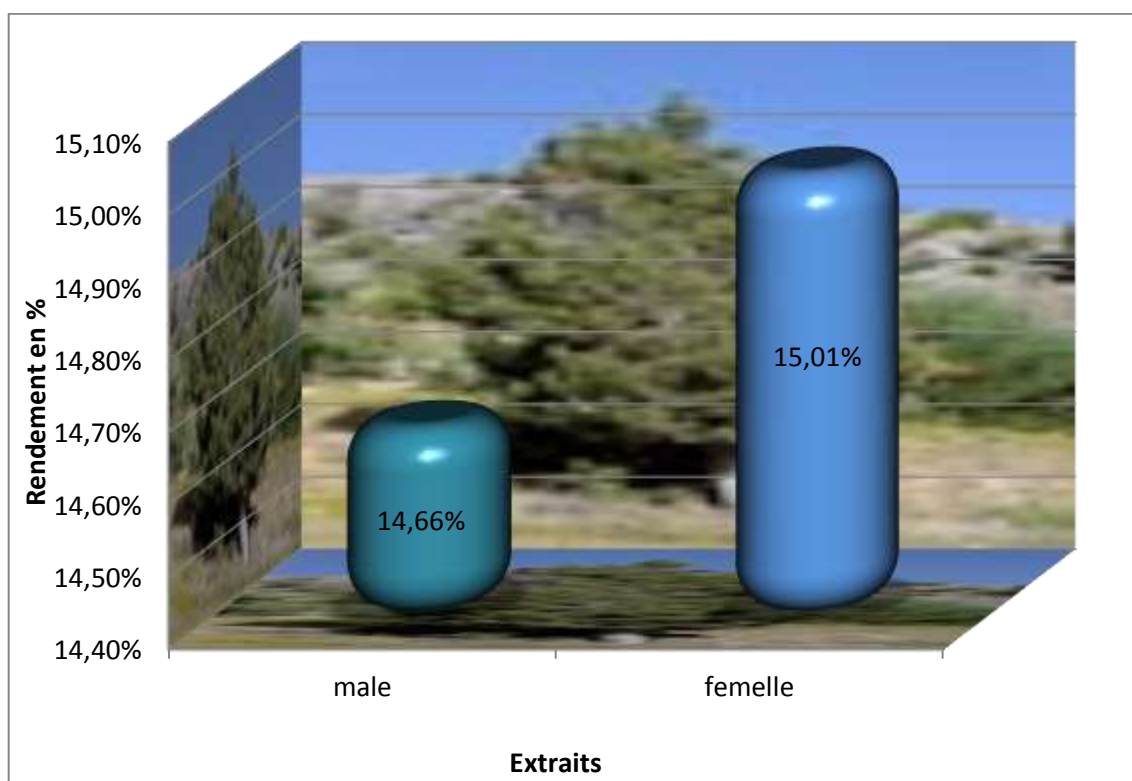


Figure 05: Rendement de l'extraction par macération.

En comparant nos rendements avec ceux d'autres travaux, le rendement obtenu est similaire à celui trouvé par **Mahajan et al., (2012)**, à partir des feuilles de *J. indica* (rendement de l'extrait méthanolique est de 14,59%), par contre il est très important par rapport à celui trouvé par **Athamena (2020)** sur la même espèce.

Eljemli et al., (2016) ont trouvé que le rendement de l'extrait aqueux de *J. thurifera* est égal à 17.69 %. La comparaison de cette valeur avec celle de notre travail a révélé une différence qui résulte probablement dans la polarité des deux solvants.

Les valeurs des rendements d'extraction de: l'extrait méthanolique de *J. communis* (11%) (**Pramanik et al., 2007**), éthanolique de *J. drupacea* (10.69 %) (**Elghorab et al., 2008**), et l'extrait méthanolique de *J. oxycedrus*. subsp. *macrocarpa* (9.69 %) (**Taviano et al., 2011**) ont présenté une certaine similitude avec nos résultats.

Les différences liées au sexe dans la croissance et la concentration de métabolites secondaires ont été documentés dans les plantes dioïque. Les mâles se développent généralement plus rapidement que les femelles, tandis que les femelles consacrent plus de ressources chimiques pour la reproduction et la défense que les mâles, d'où leur croissance réduite (**massei et al., 2006 ; Cepeda-Cornejo et Dirzo, 2010 ; Zeraib et al., 2014b**).

Le rendement de l'extraction varie en fonction de l'origine géographique, les facteurs écologique notamment climatique (la température et l'humidité), l'espèce végétale elle-même, l'organe végétal, le stade de croissance, la période de cueillette, la conservation du matériel végétal, les condition de séchage, la méthode d'extraction (choix et la nature du solvant utilisé), et la présence de parasite, de virus et mauvaises herbes (**Bajpai et al., 2008; Kelen et al., 2008**).

III-1-2. Dosage des polyphénols totaux et les flavonoïdes

L'étude quantitative des extraits bruts, préparés à partir de la partie aérienne de l'espèce *J. thurifera* L. Var. *aurasiaca* des deux sexes mâle et femelle, au moyen des dosages spectrophotométriques avaient pour objectif la détermination de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes.

La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes leur sont attribués (Tavares *et al.*, 2013). Deux droites d'étalonnage ont été tracées pour cet objectif qui sont réalisées avec des solutions d'étalons à différentes concentrations. Les résultats des dosages quantitatifs, colorimétriques des polyphénols totaux et des flavonoïdes sont représentés dans le (Tableau 01).

Tableau 01 : Teneur en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits de la partie aérienne de l'espèce *J. thurifera* L. var. *aurasiaca*.

	TPP	TF
Mâle	884,43±162,74 µgEAG/mgE	28,37 ±2,17 µgEQ/mgE
Femelle	791.64±162,29 µgEAG/mgE	34,56±1,58 µgEQ/mgE
F	0,3914	15.818
P	ns (P= 0,5655)	* (P= 0.01644)

TPP, Teneur en polyphénols ; TF, teneur en flavonoïdes ; µg EAG/mg E, microgrammes équivalent acide gallique dans un milligramme d'extrait ; µg EQ/mg E, microgrammes équivalent Quercétine dans un milligramme d'extrait ; F, valeur de Fischer ; P, probabilité de signification.

Les résultats ont montré que les polyphénols représentent la quasi-totalité des extraits : 884,43 et 791.64 µg EAG/mg d'E, environ 88,44% et 79,16% respectivement de l'extrait. Généralement, la teneur en polyphénols est dépendante des solvants. En effet, Keskes *et al.* (2014) et Chaouche *et al.* (2015) ont confirmé que les solvants polaires sont les plus utilisés pour l'extraction des polyphénols et le rendement augmente considérablement avec la polarité croissante du solvant d'extraction. Mais d'un autre côté, il paraît que le sexe de l'arbre n'affecte pas significativement cette teneur, pourtant celle des arbres mâles dépasse légèrement celle des arbres femelles.

L'analyse de la variance montre (Annexe 11) que le sexe de l'arbre affecte la teneur en flavonoïdes. En effet, l'arbre femelle a donné une quantité plus importante en flavonoïdes (34,56±1,58 µgEAG/mgE) que l'arbre mâle (28,37 ±2,17 µg EAG/mg d'E).

Les extraits ayant une teneur élevée en polyphenols n'ont pas par conséquent une teneur importante en flavonoïdes (Kuppusamy *et al.*, 2016).

L'effet de sexe sur la teneur en métabolites secondaires chez les espèces dioïque a été observé chez plusieurs espèces : *Juniperus thurifera* (Cupressaceae) (Zeraib et al., 2014b) ; *Pistacia atlantica* (Anacardiaceae) (Gourine et al., 2010) ; l'espèce *Zanthoxylum clavaherculis* (Rutaceae) ; (Eiter et al., 2010).

Des compromis physiologique entre la croissance et de la défense sont particulièrement évidents dans les plantes dioïque, où souvent, un sexe investit dans la croissance et l'autre en composés secondaires liés à la défense

Généralement, les arbres males consacrent plus de ressources à la croissance et les femelle à des concentrations élevées de métabolites secondaires (Jing et Coley, 1990 ; Boecklen et al., 1990 ; Elmqvist et al., 1991 ; Herms et Mattson , 1992). Ce qui est confirmé par nos résultats. Mais il arrive rarement, que les arbres femelle investissent moins que les males dans les métabolites secondaires et poussent plus vite ou de façon similaire aux arbres males (Sakai et Burris, 1985 ; Danelle et al., 1985 ; Alliende et Harper, 1989 ; Fritz, 1995).

III-2- Les activités biologiques

III-2-1. Effet anti-diabétique des extraits de *J. thurifera*

L'activité antidiabétique des extraits de *J. thurifera* a été évaluée en quantifiant l'absorption du glucose par la levure de boulanger (*Saccharomyces cerevisiae*), et le Métronidazole a été utilisé comme standard (Shettar et al., 2017). Les résultats sont présentés dans la **figure 06** et le **tableau 02**.

Les deux extraits hydro-méthanoliques (mâle et femelle) et le standard ont augmenté le degré d'absorption de glucose par les cellules de levures de manières dose-dépendante et significative (**Annexe 12**). Le standard semble posséder l'effet le plus important avec $EC_{50\%} = 4.80$ mg/ml tandis que les extraits obtenus à partir des individus mâles et femelle ont un effet inférieur à celui du standard avec $EC_{50\%} = 5.41$ et 5.43 mg/ml respectivement.

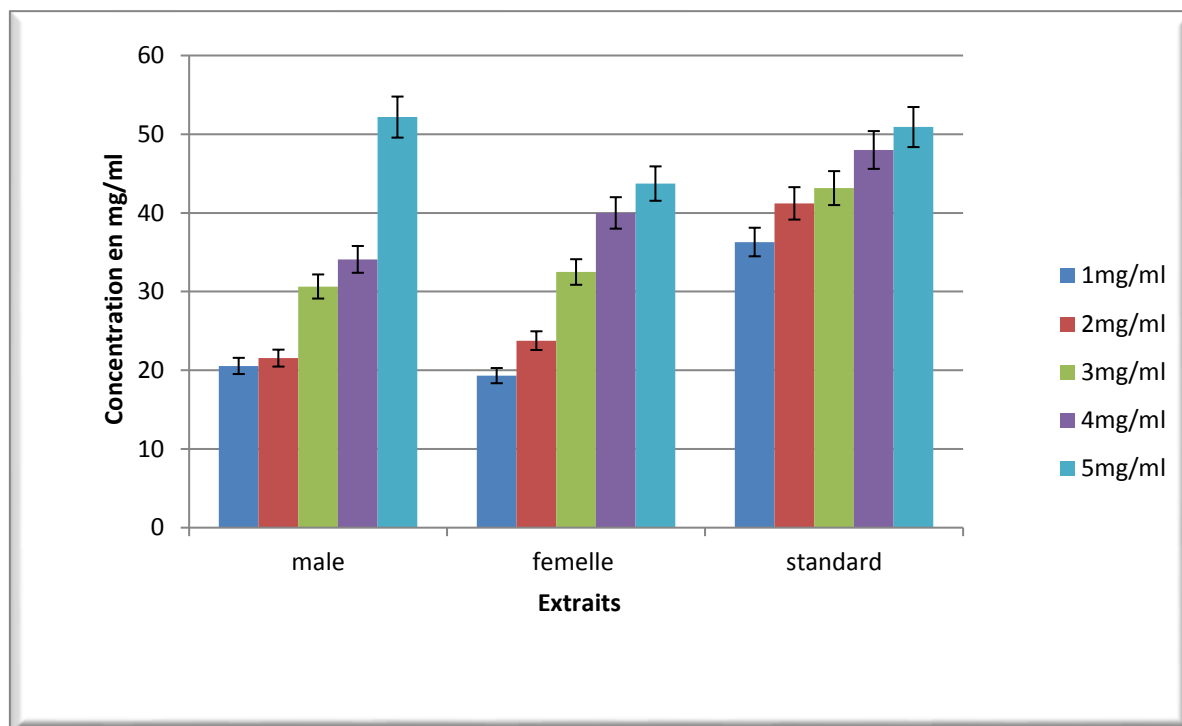


Figure 06 : Effet de différentes concentrations des extraits sur l'absorption du glucose par les cellules de la levure.

Tableau 02 : Pourcentage d'absorption de glucose dans les cellules de levure traitées avec des extraits de *J. thurifera* L. Var. *aurasiaca* (les valeurs représente la moyenne de trois essais \pm SD).

Extrait	Concentration (mg/ml)	Inhibition (%)	IC50 (mg/ml)
standard	1mg/ml	30.45 \pm 7.97	4.80 \pm 0.47
	2mg/ml	35.08 \pm 1.03	
	3mg/ml	40.27 \pm 9.77	
	4mg/ml	42.63 \pm 5.40	
	5mg/ml	50.91 \pm 3.08	
J.th male	1 mg/ml	20.39 \pm 0.33	5.41 \pm 0.31
	2mg/ml	27.15 \pm 10.62	
	3mg/ml	32.63 \pm 1.22	
	4mg/ml	41.33 \pm 3.26	
	5mg/ml	50.38 \pm 0.23	
J.th femelle	1mg/ml	19.45 \pm 0.7	5.43 \pm 0.93
	2mg/ml	23.76 \pm 3.54	
	3mg/ml	32.49 \pm 3.10	
	4mg/ml	39.99 \pm 2.03	
	5mg/ml	43.72 \pm 2.95	

Le mécanisme de transport du glucose à travers la membrane cellulaire de la levure a reçu une attention en tant que procédé de ciblage *in-vitro* de l'effet hypoglycémique de divers composé des plantes médicinales (Cirillo, 1961).

Plusieurs travaux menées sur l'effet antidiabétique des extraits de différentes espèces du genre *Juniperus*, ont montrés la richesse de ces extraits en polyphénols qui ont une activité antidiabétique (de Medina *et al.*, 1994 ; Orhan *et al.*, 2011 ; Orhan *et al.*, 2012 ; Orhan *et al.*, 2017 ; Alkhedaide *et al.*, 2019 ; Orhan *et al.*, 2019).

III-2-2. Activité anti-inflammatoire par la méthode des globules rouges humaines (SGRH)

L'activité anti inflammatoire *in-vitro* des extraits hydro-méthanolique de la partie aérienne de l'espèce *J. thurifera* L. Var. *aurasiaca* été effectuée par la méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges. Les résultats sont récapitulés dans le (Tableau 03).

Tableau 03: Résultats de l'activité anti inflammatoire des extraits hydro-méthanoliques de la partie aérienne de l'espèce *J. thurifera* L. Var. *aurasiaca*.

Extraits		Concentration				
		50ug/ml	100ug/ml	200ug/ml	400ug/ml	800ug/ml
Déclofenac	% d'hémolyse	25.16±2.47	30.99±7.71	35.86±4.20	40.72±0.08	45.73±3.34
	%d'protection	74.84±2.46	69±0.70	64.14±4.20	59.28±0.80	54.27±3.34
J th Femelle	% d'hémolyse		67.08±4.50	42.61±36.78	38.08±33.06	13.36±11.44
	%d'protection		39.92±4.50	43.12±12.3	51.57±15.4	80.03±0.14
J th Male	% d'hémolyse		48.57±4.92	39.34±4.81	27.5±4.90	17.35±2.32
	% d'protection		51.43±4.92	60.66±4.81	72.5±4.90	82.65±2.32

L'effet anti inflammatoire de l'extrait hydro-méthanolique et du test positif dépend de la concentration des extraits testés (Figure 07 et 08 et 09). Selon les résultats enregistrés, l'extrait de la plante est doté d'un bon pouvoir anti inflammatoire (IC 50= 5.85±0.72 ug/ml), mais son efficacité est inférieure à celle exprimée par la déclofenac de sodium (IC 50= 2.37± 0.44 ug/ml).

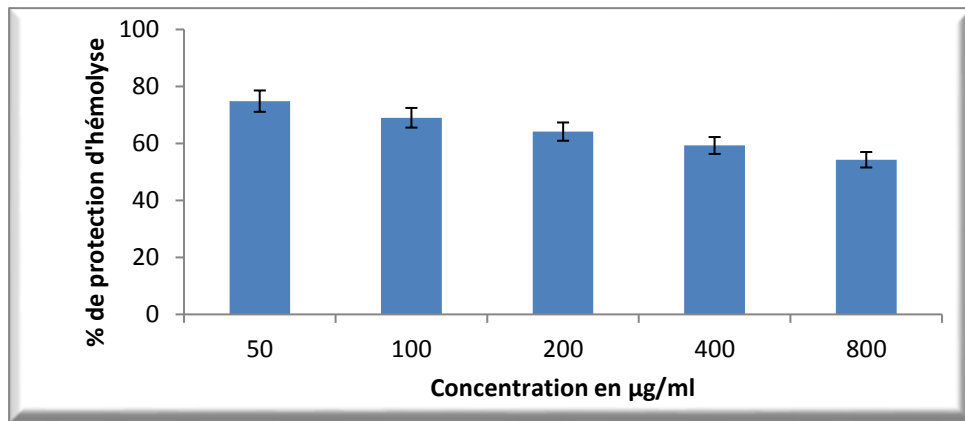


Figure 07: Pourcentage de protection de la membrane par le diclofenac.

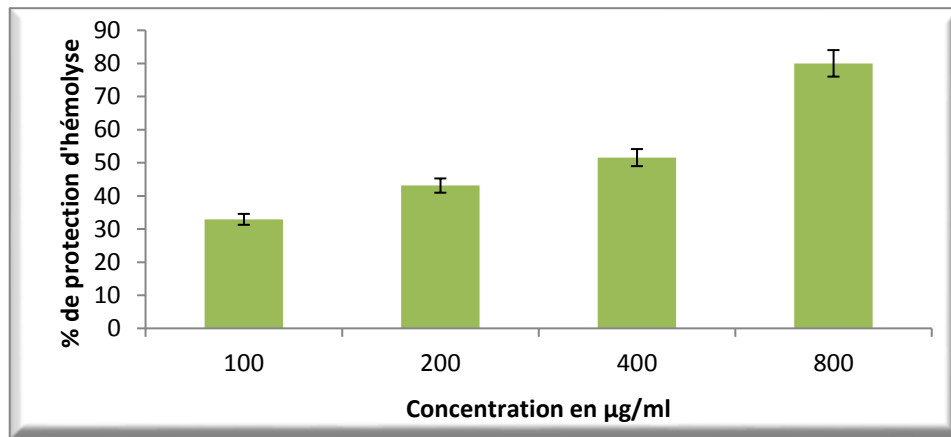


Figure 08: Pourcentage de protection de la membrane par l'extrait de l'individu femelle.

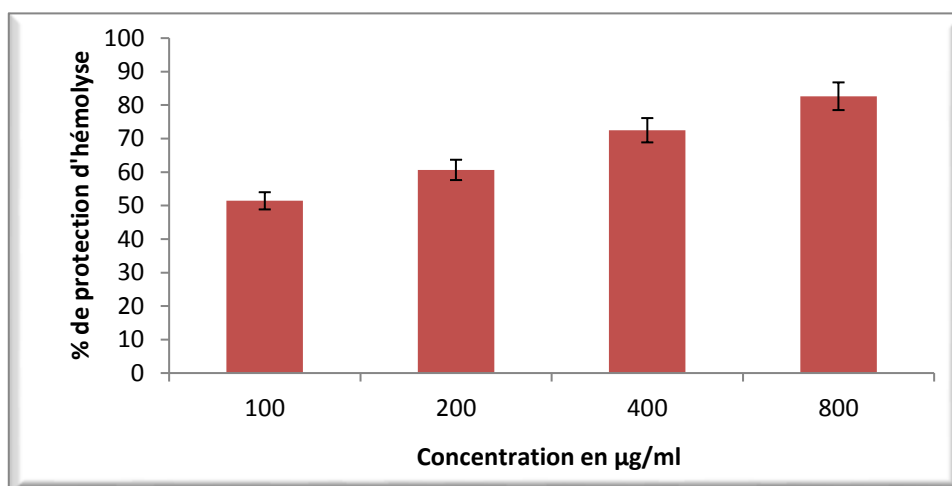


Figure 09: Pourcentage de protection de la membrane par l'extrait de l'individu Mâle.

III-2-3. Activité anti-arthritique par la méthode de dénaturation des protéines

L'activité anti-arthritique a été évaluée par la méthode de dénaturation des protéines. Les résultats sont présentés dans le **tableau 04**.

Tableau 04: Les valeurs de l'IC₅₀ des extraits de *J. thurifera* L. var. *aurasiaca*. (Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± SD).

Sexe de l'arbre	Inhibition (%)	IC ₅₀ (en mg/ml)
Male	76.56± 6.68	4.98±0.36
Femelle	95.5±2.35	3.87±0.13

Au vu des résultats du tableau 05, il s'avère que l'extrait des individus femelles de *J. thurifera* L. var. *aurasiaca* s'est montré plus actif en provoquant une inhibition de 95.5% de dénaturation des protéines à la concentration 100mg/ml, tandis que l'inhibition provoquée par l'extrait mâle à la même concentration a été de 76.56%.

De même, l'extrait femelle a présenté une IC₅₀ plus faible par rapport à celle d'extrait mâle ce qui signifie que l'extrait femelle est doté d'un pouvoir stabilisateur des membranes plus important (**Figure 10**).

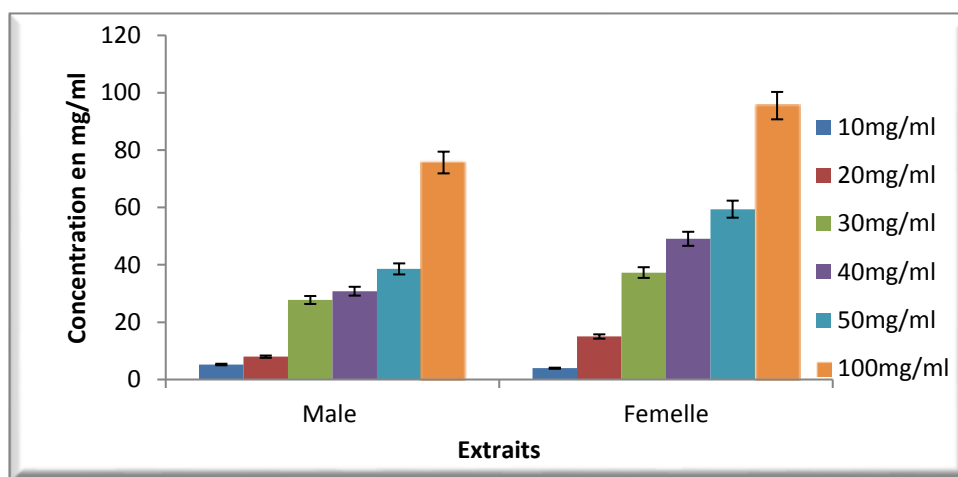


Figure 10 : Activité anti-arthritiques des extraits de *J. thurifera* de différentes concentrations. Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± SD.

La dénaturation des protéines est l'une des causes prédominantes des maladies inflammatoires et arthritiques (**Hossain *et al.*, 2015**).

La stabilisation de la membrane lysosomale a joué un rôle crucial dans la réduction des réponses inflammatoires et la prévention de la libération extracellulaire de son contenu et des dommages aux tissus (**Azeem *et al.*, 2010**).

D'après **Singh *et Sharma* (2015)**, l'activité anti-arthritique pourrait être attribuée à des constituants tels que les phénols, les tanins et les flavonoïdes. Il a également été rapporté que de nombreux flavonoïdes et polyphénols apparentés sont responsables des activités anti-oxydants et anti-inflammatoires de nombreuses plantes (**Govindappa *et al.*, 2011**). Par conséquent, la présence de tels principes bioactifs dans les extraits de *Juniperus thurifera* L. Var. *aurasiaca* pourrait être attendue et ces composés ont des propriétés de stabilisation membranaire.

III-2-4. L'activité anti-oxydante

La méthode du radical de DPPH, utilisée dans la présente étude, est une procédure commune dans laquelle l'activité anti-oxydante des échantillons étudiés est estimée par le degré de décoloration de la solution de DPPH. Ce chromogène violet est facile à utiliser, à une grande sensibilité, permet l'analyse rapide de l'activité antioxydant d'un grand nombre d'échantillons et donne des résultats reproductibles (Gulçin *et al.*, 2010). Les résultats ont été exprimés par la moyenne de trois mesures séparés \pm écart type (Figure 11).

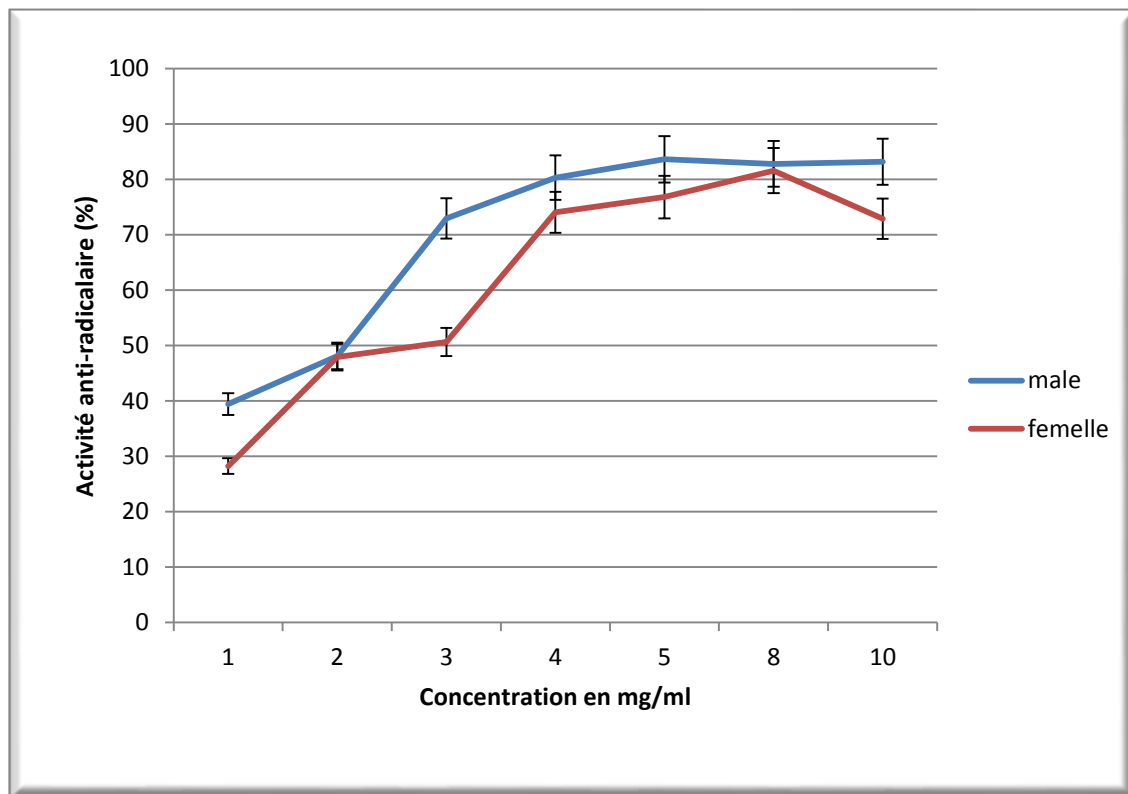


Figure 11 : Activité anti radicalaire des extraits de l'espèce *J. thurifera* L. Var. *aurasiaca* vis-à-vis du radical DPPH. Les valeurs représentent la moyenne de trois essais \pm SD.

Tableau 05 : Les valeurs de l'IC50 des extraits de la partie aérienne de l'espèce *J. thurifera* L. Var. *aurasiaca* (les valeurs représentent la moyenne de trois essais \pm SD).

Sexe de l'arbre	IC50% (en mg / ml)	L'équation
Male	2.02 \pm 0.19	Y=7.544x+39.86 R ² = 0.777
Femelle	2.57 \pm 0.12	Y= 8.120x+29.23 R ² = 0.791

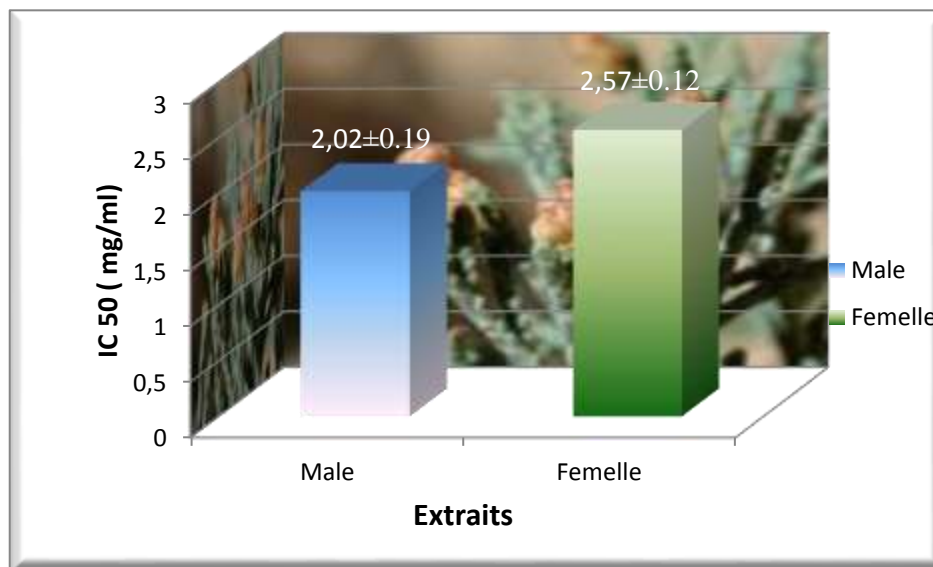


Figure 12 : Résultats du test antioxydant des extraits de l'espèce *J. thurifera* L. Var. *aursiaca*.

Par rapport aux travaux précédents, on peut constater que l'activité anti oxydant des extraits testés dans notre travail est importante. En effet, les travaux de **Hassad (2016)** sur l'activité anti oxydant de *J. thurifera* L. var. *aursiaca* ont révélé une capacité anti oxydant un peu faible avec une IC₅₀ de 4 mg/ml, 5 mg/ml, 8 mg/ml et 10 mg/ml pour les extraits hydrométhanoliques, hydro éthanoliques, acétoniques et aqueux respectivement.

Plusieurs chercheurs ont prouvé que les extraits issus des espèces appartenant au genre *Juniperus* ont une activité anti-oxydante, anti-bactérienne et anti-inflammatoire (**Chaouche et al., 2013 ; Taviano et al., Keskes et al., 2014**).

Cette activité dépend de plusieurs facteurs, parmi lesquels le type de solvant utilisé pour l'extraction. **Keskes et al. (2014)**, ont rapporté que l'extrait hydro-méthanolique de la partie aérienne de l'espèce *J. thurifera* L. Var. *aursiaca* a donné une activité anti-oxydante plus importante que les autres extraits.

A decorative border with intricate scrollwork and floral patterns, rendered in a dark brown color, framing the central text.

Conclusion

Conclusion

Ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant sur l'étude des plantes sauvages utilisées localement comme condiment ou traitement traditionnel, pour des fins médicales et pharmacologiques.

Ce travail avait pour objectif la contribution à la valorisation de l'espèce *J. thurifera* L. var. *aurasiaca*, nos investigations ont porté sur l'activité anti diabétique, anti inflammatoire et anti oxydant de l'extrait hydro-méthanolique obtenu à partir des deux sexes mâle et femelle.

La première étape qui consiste à l'extraction des métabolites secondaires par méthanol par la macération nous a permis de calculer le rendement de l'extrait.

Quantitativement, le dosage du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Cicalteau révèle la présence de quantité importante en polyphénols chez les deux sexes mâle et femelle. De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 qui nous a mené à conclure que cette plante contient une quantité considérable de flavonoïdes dépendante du sexe de l'arbre.

L'évaluation de l'activité anti diabétique montre que les extraits de *Juniperus thurifera* L.Var. *aurasiaca* mâle et femelle testés sur la levure boulangère possèdent un effet très important comparé avec le standard.

De même, l'évaluation du potentiel anti-inflamatoire de l'extrait hydro -méthanolique de *Juniperus thurifera* L. Var. *aurasiaca*, mâle et femelle a mis en évidence un effet très important, cette efficacité est due à la présence des flavonoïdes qui sont des métabolites secondaires réputés par leur effet anti-inflamatoire.

L'activité antioxydant évaluée *in vitro* a révélé que les extraits testés sont dotés de pouvoir anti-radicalaire intéressant vis-à-vis du radical DPPH.

Par ailleurs, les résultats de cette étude restent préliminaires et ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active. Des études plus approfondies sont nécessaires à savoir:

- Isolement et identification des polyphénols et des flavonoïdes en utilisant des méthodes performantes telle que ; HPLC , CG/MS,
- l'évaluation des effets biologiques de ces molécules par des méthodes *in-vivo*.



**Références
bibliographiques**



Références Bibliographiques

- Adams, R. P. (2014).** *Junipers of the world: the genus Juniperus*. Trafford Publishing.
- Ajithkumar, T. G., Mathew, L., Sunilkumar, K. N., Rajagopal, R., Alfarhan, A., Kim, Y. O., ... & Kim, H. J. (2020).** *In vitro* assessment of anti-inflammatory and anti-arthritic effects of *Helicanthes elasticus* (Desv.) Danser accessions collected from six different hosts. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3301-3306.
- Alkhedaide, A., Nassan, M. A., Ismail, T. A., Soliman, M. M., Mohamed, E. H., Amer, H. H., & Aldhahrani, A. (2019).** Hypoglycemic and antioxidant effect of *Juniperus procera* extract on rats with streptozotocin-induced diabetes. *Pathophysiology*, 26(3-4), 361-368.
- Alliende, M. C., & Harper, J. L. (1989).** Demographic studies of a dioecious tree. I. Colonization, sex and age structure of a population of *Salix cinerea*. *The Journal of Ecology*, 1029-1047.
- American Diabetes Association, 2007.** Diagnosis and classification of diabetesmellitus. *Diabetes Care*. 30, 42–46.
- Athamena, S. (2020).** Etude de l'activite biologique de *Juniperus thurifera* et *Fraxinus xanthoxyloides*. Thèse de Doctorat en Sciences, Université de Batna. Algérie.
- Aw, T. J., Haas, S. J., Liew, D., &Krum, H. (2005).** Meta-analysis of cyclooxygenase-2 inhibitors and their effects on blood pressure. *Archives of internalmedicine*, 165(5), 490-496.
- Azeem, A. K., Dilip, C., Prasanth, S. S., Shahima, V. J. H., Sajeev, K., & Naseera, C. (2010).** Anti-inflammatory activity of the glandular extracts of *Thunnus alalunga*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(10), 794-796.
- Bajpai, V. K., Rahman, A., & Kang, S. C. (2008).** Chemical composition and inhibitory parameters of essential oil and extracts of *Nandina domestica* Thunb. to control food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 125(2), 117-122.
- Benariba, N., Djaziri, R., Bellakhdar, W., Belkacem, N., Kadiata, M., Malaisse, W. J., & Sener, A. (2013).** Phytochemical screening and free radical scavenging activity of

- Citrullus colocynthis seeds extracts. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3(1), 35-40.
- Boecklen, W. J., Price, P. W., & Mopper, S. (1990).** Sex and drugs and herbivores: sex-biased herbivory in arroyo willow (*Salix lasiolepis*). *Ecology*, 71(2), 581-588.
- Boudjedjou, L., Ramdani, M., Zeraib, A., Benmeddour, T., & Fercha, A. (2018).** Chemical Composition and Antibacterial Activity of Berries Essential Oil of Algerian *Juniperus thurifera* (Var. *aurasiaca*). *Pharmaceutical Sciences*, 24(3), 240-245.
- Cepeda-Cornejo, V., & Dirzo, R. (2010).** Sex-related differences in reproductive allocation, growth, defense and herbivory in three dioecious neotropical palms. *PloS one*, 5(3), e9824.
- Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Ksouri, R., Medini, F., El-Haci, I. A., Boucherit, Z., ... & Atik-Bekara, F. (2013).** Antioxidant potential of hydro-methanolic extract of *Prasium majus* L: an in vitro study. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 16(21), 1318-1323.
- Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Atik-Bekara, F., Ksouri, R., Azzi, R., Boucherit, Z., ... & Larbat, R. (2015).** Antioxidant, haemolytic activities and HPLC–DAD–ESI–MSn characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. *Industrial Crops and Products*, 64, 182-187.
- Chippada, S. C., Volluri, S. S., Bammidi, S. R., & Vangalapati, M. (2011).** In vitro anti-inflammatory activity of methanolic extract of *Centella asiatica* by HRBC membrane stabilisation. *Rasayan J Chem*, 4(2), 457-460.
- Cirillo, V. P. (1961).** Sugar transport in microorganisms. *Annual Reviews in Microbiology*, 15(1), 197-218.
- Cirillo, V. P. (1962).** Mechanism of glucose transport across the yeast cell membrane. *Journal of bacteriology*, 84(3), 485-491.
- Danell, K., Elmqvist, T., Ericson, L., & Salomonson, A. (1985).** Sexuality in willows and preference by bark-eating voles: defence or not?. *Oikos*, 82-90.

- Davis, S.N., Granner, D.K., 2001.** Insulin. Oral hypoglycemic agents and the pharmacology of endocrine pancreas. In: Brunton, L.L., Lazo, J.S., Parker, K.L. (Eds.), *Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th ed. McGraw-Hill Medical Publication Division, New York, pp. 1706–1707.
- de Medina, F. S., Gamez, M. J., Jimenez, I., Jimenez, J., Osuna, J. I., & Zarzuelo, A. (1994).** Hypoglycemic activity of juniper “berries”. *Planta Medica*, 60(03), 197-200.
- Eiter, L. C., Fadamiro, H., & Setzer, W. N. (2010).** Seasonal variation in the leaf essential oil composition of *Zanthoxylum clava-herculis* growing in Huntsville, Alabama. *Natural product communications*, 5(3), 457-460.
- El-Ghorab, A., Shaaban, H. A., El-Massry, K. F., & Shibamoto, T. (2008).** Chemical composition of volatile extract and biological activities of volatile and less-volatile extracts of juniper berry (*Juniperus drupacea* L.) fruit. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(13), 5021-5025.
- El Jemli, M., Kamal, R., Marmouzi, I., Zerrouki, A., Cherrah, Y., & Alaoui, K. (2016).** Radical-scavenging activity and ferric reducing ability of *Juniperus thurifera* (L.), *J. oxycedrus* (L.), *J. phoenicea* (L.) and *Tetraclinis articulata* (L.). *Advances in pharmacological sciences*, 2016.
- Elmqvist, T., Cates, R. G., Harper, J. K., & Gardfjell, H. (1991).** Flowering in males and females of a Utah willow, *Salix rigida* and effects on growth, tannins, phenolic glycosides and sugars. *Oikos*, 65-72.
- Farjon, A. (2010).** *A Handbook of the World's Conifers (2 vols.)* (Vol. 1). Brill.
- Ferrero-Miliani, L., Nielsen, O. H., Andersen, P. S., & Girardin, S. E. (2007).** Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. *Clinical & Experimental Immunology*, 147(2), 227-235.
- Fritz, R. S. (1995).** Direct and indirect effects of plant genetic variation on enemy impact. *Ecological Entomology*, 20(1), 18-26.
- Gauquelin, T., Bertaudière, V., Cambedes, J., & Largier, G. (2003).** Le genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) dans les Pyrénées: état de conservation et perspectives. *Acta Bot Barc*, 49, 83-94.

- Genuis, S. J., & Kyrillos, E. (2017).** The chemical disruption of human metabolism. *Toxicology mechanisms and methods*, 27(7), 477-500.
- Gourine N., Yousfi, M., B ombarda, I., Nadjemi, B., & Gaydou, E. (2010).** Seasonal variation of chemical composition and antioxidant activity of essential oil from *Pistacia atlantica* Desf. Leaves. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 87: 157-166.
- Govindappa, M., Channabasava, R., Sowmya, D. V., Meenakshi, J., Shreevidya, M. R., Lavanya, A., ... & Sadananda, T. S. (2011).** Phytochemical screening, antimicrobial and in vitro anti-inflammatory activity of endophytic extracts from *Loranthus* sp. *Pharmacognosy Journal*, 3(25), 82-90.
- Gülçin, İ., Huyut, Z., Elmastaş, M., & Aboul-Enein, H. Y. (2010).** Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian journal of chemistry*, 3(1), 43-53.
- Herms, D. A., & Mattson, W. J. (1992).** The dilemma of plants: to grow or defend. *The quarterly review of biology*, 67(3), 283-335.
- Hossain, M. M., Kabir, M. S. H., Hasanat, A., Kabir, M. I., Chowdhury, T. A., & Kibria, A. S. M. G. (2015).** Investigation of in vitro anti-arthritis and membrane stabilizing activity of ethanol extracts of three Bangladeshi plants. *The Pharma Innovation*, 4(1, Part B), 76-80.
- Jing, S. W., & Coley, P. D. (1990).** Dioecy and herbivory: the effect of growth rate on plant defense in *Acer negundo*. *Oikos*, 369-377.
- Kelen, M., & Tepe, B. (2008).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource technology*, 99(10), 4096-4104.
- Keskes H., Mnafigui K., Hamden K., Damak M., El Feki A., & Allouche N., (2014).** In vitro anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant properties of *Juniperus phoenicea* L. leaves from Tunisia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 4, S649-S655.
- Kuppusamy, S., Thavamani, P., Megharaj, M., Nirola, R., Lee, Y. B., & Naidu, R. (2016).** Assessment of antioxidant activity, minerals, phenols and flavonoid contents of common plant/tree waste extracts. *Industrial Crops and Products*, 83, 630-634.

- Ma, W. G., Tan, R. X., Fuzzati, N., Li, Q. S., Wolfender, J. L., & Hostettmann, K. (1997).** Wahlenbergioside, a phenylpropanoid glucoside from *Wahlenbergia marginata*. *Phytochemistry*, *45*(2), 411-415.
- Mahajan, B., Shrestha, T., & Gyawali, R. (2012).** Antibacterial and cytotoxic activity of *Juniperus indica* Bertol from Nepalese Himalaya. *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, *3*, 1104-1107.
- Massei, G., Watkins, R., & Hartley, S. E. (2006).** Sex-related growth and secondary compound in *Juniperus oxycedrus macrocarpa*. *Acta Oecologica*, *29*(2), 135-140.
- Mizushima, Y., & Kobayashi, M. (1968).** Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *20*(3), 169-173.
- Mouffouk, C., Mouffouk, S., Oulmi, K., Mouffouk, S., & Haba, H. (2020).** In vitro photoprotective, hemostatic, anti-inflammatory and antioxidant activities of the species *Linaria scariosa* Desf. *South African Journal of Botany*, *130*, 383-388.
- Orhan, N., Aslan, M., Orhan, D. D., Ergun, F., Pektaş, M., & Bedir, E. B. R. U. (2011).** Antidiabetic effect of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* berries by using bioactivity guided fractionation. *Planta Medica*, *77*(12), SL45.
- Orhan, N., Aslan, M., Demirci, B., & Ergun, F. (2012).** A bioactivity guided study on the antidiabetic activity of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* L. leaves. *Journal of ethnopharmacology*, *140*(2), 409-415.
- Orhan, N., Orhan, D. D., Gökbulut, A., Aslan, M., & Ergun, F. (2017).** Comparative analysis of chemical profile, antioxidant, in-vitro and in-vivo antidiabetic activities of *Juniperus foetidissima* Willd. and *Juniperus sabina* L. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, *16*(Suppl), 64.
- Orhan, D. D., Orhan, N., & Gökbulut, A. (2019).** In vitro enzyme inhibitory properties, antioxidant activities, and phytochemical studies on *Juniperus drupacea*. *Journal of research in pharmacy* (online), *23*(1), 83-92.

- Owen, P. L., & Johns, T. (1999).** Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of ethnopharmacology*, 64(2), 149-160.
- Pramanik, K. C., Biswas, R., Bandyopadhyay, D., Mishra, M., Ghosh, C., & Chatterjee, T. K. (2007).** Evaluation of anti-ulcer properties of the leaf extract of *Juniperus communis* L. in animals. *Journal of Natural Remedies*, 7(2), 207-213.
- Quézel, P., & Santa, S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.
- Rahimi, M. (2015).** A review: antidiabetic medicinal plants used for diabetes mellitus. *Bull. Environ. Pharmacol. Life Sciences*, 4(2), 163-180.
- Ross, S. J., Elgendy, I. Y., & Bavry, A. A. (2017).** Cardiovascular safety and bleeding risk associated with nonsteroidal anti-inflammatory medications in patients with cardiovascular disease. *Current cardiology reports*, 19(1), 8.
- Sakai, A. K., & Burris, T. A. (1985).** Growth in male and female aspen clones: a twenty-five-year longitudinal study. *Ecology*, 66(6), 1921-1927.
- Schmidt, M., Lamberts, M., Olsen, A. M. S., Fosbøll, E., Niessner, A., Tamargo, J., ... & Torp-Pedersen, C. (2016).** Cardiovascular safety of non-aspirin non-steroidal anti-inflammatory drugs: review and position paper by the working group for Cardiovascular Pharmacotherapy of the European Society of Cardiology. *European heart journal*, 37(13), 1015-1023.
- Scott, P. A., Kingsley, G. H., & Scott, D. L. (2008).** Non-steroidal anti-inflammatory drugs and cardiac failure: meta-analyses of observational studies and randomised controlled trials. *European journal of heart failure*, 10(11), 1102-1107.
- Shettar, A. K., Sateesh, M. K., Kaliwal, B. B., & Vedamurthy, A. B. (2017).** *In vitro* antidiabetic activities and GC-MS phytochemical analysis of *Ximenia americana* extracts. *South African Journal of Botany*, 111, 202-211.
- Sies, H. (1997).** Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology: Translation and Integration*, 82(2), 291-295.

- Singh, S., & Sharma, N. (2015).** Evaluation of in vitro anti arthritic activity of *Acacia auriculiformis* A. Cunn. Ex. Benth. stem bark.
- Smida, A., Ncibi, S., Taleb, J., Saad, A. B., Ncib, S., & Zourgui, L. (2017).** Immunoprotective activity and antioxidant properties of cactus (*Opuntia ficus indica*) extract against chlorpyrifos toxicity in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 88, 844-851.
- Stassi, V., Verykokidou, E., Loukis, A., Harvala, C., & Philianos, S. (1996).** The antimicrobial activity of the essential oils of four *Juniperus* species growing wild in Greece. *Flavour and fragrance journal*, 11(1), 71-74.
- Tavares, L., Pimpão, R., McDougall, G., Stewart, D., Ferreira, R. B., & Santos, C. N. (2013).** Elucidating phytochemical production in *Juniperus* sp.: seasonality and response to stress situations. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 61(17), 4044-4052.
- Taviano, M. F., Marino, A., Trovato, A., Bellinghieri, V., La Barbera, T. M., Güvenç, A., ... & Miceli, N. (2011).** Antioxidant and antimicrobial activities of branches extracts of five *Juniperus* species from Turkey. *Pharmaceutical biology*, 49(10), 1014-1022.
- Taviano, M. F., Marino, A., Trovato, A., Bellinghieri, V., Melchini, A., Dugo, P., ... & Miceli, N. (2013).** *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus* and *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *macrocarpa* (Sibth. & Sm.) Ball. “berries” from Turkey: Comparative evaluation of phenolic profile, antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities. *Food and chemical toxicology*, 58, 22-29.
- Vela, E., & Schäfer, P. A. (2013).** Typification de *Juniperus thurifera* var. *africana* Maire, délimitation taxonomique et conséquences nomenclaturales sur le Genévrier thurifère d'Algérie. *Ecologia mediterranea*, 39(1), 69-80.
- Yesmin, S., Paul, A., Naz, T., Rahman, A. A., Akhter, S. F., Wahed, M. I. I., ... & Siddiqui, S. A. (2020).** Membrane stabilization as a mechanism of the anti-inflammatory activity of ethanolic root extract of Choi (*Piper chaba*). *Clinical Phytoscience*, 6(1), 1-10.

- Zeraib, A., Ramdani, M., Boudjedjou, L., Chalard, P., & Figuredo, G. (2014).** Characterization and chemosystematics of Algerian thuriferous juniper (*Juniperus thurifera* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 87, 249-255.
- Zeraib, A., Ramdani, M., Boudjedjou, L., Chalard, P., & Figuredo, G. (2014).** Chemical composition and antibacterial activity of *Juniperus thurifera* L. essential oils. *Journal of BioScience & Biotechnology*, 3(2): 147-154.
- Zeraib, A. (2016).** Étude phytochimique et chimiosystématique de *Juniperus thurifera* en Algérie. Thèse de Doctorat en Sc. Université Ferhat Abbès, Sétif 1, 144 p.



Annexes

Annexe 1 : Préparation de l'eau physiologique

Eau physiologique :

➤ **Utilisation**

Eau physiologique stérile en tube pour utilisation en microbiologie.

➤ **Description du produit**

Eau physiologique stérile utilisable pour de nombreuses tâches au laboratoire de microbiologie. Dilutions échantillons cliniques, standardisation de turbidité pour son utilisation dans l'ensemencement et/ou l'identification bactérienne, pour études de sensibilité aux antibiotiques. Peut être utilisé pour la dissolution de pastilles d'identification, pour essais biochimiques, pour réaliser des dilutions de séries de concentrations d'antibiotiques.

L'utilisation de tubes permet d'utiliser de petits volumes sans risque de contamination.

➤ **Composition**

- Chlorure de Sodium : 9g
- Eau distillée stérile : 1 Litre

➤ **Conservation**

Il est recommandé de conserver les tubes d'eau à température ambiante préférentiellement à l'obscurité de la lumière.

Annexe 02 : Test antidiabétique**Metronidazole 0,5 % 5mg/ml (500mg/100ml)****Méthode de test anti-diabétique:****➤ Préparation de solution de glucose 5 mM :**

0.09g de glucose est mis dans bécher avec 50 ml d'eau distillée puis l'ensemble est agité et compléter le volume jusqu'à 100 ml.

➤ Préparation de solution de Metronidazole :

A partir de la solution mère (concentration initiale) de Metronidazole (5mg/ml), plusieurs concentrations sont préparées (1 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg /ml, 4 mg/ml, 5 mg/ml).

Pour préparer la concentration 1 mg/ml, 1.2 ml de solution de Metronidazole (5 mg/ml) sont prélevés et dilués avec 4.8 ml d'eau distillée.

Pour les autres concentrations :

$C_2=2.4$ ml solution metronidazole + 3.6 ml eau distillée.

$C_3=3.6$ ml solution metronidazole + 2.4 ml eau distillée.

$C_4=4.8$ ml solution metronidazole + 1.2 ml eau distillée.

$C_5= 06$ ml solution metronidazole +00 ml eau distillée.

Annexe 03 : Test antiinflammatoire

Méthode de test anti-inflammatoire

➤ **Solution de travail**

- Solution Tampon phosphate PBS (50mu) $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{KCL} + \text{NO}_2\text{HpO}_4 + \text{NaCl}$.
- Eau physiologique 0.9%
- NaCl hypotonique (0.36%) : 10ml isotonique+ 26ml l'eau distillée.
- L'anti coagulant (Alsever).

➤ **Préparation d'Alsever**

2% dextrose+0.8% citrate de sodium +0.05% d'acide citrique +0.42% de NaCl $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{KCl} + \text{NO}_2\text{HPO}_4 + \text{NaCl}$.

➤ **Préparation de solution de Déclofenac de sodium**

Un comprimé Déclofenac de sodium (50 mg) est dissout dans 50ml d'eau distillée puis l'ensemble est agité.

A partir de la concentration initiale de la solution de déclofenac de sodium (1000 ug/ml), plusieurs concentrations sont préparées (50 ug/ml, 100ug/ml, 200ug/ml, 400ug/ml, 800ug/ml).

Pour préparer la concentration 50ug/ml, 0.5ml de solution de déclofenac de sodium (1000ug/ml) sont prélevés et dilués avec 9.5ml d'eau distillée.

Pour les autres concentrations :

$C_2 = 01\text{ml}$ solution déclofenac + 09ml eau distillée.

$C_3 = 02\text{ml}$ solution déclofenac + 08ml eau distillée.

$C_4 = 04\text{ml}$ solution déclofenac + 06ml eau distillée.

$C_5 = 08\text{ ml}$ solution déclofenac + 02ml eau distillée.

➤ **Préparation de la solution d'extrait hydro-méthanolique**

A l'aide d'une balance on a pesé 0.1g d'extrait hydro-méthanolique qui est dissout dans un 10ml isotonique à partir de la concentration initial 1000 ug/ml d'extrait hydro-méthanolique plusieurs concentrations sont préparées (100 ug/ml, 200 ug/ml, 400ug/ml, 800ug/ml).

Pour préparer la concentration 100 ug/ml, 0.6 ml d'extrait hydro-méthanolique sont dilués dans 1.4 ml isotonique.

Pour les autres concentrations :

C₂= 1.2 ml extrait hydro-méthanolique + 0.8 ml isotonique.

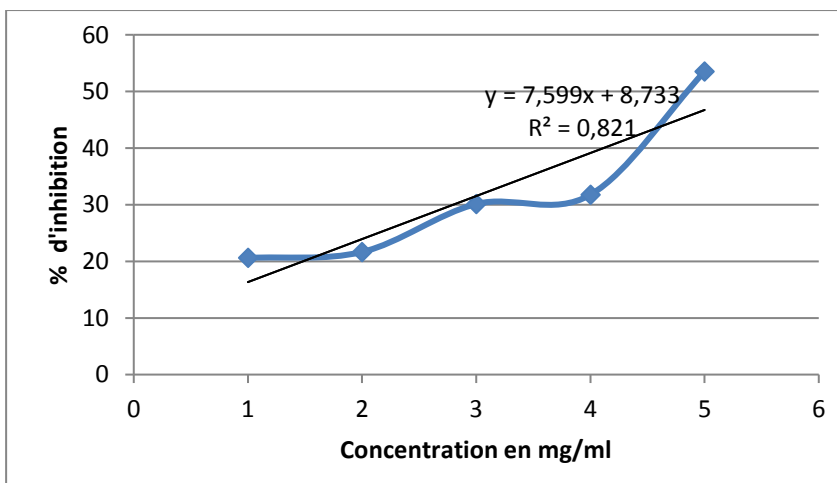
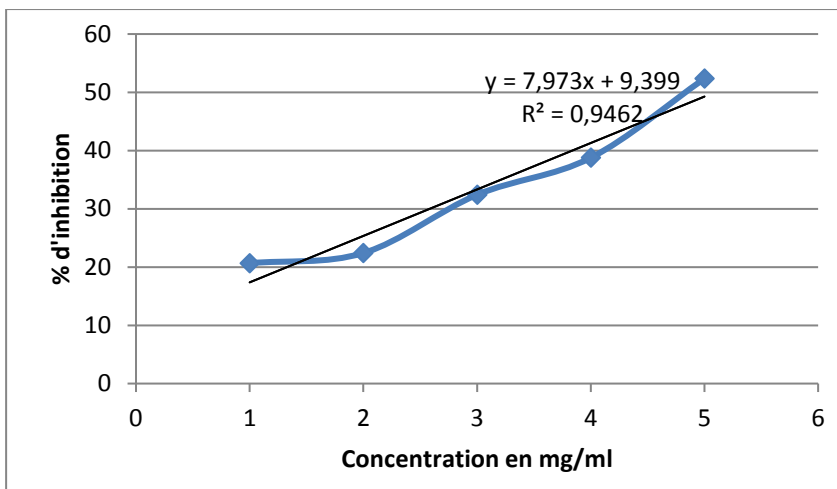
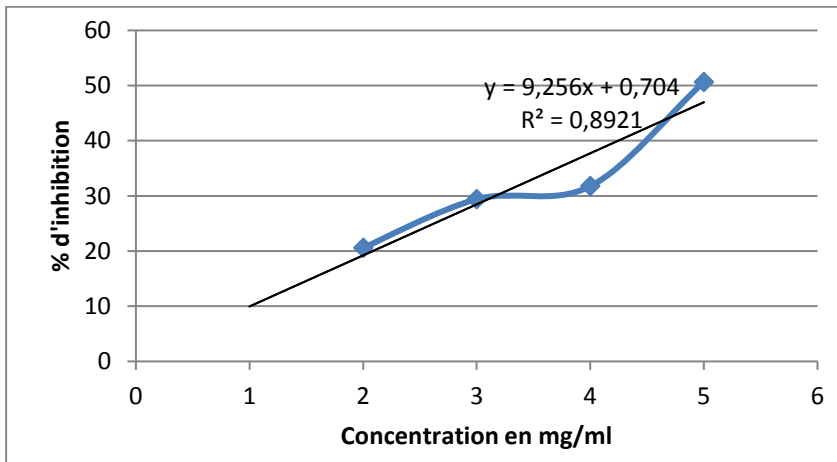
C₃=1.4 ml extrait hydro-méthanolique + 0.6 ml isotonique.

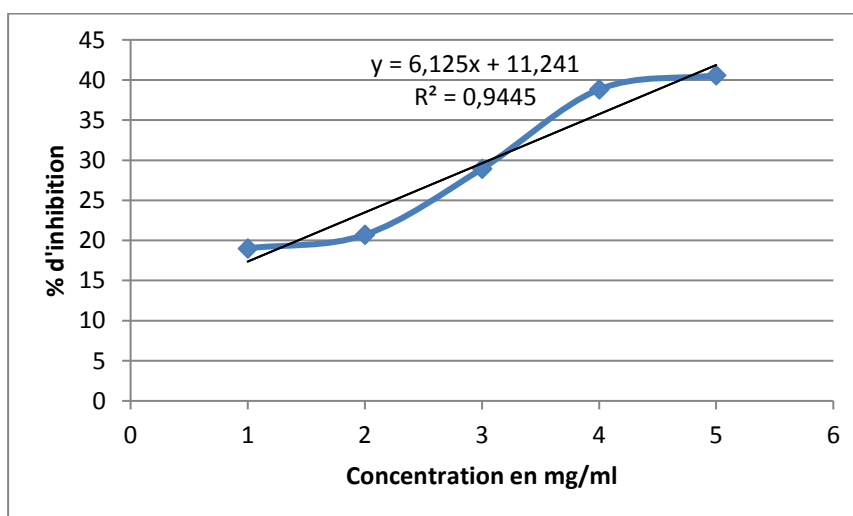
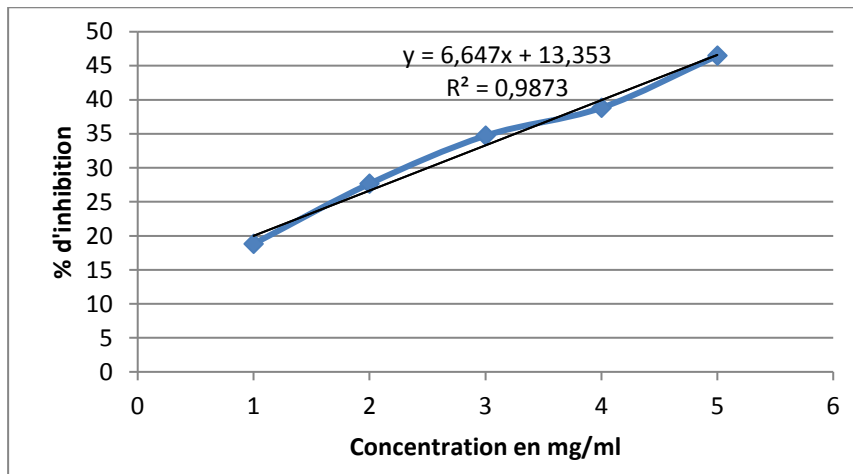
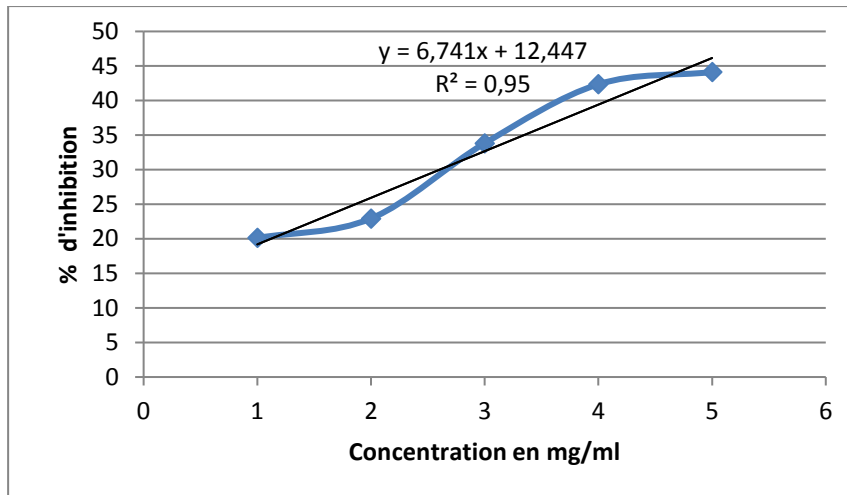
C₄=1.8 ml extrait hydro-méthanolique + 0.2 ml isotonique.

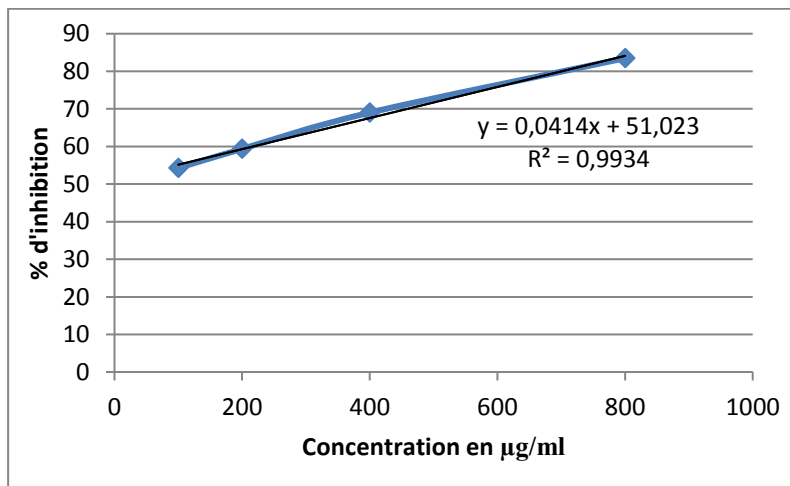
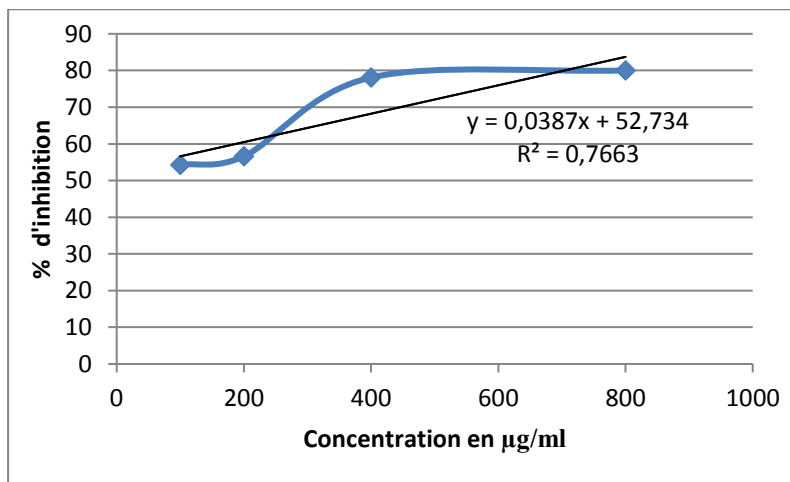
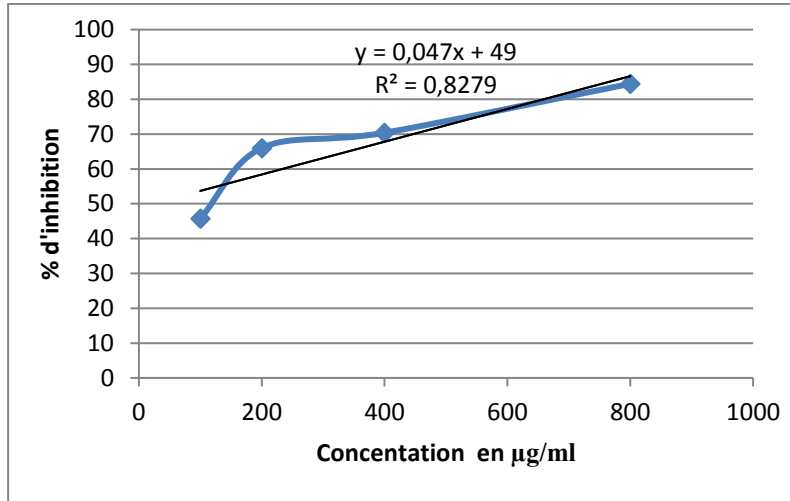
➤ **Préparation de citrate de sodium pour la préparation d'Alsever**

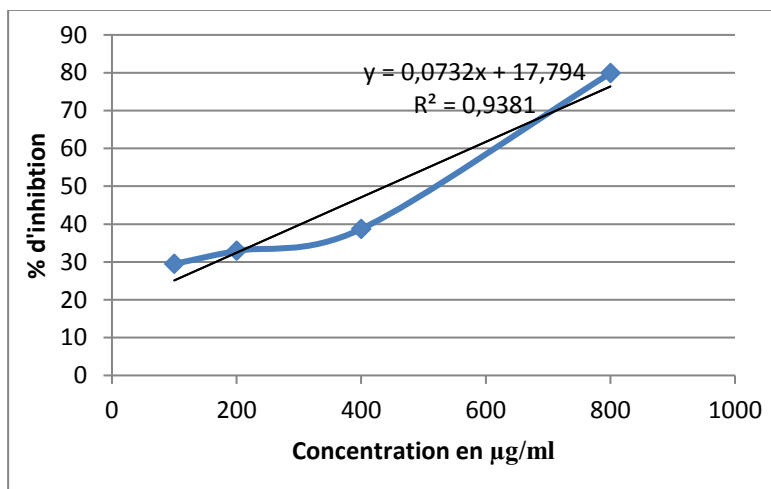
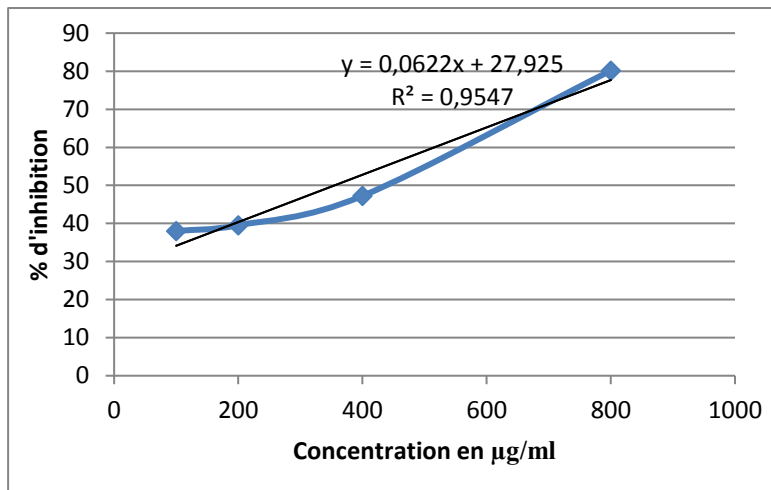
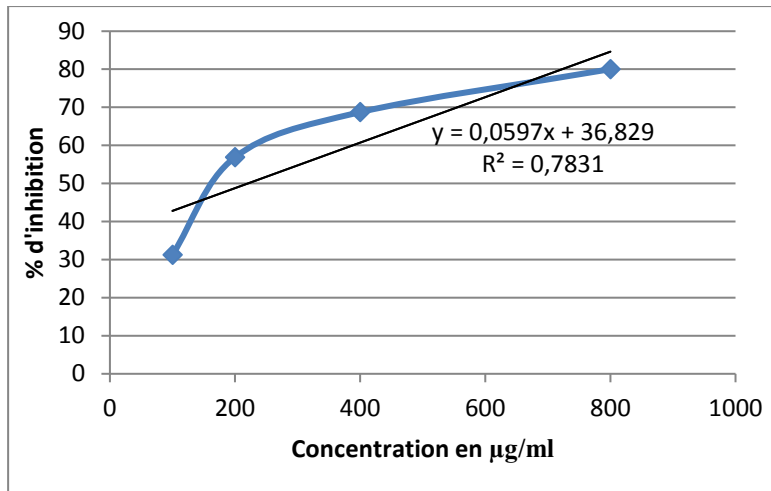
7.4g d'acide citrique est mis dans un bécher avec 10 ml d'eau distillée , 6.1g de carbonate de sodium et préparer une solution de carbonate lentement , la réaction crée un son de barbotage pour indique qu'il est la production de dioxyde de carbone, garde l'ajoute de carbonate de sodium jusqu'à ce que la solution ne fais pas le son, placer le bol sur une évaporation de trépied chouffer la solution avec un bec bensen jusqu'à ébullition et en fin c'est la production de 10g de citrate de sodium.

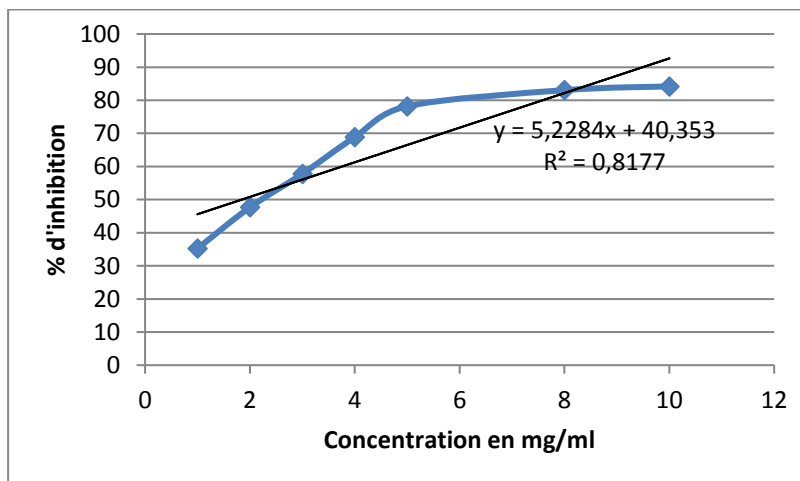
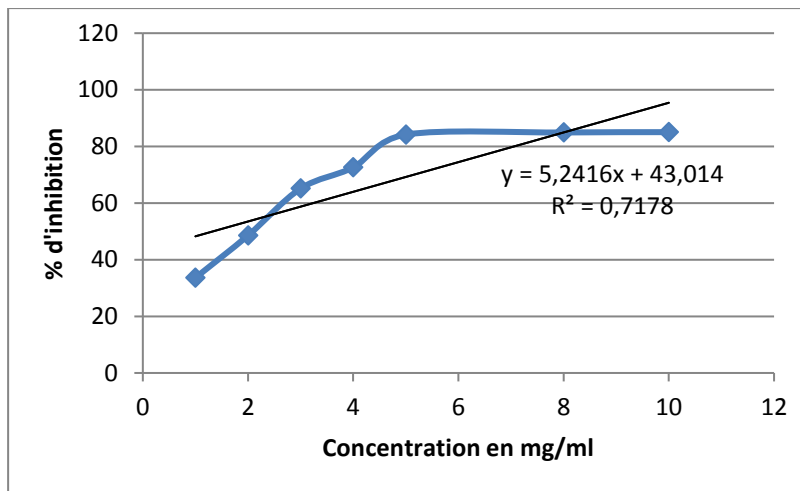
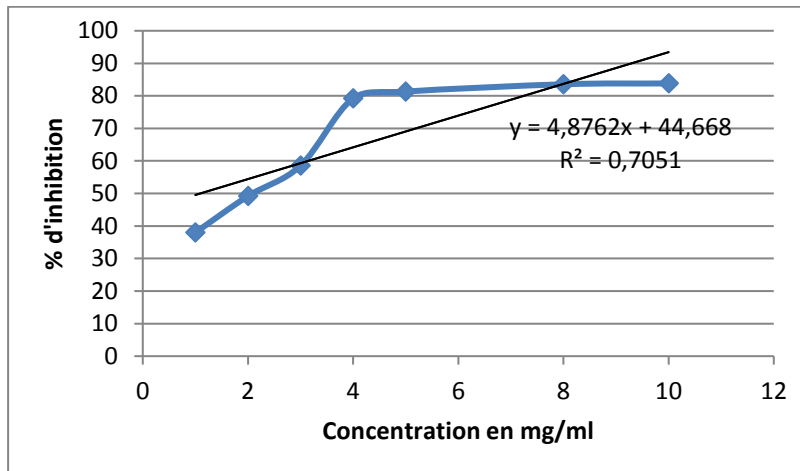


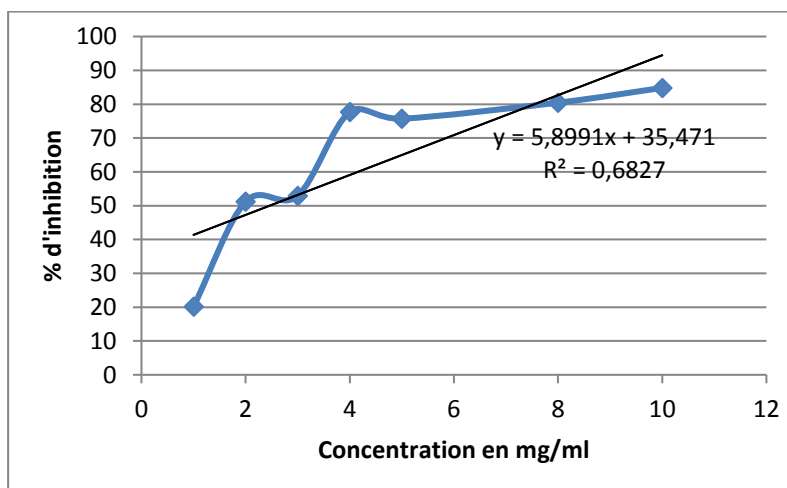
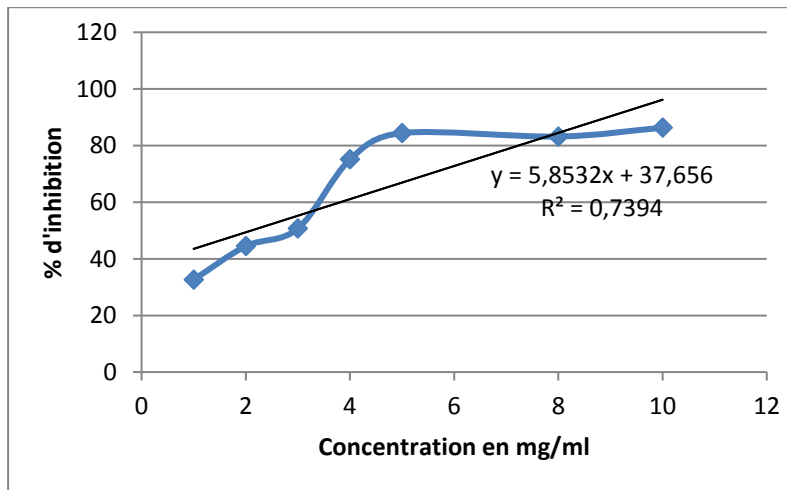
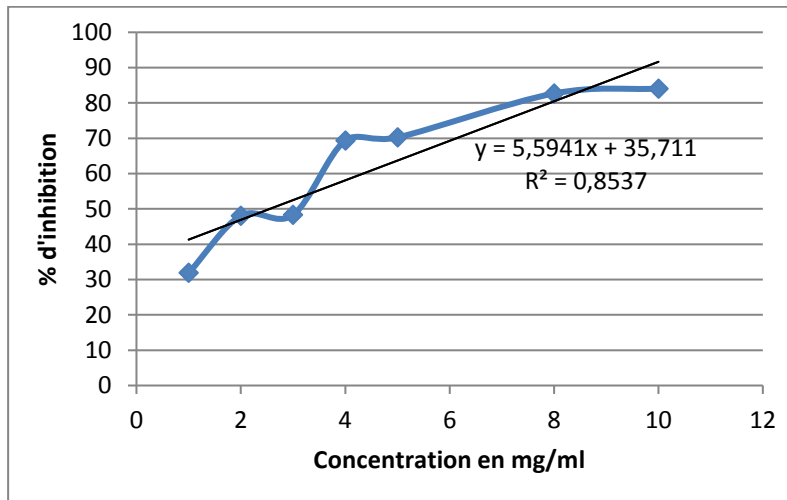
Annexe 04 : Courbes d'étalonnage pour calculer IC50 de l'effet antidiabétique d'extrait mâle.

Annexe 05 : Courbes d'étalonnage pour calculer IC50 de l'effet antidiabétique d'extrait femelle.

Annexes 6 : Courbes d'étalonnage pour calculer IC50 de l'effet antiinflammatoire d'extrait mâle.

Annexes 7 : Courbes d'étalonnage pour calculer IC50 de l'effet antiinflammatoire d'extrait femelle.

Annexes 8: Courbes d'étalonnage pour calculer IC50 de l'effet oxydant d'extrait mâle.

Annexes 9 : Courbes d'étalonnage pour calculer IC50 de l'effet antioxydant d'extrait femelle.

Annexes 10 : Test ANOVA de l'effet de sexe de l'arbre sur la teneur en polyphénols.

effet	ddl	SS	MS	F	p
sex	1	0,012914	0,012914	0,3914	0,565500
erreur	4	0,131990	0,032997		
totale	5	0,144904			

Annexes 11 : Test ANOVA de l'effet de sexe de l'arbre sur la teneur en flavonoïdes.

effet	ddl	SS	MS	F	p
sex	1	57,422	57,422	15,818	0,016440
erreur	4	14,521	3,630		
totale	5	71,944			

Annexes 12 : Test ANOVA de l'effet de sexe de l'arbre et la concentration sur la teneur en anti diabétique.

effet	ddl	SS	MS	F	p
Extraits	2	2274,59	1137,30	26,734	0,000000
Concentration	4	2726,67	681,67	16,024	0,000000
Extraits*Concentration	8	1214,93	151,87	3,570	0,005086
Error	30	1276,23	42,54		
Total	44	7492,41			

Étude de l'activité biologique des extraits de de la partie aérienne de *Juniperus thurifera* L. Var. *aurasiaca*.

Présenté par :

Maou Amina
Guidoum Nour El-houda

Encadreur : Dr. Zeraïb Azzeddine

Résumé

La présente étude vise à valoriser une espèce endémique et à usage médicinal en Algérie (*Juniperus thurifera* L. var. *aurasiaca*), en évaluant les activités biologiques : anti-diabétique, anti-inflammatoire et anti-oxydante des extraits hydro-méthanoliques issus de la partie aérienne des deux sexes mâle et femelle.

Dans un premier temps, l'extraction par macération a montré que les deux sexes ont donné un rendement important, il est de l'ordre de 14.66 % et 15.01 %. La quantification des polyphénols par le Folin-Cicalteu révèle la présence de quantité importante en polyphénols chez les deux sexes mâle et femelle. Le dosage des flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$ nous a mené à conclure que cette plante contient une quantité considérable de ces métabolites dépendante du sexe de l'arbre. L'effet antidiabétique a été évalué en utilisant la levure de boulanger. Les extraits de *J. thurifera* possèdent un effet très important comparé avec le standard. L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par la méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges et la dénaturation des protéines. Les deux méthodes révèlent une activité anti-inflammatoire considérable dépendante de la concentration de l'extrait. L'activité antioxydant évaluée in vitro a révélé que les extraits testés sont dotés de pouvoir anti-radicalaire intéressant vis-à-vis du radical DPPH.

En conclusion, l'espèce *J. thurifera* peut être considérée comme une source prometteuse de nouvelles substances anti-oxydantes et antidiabétiques et anti-inflammatoires.

Mots-Clés:

Juniperus thurifera, Polyphénols, Flavonoïdes, anti-diabétique, anti-oxydant, anti-inflammatoire.