

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Mustapha Ben Boulaid-Batna 2  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة مصطفى بن بولعيد - باتنة 2  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE ET DE BIOCHIMIE

Laboratoire de Biotechnologie des Molécules Bioactives et de la Physiopathologie  
Cellulaire

N° ...../SNV/2019

THÈSE

Présentée par

ATHAMENA Souad

Pour l'obtention du Diplôme de

**DOCTORAT EN SCIENCES**

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: **BIOCHIMIE APPLIQUÉE**

THÈME

ETUDE DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DE  
JUNIPERUS THURIFERA ET  
FRAXINUS XANTHOXYLOIDES

Soutenue publiquement le ...../...../2020

DEVANT LE JURY

Présidente

HAMBABA Leila

Pr. Université Batna 2

Rapporteur

LAROUÏ Salah

Pr. Université Batna 2

Examineurs

ZELLAGUI Ammar

Pr. Université Oum El Bouaghi

KALLA Ali

MCA. Université Tébessa

SEGUENI Narimene

MCA. Université Constantine 3

DASSAMIOUR Saliha

MCA. Université Batna 2

Année universitaire : 2019-2020

## REMERCIEMENTS

**Je** tiens tout d'abord à remercier mon Directeur de thèse **M<sup>er</sup> Laroui Salah**, pour tout le temps qu'il a consacré à mon travail, pour m'avoir fait confiance tout au long de ce parcours et m'avoir soutenu dans les démarches que j'ai entreprises.

**Mes** remerciements vont aussi aux membres de jury: **M<sup>er</sup> Zellagui Ammar** de l'université d'Oum El Bouaghi, **M<sup>me</sup> Hambaba Leila**, **M<sup>me</sup> Dassamiour Saliha** de l'université de Batna 2, **M<sup>me</sup> Segueni Narimene** de l'université de Constantine et **M<sup>er</sup> Kalla Ali** de l'université de Tébessa, Recevez mes plus vifs remerciements pour avoir accepté de juger ce travail.

**Je** remercie également **M<sup>er</sup> Hachemi Messaoud**, l'université de Batna 2, Merci pour l'énorme contribution que m'avez apportée afin de mener à bien ce travail.

**Une** pensée particulière pour **M<sup>er</sup> Belhaddad Slimane**, pour son appui fructueux ainsi que **M<sup>er</sup> Abdallah Boushaba** de l'université de Sidi Mohamed Ben Abdallah - Fes -Maroc.

**Ma** profonde reconnaissance va à **Athamena Ouahiba**, je n'oublie pas votre soutien moral qui m'a souvent aidé à remonter la pente dans les moments difficiles.

**Enfin**, Je remercie tous ceux qui ont, de près ou de loin, permis la réalisation de ce travail et, en particulier, tous les membres de ma famille pour leur soutien et leur patience tout au long de ce parcours.

## LISTE DES ABREVIATIONS

- AINS:** Anti-inflammatoires non stéroïdiens
- ALT:** Alanine transaminase
- AST:** Aspartate transaminase
- BHA:** Hydroxyanisol butylé
- BHT:** Butylhydroxytoluène
- CAT:** Catalase
- COX:** Cyclo-oxygénase
- DPPH:** 2, 2-diphényl-1-picryl hydrazyl
- DMSO:** Dimethyl sulfoxyde
- EDm:** Extrait dichlorométhanique
- EHx:** Extrait hexanique
- EMe:** Extrait méthanolique
- ERO:** Espèces réactives d'oxygène
- FRAP:** Ferric reducing antioxydant power
- GC/MS:** Gas chromatography–mass spectrometry
- HEJT:** Huile essentielle de *J. thurifera*
- HPLC:** High Performance Liquid Chromatography
- IL:** Interleukine
- LPS:** Lipopolysaccharide
- NO :** Oxyde nitrique
- PGE:** Prostaglandine
- PNNs:** Polynucléaires neutrophiles
- RMN:** Résonance magnétique nucléaire
- SOD:** Superoxyde dismutase
- TBHQ:** Tert-butylhydroquinone
- TNF- $\alpha$ :** facteur alpha de nécrose tumorale

## TABLES DES MATIERES

### INTRODUCTION

### PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Chapitre I. PLANTES SELECTIONNEES

1. <i>Juniperus thurifera</i> .....	1
1.1. Généralités sur le genre <i>Juniperus</i> .....	1
1.2. Description botanique et distribution de <i>J. thurifera</i> .....	1
1.3. Classification botanique.....	2
1.4. Composition chimique des différentes espèces de <i>Juniperus</i> .....	2
1.5. Composition chimique de <i>J. thurifera</i> .....	3
1.6. Utilisation médicinale.....	3
1.7. Effets biologiques.....	4
2. <i>Fraxinus xanthoxyloides</i> .....	8
2.1. Généralités sur le genre <i>Fraxinus</i> .....	8
2.2. Description botanique et distribution de <i>F. xanthoxyloides</i> .....	8
2.3. Classification botanique.....	9
2.4. Composition chimique des différentes espèces de <i>Fraxinus</i> .....	9
2.5. Composition chimique de <i>F. xanthoxyloides</i> .....	10
2.6. Utilisation médicinale.....	10
2.7. Effets biologiques.....	11

#### Chapitre II. POLYPHENOLS

1. Généralités sur les polyphénols.....	15
2. Biosynthèse.....	15
3. Classification.....	15
3.1. Flavonoïdes.....	16
3.1.1. Généralités sur les flavonoïdes.....	16
3.1.2. Classification.....	16
3.2. Tanins.....	17
3.2.1. Généralités sur les tanins.....	17
3.2.2. Classification.....	18
4. Métabolisme et biodisponibilité des polyphénols.....	19
5. Risques associés à la consommation des polyphénols.....	20
6. Effets biologiques des polyphénols.....	20

### **Chapitre III. HUILES ESSENTIELLES**

1. Généralités sur les huiles essentielles.....	23
2. Composition.....	23
3. Effets biologiques des huiles essentielles.....	24

### **Chapitre IV. STRESS OXYDANT**

1. Définition d'un radical libre.....	25
2. Principaux radicaux libres.....	25
3. Rôles des radicaux libres.....	26
4. Définition et origine du stress oxydant.....	26
5. Conséquences du stress oxydant.....	27
6. Définition d'un antioxydant.....	28
7. Principaux antioxydants.....	29
8. Stress oxydatif et inflammation.....	29

### **Chapitre V. INFLAMMATION, DOULEUR ET FIEVRE**

1. Inflammation.....	31
1.1. Définition de l'inflammation.....	31
1.2. Etiologie de l'inflammation.....	31
1.3. Types d'inflammations.....	32
1.3.1. Inflammation aiguë .....	32
1.3.2. Inflammation chronique.....	32
1.4. Aspect physiopathologique de la réaction inflammatoire.....	32
1.5. Types des anti-inflammatoires.....	33
1.5.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	33
1.5.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens.....	33
2. Douleur.....	34
2.1. Définition de la douleur.....	34
2.2. Voies de la douleur.....	34
2.3. Classification et types de douleur.....	34
2.4. Médicaments antalgiques.....	35
2.5. Sensibilisation centrale et périphérique.....	35
2.5.1. Sensibilisation périphérique.....	35
2.5.2. Sensibilisation centrale.....	35
3. Fièvre.....	37

3.1. Définition de la fièvre.....	37
3.2. Substances pyrogènes.....	37
3.3. Thermorégulation.....	38
3.4. Médicaments antipyrétiques.....	39

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### **Chapitre I. MATERIEL ET METHODES**

1. Matériel.....	40
1.1 Réactifs.....	40
1.2. Matériel biologique.....	40
1.2.1. Matériel végétal.....	40
1.2.2. Animaux.....	40
2. Méthodes.....	41
2.1. Analyse phyto-chimique.....	41
2.1.1. Préparation des extraits.....	41
2.1.2. Tests préliminaires.....	42
2.1.3. Dosage des polyphénols.....	43
2.1.4. Dosage des flavonoïdes.....	44
2.1.5. Dosage des tanins condensés.....	44
2.1.6. Analyse chromatographique par HPLC.....	45
2.1.7. Extraction des huiles essentielles.....	45
2.1.8. Analyse chromatographique (GC / MS).....	46
2.2. Activité biologique.....	47
2.2.1. Activité anti-oxydante.....	47
2.2.1.1. Test au DPPH.....	47
2.2.1.2. Test de blanchiment du $\beta$ - Carotène.....	49
2.2.1.3. Ferric reducing antioxidant power (FRAP).....	50
2.2.2. Activité antimicrobienne.....	50
2.2.3. Test de la toxicité.....	52
2.2.3.1. Test de toxicité aiguë.....	52
2.2.3.2. Test de toxicité subaiguë.....	52
2.2.4. Activité anti-inflammatoire.....	54
2.2.4.1. Pleurésie induite par la carragénine .....	54
2.2.4.1. Œdème de l'oreille induit par le xylène.....	55

2.2.5. Activité antalgique.....	56
2.2.5.1. Test du writhing.....	56
2.2.5.2. Test au formaldéhyde.....	57
2.2.6. Activité antipyrétique.....	57
3. Etude statistique.....	58

## **Chapitre II. RESULTATS ET DISCUSSION**

1. Analyse phyto-chimique.....	59
1.1. Rendement d'extraction.....	59
1.2. Criblage phytochimique.....	61
1.3. Teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins.....	63
1.4. Profil chimique par HPLC des extraits de <i>J.thurifera</i> et <i>F. xanthoxyloides</i> .....	68
1.5. Rendement en huile essentielle de <i>J. thurifera</i> .....	72
1.6. Profil chimique par GC/SM de l'huile essentielle de <i>J. thurifera</i> .....	73
2. Evaluation de l'activité biologique.....	80
2.1. Activité anti-oxydante.....	80
2.1.1. Piégeage du radical DPPH.....	81
2.1.1.1. <i>In vitro</i> .....	81
2.1.1.2. <i>In vivo</i> .....	92
2.1.2. Pouvoir réducteur du fer ferrique.....	94
2.1.3. Blanchiment du $\beta$ -carotène.....	96
2.2. Activité antimicrobienne.....	100
2.3. Toxicité.....	111
2.3.1 Toxicité aiguë.....	111
2.3.2. Toxicité subaiguë.....	113
2.4. Activité anti-inflammatoire.....	121
2.4.1. Pleurésie induite par la carragénine.....	122
2.4.2. Œdème de l'oreille induit par le xylène.....	130
2.5. Activité antalgique.....	132
2.5.1. Test du writhing.....	132
2.5.2. Test au formaldéhyde.....	137
2.6. Activité antipyrétique.....	138

## **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.</b> Rendement, Aspect et couleur des extraits obtenus.....	59
<b>Tableau 2.</b> Résultats du criblage phytochimique.....	62
<b>Tableau 3.</b> Teneur en polyphénols, flavonoides et tanins des extraits de <i>J. thurifera</i> et <i>F. xanthoxyloides</i> .....	63
<b>Tableau 4.</b> Temps de rétention et la quantité des composés présents dans les extraits du <i>J. thurifera</i> .....	69
<b>Tableau 5.</b> Temps de rétention et la quantité des composés présents dans les extraits de <i>F. xanthoxyloides</i> .....	70
<b>Tableau 6.</b> Composition chimique des huiles essentielles de la partie aérienne de <i>J. thurifera</i> .....	74
<b>Tableau 7.</b> Composés communs avec ceux de la littérature.....	76
<b>Tableau 8.</b> Composition chimique des huiles essentielles de la partie aérienne de <i>J. thurifera</i> après l'ajout de 2 g d'NaCl.....	79
<b>Tableau 9.</b> Valeurs d'IC50 des extraits de <i>J. thurifera</i> , <i>F. xanthoxyloides</i> et du standard TBHQ.....	83
<b>Tableau 10.</b> Diamètre de la zone d'inhibition de l'EMeJT.....	100
<b>Tableau 11.</b> Diamètre de la zone d'inhibition de l'EDmJT.....	100
<b>Tableau 12.</b> Diamètre de la zone d'inhibition de l'EHxJT.....	101
<b>Tableau 13.</b> Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les extraits <i>J. thurifera</i> .....	101
<b>Tableau 14.</b> Diamètre de la zone d'inhibition de l'HEJT la sensibilité des souches microbiennes.....	106
<b>Tableau 15.</b> Effet de l'EMeJT et l'EMeFX sur le poids corporel des rats.....	114
<b>Tableau 16.</b> Effet des d'EMeJT et d'EMeFX sur les poids relatifs des organes.....	115
<b>Tableau 17.</b> Effet de l'EMeJT et l'EMeFX sur les paramètres hématologiques des rats.....	116
<b>Tableau 18.</b> Effet de l'EMeJT et l'EMeFX sur les paramètres biochimiques des rats..	117
<b>Tableau 19.</b> Effet de l'EMeJT et le paracétamol sur la pyrexie induite par la levure de bière chez les rats.....	139
<b>Tableau 20.</b> Effet de l'EMeFX et le paracétamol sur la pyrexie induite par la levure de bière chez les rats.....	139

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b> Fleurs mâles de <i>Juniperus thurifera</i> .....	2
<b>Figure 2.</b> <i>Fraxinus xanthoxyloides</i> et son feuillage à petites feuilles composées.....	9
<b>Figure 3.</b> Structures des différentes classes des flavonoïdes.....	17
<b>Figure 4.</b> Exemple des tannins hydrolysables.....	18
<b>Figure 5.</b> Exemple de structure d'un tanin condensé.....	19
<b>Figure 6.</b> Quelques bio-activités de polyphénols naturels.....	21
<b>Figure 7.</b> Aperçu de différentes espèces oxygénées activées et des antioxydants régulateurs de leur production.....	26
<b>Figure 8.</b> Schéma d'extraction par macération successive.....	42
<b>Figure 9.</b> Chromatogramme d'HPLC d'EMeJT enregistré à 280 nm.....	69
<b>Figure 10.</b> Chromatogramme d'HPLC d'EDmJT enregistré à 280 nm.....	70
<b>Figure 11.</b> Chromatogramme d'HPLC d'EMeFX enregistré à 280 nm.....	71
<b>Figure 12.</b> Chromatogramme d'HPLC d'EDmFX enregistré à 280 nm.....	71
<b>Figure 13.</b> Profil chromatographique de l'huile essentielle de <i>J. thurifera</i> analysée par GC/SM.....	73
<b>Figure 14.</b> Profil chromatographique de l'huile essentielle de <i>J. thurifera</i> après l'ajout de 2g de Nacl analysée par GC/SM.....	78
<b>Figure 15.</b> Activité anti-radicalaire de l'EMeJT.....	83
<b>Figure 16.</b> Activité anti-radicalaire de l'EDmJT.....	84
<b>Figure 17.</b> Activité anti-radicalaire de l'EHxJT.....	84
<b>Figure 18.</b> Activité anti-radicalaire de l'EMeFX.....	85
<b>Figure 19.</b> Activité anti-radicalaire de l'EDmFX.....	85
<b>Figure 20.</b> Activité anti-radicalaire de l'EHxFX.....	86
<b>Figure 21.</b> Capacité anti-oxydante plasmatique de l'EMeJT et de l'EMeFX vis-à-vis du radical DPPH.....	93
<b>Figure 22.</b> Pouvoir réducteur des extraits de <i>J. thurifera</i> et le BHA.....	94
<b>Figure 23.</b> Pouvoir réducteur des extraits de <i>F. xanthoxyloides</i> et le BHA.....	95
<b>Figure 24.</b> Activité anti-oxydante relative des extraits <i>J. thurifera</i> et du BHT.....	97
<b>Figure 25.</b> Activité antioxydante relative des extraits <i>F. xanthoxyloides</i> et du BHT....	97
<b>Figure 26.</b> Activité antioxydante relative de l'huile essentielle de <i>J. thurifera</i> et du BHT.....	98

<b>Figure 27.</b> Photomicrographie de l’histologie du foie des rats traités par l’EMeJT à la dose 400 mg/kg (coupes en paraffine, hématoxyline-éosine, ×10).....	119
<b>Figure 28.</b> Photomicrographie de l’histologie du rein des rats traités par l’EMeJT à la dose 400 mg/kg (coupes en paraffine, hématoxyline-éosine, ×10).....	119
<b>Figure 29.</b> Photomicrographie de l’histologie du foie des rats traités par l’EMeFX à la dose 400 mg/kg (coupes en paraffine, hématoxyline-éosine, ×10).....	120
<b>Figure 30.</b> Photomicrographie de l’histologie du rein des rats traités par L’EMeFX à la dose 400 mg/kg (coupes en paraffine, hématoxyline-éosine, ×10).....	120
<b>Figure 31.</b> Effet de l’EMeJT sur le nombre des PMNs après 4 heures de l’injection de la carragénine.....	124
<b>Figure 32.</b> Effet de l’EMeFX sur le nombre des PMNs après 4 heures de l’injection de la carragénine.....	125
<b>Figure 33.</b> Effet de l’EMeJT sur l’oedème de l’oreille induit par le xylène chez les rats.....	131
<b>Figure 34.</b> Effet de L’EMeFX sur l’oedème de l’oreille induit par le xylène chez les rats.....	131
<b>Figure 35.</b> Pouvoir antalgique de l’EMeJT sur les contorsions induites par l'acide acétique.....	134
<b>Figure 36.</b> Pouvoir analgique de l’EMeFX sur les contorsions induites par l'acide acétique.....	134
<b>Figure 37.</b> Courbe d’étalonnage de l’acide gallique utilisée pour le dosage des extraits de <i>J.thurifera</i> .....	
<b>Figure 38.</b> Courbe d’étalonnage d’acide gallique utilisée pour le dosage des extraits de <i>F. xanthoxyloides</i> .....	
<b>Figure 39.</b> Courbe d’étalonnage de la quercétine utilisée pour le dosage des extraits de <i>J.thurifera</i> .....	
<b>Figure 40.</b> Courbe d’étalonnage de la quercétine utilisée pour le dosage des extraits de <i>F. xanthoxyloides</i> .....	
<b>Figure 41.</b> Courbe d’étalonnage de la catéchine utilisée pour le dosage des extraits de <i>J. thurifera</i> et <i>F. xanthoxyloides</i> .....	
<b>Figure 42.</b> Activité anti-radicalaire du TBHQ.....	

## INTRODUCTION

La phytothérapie, représente une des formes de médecine les plus anciennes pratiquées par l'humanité. Elle reste malgré tout la plus repondue dans le monde (**Al-Snafi, 2018**). Les plantes médicinales sont très convoitées en raison de leurs potentiels thérapeutiques et leurs faibles toxicités (**Li et al., 2013**).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 80% de la population mondiale dépend de la médecine traditionnelle pour répondre à ses besoins en matière de soins de santé primaire (**Derwich et al., 2010**), et que 74% des médicaments à base de plantes sont utilisés en médecine moderne, de telle sorte que leur utilisation est directement corrélée à leur usage traditionnel (**Huh et al., 2013**).

La première drogue d'origine végétale introduite sur le marché en 1826 était la morphine et la première drogue semi-synthétique était l'aspirine, introduite en 1899, à base d'un produit naturel qui est la salicine. Actuellement, de nombreux médicaments à base de plantes, sont isolés et utilisé pour le traitement de certaines maladies tels que le paludisme multi-résistant, les différents cancers (ovaire, sein et poumon), les maladies du foie, la maladie d'Alzheimer, etc. D'autres composés à base de plantes très importants, à savoir la curcumine, la colchicine, le resvératrol, l'épigallocatechine-3-gallat et la quercétine, sont en cours d'essais cliniques (**Younis et al., 2016a**).

L'activité thérapeutique supposée de nombreuses plantes médicinales repose d'une part sur la présence des composés phénoliques biologiquement actifs. Ces derniers sont dotés, entre autres, d'effets anti-inflammatoires, antioxydants, insulino-limitants, anticarcinogènes, antivirales, antiulcéreux, antiapoptotiques, anti-neurodégénératifs et cardiovasculo-protecteurs (**Tavares et al., 2013**).

Le stress oxydatif résultant de la génération des radicaux libres est l'une des causes les plus reconnues de nombreuses maladies (le cancer, le diabète, l'hypertension, la maladie d'Alzheimer etc). Les scientifiques et les nutritionnistes ont toujours cherché à trouver des composés naturels dotés d'effets anti-oxydants pour réduire les dommages oxydatifs (**Khosroyar et Arastehnodeh, 2018**) et remplacer les antioxydants synthétiques en particulier ceux qui ont été déclarés cancérigènes (**Emami et al., 2011**).

L'émergence de nouvelles maladies, la résistance croissante des microorganismes pathogènes aux antibiotiques (**Soltani et al., 2017**) et les problèmes gastro-intestinaux associés à l'utilisation des médicaments anti-inflammatoires constituent un dilemme permanent dans le monde médical (**Orhan et al., 2012b**). En conséquence, Il est très important d'approfondir les

recherches sur les plantes médicinales ayant des propriétés anti-inflammatoires, analgésiques, antimicrobienne, etc. pour avoir des alternatives aux produits synthétiques.

Parmi ces plantes, *Juniperus thurifera* est un arbre de taille variable de la famille Cupressacées originaire des zones montagneuses de la région méditerranéenne (**San Feliciano et al., 1989**). Différents types de constituants chimiques ont été isolés des différentes parties des espèces de *Juniperus* telles que les coumarines, les flavonoïdes, les stérols, les terpènes et lignanes (**Orhan et al., 2012b**). Les espèces de *Juniperus* ont été utilisées pour soigner diverses maladies inflammatoires et infectieuses en médecine traditionnelle (**Alzergy et Elgharbawy, 2017**) et ils ont constitué une importante source pour le développement de nouveaux médicaments (**Tavares et Seca, 2018**).

*Fraxinus xanthoxyloides* est une espèce de la famille d'Oléacées utilisée depuis plus d'un siècle en médecine traditionnelle, réparties géographiquement dans les régions montagneuses du Pakistan, de l'Algérie, du Maroc, de l'Inde et de l'Afghanistan (**Younis et al., 2018a**). Il est rapporté que différentes espèces de *Fraxinus* contiennent des acides phénoliques, des flavonoïdes, des coumarines, des stérols et des triterpènes (**Tahirovic et al., 2017**). La plus part de ces espèces sont utilisées comme diurétiques et dans le traitement de la constipation, l'hydropisie, l'arthrite et les douleurs rhumatismales (**Iftikhar et al., 2015**).

L'orientation de la recherche scientifique vers les composés naturels dotés de propriétés pharmacologiques, le manque d'informations sur la bio-activité de *Juniperus thurifera* et *Fraxinus xanthoxyloides* et l'importance de certaines espèces appartenant au genre *Juniperus* et *Fraxinus* en raison de leurs usages traditionnels ont été la source d'inspiration de ce travail. La présente étude a porté sur la composition chimique et l'évaluation de l'activité biologique d'extraits de *Juniperus thurifera* et *Fraxinus xanthoxyloides*.

La première partie de ce travail présente la synthèse d'une recherche bibliographique dans laquelle des connaissances fondamentales sont recueillies et afférant aux : *J. thurifera*, *F. xanthoxyloides*, polyphénols, huiles essentielles, stress oxydant, l'inflammation, la douleur ainsi que la fièvre.

Dans le premier chapitre, de la partie expérimentale, le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour l'extraction, les dosages quantitatifs et qualitatifs des différents métabolites et les tests biologiques utilisés pour évaluer l'activité anti-oxydante, anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique seront exposés. Le deuxième chapitre sera consacré aux résultats obtenus, à la lumière desquels, différentes perspectives de recherche seront évoquées.

# **Partie**

# ***bibliographique***

***Partie***  
***bibliographique***

## Chapitre .I. PLANTES SELECTIONNEES

### 1. *Juniperus thurifera*

#### 1.1. Généralités sur le genre *Juniperus*

*Juniperus* est l'un des plus importants genres appartenant à la famille des Cupressacées (Amresh Gupta et Singh Rawat, 2017). Le genre *Juniperus* comprend environ 67 espèces et 28 variétés (Emami et al., 2011). Les espèces de *Juniperus* sont des arbustes à feuilles persistantes ou des arbres qui préfèrent les sols secs rocheux ou sableux. Toutes les espèces sont originaires de l'hémisphère nord, à l'exception de *Juniperus procera* Hochst. ex endl. qui pousse également dans l'hémisphère sud (Afrique de l'Est) (Orhan et al., 2011a).

#### 1.2. Description botanique et distribution de *Juniperus thurifera*

Le nom commun "berbère" du *Juniperus thurifera* L. est Aïoual. Il se caractérise par des feuilles opposées, lâchement imbriquées sur 4-6 rangs; celles des rameaux lancéolées-aiguës, piquantes, libres au sommet. Le Fruit est d'une couleur bleu-noir ou brun-noir, à pruine bleuâtre, de 6-8 mm plus ou moins réticulés, portés par des rameaux dressés. L'arbre est dioïque pouvant atteindre 20 m (Quezel et santa, 1962) (Figure 1.).

C'est une espèce exclusivement méditerranéenne occidentale, présente en Algérie, France, Espagne, Italie et Maroc. Son aire de répartition est très fragmentée, témoignant soit d'une régression de l'espèce ne laissant que des îlots à partir d'une aire ancienne beaucoup plus large, soit d'une colonisation de milieux particuliers, répondant aux exigences écologiques strictes de l'espèce. En Algérie, elle n'est présente que dans le Massif des Aurès, avec des individus disséminés dans la cédraie ou sous forme de peuplements monospécifiques de quelques dizaines d'hectares (Gauquelin et al., 2003).



**Figure 1.** Fleurs mâles de *Juniperus thurifera* (Montès, 1999).

### 1.3. Classification botanique

La classification botanique de l'espèce *J. thurifera* est donnée par **Quezel et Santa, (1962, 1963)**.

Règne	Plantes
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Gymnospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Apiales
Famille	Cupressaceae
Genre	<i>Juniperus</i>
Espèce	<i>Juniperus thurifera</i> L.

### 1.4. Composition chimique des différentes espèces de *Juniperus*

Les premiers travaux publiés sur la composition chimique des espèces de *Juniperus* remontent à 1952 mais leurs études systématiques n'ont débuté que dans les années 70 (**Seca et Silva, 2005**). Différents types de constituants chimiques ont été isolés des différentes parties des espèces de *Juniperus* telles que les coumarines, les flavonoïdes (amentoflavone, cupressuflavone, hinokiflavone et rutine), stérols (campestérol, cholestérol,  $\beta$ -sitostérol et stigmastérol), terpènes (monoterpènes, sesquiterpènes et diterpènes), lignanes (podophyllotoxine), composés aliphatiques (alcanes, acides gras et cires) et polysaccharides (**Orhan et al., 2012**).

### 1.5. Composition chimique de *J. thurifera*

Des études phytochimiques réalisées sur *J. thurifera* ont permis d'identifier certains composants bioactifs.

Deux dérivés de cinnamyl isovalérate (**San Feliciano et al., 1986**), les terpenoïdes (**San Feliciano et al., 1988b**), les lignanes (**San Feliciano et al., 1989; San Feliciano et al., 1992a**), les acides labdaniques (**San Feliciano et al., 1992b**), les acides diterpéniques (**San Feliciano et al., 1993**) ont été isolés à partir de *J. thurifera*

De même **San Feliciano et al., (1988a)** ont isolé et déterminé la structure d'un nouveau type de lignane : l'acide thuriferique à partir de l'extrait hexanique des feuilles de *J. thurifera*.

Six nouveaux acides diterpéniques et deux nouveaux dérivés d'isovalérate ont été isolés à partir de l'extrait hexanique des feuilles de *J. thurifera* (**Barrero et al., 2004**).

Selon **Orhan et al., (2017)**, le *J. thurifera* est principalement une source des sesquiterpènes, des diterpènes des lignanes et des flavonoïdes. Certains d'entre eux ayant des activités biologiques très prometteuses.

### 1.6. Utilisation médicinale

Les espèces de *Juniperus* ont de nombreux usages en médecine traditionnelle. Dans le monde entier, les espèces de *Juniperus* sont utilisées comme un remède contre le rhume, les infections urinaires, l'urticaire, la dysenterie, l'hémorragie et l'arthrite rhumatoïdale et pour soulager les douleurs menstruelles (**Orhan et al., 2012b**). Ils sont également utilisés comme des antihelminthiques, antiseptiques et pour la cicatrisation des plaies (**Alzergy et Elgharbawy, 2017**). En outre, les baies sont utilisées pour traiter les maladies de la peau telles que les éruptions cutanées et l'eczéma, les maladies respiratoires telles que l'asthme, bronchite, pneumonie et tuberculose, les inflammations des voies urinaires, rénales et les calculs de la vésicule biliaire (**Al-Attar et al., 2015**). Les espèces de *Juniperus* sont, en outre, utilisées pour le traitement de l'hyperglycémie, les ulcères, les vers intestinaux et les maladies du foie (**Ehsani et al., 2012**). Les huiles essentielles sont utilisées pour le traitement de la lèpre et de la typhoïde. Les baies et les feuilles sont utilisées à des fins diurétiques, antiseptiques, carminatives, stomacales, antirhumatoidales et antifongiques dans de nombreux pays (**Orhan et al., 2012b**).

L'huile essentielle de bois de *J. thurifera* var. *africana* a été utilisée comme un abortif et régulateur des troubles de la menstruation, alors que le goudron du bois est utilisé en science vétérinaire (**Barrero et al., 2004**).

Il convient de noter que ces applications n'ont pas toujours un support scientifique. Cependant, beaucoup d'entre elles ont été confirmées par les bio-activités positives des extraits de *Juniperus* (Seca et Silva, 2005).

### 1.7. Effets biologiques

#### • Antimicrobien

Les études de Muhammad *et al.*, (1992, 1995, 1996) ont permis d'isoler de l'écorce de *J. procera* des diterpénoïdes antibactériens ; Le (+) -ferruginol , acide (-) -sandaracopimérique, l'acide (+)-E-communiqué , l'acide (+) -Z-communiqué et le (+) -totarol et 7 $\beta$ -hydroxyabieta-8,13-dien-11, 12-dione.

L'activité anti-mycobactérienne de *J. communis* a été attribuée à un sesquiterpène le longifolène et deux diterpènes, le totarol et l'acide trans-communiqué. (Gordien *et al.*, 2009). En 2012, Carpenter et ses collaborateurs ont révélé que l'acide isocupressique, l'acide communiqué et la deoxypodophyllotoxine ont été les principaux constituants responsables de l'activité anti-mycobactérienne des parties aériennes de *J. communis*.

#### • Anti-inflammatoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire du fruit de *J. communis* a révélé que son extrait aqueux a montré une inhibition de 55% de la synthèse des prostaglandines (E2, F2 $\alpha$ ) et 78% d'inhibition de l'exocytose induite par le facteur d'activation plaquettaire (PAF) (Tunon *et al.*, 1995).

L'extrait méthanolique de *J. rigida* a inhibé la réponse inflammatoire *in vivo* induite par l'urate monosodique en atténuant les cytokines pro-inflammatoires, y compris l'interleukine IL -1 $\beta$ , l'IL-6 et le facteur alpha de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ ) (Han *et al.*, 2016).

#### • Inhibition enzymatique

L'extrait chloroformique de *J. procera* a inhibé l'enzyme xanthine oxydase. Cette activité inhibitrice marquée de la xanthine oxydase a indiqué la présence des composés naturels prometteurs pour la gestion de la goutte (Mohammad Samaha *et al.*, 2017).

L'extrait méthanolique de *J. communis* a inhibé l'activité de la tyrosinase *in vitro*.

Le fractionnement de cet extrait a permis d'isoler et d'identifier huit flavonoïdes. Parmi ces isolats, l'hypolaétine 7-O- $\beta$ -xylopyranoside ont été considérés comme responsables de l'inhibition de la tyrosinase (Jegal *et al.*, 2016). L'extrait aqueux des feuilles de *J.*

*foetidissima* a inhibé la butyrylcholinestérase (**Orhan et al., 2011a**), tandis que les extraits hexanique de *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus*, *J. foetidissima* et *J. phoenicea* ont montré un effet inhibiteur remarquable contre l'acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase (**Ozturk et al., 2011**).

#### •Hypoglycémiant

Les études de **Sanchez de Medina et al., (1994)**; **Banerjee et al., (2013)**; **Orhan et al., (2011b, 2012a)** ont montré que les extraits de *J. communis*, *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* ont un effet hypoglycémiant chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine.

Les extraits éthanoliques des feuilles et des fruits de *J. foetidissima* et *J. sabina* ont inhibé les enzymes  $\alpha$ -glucosidase et  $\alpha$ -amylase. Cette inhibition enzymatique *in vitro* des extraits a été soutenue par les résultats de l'effet hypoglycémiant chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine (**Orhan et al., 2017**). L'effet inhibiteur des enzymes  $\alpha$ -amylase et la lipase pancréatique par les extraits des feuilles et l'huile essentielle de *J. phoenicea* les a été mis en évidence par **Keskes et al., (2014)**.

L'extrait éthanolique des baies de *J. chinensis* a montré un effet hypoglycémiant alors que l'extrait aqueux a montré un effet hypolipidémique (**Ju et al., 2008**). De même l'étude de **Kim et al., (2008)** a révélé l'effet protecteur de l'extrait aqueux de *J. chinensis* contre l'obésité induite par régime riche en graisses.

#### •Hépatoprotecteur

Le prétraitement avec les extraits de *J. phoenicea*, *J. procera*, *J. sabina*, *J. communis* a montré une atténuation prononcée de la cirrhose hépatique associée à des altérations physiologiques et histologiques (**Aboul-ela et al., 2005**; **Ali et al., 2010**; **Manvi et Garg, 2010**; **Alqasoumi et Abdel-Kader, 2012**; **Alqasoumi et al., 2013**; **Al-Attar et al., 2015**; **Abdel-kader et al., 2017**; **Amresh Gupta et al., 2017**; **Laouar et al., 2017**).

Le 4-épi-abiétole et le sugiol isolés de la fraction d'éther de pétrole de *J. procera* ont été plus efficaces pour réduire les taux élevés des enzymes hépatiques (**Alqasoumi et Abdel-Kader, 2012**). De même les composés isolés des extraits de *J. phoenicea* : l'acide imbricatolique cupressuflavone, hinokiflavone ont présenté un effet hépatoprotecteur. L'activité hépatoprotectrice du hinokiflavone a été comparable à celle de la silymarine (**Alqasoumi et al., 2013**).

### •Antitumoral

Diverses espèces de *Juniperus*, notamment *J. chinensis*, *J. excelsa* subsp. *excelsa*, *J. excelsa* subsp. *polycarpus*, *J. foetidissima*, *J. brevifolia*, *J. drupacea*, *J. phoenicea*, *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* et *J. foetidissima* ont montré des effets cytotoxiques contre les lignées cellulaires du cancer de différentes origines (Ali *et al.*, 1996; Sadeghi-aliabadi *et al.*, 2008; Moujir *et al.*, 2008; Miceli *et al.*, 2011; Aljaiyash *et al.*, 2014; Sahin Yaglioglu et Eser, 2017; Al Groshi *et al.*, 2018).

L'étude de Darvishi *et al.*, (2017) a suggéré l'utilisation combinée de doses plus faibles de vincristine et d'extrait de *J. excelsa* pour l'induction de l'apoptose des cellules tumorales afin de diminuer potentiellement les effets secondaires du médicament.

Les résultats de l'étude de Huyan *et al.*, (2016) ont indiqué que les extraits aqueux de *J. Sabina* ont des effets anti-tumoraux et peuvent être développés en tant que nouveaux médicaments anti-tumoraux.

Selon Barrero *et al.*, (2004) Les extraits hexaniques et chloroformiques des feuilles de *J. thurifera* ont montré une activité cytostatique contre les cellules KB néoplasiques.

### •Antiulcéreux

L'extrait méthanolique des feuilles de *J. communis* est un analgésique efficace contre les ulcères induits par l'aspirine, la sérotonine, l'indométhacine, l'alcool et le stress, et les lésions duodénales induites par l'histamine chez le cobaye (Pramanik *et al.*, 2007).

L'administration orale de l'huile essentielle de *J. phoenicea* a montré une protection dose-dépendante contre les ulcères gastriques induits par l'HCl / éthanol chez les rats. Cet effet est comparable à celui de l'inhibiteur de la pompe à protons l'oméprazole (Ben ali *et al.*, 2015).

### •Autres effets

La laparotomie au 10ème jour a révélé un effet anti-fécondant de l'extrait éthanolique des fruits de *J. communis* administré par voie orale du 1<sup>er</sup> au 7<sup>ème</sup> jour de la gestation (Agrawal *et al.*, 1980). L'étude de Teng *et al.*, (1994) a révélé un effet antiagrégant plaquettaire et vasorelaxant du 14-acétoxycedrol, un dérivé acétylé du sesquiterpène 8,14-cedranediol isolé de *J. squamata*.

Les résultats de l'étude de Bello *et al.*, (1997) a révélé un effet hypotenseur des extraits méthanoliques et dichlorométhanoliques de *J. oxycedrus* sur la pression artérielle des rats.

Les extraits méthanoliques et dichlorométhanoliques de *J. oxycedrus* sont capable d'inhiber d'une manière dépendante de la concentration la réponse contractile induite par les différents neurotransmetteurs (l'histamine, la sérotonine et l'acétylcholine) (**Moreno et al., 1997**).

Les extraits de *J. phoenicea* et *J. excelsa* ont présenté un effet anti-diarrhéique important (**Qnais et al., 2005; Khan et al., 2012**).

La fraction chloroformique de *J. excelsa* a montré une activité anti-leishmaniale significative, tandis que l'extrait méthanolique a dévoilé une activité anti-tumorale significative (**Nabi et al., 2012**).

Une amélioration a été constatée chez les rats hyper-uricémiques traités par voie oral soit par l'allopurinol, soit par l'extrait de *J. phoenicea* (**Gdoura et al., 2013**).

Les extraits éthanoliques de *J. drupacea* et *J. oxycedrus* ont présenté une importante activité anthelminthique (les oxyures) (**Kozan et al., 2006**). L'amentoflavone isolé de l'extrait méthanolique de *J. communis* a montré un effet protecteur contre l'arthrite induite par l'adjuvant de Freund chez le rat (**Bais et al., 2017**).

L'extrait éthanolique des fruits de *J. chinensis* a atténué les symptômes de la dermatite atopique induite par l'oxazolone et le 2,4-dinitrochlorobenzène chez la souris (**Jegal et al., 2018**).

## 2. *Fraxinus xanthoxyloides*

### 2.1. Généralités sur le genre *Fraxinus*

Le genre *Fraxinus* appartient à la famille des Oléacées, plus appelé communément frêne (Sarfraz *et al.*, 2017), il comprend environ 70 espèces ligneuses largement répandues en Europe, Asie orientale et Amérique du Nord et centrale.

Le genre *Fraxinus* est représenté en Algérie par deux espèces: *Fraxinus angustifolia* Vahl. et *Fraxinus xanthoxyloides* Wamm (Abdelguerfi et Laouar, 2000).

Les Frênes sont des espèces disséminées, assez exigeantes quant à l'humidité et à la richesse du sol; quelques espèces cependant sont véritablement xérophiiles (Pourtet, 1949).

### 2.2. Description botanique et distribution de *F. xanthoxyloides*

Le nom commun "berbère" du *Fraxinus xanthoxyloides* est «Thouzzalt», ses Feuilles adultes plus petites plus ou moins pubescentes sur leur face inférieure, dimorphes, celles des jeunes rameaux, toutes bordées de dents obtuses peu profondes. Bourgeons noirs. Inflorescences en petites ombelles sessiles. Fruit en forme de samarres émarginées au sommet (Quezel et santa, 1963).

Il est réparti géographiquement dans les régions montagneuses, de l'Algérie, du Maroc, du Pakistan, de l'Inde et de l'Afghanistan. (Younis *et al.*, 2018a). Il est fréquent dans la région des Aurès, le Bellezma, les Monts du Hodna mais rare hors de ces régions. Il est très apprécié par le cheptel caprin en particulier. Sous la pression du pâturage, les jeunes sujets n'arrivent à pousser que si la germination a lieu au niveau des buissons. Malgré cela, seules les parties hautes des arbustes échappent aux dents du bétail (Abdelguerfi et Laouar, 2000) (Figure 2.).



**Figure 2.** *Fraxinus xanthoxyloides* et son feuillage à petites feuilles composées (Wallander, 2012).

### 2.3. Classification botanique

La classification botanique de l'espèce *F. xanthoxyloides* Wamm. est donnée par **Quezel et Santa (1962, 1963)**.

Règne	Plantes
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Famille	Oleaceae
Genre	<i>Fraxinus</i>
Espèce	<i>Fraxinus xanthoxyloides</i> Wamm.

L'espèce *F. xanthoxyloides* a comme synonyme commun : *Fraxinus dimorpha* Coss. et Dur (**Quezel et Santa, 1963**).

### 2.4. Composition chimique des différentes espèces de *Fraxinus*

Une gamme de constituants chimiques, les sécoiridoïdes, les phénylétanoïdes, les lignanes, les flavonoïdes et les coumarines ont été isolés du genre *Fraxinus* (**Sarfraz et al., 2017**).

Les études phytochimiques ont montré que la présence des coumarines, des sécoiridoïdes et des phénylétanoïdes est une caractéristique des espèces de *Fraxinus* (**Medjahed et al., 2016**). Les lignanes, les flavonoïdes et les composés phénoliques simples sont également courants, mais avec une distribution plus limitée (**Ayouni et al., 2016**).

De plus, le genre *Fraxinus* est décrit comme une riche source de flavones et de flavonols dérivés de la quercétine et du kaempférol (Medjahed *et al.*, 2016).

L'esculétine, l'esculine, la fraxine, la fraxétine, syringine, la catechine, acide tannique, rutine, quercétine font partie des composants pharmacologiquement actifs isolés des différentes espèces de *Fraxinus* (Sarfraz *et al.*, 2017).

### 2.5. Composition chimique de *F. xanthoxyloides*

La xanthoxyloïdine, une nouvelle biscoumarine ainsi que l'esculétine, la 5,7-dihydroxycoumarine et la 6,8-dihydroxy-7-méthoxycoumarine ont été isolés à partir de l'extrait méthanolique de *F. xanthoxyloides* (Iftikhar *et al.*, 2015).

Une nouvelle coumarine-secoiridoïde di-glucoside, appelé Isofraxisecoside, a été isolée de l'écorce des tiges de *F. xanthoxyloides*, ainsi que neuf autres composés connus (fraxisecoside, fraxine, cichoriine, osmanthuside H, syringine, coniferine, calcelarioside B, 8-hydroxypinorésinol-4'-O- $\beta$ -glucoside, 1-acétoxypinorésinol-4'- $\beta$ -glucoside) (Hadroug *et al.*, 2018).

Les terpénoïdes (26,61%), les lactames (16,47%), les esters (15,81%), les phénols (8,37%) et les stéroïdes (6,91%) ont constitué les principales classes des métabolites qui entrent dans la composition de l'extrait méthanolique de *F. xanthoxyloides* (Younis *et al.*, 2016a).

L'analyse par Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) a révélé la présence de la rutine et l'acide caféique dans l'extrait méthanolique de *F. xanthoxyloides* (Younis *et al.*, 2016b).

Trois composés purs isolés; l'acide nummularique, la rutine à partir de la fraction d'acétate d'éthyle et l'acide plectranthoïque à partir de la fraction chloroformique de l'extrait méthanolique *F. xanthoxyloides*. Ils ont été caractérisés par analyse spectroscopique et résonance magnétique nucléaire (RMN) (Younis *et al.*, 2018a).

### 2.6. Utilisation médicinale

Les études antérieures ont rapporté l'utilisation d'espèces de *Fraxinus* comme des anti-inflammatoires et dans le traitement des troubles hépatiques et rénaux (Younis *et al.*, 2018a).

La plupart des espèces du genre *Fraxinus* sont utilisées comme diurétiques, dans le traitement de la constipation, hydropisie, l'arthrite et les douleurs rhumatismales. Les racines de certaines espèces sont considérées comme des anti-inflammatoires, antipaludiques et antipyrétiques, alors que les écorces sont utilisées comme remède contre la stomatite, la pyrexie et la douleur dentaire (Iftikhar *et al.*, 2015). Ils sont utilisés aussi pour leurs effets purgatifs

ainsi que pour le traitement de la cystite et les démangeaisons du cuir chevelu (**Calis et al., 1993**).

Le *F. xanthoxyloides* est une plante médicinale utilisée depuis plus de cent ans en médecine traditionnelle. Il est largement utilisé pour le traitement de la jaunisse, la pneumonie et le paludisme (**Younis et al., 2018b**). Les racines, l'écorce, les tiges, ramilles et les feuilles de *F. xanthoxyloides* sont utilisés pour traiter le rhumatisme et les fractures osseuses. La décoction d'écores des tiges est utilisée pour soulager la douleur après un travail dur et l'expulsion d'un prématuré. La décoction des brindilles, tiges et du bois est utilisée pour la cicatrisation des plaies et les fractures osseuses chez les bovins (**Younis et al., 2018a**).

## 2.7. Effets biologiques

### •Antioxydant

L'effet antioxydant de l'extrait éthanolique de *F. ornus*, ainsi que l'esculétine, l'esculine, la fraxétine et la fraxine au cours de l'auto-oxydation des triacylglycérols du saindoux et des triacylglycérols de l'huile de tournesol a été déterminé. L'extrait a présenté une activité antioxydante prononcée. De même l'esculétine et la fraxétine ont considérablement retardé le processus dans les deux systèmes lipidiques (**Marinova et al., 1994**).

L'huile essentielle de *F. dimorpha* a présenté un effet antiradicalaire dans le test DPPH (2, 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl) et un effet réducteur dans le test FRAP (Ferric reducing antioxidant power) (**M'sou et al., 2017**).

### •Antimicrobien

Selon **Kostova et al., (1993)** les hydroxycoumarines : esculétine, fraxine et la fraxétine sont les principaux composés responsables des propriétés antimicrobiennes des extraits d'écorce de *F. ornus*.

L'extrait hexanique des graines de *F. ornus* a présenté des activités à la fois antibactériennes et antifongiques. Les bactéries Gram positives ont été plus sensibles que les bactéries Gram négatives et les champignons (**El-Hawary et al., 2016**).

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *F. dimorpha* a été évaluée contre dix microorganismes. Les résultats ont montré que l'huile présente une activité modérée et que les souches fongiques ont été les plus sensibles (**M'sou et al., 2017**).

### •Anti-inflammatoire

L'extrait éthanolique de *F. rhynchophylla* a montré un effet très important de piégeage du radical libre DPPH et un effet inhibiteur de l'expression de la cyclooxygénase (COX-2) et l'oxyde nitrique synthase (NOS) (**Hong et al., 2012**).

L'extrait éthanolique de *F. excelsior* a présenté un effet antioxydant et un effet anti-inflammatoire dans le test de l'inhibition de la dénaturation des protéines de l'albumine bovine (**Khosroyar et Arastehnodeh, 2018**).

### •Inhibition enzymatique

La fraction soluble de l'extrait d'acétate d'éthyle de *F. rhynchophylla* ainsi que les quatre sécoiridoïdes (ligstroside, oleuropéine, 2''-hydroxyoleuropéine et hydroxyframoside B) isolés à partir des écorces ont présenté une inhibition significative de la lipase pancréatique. L'hydroxyframoside B a présenté l'effet le plus important (**Ahn et al., 2013**).

La fraction aqueuse à l'acétate d'éthyle de *F. angustifolia* a inhibé l'activité de l'enzyme xanthine oxydase. Des corrélations positives ont été établies entre l'inhibition de la xanthine oxydase et les phénols totaux et les tanins (**Berboucha et al., 2010**).

### •Hypoglycémiant

Des extraits hydro-éthanoliques de 16 plantes et 4 algues ont été administrés par voie orale à des souris diabétiques induites par la nicotinamide-streptozotocine pour évaluer leur effet hypoglycémiant. L'extrait de *F. ornus* a été parmi les extraits qui ont montré un effet hypoglycémiant très important (**Abouزيد et al., 2013**).

De même, les extraits de *F. angustifolia* ont montré une activité antidiabétique prometteuse chez les rats diabétiques induits par la streptozotocine. Le résultat a été confirmé *in vitro* par l'inhibition d' $\alpha$ -amylase (**Atmani et al., 2017**).

L'extrait aqueux de *F. excelsior* a entraîné une diminution significative de la glycémie chez les rats normaux et chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine (**Eddouks et Maghrani, 2004**).

Un effet hypoglycémiant considérable a été observé deux heures après l'induction de la streptozotocine. Les extraits des feuilles de *F. angustifolia* ont été plus actifs (68%) que les extraits d'écorces (57%) (**Madjhed et al., 2016**).

L'extrait naturel obtenu à partir des graines de *F. excelsior* (FraxiPure) a entraîné une diminution significative de la glycémie, la triglycéridémie et de la pression artérielle systolique (**Monto et al., 2014**).

#### •Hépatoprotecteur

Le traitement par l'extrait éthanolique de *F. rhynchophylla* a réduit d'une manière significative la fibrose hépatique induite par le CCl<sub>4</sub> chez le rat. Cet effet est lié à une activité collagénolytique importante (**Peng et al., 2010**).

De même, l'administration de l'extrait de *F. xanthoxyloides*, *F. rhynchophylla* et *F. floribunda* a rétabli le statut biochimique et histologique du foie (**Younis et al., 2016b; Guo et al., 2017; Arunika et al., 2017**).

#### •Anti-tumoral

L'extrait méthanolique *F. micrantha* a montré une activité antiproliférative de la lignée cellulaire de carcinome du sein qui est corrélée avec la production de l'oxyde nitrique (NO) et la fragmentation de l'ADN (**Kumar et Kashyap, 2015a**).

L'acide nummulaire est le constituant chimique majeur du *F. xanthoxyloides*. Le traitement par l'acide nummulaire a réduit considérablement la prolifération et les capacités de formation des colonies de cellules PCa (cellules du cancer de la prostate) de manière dépendante du temps et de la dose (**Younis et al., 2018b**).

#### •Autres effets

La fraction butanolique de *F. Mandshurica* et le composé calceolarioside A ont inhibé respectivement la production des immunoglobulines E (IgE) par les cellules du myélome humain (cellules U266) et d'IL-2 par les cellules spléniques des souris, sans aucune cytotoxicité à la dose efficace (**Chen et al., 2016**).

L'effet antihypertenseur et diurétique de l'extrait aqueux de *F. excelsior* chez les rats hypertendus a été démontré par **Eddouks et al., (2005)** et **Lopez-Carreras et al., (2013)**.

Le traitement par l'extrait méthanolique de *F. xanthoxyloides* a atténué les lésions rénales induites par le CCl<sub>4</sub> (**Younis et al., 2018a**).

Le composé oleuropéine isolé de *F. rhynchophylla* a présenté des effets anti-Toxoplasma gondii *in vitro* et *in vivo* (**Jiang et al., 2008**).

La fraction chloroformique de *F. xanthoxyloides* a présenté un effet anti-leishmaniose plus important que la fraction n-hexanique et la fraction d'acetate d'ethyle. Une corrélation a été constatée entre les terpénoïdes et l'effet anti-leishmaniose (**Younis et al., 2016c**).

L'extrait éthanolique de *F. chinensis* possède une activité anti-oxydante et un effet inhibiteur sur l'expression des métalloprotéinases matricielles induite par l'irradiation UV d'où l'utilité de son usage pour protéger la peau contre les rayons UV (**Lee et al., 2007**).

La mort des cellules neuronales induite par les fibres  $\beta$ -amyloïdes A $\beta$  (la principale cause de la maladie d'Alzheimer) a été inhibé significativement par la fraction butanolique de *F. rhynchophylla* ainsi que la syringine isolée de cette plante (**Yang et al., 2010**).

Diverses mesures physiologiques, comportementales et biochimiques ont été utilisées pour évaluer l'effet de l'extrait éthanolique de *F. rhynchophylla* sur le stress chronique induit chez la souris. Les résultats ont indiqué que l'extrait a un effet antidépresseur important (**Kim et al., 2018**).

## Chapitre II. POLYPHENOLS

### 1. Généralités sur les polyphénols

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires, ils accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans les domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agro-alimentaire. Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés (alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques, etc.) (Macheix *et al.*, 2005).

Les polyphénols se caractérisent par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une fonction (éther, ester, hétéroside) (Bruneton, 2009). Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins. Ils peuvent être conjugués avec un ou plusieurs résidu(s) sucré(s) lié(s) ou ils peuvent également être liés avec d'autres composés chimiques, tels que des acides carboxyliques, des amines ou des lipides ou avec d'autres phénols existent également (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

### 2. Biosynthèse

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques :

- celle de l'acide shikimique
- celle issue de l'acétate

De plus, la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

### II.3. Classification

Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes :

- Les flavonoïdes
- Les tanins
- Les stilbènes
- Les lignanes et les coumestanes

- Autres phytoestrogènes
- Les saponines (triterpénoïdes)
- Les phytostérols et les phytostanols

Bien qu'ils ne soient pas des polyphénols, l'on ajoute ordinairement à cette liste les isothiocyanates, qui dérivent de l'hydrolyse des glucosinolates (**Dacosta, 2003**).

### 3.1. Flavonoïdes

#### 3.1.1. Généralités sur les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus large des composés phénoliques (**Balasundram et al., 2006**). Ils constituent un groupe de plus de 6 000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils sont responsables des colorations jaune, orange et rouge des différents organes végétaux (**Ghedira, 2005**).

Les flavonoïdes sont des composés de faible poids moléculaire (**Balasundram et al., 2006**) et partagent le même squelette structural de base C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Ce dernier est constitué de deux noyaux aromatiques (A et B) et un hétérocycle oxygéné (C) (**Stoclet et Schini-Kerth, 2011**).

#### 3.1.2. Classification

Basé sur le nombre, la position et la nature des substituants des deux cycles aromatiques et du degré d'oxydation et de substitution de la position 3 du cycle C, les flavonoïdes peuvent être divisés en six sous-groupes.

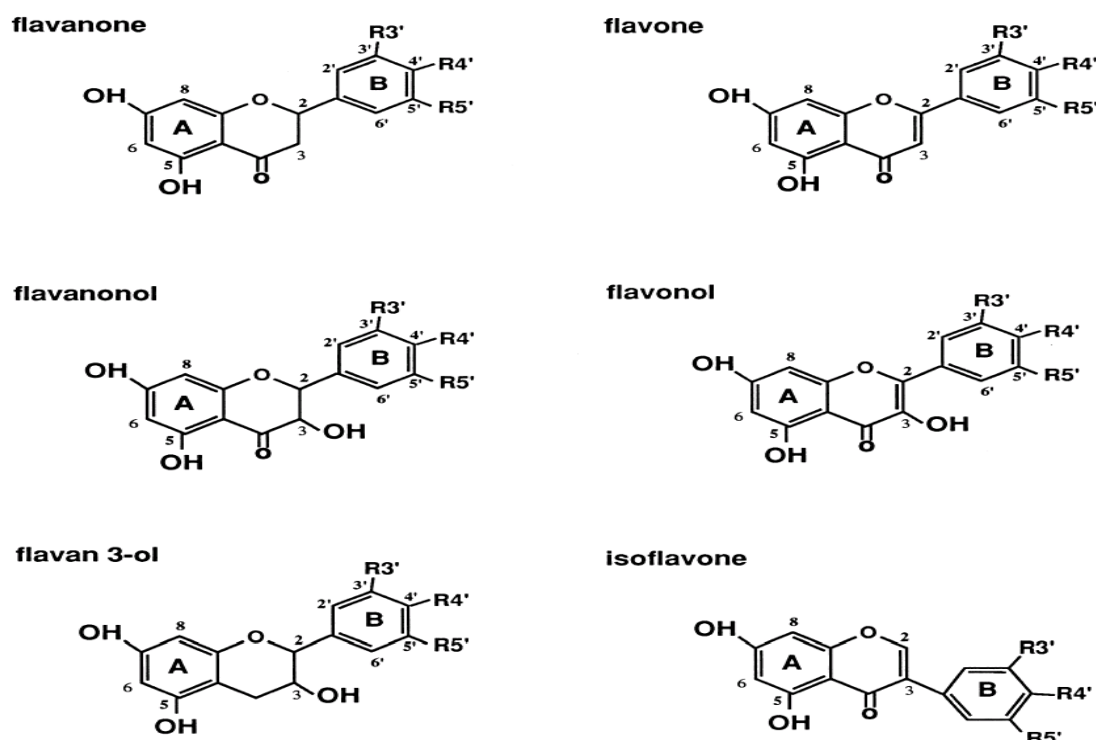
- les flavonols (kaempférol, quercétine...).
- les flavones (apigénine, lutéoline...).
- les isoflavones (daïdzéine, génistéine...).
- les flavanones (hespéretine, naringénine).
- les flavanols (catéchine, épicatechin, épigallocatechine, épigallocatechine gallate).
- les anthocyanes (pélarгонidine, cyanidine, malvidine) (**Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011**).

Les flavonoïdes peuvent se présenter sous forme d'aglycones ou génines (entités dépourvues de reste osidique) ou d'hétérosides (portant un ou plusieurs résidus osidiques).

Flavones et flavonols sont les composés flavonoïdiques les plus répandus notamment : la quercétine, le kaempférol, la myricétine et l'apigénine.

Les flavanones (naringénine) et les flavanols (catéchine) ainsi que les dihydroflavonols (dihydrokaempférol, dihydroquercétine) et les dihydroflavan-3,4-diols (leucopélarгонidol,

leucocyanidol) sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires en raison de leur distribution naturelle restreinte (Ghedira, 2005) (Figure 3.).



**Figure 3.** Structures des différentes classes des flavonoïdes (Gamet-Payraastre *et al.*, 1999).

## 3.2. Tanins

### 3.2.1. Généralités sur les tanins

Les tanins qui sont des composés de poids moléculaire relativement élevé, constituent le troisième groupe important des composés phénoliques (Balasundram *et al.*, 2006). Sous le terme tanins on désigne des polymères phénoliques complexes solubles dans l'eau possédant certaines propriétés spécifiques telles que le pouvoir de précipiter les protéines.

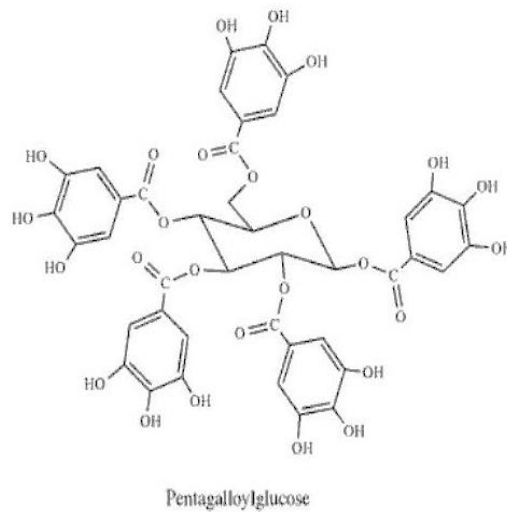
Les effets anti-nutritifs des tanins sont associés à leur capacité à se combiner avec des protéines alimentaires, des polymères tels que la cellulose, l'hémicellulose et la pectine, et des minéraux retardant ainsi leur digestion (McSweeney *et al.*, 2001).

### 3.2.2 Classification

On distingue deux groupes selon la voie de leurs synthèse et leurs structure; les tanins condensés et les tanins hydrolysables (Jarrige *et al.*, 1995; Chung *et al.*, 1998).

#### •Tanins hydrolysables

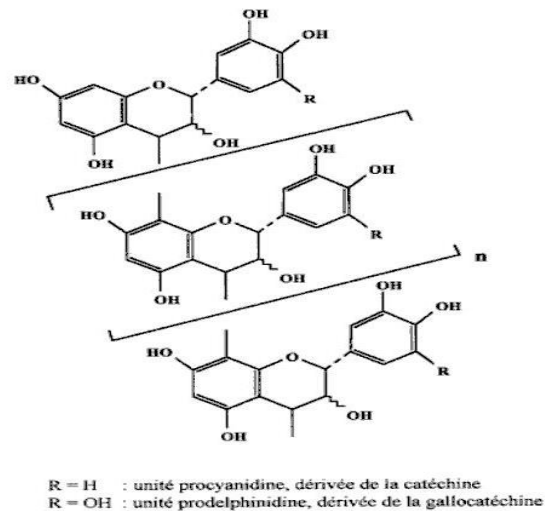
Ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être de l'acide gallique (cas des gallotannins) soit un dimère de ce même acide, l'acide ellagique (cas des tannins ellagiques) (Figure 4.).



**Figure 4.** Exemple des tanins hydrolysables (Macheix *et al.*, 2005).

#### •Tanins condensés

Les tanins condensés sont des oligomères ou des polymères de flavane-3-ols (éventuellement de flavane-3-4-diols) dérivés de la (+)- catéchine ou ses nombreux isomères. Contrairement aux tanins hydrolysables, ils sont résistants à l'hydrolyse et seuls des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader (Figure 5.).



**Figure 5.** Exemple de structure d'un tanin condensé (Macheix *et al.*, 2005).

#### 4. Métabolisme et biodisponibilité des polyphénols

On dispose que de peu de connaissances sur l'absorption, la biodisponibilité, la bio-distribution et le métabolisme des polyphénols, bien qu'il existe probablement une voie commune.

Les aglycones, sont généralement absorbés intacts par le tube digestif, tandis que les esters, les glycosides ou les polymères doivent être hydrolysés avant d'être absorbés (Pandey et Rizvi, 2009). Les micro-organismes buccaux et intestinaux sont également responsables de la dégradation des polyphénols en aglycones et, occasionnellement, de la production de divers acides aromatiques simples. Les polyphénols absorbés sont conjugués à des dérivés méthylés, glucuronidés ou sulfatés, processus de détoxification métabolique commun à de nombreux xénobiotiques. De tels mécanismes sont si efficaces que les aglycones sont généralement absentes ou présentes à de faibles concentrations dans le sang après la consommation de doses nutritionnelles (Petti et Scully, 2009), à l'exception des catéchines, pour lesquelles les aglycones peuvent représenter une proportion très importante des formes circulantes totales. Les études ont montré que les concentrations plasmatiques postprandiales sont faibles, de l'ordre de 1  $\mu\text{M}$ , et que ces concentrations varient selon la structure. Par ailleurs, le maintien d'une concentration plasmatique plus élevée en polyphénols requiert une ingestion répétée. En effet, les concentrations maximales sont le plus souvent atteintes 1 à 2 heures après ingestion, excepté pour les polyphénols qui nécessitent d'être dégradés par la microflore colique avant d'être absorbés. L'organisme considère les polyphénols comme des

xenobiotiques, limitant leur absorption au niveau de l'intestin grêle et/ou en les modifiant de façon à les rendre plus facilement éliminables par les reins et le foie (Amiot *et al.*, 2009).

Les polyphénols les mieux absorbés sont les isoflavones et l'acide gallique, suivis des flavanones, des catéchines et des glycosides de quercétine. Les polyphénols les moins absorbés sont les proanthocyanidines, les anthocyanines et les catéchines galloylées. Tous les polyphénols sont principalement excrétés dans l'urine et la bile (Petti et Scully, 2009).

## 5. Risques associés à la consommation des polyphénols

Des cas de toxicité aiguë ont été rapportés chez des animaux consommant des plantes riches en tanins. Chez l'homme, aucune toxicité aiguë de ce type n'a jamais été rapportée après la consommation de polyphénols alimentaires. Cependant, une consommation élevée de polyphénols peut augmenter le risque de certaines maladies. Toute fois, La grande majorité des études publiées étaient axées sur les avantages pour la santé plutôt que sur les effets néfastes.

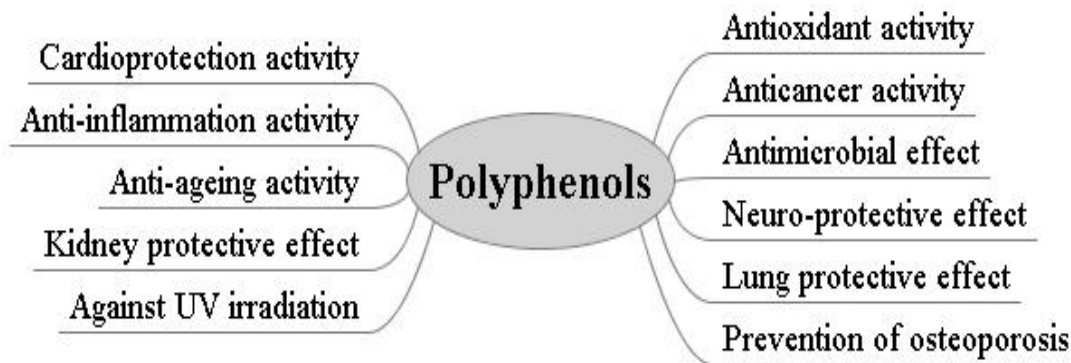
Les connaissances de ces effets sont très limitées. Les polyphénols consommés en grande quantité pourraient avoir des effets pro-oxydants. Ils peuvent réduire le fer ferrique en fer Ferreux et ainsi générer des radicaux hydroxyles lors de la réaction de Fenton. De tels effets pro-oxydants n'ont jamais été démontrés *in vivo* (Scalbert *et al.*, 2005).

## 6. Effets biologiques des polyphénols

Les composés phénoliques peuvent intervenir :

- Dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, ...);
- Dans l'interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (résistance aux UV, relations avec les bactéries, les champignons, etc.);
- Dans la conservation après récolte de certains végétaux; dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualité nutritionnelle, etc.);
- Dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus, boissons fermentées, etc.) (Macheix *et al.*, 2005).

Les polyphénols ont montré des avantages pour la santé dans la prévention et le traitement des maladies liées au vieillissement, des cancers et des maladies cardiaques et se sont avérés posséder de nombreuses bio-activités importantes (Figure 6.) tels que :



**Figure 6.** Quelques bio-activités de polyphénols naturels (Li *et al.*, 2014).

### •Effet antioxydant

Parmi les bio-activités notables des composés phénoliques, les activités anti-oxydantes ont été largement étudiées, notamment le piégeage des radicaux libres, l'inhibition de l'oxydation des lipides, la réduction de la formation d'hydro-péroxydes, etc.

De nombreux polyphénols peuvent piéger les radicaux libres par le biais du mécanisme du transfert d'atome d'hydrogène, car des énergies plus élevées sont impliquées dans le processus de transfert d'électron unique. Les polyphénols peuvent chélater les métaux de transition par le biais de leurs multiples groupes OH et du groupe carbonyle, lorsqu'ils sont présents. Les polyphénols peuvent également fonctionner en tant qu'antioxydants par leurs effets sur le plasma, les membranes, les facteurs de transcription et les activités enzymatiques *in vivo* (Li *et al.*, 2014).

Les structures moléculaires, en particulier le nombre et la position des groupes hydroxyles, ainsi que la nature des substitutions sur les cycles aromatiques, confèrent aux composés phénoliques la capacité de piéger les radicaux libres, ce qui est appelé relation structure-activité (Minatel *et al.*, 2017). La capacité des polyphénols de piéger les radicaux libres dépend en grande partie du nombre des groupes hydroxyles (Tsao, 2010; Tanase *et al.*, 2019).

Il a été démontré que les polyphénols peuvent en fait fonctionner comme des co-antioxydants et sont impliqués dans la régénération des vitamines essentielles (Tsao, 2010). En tant qu'antioxydants, les polyphénols peuvent protéger les constituants des cellules contre les dommages oxydatifs et, par conséquent, limiter le risque de diverses maladies dégénératives associées au stress oxydatif (Scalbert *et al.*, 2005).

### ●Effet antimicrobien

Les polyphénols ont démontré des activités antibactériennes, antifongiques et antivirales. Les polyphénols sont capables de supprimer un certain nombre de facteurs de virulence microbienne, tels que la réduction de l'adhésion des ligands de l'hôte, inhibition de la formation du biofilm, neutralisation des toxines bactériennes et de montrer une synergie avec les antibiotiques. Les polyphénols ont une utilisation associée avec les antibiotiques afin de potentialiser leur efficacité, d'abaisser la dose d'antibiotique pour réduire les effets indésirables de ces derniers.

Compte tenu de l'augmentation de la résistance microbienne par rapport à l'antibiothérapie traditionnelle, des polyphénols ont été proposés pour mettre au point des thérapies innovantes pour le traitement de diverses infections microbiennes. La propriété antimicrobienne des polyphénols a également été proposée pour développer de nouveaux antimicrobiens alimentaires et des agents de conservation destinés à augmenter la pression des consommateurs sur l'industrie alimentaire pour éviter les conservateurs synthétiques (**Li et al., 2014**).

Les composés phénoliques sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique. Ils sont regroupés dans la catégorie des veinotoniques et des vasculo-protecteurs. Parmi les veinotoniques, nous citerons le Relvenet ou le Cirkant renfermant du ruténoside, le Daflont ou le Diosmilt renfermant de la diosmine. Un certain nombre de molécules polyphénoliques sont également en étude clinique comme des anti-agrégant plaquettaire, ou hypotenseur sans résultats probants (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

### ●Effet anti-inflammatoire

Les polyphénols ont montré des effets anti-inflammatoires importants *in vivo* et *in vitro*.

Il existe plusieurs mécanismes anti-inflammatoires des polyphénols *in vivo*. L'un des mécanismes anti-inflammatoires importants est l'inhibition des enzymes générant des eicosanoïdes, notamment la phospholipase A2 et la cyclooxygénase. Certaines expériences ont suggéré que les polyphénols inhibent la libération du NO en supprimant l'expression et l'activité de l'enzyme NOS. Les cytokines, les principaux médiateurs des communications locales et intercellulaires dans les processus immunitaires et inflammatoires, ont été modulées par les polyphénols (**Li et al., 2014**). Ils déclenchent également un mécanisme qui bloque la surproduction du facteur TNF- $\alpha$ , exerçant ainsi un effet anti-inflammatoire (**Tanase et al., 2019**).

## Chapitre III. HUILES ESSENTIELLES

### 1. Généralités sur les huiles essentielles

Une huile essentielle est un extrait odorant, généralement de composition complexe, obtenue à partir d'une matière première botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Elle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (**Bourrain, 2013**).

Elle provient d'une sécrétion élaborée par certains végétaux et contenue dans des structures spécialisées (poils, poches et canaux sécréteurs) (**Couic-Marinier et Lobstein, 2013**).

Toutes les familles végétales ne sont pas également utilisées pour extraire les huiles essentielles. Les principales sources sont: les astéracées, les cupressacées, les ericacées, les lamiacées, les lauracées, les myrtacées, les abietacées, les poacées, les rosacées, les rutacées (**Bourrain, 2013**).

Qualitativement, les teneurs en huile essentielle sont plutôt faibles, assez souvent inférieurs à 10ml/kg. Des teneurs fortes comme celle du bouton floral du giroflier (150ml/kg et plus dans le bouton séché) sont exceptionnelles (**Bruneton, 2009**).

### 2. Composition

Une huile essentielle a une composition moléculaire complexe qui lui confère des vertus uniques. Elle ne contient ni protéines, ni lipides, ni glucides et ne renferme pas de minéraux ni de vitamines : elle n'a donc aucune valeur nutritionnelle.

Les composants des huiles essentielles peuvent être classés en trois grands groupes :

- Les terpènes : monoterpènes et les sesquiterpènes.
- Les composés aromatiques, ex: alcool cinnamique, coumarine, etc.
- D'autres composés très divers (acides, alcools, aldéhydes, esters, etc.) mais aussi des produits phytosanitaires tels que des pesticides (**Bourrain, 2013**).

Le chémotype de l'huile essentielle est un élément qui permet de distinguer les huiles essentielles extraites d'une même espèce ou variété botanique mais de composition biochimique différente. Ce chémotype est repéré grâce à une analyse chromatographique et spectrométrique qui reconnaît et identifie les molécules présentes dans l'huile essentielle. Cette classification est indispensable car elle permet de sélectionner les huiles essentielles pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace. Ainsi, par exemple, l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* Chémotype thujanol présente d'importantes propriétés anti-infectieuses tout en ayant une action stimulante et régénératrice au niveau hépatique, alors que

l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* chymotype thymol est fortement antibactérienne mais dermocaustique et hépatotoxique à doses élevées et prolongées (**Couic-Marinier et Lobstein, 2013**).

La composition des huiles essentielles est complexe, et très variable selon divers paramètres, tels que l'espèce, la partie de la plante, le biotope, la provenance, le fabricant. C'est pourquoi seules les huiles essentielles chémotypées (présence des principaux composants vérifiée par chromatographie) sont recommandées pour l'aromathérapie. Les composants peuvent être très nombreux, entre 100 et 250 voire plus jusqu'à plus de 400, et souvent communs à plusieurs huiles essentielles (**Avenel-Audran, 2019**).

### **3. Effets biologiques des huiles essentielles**

Le pouvoir antiseptique s'exerce à l'encontre de bactéries pathogènes variées, y compris des souches habituellement antibio-résistantes dont elles altèrent les structures et la fonctionnalité membranaires. Certaines huiles essentielles sont également actives sur des champignons responsables de mycoses et sur des levures (*Candida*). Les doses actives sont en général faibles et celles qui sont déterminées par une expérimentation *in vitro* sont directement transposables pour une utilisation par voie externe ou, *a fortiori*, comme conservateur. Sarrrielle, cannelle, thym, girofle, lavande, eucalyptus sont au nombre des huiles essentielles les plus antiseptiques. Des composés comme le linalol, le citral, le géraniol, ou le thylol sont respectivement 5,5.2, 7.1, et 20 fois plus antiseptique que le phenol (**Bruneton, 2009**).

D'autres activité sont attribuées aux huiles essentielles telles que : anti-inflammatoires, anti-histaminiques, circulatoires, anti-hématomes, cicatrisantes, antalgiques, relaxantes, etc. (**Amand et Langlois, 2009**).

## Chapitre IV. STRESS OXYDANT

### 1. Définition d'un radical libre

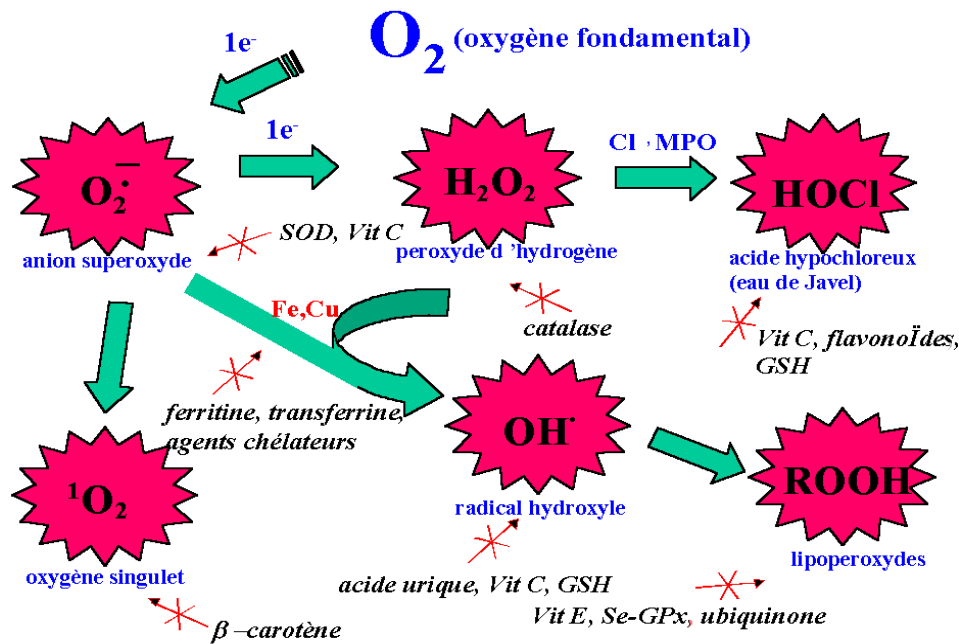
On entend par le terme de radicaux libres, tout atome, groupe d'atomes ou molécules qui possède(nt) sur son orbital externe un électron célibataire non apparié. Les radicaux libres sont des substances chimiques très instables, de durée de vie très courte ( $10^{-9}$  à  $10^{-6}$  s) et très réactives par rapport à leur électron célibataire qui va chercher à se réappairier. (**Garrel et Bigard, 2017**).

### 2. Principaux radicaux libres

Les dérivés réactifs de l'oxygène sont produits au cours de la réduction de l'oxygène moléculaire en eau. Le transfert d'un électron à l'oxygène engendre le radical superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), transformé sous l'action de la Superoxyde dismutase (SOD) en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Celui-ci n'est pas, chimiquement parlant, un radical libre oxygéné comme la plupart des autres espèces réactives de l'oxygène, mais, biologiquement, il se comporte comme tel. Par addition de nouveaux électrons,  $H_2O_2$  donne naissance au radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ).

Ce dernier, hautement réactif, peut s'attaquer à la plupart des macromolécules (glucides, protéines, acides nucléiques, lipides), désorganisant leur structure chimique et altérant leurs fonctions biologiques. D'autres réactions chimiques conduisent enfin à la formation d'acide hypochloreux et d'oxygène singulet sous l'action de la myéloperoxydase granulocytaire, ou encore à la formation de dérivés complexés à des catabolites du monoxyde d'azote, les peroxy-nitrites. Le monoxyde d'azote, quant à lui, est produit sous l'action de l'oxyde nitrique synthase (NOS), en particulier de sa forme inductible (iNOS) au cours des phénomènes inflammatoires aigus ou chroniques, à partir d'arginine, d'oxygène et de NADPH (**Reimund, 2002**).

Tous les radicaux d'oxygène ne sont pas extrêmement réactifs, car cette réactivité étant très variable selon la nature du radical. Ainsi parmi les radicaux formés chez les êtres vivants, l'anion radicalaire superoxyde comme le monoxyde d'azote ne sont pas très réactifs, mais constituent des précurseurs d'autres espèces plus réactives (**Favier, 2003**) (Figure 7).



**Figure 7.** Aperçu de différentes espèces oxygénées activées et des antioxydants régulateurs de leur production (Haleng *et al.*, 2007).

### 3. Rôles des radicaux libres

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui à part la phagocytose, ont été découvertes récemment. Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes (Favier, 2003), à la production énergétique, au règlement de la croissance des cellules et à la signalisation intracellulaire (Ardestani et Yazdanparast, 2007).

### 4. Définition et origine du stress oxydant

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui outrepassent leurs capacités anti-oxydantes (Favier, 2006).

Cette rupture d'équilibre, lourde de conséquence, peut avoir de multiples origines. L'organisme peut avoir à faire face à une production beaucoup trop forte pour être maîtrisée, qui sera observée dans les intoxications aux métaux lourds, les ischémies/reperfusions suivant des thromboses (**Favier, 2003**). Les radicaux libres sont produits pendant l'irradiation, par la lumière UV, par rayons X et par les rayons  $\gamma$ , sont des produits des réactions métal-catalysées; sont présent comme des polluants dans l'air (N, NO<sub>2</sub>); et sont produits par des neutrophiles et des macrophages pendant l'inflammation (**Valko et al., 2006**).

Ils sont produits, en majorité, au niveau des chaînes respiratoires mitochondriales des cellules des organismes aérobies. La quasi-totalité de l'oxygène moléculaire parvenant à l'intérieur de la mitochondrie est réduite au cours du transport des électrons dont le bilan énergétique permet la phosphorylation de l'ADP en ATP. L'oxygène moléculaire subit globalement une quadruple réduction et protonation, conduisant à la formation d'eau. Environ 98% de l'oxygène parcourt cette voie, du début à la fin, mais la fraction restante (2 à 5%) s'en échappe, et apparaît sous forme d'espèces chimiques réactives (**Tessier et Marconnet, 1995**).

Enfin, une alimentation pauvre en antioxydants contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant (**Pincemail, 2002**). Généralement, le stress oxydant sera la résultante de plusieurs de ces facteurs et se produira dans un tissu et un type cellulaire bien précis, objet de la défaillance et non pas dans tout l'organisme (**Favier, 2003**).

## 5. Conséquences du stress oxydant

Dans les systèmes vivants, la production des radicaux libres oxygénés se fait de manière continue. Toutes les molécules biologiques possédant des doubles liaisons sont particulièrement affectées par les radicaux libres, entraînant la très grande réactivité de ces espèces chimiques vis-à-vis des lipides, des protéines et de l'ADN. C'est pourquoi les effets des radicaux libres sont retrouvés dans tout l'organisme et dans des pathologies très variées. (**Goudable et Favier, 1997**).

L'attaque des radicaux libres au sein des doubles liaisons lipidiques membranaires, induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane, altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information.

La toxicité des espèces réactives de l'oxygène (ERO) s'exerce également sur les protéines. Les ERO sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, l'histidine, la cystéine et la méthionine. Les ERO sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques. L'ADN, qu'il

soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des ERO. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN, mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont pas réparées entraînent à long terme des altérations géniques (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**). Si la chimie de l'attaque radicalaire des polysaccharides a été beaucoup moins étudiée que celle des autres macromolécules, il n'en demeure pas moins que les ERO attaquent les mucopolysaccharides et notamment les protéoglycanes du cartilage.

Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogenèse, malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppression (**Favier, 2003**).

Les radicaux sont impliqués dans de nombreuses maladies et dans la plupart des processus cellulaires associés à une inflammation. Le cancer et l'athérosclérose font partie des nombreuses maladies associées aux radicaux libres parmi lesquelles on peut citer également l'hypertension artérielle, la maladie d'Alzheimer, la déficience immunitaire du sujet âgé, la cataracte, etc (**Tessier et Marconnet, 1995**).

## **6. Définition d'un antioxydant**

Les antioxydants sont des substances qui se présentent à faible concentration par rapport au substrat oxydable, sont capables de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat.

Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules hydro ou liposolubles. Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous les compartiments de l'organisme, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires. Indépendamment de leur localisation, les antioxydants peuvent schématiquement agir à deux niveaux : en prévenant la formation d'ERO (antioxydants primaires) ou en épurant les ERO (antioxydants secondaires) (**Fontaine, 2007**).

## 7. Principaux antioxydants

La production physiologique d'ERO, est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes (SOD, Catalase (CAT), Hème oxygénase, peroxyrédoxine, etc.), de molécules anti-oxydantes de petite taille (glutathion, acide urique, bilirubine, ubiquinone, etc.) et de protéines (transferrine, ferritine, etc.). Enfin, un système secondaire de défense composé de phospholipases, d'ADN endonucléases, de ligases et de macroxyprotéinases empêche l'accumulation dans la cellule de lipides, d'ADN et de protéines oxydés et participe à l'élimination de leurs fragments toxiques (**Pincemail, 2002**).

Toutes ces défenses peuvent être renforcées par des apports exogènes en antioxydants naturels tels que : la vitamine C (acide ascorbique), la vitamine E (tocophérol), la vitamine B3 (niacine), caroténoïdes, le sélénium, les flavonoïdes... etc, ou des antioxydants synthétiques tels que la N-acétylcystéine, les lazaroides, les analogues synthétiques des polyphénols alimentaires, etc.) (**Descamps et al., 2006**).

Les principaux systèmes de défense anti-oxydante se divisent en trois types : en ceux qui tendent à empêcher la formation des dérivés réactifs de l'oxygène (CAT et la glutathion peroxydase (GSH-Px)), en défenses destinées à éliminer les radicaux libres après leur formation (SOD, vitamine E, vitamine C, glutathion cellulaire, etc.) et enfin, en systèmes chargés de réparer les dégâts causés par les radicaux libres (les lipides et les protéines dénaturées sont éliminés tandis que les acides nucléiques oxydés sont réparés par des systèmes enzymatiques spécifiques) (**Reimund, 2003**).

## 8. Stress oxydatif et inflammation

Les espèces réactives d'oxygène sont responsables de la dénaturation et la dégradation de molécules biologiques et sont impliquées dans les lésions tissulaires observées au cours des processus inflammatoires. Elles sont produites au cours de divers processus biologiques par un grand nombre de cellules et en particulier par les cellules phagocytaires, les polynucléaires neutrophiles et les macrophages ; ces cellules jouent un rôle prépondérant dans les mécanismes inflammatoires, dans la mesure où ils sont la première ligne de défense contre les agents infectieux. Il en ressort donc que le stress oxydatif soit étroitement lié à l'inflammation. Le stress oxydatif peut être la cause de l'inflammation, si l'on considère que des situations indépendantes des médiateurs de l'inflammation, telles que des séquences d'ischémies/réperfusion, des traumatismes, des excès de température ou une irradiation, sont capables d'induire une libération d'espèces réactives d'oxygène indépendamment des

polynucléaires neutrophiles. Cependant, le stress oxydatif est le plus souvent la conséquence de l'inflammation, dans la mesure où des médiateurs de l'inflammation activent directement les polynucléaires neutrophiles et que ceux-ci, libérant des espèces réactives d'oxygène, conduisent à des lésions cellulaires en dégradant les molécules les constituant. Dans les deux cas, ces processus sont étroitement liés (**Pasquier, 1995**).

## **Chapitre V. INFLAMMATION, DOULEUR ET FIEVRE**

### **1. Inflammation**

#### **1.1. Définition de l'inflammation**

Aucune définition précise ne peut être trouvée dans la littérature médicale. La majorité des auteurs définissent la réaction inflammatoire, qui peut être locale ou générale, comme un phénomène de défense non spécifique répondant à une agression, et qui vise à maintenir l'intégrité du soi. Il convient, tout fois, de distinguer la réaction inflammatoire de la réponse immunitaire, bien qu'il y ait un lien étroit entre les deux, puisque la réaction inflammatoire est impliquée dans l'immunité naturelle et qu'elle favorise l'induction de réponse immune spécifique (**Blétry et al., 2006**).

Cliniquement, la réponse inflammatoire se traduit par des signes locaux spécifiques au niveau de la lésion initiale qui sont la douleur, la rougeur, la chaleur et l'œdème ou des signes généraux tels qu'un syndrome fébrile, l'anorexie, l'apathie ou des perturbations métaboliques (**Fablet et Madec, 2009**). La fonction première de la réponse inflammatoire c'est d'éliminer ou d'isoler l'agent agresseur du reste de l'organisme et de permettre la réparation des tissus. Cette réponse, dénommée inflammation aigue est un phénomène bénéfique pour l'organisme qui lui permet de retrouver son intégrité physiologique. L'aspect négatif de la réponse inflammatoire intervient quand cette dernière se pérennise et devient une inflammation chronique. Dans ce cas la réaction inflammatoire doit être contrôlée par les médicaments (**Weill et Batteux, 2003**).

#### **1.2. Etiologie de l'inflammation**

Toutes les causes d'agression cellulaire peuvent déclencher une réaction inflammatoire. Les agents le plus souvent rencontrés sont :

- L'hypoxie (par ischémie le plus souvent);
- Les agents physiques (par exemple, les traumatismes, les brulures, les radiations);
- Les agents chimiques (par exemple, les substances caustiques);
- Les agents microbiens (par les exotoxines les endotoxines des bactéries, l'effet cytopathogène des virus);
- Les réactions immunologiques (par exemple, les maladies auto-immunes).

La cause de l'inflammation est parfois inconnue (**Blétry et al., 2006**).

### **1.3. Types d'inflammations**

#### **1.3.1. Inflammation aiguë**

L'inflammation aiguë est d'une durée relativement courte, allant de quelques minutes à quelques jours, en fonction de l'étendue de la blessure. Les principales caractéristiques de l'inflammation aiguë sont l'exsudation des liquides et des protéines plasmatiques (œdème) et l'émigration des leucocytes (neutrophiles principalement). Le rôle majeur des neutrophiles dans l'inflammation aiguë est de phagocyter les micro-organismes et les corps étrangers. Les lésions tissulaires et la fibrose sont généralement légères et spontanément résolutive (Raghavendra *et al.*, 2015).

#### **1.3.2. Inflammation chronique**

Les signes de début sont identiques à ceux d'une inflammation aiguë, mais les destructions tissulaires sont plus graves et ont des conséquences fonctionnelles profondes. Au moins aussi fréquente que l'inflammation aiguë, cette inflammation chronique laisse des séquelles anatomiques et fonctionnelles. La définition du caractère chronique d'une inflammation n'est pas toujours aisée : le meilleur caractère de chronicité est une durée supérieure à six semaines (Weill et Batteux, 2003). L'inflammation chronique se manifeste histologiquement par la présence de lymphocytes et de macrophages, entraînant une fibrose et une nécrose des tissus. L'inflammation chronique persistante augmente le développement de maladies dégénératives telles que la polyarthrite rhumatoïde, l'athérosclérose, les maladies cardiaques, la maladie d'Alzheimer, l'asthme, trouble d'immunodéficience acquise (SIDA), cancer, sclérose en plaques, etc (Iwalewa *et al.*, 2007).

### **1.4. Aspect physiopathologique de la réaction inflammatoire**

La finalité d'un processus inflammatoire est triple : détruire l'agent agresseur, détruire les tissus lésés et réparer les dégâts. Sa mise en oeuvre est le fruit d'une intervention coordonnée de cellules effectrices (polynucléaires, macrophages, lymphocytes cytotoxiques) et de substances solubles, sécrétées par le système immunitaire, chargées de téléguider les cellules sur le site de l'agression (chimiokines), de les arrêter (molécules d'adhésion), de les activer (cytokines pro-inflammatoires : interleukine (IL1) IL6,TNF, etc.) ou de les inactiver (cytokines anti-inflammatoires : IL4, IL10, IL13, etc.) et de faire produire des anticorps par les lymphocytes B.

Mais pour que la réaction immunitaire soit pleinement efficace, l'inflammation est un préalable essentiel (fièvre, vasodilatation, afflux de cellules effectrices, etc), déclenchée par

l'IL1 et le TNF. Ce sont ces cytokines qui sont responsables des manifestations cliniques (fièvre, anorexie, myalgies, cachexie...), mais entraînent des réactions bénéfiques pour l'organisme : hyperleucocytose, hyperplaquettose, résistance à l'agression, réduction des molécules d'adhésion pour les phagocytes, destruction des tissus lésés, etc.

Ce sont elles aussi qui, avec l'IL6, induisent la synthèse hépatique des protéines de l'inflammation dotées d'effets anti-inflammatoires (protéine C réactive, protéine amyloïde sérique, facteurs du complément, etc.). La plasticité de la réaction inflammatoire dépend en outre des facultés des lymphocytes T et B à reconnaître l'antigène grâce à des structures de reconnaissance spécifiques en liaison avec le complexe majeur d'histocompatibilité (**Muster, 2005**).

## **1.5. Types des anti-inflammatoires**

### **1.5.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) constituaient un groupe hétérogène de substances qui permettaient de réduire ou de supprimer les conséquences de la réaction inflammatoire, sans préjuger de l'étiologie, ni du mécanisme de celle-ci. Ils agissent en inhibant plus ou moins sélectivement les iso-enzymes de la COX. Très largement utilisées en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques, antalgiques et pour certaines inhibitrices de l'agrégation plaquettaire, ces molécules sont malheureusement à l'origine d'effets indésirables graves qui dépendent, ou non, de leur mécanisme d'action (**Tréchet et Jouzeau, 2014**).

### **1.5.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens**

Les glucocorticoïdes sont largement utilisés pour supprimer l'inflammation dans les maladies inflammatoires chroniques telles que l'asthme, la polyarthrite rhumatoïde, les maladies inflammatoires de l'intestin et les maladies auto-immunes, qui sont toutes associées à une expression accrue des gènes inflammatoires (**Barnes, 1998**).

## 2. Douleur

### 2.1. Définition de la douleur

La douleur est définie par l'association internationale pour l'étude de la douleur (IASP, 1996) comme étant une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, associée à une lésion tissulaire réelle ou potentielle, ou décrite en ces termes (**Bouhassira et Calvino, 2009**).

Cette définition nécessite des explications supplémentaires car elle englobe certains concepts importants. La douleur est une expérience subjective, difficile à mesurer. Cela nécessite de la conscience. Décrire la douleur comme une expérience sépare la douleur de la nociception. La nociception est le processus neural impliquant la transduction et la transmission d'un stimulus nocif au cerveau via une voie douloureuse. La douleur résulte d'une interaction complexe entre les systèmes de signalisation, la modulation à partir des centres supérieurs et la perception unique de l'individu (**Steeds, 2016**).

### 2.2. Voies de la douleur

On peut schématiser la transmission d'un stimulus nociceptif de la périphérie au système nerveux central par l'activation successive de trois neurones :

- Le neurone nocicepteur transmet l'information du site de stimulation (peau, muscle, articulation) jusqu'à la moelle épinière.
- Le deuxième transfère cette information au thalamus par le tractus spinothalamique.
- Le dernier relais transmet l'information du thalamus au cortex somatosensoriel primaire (**Perruchoud et al., 2017**).

### 2.3. Classification et types de douleurs

Les douleurs sont généralement classées en quatre groupes :

- **Nociceptive**: douleur aigue transitoire résultant de lésions tissulaires et de l'activation des nocicepteurs (par exemple: fracture ou entorse).
- **Inflammatoire**: elle résulte d'une hypersensibilité secondaire à une lésion tissulaire ou à une inflammation. Elle peut être aigue ou chronique.
- **Neuropathique**: associée à une lésion ou une atteinte du système nerveux somatosensoriel.
- **Dysfonctionnelle**: douleur chronique dont l'origine n'est a priori ni une inflammation, ni une lésion nerveuse évidente (**Perruchoud et al., 2017**).

## 2.4. Médicaments antalgiques

L'organisation mondiale de la santé (OMS) répartit les antalgiques efficaces sur les douleurs nociceptives en trois niveaux :

- **Le niveau I** regroupe les antalgiques utilisés pour calmer les douleurs légères à modérées : essentiellement l'aspirine, le paracétamol et les antalgiques dérivés des anti-inflammatoires (**Queneau et Ostermann, 1998**). Se sont des médicaments d'action périphérique et/ou centrale (**Nègre et Beloeil, 2015**).
- **Le niveau II** comprend les morphines faibles, utilisés pour calmer les douleurs modérées à sévères et /ou celles qui ont résisté aux antalgiques de niveau I : codéine et dextropropoxyphène, deux molécules volontiers employées en association avec le paracétamol;
- **Le niveau III** réunit les morphiniques forts, utilisés pour calmer les douleurs intenses, aiguës et surtout chroniques, rebelles aux antalgiques de niveau II, liées au cancer, au sida, ainsi qu'à d'autres maladies très douloureuses (**Queneau et Ostermann, 1998**).

## 2.5. Sensibilisation centrale et périphérique

### 2.5.1. Sensibilisation périphérique

Dans la taxonomie de l'IASP, la sensibilisation périphérique correspond à une augmentation de la réactivité des neurones nociceptifs (nocicepteurs) et à une diminution de leur seuil d'excitabilité, en réponse à une stimulation dans leur champ récepteur. Cette augmentation de la réactivité résulte du phénomène de sensibilisation périphérique. Ce phénomène est dit périphérique car il consiste en une modification du comportement des neurones en périphérie, c'est-à-dire au niveau des tissus. Cette sensibilisation apparaît suite à une agression, ou certaines stimulations, et a pour finalité de protéger les tissus lésés et non lésés.

### 2.5.2. La sensibilisation centrale

Définition D'après l'IASP, la sensibilisation centrale correspond à une augmentation de la réponse des neurones du système nerveux central à des stimuli d'intensité normale ou sous liminaire. Cette définition indique que la transmission de l'information nociceptive est plus efficace suite à l'augmentation de l'excitabilité neuronale, au renforcement de l'efficacité de la transmission synaptique et à la levée d'inhibition au sein des circuits nerveux nociceptifs. La sensibilisation centrale apparaît à la suite de stimulations nociceptives particulièrement

intenses, répétées ou prolongées, en condition physiologique ou en situation pathologique lors d'une inflammation prolongée ou d'une lésion nerveuse (**Osinski *et al.*, 2017**).

### 3. Fièvre

#### 3.1. Définition de la fièvre

La fièvre survient souvent en réponse à une infection, une inflammation et à un traumatisme. La Commission de la physiologie thermique de l'Union Internationale des Sciences Physiologiques a défini en 2001 la fièvre en tant qu'état de température centrale élevée, qui est souvent, mais pas nécessairement, partie des réponses défensives d'organismes multicellulaires (hôte) à l'invasion des micro-organismes ou de matières inanimées reconnues comme pathogènes ou étrangères par l'hôte (**Ogoina, 2011**).

Elle reflète une élévation de la température du thermostat hypothalamique. Elle fait partie de mécanismes de défense plus complexes constituant la réaction inflammatoire aiguë. La fièvre est différente de l'hyperthermie qui, elle, correspond à une élévation de la température corporelle ne dépendant pas de la commande hypothalamique et reflétant une dysrégulation des mécanismes périphériques de perte et (ou) de production de chaleur (**Kaplanski et Marin, 2002**).

#### 3.2. Substances pyrogènes

La fièvre résulte de l'augmentation de la température du thermostat hypothalamique sous l'effet de substances sanguines dites pyrogènes. On distingue des pyrogènes exogènes et endogènes.

##### •Pyrogènes exogènes

Ce sont des substances qui ne proviennent pas de l'hôte, mais des microorganismes qui l'infectent. Le pyrogène exogène le plus étudié est le lipopolysaccharide (LPS) (ou endotoxine), produit par toutes les bactéries Gram négatives.

Les pyrogènes exogènes induisent un état fébrile chez l'hôte, soit directement (LPS), soit surtout en activant la production de pyrogènes endogènes par les cellules de l'hôte.

##### •Pyrogènes endogènes

Les leucocytes produisent des pyrogènes dits endogènes. Il s'agit en fait de protéines solubles appartenant toutes à la vaste famille des cytokines. Les plus importantes sont l'interleukine (IL)-1  $\alpha/\beta$ , et le TNF- $\alpha$ , mais aussi la lymphotoxine (LT  $\alpha$ ), les interférons, en particulier l'IFN  $\alpha$ , et l'IL-6 (**Kaplanski et Marin, 2002**).

### 3.3. Thermorégulation

Chez les individus en bonne santé, la température corporelle varie en fonction de plusieurs facteurs environnementaux et biologiques tels que l'heure de la journée, le site de mesure de la température, le niveau d'activité physique, l'âge, le sexe et la race, entre autres.

Selon des preuves récentes, la température centrale est régulée par diverses boucles thermoeffecteurs relativement indépendantes. Cependant, la région pré-optique de l'hypothalamus antérieur est toujours considérée comme le principal centre de thermorégulation du système nerveux central où les signaux de température générés de manière périphérique et centrale sont reçus et intégrés. La région pré-optique comprend des neurones thermosensibles, à savoir des neurones sensibles au chaud et au froid, qui sont activés ou inhibés en réponse aux changements de température.

Dans les environnements froids, la stimulation des neurones sensibles au froid conduit à l'activation des mécanismes de gain de chaleur et à la prévention des pertes de chaleur (vasoconstriction cutanée, piloérection, diminution de la transpiration, contraction musculaire accrue, thermogenèse non frissonnante, etc).

Dans les environnements chauds, la stimulation des neurones chauds entraîne l'activation des mécanismes de perte de chaleur et l'inhibition des mécanismes de gain de chaleur (transpiration, enlèvement de vêtements ou recherche d'environnements froids).

En fin de compte, la température corporelle est maintenue dans une limite régulée normale grâce à un équilibre délicat entre la perte de chaleur et le gain de chaleur (**Ogoina, 2011**).

La fièvre qui accompagne de nombreuses réactions inflammatoires peut s'expliquer par l'action directe sur les centres thermorégulateurs hypothalamiques de substances pyrogènes provenant de l'agent agresseur, par exemple le LPS des bactéries à Gram négatif. Plus souvent, ce sont des cytokines pyrogènes synthétisées dans le contexte de la réaction inflammatoire qui interviennent. Ces cytokines agissent sur certaines structures endothéliales de l'hypothalamus où elles déclenchent la sécrétion de prostaglandines (PGE<sub>2</sub>). A son tour, cette élévation de la PGE<sub>2</sub> élève le thermostat de l'hypothalamus et va agir sur les centres cérébraux qui contrôlent la thermorégulation (**Blétry et al., 2006**).

### 3.4. Médicaments antipyrétiques

Trois médicaments sont actuellement proposés comme antipyrétiques: l'aspirine, le paracétamol et l'ibuprofène

- **Aspirine:** L'acide acétyl salicylique ou aspirine est dérivé de l'acide salicylique. L'effet antipyrétique de l'aspirine est principalement lié au blocage de la synthèse de la prostaglandine PGE2 par l'inhibition de la cyclo-oxygénase.
- **Paracétamol:** Le paracétamol est très utilisé comme antipyrétique chez l'enfant. L'action du paracétamol se situe également au niveau des prostaglandines. Cependant, il n'a aucune activité anti-inflammatoire et ses deux seuls effets sont antipyrétiques et antalgiques. La toxicité du paracétamol est hépatique, un surdosage (100-150mg/kg/j) provoquant une nécrose hépatique.
- **Ibuprofène:** L'ibuprofène est un anti-inflammatoire non stéroïdien ; il a une activité antipyrétique et antalgique prouvée. Il a les effets des AINS (**Bégué et Astruc, 1999**).

# *Partie expérimentale*

*~~Partie expérimentale~~*

# Chapitre I

## *Matériel et méthodes*

## Chapitre I. Matériel et méthodes

### 1. Matériel

#### 1.1. Réactifs

Standards phénoliques, antioxydants synthétiques, réactif de Folin-Ciocalteu, Tween 40 (Monopalmitate de polyoxyéthylène sorbitane) et lambda carragénine ont été obtenus auprès de sigma (Allemagne). DPPH (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl), Acide linoléique et  $\beta$ -carotène ont été obtenus auprès de Fluka (France). Tous les solvants, les sels et les autres produits utilisés sont de grade analytique.

#### 1.2. Matériel biologique

##### 1.2.1. Matériel végétal

La partie aérienne de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides* constitue le matériel végétal de l'étude. La collecte de ces deux espèces a été effectuée à la fois à Thniet El Abed pour *J. thurifera* et Oued Taga pour *F. xanthoxyloides* situés tous les deux dans les Aurès.

L'identification botanique a été réalisée par le Professeur Oudjih (Institut des sciences agronomiques et vétérinaires, université Batna1). La partie récoltée a été séchée à l'ombre et à température ambiante puis conservée à l'abri de la lumière pour utilisation ultérieure.

##### 1.2.2. Animaux

Des rats de type Albino Wistar de l'un ou l'autre sexe pesant entre 150-250 g fournis par l'institut Pasteur d'Alger ont été utilisés pour l'évaluation de l'activité biologique *in vivo*.

Les animaux sont sains et les femelles ne sont pas gravides.

Les animaux ont été maintenus dans des conditions bien contrôlées (température de  $22\pm 2$  °C, humidité relative de 50% et un cycle photopériodique de 12 h / 12 h) et ont reçu de la nourriture standard et de l'eau ad libitum. Les animaux sont laissés 7 jours afin de s'adapter aux conditions de l'animalerie. La nourriture est retirée la veille de l'expérience tout en gardant un accès libre à l'eau.

Tout au long des expériences, les animaux ont été traités conformément aux lignes directrices éthiques de l'organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) suggérées pour le soin des animaux de laboratoire.

## 2. Méthodes

### 2.1. Analyse phyto-chimique

#### 2.1.1. Préparation des extraits

Le matériel végétal broyé a été soumis à une extraction par macération successive par 3 solvants organiques de polarité croissante selon le protocole cité par **Diallo et al., (2004)**.

Une quantité de 100 g de la poudre sèche est d'abord macérée dans 600 ml d'hexane. Après 24h d'agitation mécanique douce à température ambiante et à l'abri de la lumière, le mélange est filtré et concentré sous pression réduite au rotavapor. Le marc a été repris avec le dichlorométhane, puis avec le méthanol (conformément à la technique citée ci-dessus). La série d'extraction nous a permis d'obtenir trois extraits ; l'extrait hexanique (EHx), extrait dichlorométhanique (EDm) et l'extrait méthanolique (EMe) (Figure 8).

Les extraits obtenus ont été stockés à l'obscurité à 4 °C jusqu'à utilisation ultérieure.

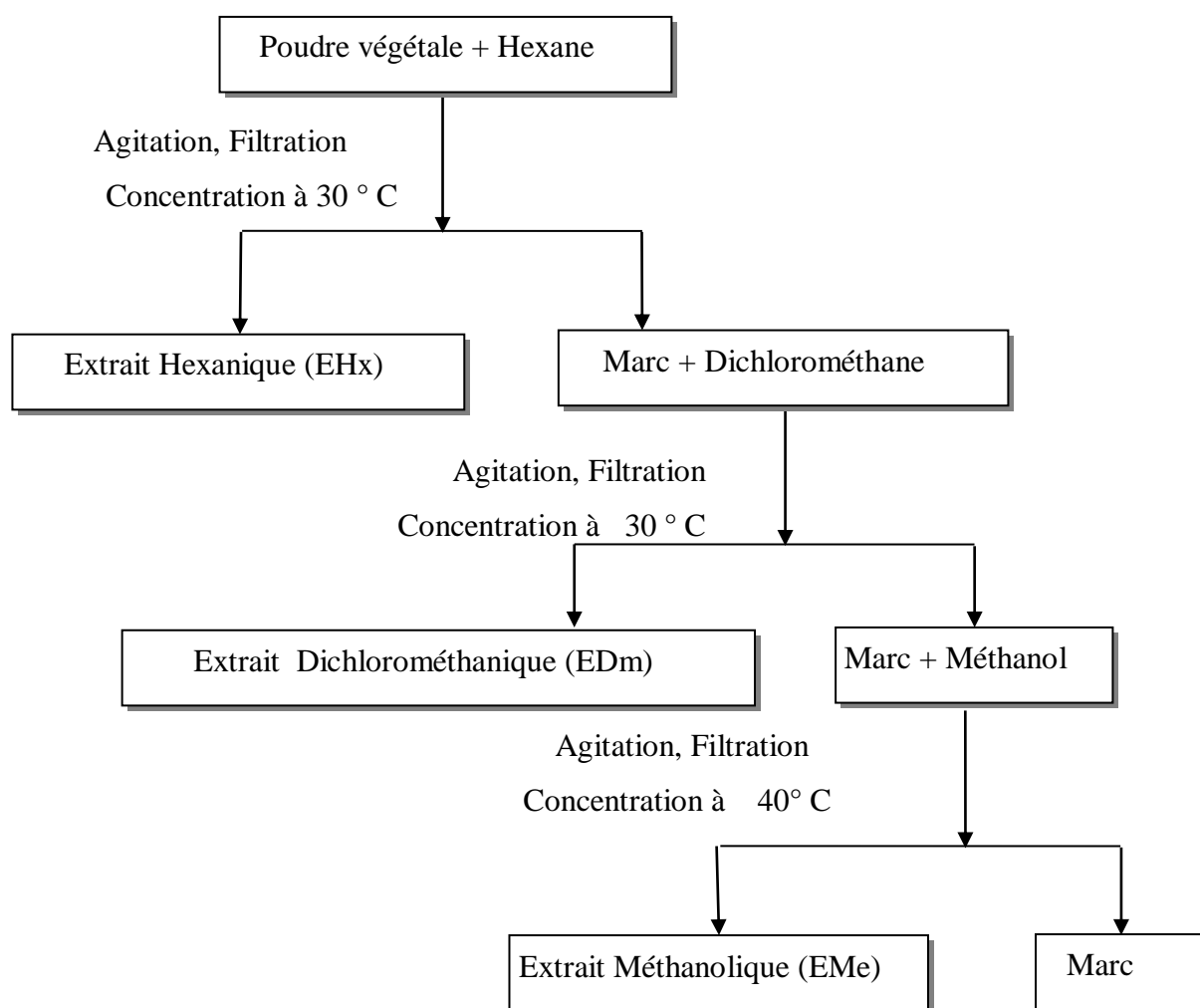
Le rendement de l'extraction est calculé selon la relation suivante :

Rendement (%) =  $(PE / PM) \times 100$  (**Falleh et al., 2008**).

Où :

PE: Poids de l'extrait sec après évaporation du solvant;

PM: Poids sec du matériel végétal.



**Figure 8.** Schéma d'extraction par macération successive  
(Diallo *et al.*, 2004).

### 2.1.2. Tests préliminaires

Les tests chimiques de caractérisation sont des tests simples, dont le but est la mise en évidence de certains métabolites secondaires contenus dans l'extrait des plantes. La révélation de ces composés chimiques est basée sur la formation de complexes insolubles en utilisant des réactions de précipitation ou sur la formation des complexes colorés en utilisant les réactions de changement de couleur (Amalich *et al.*, 2016).

#### •Flavonoïdes

La caractérisation des flavonoïdes a été réalisée en ajoutant quelques gouttes d'une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) diluée à l'extrait aqueux des deux plantes. L'apparition d'une couleur jaune intense qui va disparaître après l'ajout de quelques gouttes d'acide sulfurique( $H_2SO_4$ ) dilué indique la présence des flavonoïdes (**Alabri *et al.*, 2013**).

#### •Tanins

Après filtration de l'extrait aqueux obtenu par ébullition de 0,5 g du matériel végétal dans 20 ml d'eau distillée, quelques gouttes de chlorure ferrique ( $FeCl_3$  1%) ont été ajoutées. L'apparition d'une couleur bleue noirâtre ou brune verdâtre signifie la présence de tanins (**Chugh *et al.*, 2012**).

#### •Saponines

Un extrait aqueux a été obtenu par ébullition dans un bain-marie de 2 g de la poudre végétale dans 20 ml d'eau distillée. Après filtration, 5 ml d'eau distillée ont été rajoutés à 10 ml de cet extrait. La formation d'une mousse plus ou moins important après agitation vigoureuse indique la présence des saponines (**Chugh *et al.*, 2012**).

#### •Mucilages

Pour 1 g de poudre végétale, 100 ml d'eau distillée ont été ajoutés. Après ébullition et filtration, le volume de l'extrait obtenu a été ajusté jusqu'à 100 ml. L'apparition d'un précipité floconneux après l'ajout de 5 ml d'éthanol absolue à 1 ml du filtrat indique la présence des mucilages (**Daoudi *et al.*, 2016**).

#### 2.1.3. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par **Wong *et al.*, (2006)**. La méthode est simple, reproductible et utilisée dans de nombreuses études. Elle repose sur le transfert d'électrons des composés phénoliques vers le réactif de Folin-Ciocalteu dans un milieu alcalin (**Li *et al.*, 2013**).

Un volume de 200  $\mu$ l de chaque extrait (dissous dans le méthanol) ont été ajoutés à 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes.

Après l'incubation 800 µl d'une solution de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (75 g/l) ont été ajoutés. Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 2 heures dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée par un spectrophotomètre UV-Visible à 765 nm.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique à différentes concentrations et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EAG/mg}$ ).

#### 2.1.4. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) cité par **Djeridane *et al.*, (2006)** a été utilisée pour quantifier les flavonoïdes. Pour un millilitre de chaque extrait ou du standard (dissous dans le méthanol) un volume égal d'une solution d' $\text{AlCl}_3$  (2% dans le méthanol) a été ajouté. Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

La quantification des flavonoïdes a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée avec la quercétine à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EQ/mg}$ ).

#### 2.1.5. Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés est effectué selon la méthode de **Heimler et ses collaborateurs (2006)** avec modifications. Le test vanilline- HCl concentré est un test très reproductible et sensible pour l'estimation des flavanols, y compris les catéchines et les proanthocyanidines (**Taviano *et al.*, 2011**). Le principe de ce dosage est basé sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés et la formation de complexes colorés qui absorbent à 500 nm (**Schofield *et al.*, 2001**). La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère (**Ba *et al.*, 2010**).

Pour 400 µl de l'échantillon ou du standard, 3ml d'une solution de vanilline (4%) et 1,5 ml d'acide hydrochlorique concentré ont été ajoutés. L'absorbance des échantillons a été mesurée par un spectrophotomètre à 500 nm après incubation pendant 15 min.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions expérimentales en utilisant la catéchine afin de quantifier les tanins condensés dans les différents extraits.

### **I.2.1.6. Analyse chromatographique par HPLC**

Le besoin de savoir les profils et d'identifier les composés individuels dans les échantillons exige le remplacement des méthodes traditionnelles par des techniques séparatives. L'HPLC est sans doute la technique analytique la plus utile pour caractériser les composés polyphénoliques (**Gomez-Caravaca et al., 2006**).

Un volume de 20 µl de chaque extrait a été injecté sur une colonne de type phase inverse AgilentZorbax SB-C18 (150×4, 6 mm de dimensions, 5µm de porosité). Le débit d'injection a été maintenu à 0,5 ml/min. La phase mobile est constituée d'acétonitrile (Solvant A) et une solution d'acide sulfurique dans l'eau ultra-pure (0,2 %) (Solvant B). L'élution appliquée est de type gradient étalé sur 28 min. La détection a été effectuée par un détecteur UV-Vis à une longueur d'onde égale 254 nm. Les analyses ont été effectuées en triple à température de 35° C (**Falah et al., 2008**).

Le programme d'élution était comme suit:

0-12 min : 15% A / 85% B

12-14 min : 40% A / 60% B

14-18 min : 60% A / 40% B

18-20 min : 80% A / 20% B

20-24 min : 90% A / 10% B

24-28 min : 100% A

Les composés contenus dans chaque extrait analysé ont été identifiés par la comparaison des temps de rétention obtenus par ceux des témoins.

### **2.1.7. Extraction des huiles essentielles**

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par la technique d'hydrodistillation en utilisant un appareil de type clevenger.

Les échantillons des plantes séchées ont été soumis à une hydrodistillation pendant 5 heures. Après condensation, l'huile essentielle a été séparée par décantation et afin d'éliminer toute trace d'eau, l'huile essentielle a été séchée par le sulfate de magnésium (MgSO<sub>4</sub>) anhydre, porté à 100 C° pendant une heure. L'huile essentielle obtenue est stockée à 4 C° dans l'obscurité (**Ramdani et al., 2013**).

Le rendement en huile (%) basé sur le poids sec des échantillons a été calculé comme suit :

Rendement (%)=(le poids des huiles obtenu après séchage/poids de la matière sèche)\*100

### 2.1.8. Analyse chromatographique (GC / MS)

La chromatographie en phase gazeuse (CG) est une technique de séparation chromatographique basée sur la différence dans la répartition des constituants des échantillons entre deux phases. La phase mobile est un gaz vecteur qui passe à travers la phase stationnaire contenue dans une colonne. Elle est applicable aux substances ou à leurs dérivés qui seront volatiles aux températures utilisées (**European Pharmacopoeia, 2013**).

Les composés qui entre dans la composition des huiles essentielles extraites ont été identifiés à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse (GC) et la chromatographie en phase gazeuse - spectrométrie de masse (GC / MS) selon le protocole présenté par **Mansouri et al., (2010)**.

Les analyses chromatographiques ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse à régulation électronique de pression, équipé d'une colonne capillaire HP-5 (5 % phényl-méthyl-siloxane); (30 m × 0.25 mm, épaisseur du film : 0.25 µm) et un détecteur à ionisation de flamme alimenté par un mélange de gaz H<sub>2</sub>/Air. Le gaz vecteur utilisé est l'azote avec un débit de 1.7 ml/min. L'appareil est équipé aussi d'un injecteur PVT (température de vaporisation programmée) de type Split-splitless. Le mode d'injection est Split (fuite : 1/50, débit : 66 ml/min). Le volume injecté est de 1 µL. La température de la colonne est programmée à une vitesse de 4 ° C /min de 50 à 200 ° C pendant 5 min. L'appareil est piloté par un système informatique gérant le fonctionnement de l'appareil et permettant de suivre l'évolution des analyses chromatographiques.

L'identification des constituants a été réalisée en se basant sur la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). La fragmentation est effectuée par impact électronique sous un champ de 70 eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire type HP-5 SM (5 % phényl-méthyl-siloxane) ; (30 m × 0.25 mm, épaisseur du film : 0,25 µm). La température de la colonne est programmée de 50 à 200 °C à raison de 4 ° C/min. Le gaz vecteur est l'hélium dont le débit est fixé à 1.5 ml/min. Le mode d'injection est Split (rapport de fuite : 1/70, débit 112 ml/min). L'appareil est piloté par un système informatique gérant une bibliothèque de spectres de masse.

## 2.2. Activité biologique

### 2.2.1. Activité antioxydante

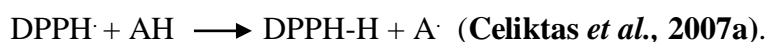
#### 2.2.1.1. Test au DPPH

##### • *In vitro*

L'activité du balayage des radicaux libres a été mesurée en employant le radical libre stable DPPH (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>). Cet essai est l'un des essais principaux employés pour explorer l'utilisation des extraits d'herbes comme antioxydants (**Markowicz Bastos et al., 2007**).

La réduction de ce radical s'accompagne par son passage de la couleur violette caractéristique de la solution de DPPH à la couleur jaune (**Bentabet et al., 2014**).

Ce radical est un oxydant qui peut être réduit par l'antioxydant (AH) selon la réaction suivante:



L'activité du balayage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par (**Lopes-Lutz et al., 2008**). Un volume de 25 µl de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations a été ajouté à 975 µl de la solution méthanolique de DPPH (2.4 mg/100 ml de méthanol). Parallèlement, un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 25 µl de méthanol avec 975 ml de la solution méthanolique de DPPH. Après agitation par un vortex, les tubes ont été placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture a été effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard la tert-butylhydroquinone (TBHQ).

En présence d'un antioxydant la force d'absorption est diminuée et la décoloration résultante est stœchiométrique en ce qui concerne le nombre d'électrons captés (**Markowicz Bastos et al., 2007**).

Les résultats peuvent être exprimés en tant que l'activité anti-radicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I%) en utilisant la formule suivante:

$$\% \text{ inhibition} = [(\text{Abs}_{\text{Contrôle négatif}} - \text{Abs}_{\text{Echantillon}})] / \text{Abs}_{\text{Contrôle négatif}} \times 100 \quad (\text{Lu et al., 2011}).$$

Où

% : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire;

Abs<sub>Echantillon</sub> : Absorbance de l'échantillon après 30 min;

Abs<sub>Contrôle négatif</sub> : Absorbance du contrôle négatif après 30 min.

Pour une meilleure expression des résultats de l'effet anti-radicalaire des différents extraits, trois paramètres ont été calculés (**Kroyer, 2004**).

### **La concentration inhibitrice à 50% (IC<sub>50</sub>)**

L'IC<sub>50</sub> est un paramètre largement appliqué pour évaluer l'activité antiradicalaire d'un échantillon. Il détermine la concentration efficace de l'extrait antioxydant nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% des molécules de DPPH en dissolution dans du méthanol.

### **La concentration effective à 50% (EC<sub>50</sub>)**

C'est un paramètre qui prend en considération la concentration de DPPH initialement utilisée dans le milieu réactionnel.

Concentration effective à 50%,  $CE_{50} = (IC_{50} / \text{mg de DPPH/ml})$ .

Plus les valeurs d'EC<sub>50</sub> sont basses, plus la capacité anti-radicalaire est importante.

### **Pouvoir anti-radicalaire (APR)**

Il est inversement proportionnel à l'EC<sub>50</sub>

Plus les valeurs d'APR sont importantes, plus l'antioxydant est efficace.

Pouvoir anti-radicalaire (APR) =  $(1 / CE_{50}) * 100$ .

### **•In vivo**

L'évaluation de l'effet des extraits méthanoliques des deux plantes sur la capacité antioxydante plasmatique vis-à-vis le radical DPPH été déterminée selon la méthode de **Hasani et ses collaborateurs (2007)**.

Un volume de 50 µL du plasma est additionné à 950 µL de la solution méthanolique de DPPH (2.4 mg/100ml). Après agitation et incubation pendant 30 min à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 517 nm.

Selon **Janaszewska et Bartosz, (2002)** une centrifugation est nécessaire avant la mesure de l'absorbance, afin d'éliminer les précipités qui ont été formé dans les mélanges réactionnels.

Le pouvoir antioxydant plasmatique est calculé conformément à la relation citée dans protocole du test de DPPH effectué *in vitro*.

Les plasmas utilisés dans ce test sont issus des rats. Ces derniers ont été répartis en trois lots. Chaque lot contient 5 animaux de poids homogène. Pendant 28 jours les rats ont été gavés quotidiennement par :

**Lot I (Témoin):** reçoit une solution d'eau physiologique à la dose de 10 ml / kg (p.c);

**Lot II (Traité):** reçoit l'EMeJT à la dose de 400 mg/kg (p.c);

**Lot III (Traité):** reçoit l'EMeFX à la dose de 400 mg/kg (p.c);

Après 28 jours, un prélèvement sanguin a été réalisé. Afin de récupérer les plasmas, une centrifugation du sang (3000 tpm) pendant 10 min a été effectuée. Les plasmas obtenus ont été aliquotés dans des eppendorfs et conservés à  $-20^{\circ}\text{C}$  pour une utilisation ultérieure.

### 2.2.1.2. Test de blanchiment du $\beta$ - Carotène

Dans cette analyse la capacité anti-oxydante est déterminée par la mesure de l'inhibition des composés organiques volatils et les hydroperoxydes conjugués diène résultant de l'oxydation de l'acide linoléique (Tepe *et al.*, 2006), qui attaquent (oxydent) simultanément le  $\beta$ - carotène et ayant comme résultat le blanchiment du  $\beta$ -carotène et la disparition de sa couleur jaune (Deba, 2008).

Premièrement 0.5 mg de  $\beta$  - carotène ont été dissous dans 1 ml de chloroforme. La solution du  $\beta$ -carotène-chloroforme a été introduite dans un ballon contenant 25  $\mu\text{l}$  d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Le chloroforme a été éliminé de cette mixture en utilisant un bain marie.

Par la suite 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène ont été ajoutées lentement avec agitation vigoureuse. 2.5 ml de cette nouvelle solution sont transférées dans des tubes contenant au préalable 350  $\mu\text{l}$  de chaque échantillon (2mg/ml dans le méthanol).

L'absorbance a été immédiatement mesurée seulement pour le butylhydroxytoluène (BHT) à 490 nm. Autres lectures sont mesurées à différents intervalles de temps (2 h, 4 h, 6 h, 12 h, et 48 h) (Tepe *et al.*, 2006; Kartal *et al.*, 2007).

L'activité anti-oxydante des extraits est comparée avec celles du témoin et du contrôle négatif. L'activité anti-oxydante relative après 48 heures est calculée selon la relation suivante :

$$\text{AAR} = (\text{Abs}_{\text{Echantillon}} / \text{Abs}_{\text{BHT}}) \times 100$$

Où :

AAR : Activité anti-oxydante relative;

Abs<sub>Echantillon</sub> : Absorbance de l'échantillon après 48 heures;

Abs<sub>BHT</sub> : Absorbance du BHT après 48 heures.

### 2.2.1.3. Ferric reducing antioxydant power (FRAP)

Le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des deux plantes a été déterminé selon la méthode d'Oyaizu (1986) cité par Yi *et al.*, (2008).

Dans des tubes contenant 1 ml des solutions des extraits à différentes concentrations sont ajoutés 2.5 ml d'une solution tampon phosphate 0.2 M (pH 6.6) et 2.5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1%. Les mélanges obtenus ont été incubé à 50 °C pendant 20 min. Ensuite, 2.5 ml d'acide trichloroacétique à 10% ont été ajoutés pour bloquer la réaction. Enfin 2.5 ml du mélange réactionnel ont été mélangés avec 2,5ml d'eau distillée et 0.5 ml d'une solution aqueuse de  $FeCl_3$  à 0.1% fraîchement préparée.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm. L'hydroxyanisol butylé (BHA) est utilisé comme contrôle positif.

### 2.2.2. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé standardisée par (NCCLS) cité par (Celiktas *et al.*, 2007b).

NCCLS: (National committee for clinical laboratory standards).

#### •Les souches testées

Les souches microbiennes suivantes ont été testées :

3 souches de références : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ont été utilisées pour tester l'effet des extraits de *F. xanthoxyloides*, l'huile essentielle et les extraits de *J. thurifera*

Les souches issues à partir des prélèvements des malades :

*Proteus mirabilis* BLSE, *Klebsiella pneumoniae* BLSE, et *Acinetobacter baumannii* ont été utilisées pour tester l'effet des extraits de *F. xanthoxyloides*:

*Klebsiella pneumoniae* BLSE et *Enterobacter sp* (BLSE) ont été utilisées pour tester l'effet des extraits de *J. thurifera*.

*Klebsiella pneumoniae* BLSE, *Enterococcus faecalis* et *Candida albicans* 2 ont été utilisées pour tester l'effet de l'huile essentielle de *J. thurifera*:

ATCC: American type culture collection;

BLSE: Béta lactamases à spectre élargi.

### •Préparation des solutions

Les extraits ont été repris avec le Dimethyl sulfoxyde (DMSO). Des dilutions en série de 1/2 à 1/16 ont été ensuite préparées pour obtenir des concentrations de 62.5 à 500 mg/ml.

### •Préparation de l'inoculum bactérien

Chaque souche a été ensemencée en stries sur une gélose non inhibitrice (gélose nutritive) pour obtenir des colonies isolées. Après incubation de 24 heures à 37 °C, 4 à 5 colonies bien isolées ont été choisies avec une anse de platine et transférées dans un tube de solution d'eau distillée stérile afin d'avoir une densité cellulaire initiale ou une turbidité voisine à celle de McFarland 0.5 ( $10^6$  UFC/ml).

### •Ensemencement

Dans les 15 minutes suivant l'ajustement de la turbidité de la suspension, un écouvillon a été trempé dans la suspension pour étaler l'inoculum sur la surface et la périphérie de la gélose (Mueller Hinton), afin d'avoir une distribution uniforme de l'inoculum. L'ensemencement a été effectué trois fois tout en tournant la boîte environ 60° après chaque application.

### •Incubation

Les disques stériles imprégnés par des concentrations croissantes d'extraits à raison de 10 µl par disque (Ngameni *et al.*, 2009), ont été déposés stérilement à l'aide d'une pince sur la surface de la gélose. Des témoins imbibés par le DMSO ont été préparés pour utilisation comme témoins négatifs. Pour le développement du germe en question les boîtes ont été incubées 24 h à 37 °C en atmosphère normale.

L'activité antifongique des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé citée par Sacchetti *et al.*, (2005) et Rasooli *et al.*, (2008).

Les cultures-mère ont été développées sur une gélose appropriée (Sabouraud avec chloramphénicol et l'actidione), afin d'inhiber la croissance des éléments de la flore bactérienne contaminante et d'atteindre la phase stationnaire de la croissance.

Les disques stériles imprégnés de différentes concentrations d'extraits à raison de 10 µl par disque, ont été déposés stérilement sur la gélose Sabouraud, ensemencé au préalable par la suspension microbienne ( $10^6$  spores/ml). Les levures ont été incubées 48 h à 37 °C en atmosphère normale.

L'activité antifongique a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition, déterminé par les différentes concentrations des différents extraits.

### 2.2.3. Test de la toxicité

#### 2.2.3.1. Test de toxicité aiguë

La toxicité aiguë par voie orale a été réalisée selon les directives de l'Organisation de Coopération et de Développement Economique (**OCDE-423, 2001**). Les rats des lots traités ont reçu des concentrations données de l'EMe des deux plantes dont la concentration maximale est de 2000 mg/Kg.

Les rats ont été mis à jeûn pendant une nuit avec un accès libre à l'eau. Les rats (femelles) utilisées ont été réparties en trois lots. Chaque lot contient cinq rats de poids homogène.

Les extraits ont été dissous dans l'eau physiologique et administrés via gavage 10 ml/kg (p.c) à une dose unique (la dose initiale choisie était de 500 mg/kg).

Les rats des différents groupes ont été traités comme suit:

**Lot I (Témoin):** reçoit une solution d'NaCl 0.9% à la dose de 10 ml/kg (p.c);

**Lot II (Traité):** reçoit l'EMeJT dont la dose maximale égale à 2000 mg/kg (p.c);

**Lot III (Traité):** reçoit l'EMeFX dont la dose maximale égale à 2000 mg/kg, (p.c).

Les rats ont été maintenus sous observation pendant 48 jours après l'administration des extraits. Ces observations concernaient les changements du comportement général, des signes de toxicité et du taux de mortalité (**Akkol et al., 2009; Amezouar et al., 2013**).

Une attention particulière est imposée pendant les premières 4 heures après l'administration des extraits.

#### 2.2.3.1. Test de toxicité subaiguë

Le test de toxicité subaiguë a été effectué en suivant les recommandations de l'organisation mondiale de la santé et à la ligne directrice de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (407) pour l'examen des produits chimiques décrites par **Das et ses collaborateurs (2015)**.

Les rats des différents groupes ont reçu par voie orale toutes les 24 h les traitements cités ci-dessous pendant 28 jours:

**Lot I (Témoin):** reçoit une solution d'NaCl 0.9% à la dose de 10 ml /kg (p.c);

**Lot II (Traité):** reçoit l'EMeJT à la dose 400 mg/kg (p.c);

**Lot III (Traité):** reçoit l'EMeFX à la dose 400 mg/kg (p.c).

Les rats ont été pondérés quotidiennement et des observations ont été faites deux fois par jour (avant et après administration des extraits) pour noter les taux de mortalité et les changements de comportement général et toute altération possible de la coloration des selles et des urines.

A la fin de l'expérience (28 jours), les rats ont été anesthésiés, sacrifiés et des échantillons de sang ont été prélevés pour le dosage des paramètres hématologiques et biochimiques.

L'effet des extraits sur les poids corporels, poids relatifs des organes et quelques paramètres biochimiques, hématologiques et histologiques ont été évalués.

#### •Le poids corporel

Le poids corporel de chaque rat a été pris pendant la période d'acclimatation, avant le traitement, une fois par semaine pendant la période du traitement et finalement le jour du sacrifice (**Das et al., 2015**).

#### •Les poids relatifs des organes prélevés

Les organes (foie, cœur et les reins) ont été soigneusement prélevés et pesés.

Les poids relatifs des organes de chaque rat a été calculé selon la formule cité par **Das et al., (2015)**.

$$\text{Poids relatif des organes} = (\text{PAO} \times 100) / \text{PCS}$$

Où :

PAO: Poids absolu de l'organe (g);

PCS: Poids corporel du rat au jour du sacrifice (g).

#### •Prélèvement sanguin

A la fin de la durée du traitement, tous les animaux survivants ont été mis à jeun pendant une nuit et anesthésiés avec de l'éther diéthylique. Le prélèvement du sang a été réalisé à travers les sinus rétro-orbital au niveau de la veine orbitale des animaux. Les échantillons du sang ont été recueillis dans deux types de tubes. Les tubes EDTA ont été utilisés pour les analyses hématologiques, tandis que les tubes héparines pour les analyses biochimiques (**Das et al., 2015**).

### •Les paramètres biochimiques

Les tubes EDTA ont été préalablement centrifugés à 3000 tours/min pendant 10 min afin de récupérer le plasma et le conserver pour son utilisation ultérieure pour les analyses biochimiques.

Les paramètres (l'aspartate transaminase (AST), l'alanine transaminase (ALT), la phosphatase alcaline, le cholestérol, la glycémie, les triglycérides, l'urée et la créatinine) ont été dosés en utilisant un automate (KENZA Biochimis Try cod.RM 2030-18, kits commerciaux Spinreact, Espagne).

### •Les paramètres hématologiques

L'analyse hématologique (les globules rouges (GR), les globules blancs (GB), les plaquettes (PLT), l'hémoglobine (HGB), Hématocrite (HCT), volume globulaire moyen (MCV), teneur corpusculaire en hémoglobine (MCH), concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (MCHC), les neutrophiles, les basophiles, les lymphocytes, les éosinophiles et les monocytes) est effectuée immédiatement en utilisant un automate type Genius KT-6400.

### •Examen histologique

Les organes internes des animaux (reins et foie) ont été délicatement prélevés, lavés avec de l'eau physiologique et conservés dans une solution de formaldéhyde à 10%.

Après préparation des blocs d'organes, des coupes très fines ont été réalisées et placées sur des lames pour coloration. Les lames ainsi colorées sont couvertes de lamelles et prêtes à l'observation microscopique (Optica Microscopes Italy DM-25). Des images numériques ont été réalisées par une caméra associée au microscope (Cam Optica 4083. B5).

#### 2.2.4. Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire de l'EMe de *J. thurifera* et l'EMe de *F. xanthoxyloides* administré par voie orale a été évaluée par deux tests d'inflammation aiguë.

##### 2.2.4.1. La pleurésie induite par la carragénine chez les rats

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par le test de la pleurésie induite chez des rats par l'injection intra-pleural de  $\lambda$  carragénine (1%) selon le protocole décrit par **Moore, (2003), Nardi et al., (2007), Batista et al., (2014)**.

Les rats ont été répartis en 7 lots, chaque lot contient 5 rats poids homogène.

Le diclofenac est l'anti-inflammatoire non stéroïdien qui a été utilisé comme référence à une dose égale à 10mg/kg (**Batista et al., 2014**).

Les traitements des différents lots ont été comme suit :

**Lot I et II (Contrôle négatif et positif):** reçoit une solution d'NaCl 0.9% à la dose de 10 ml/kg (p.c);

**Lot III (Référence):** reçoit une solution de diclofénac à la dose de 10 mg/kg (p.c);

**Lot IV et V(Traité):** reçoit l'EMeJT aux doses 200 et 400 mg/kg (p.c) respectivement;

**Lot VI et VII (Traité):** reçoit l'EMeFX aux doses 200 et 400 mg/kg (p.c) respectivement.

Une heure après le gavage, 0.2ml (**Nardi et al., 2007**) d'une solution saline de la carragénine type lambda (1%) ont été injecté dans la cavité pleurale au niveau du cinquième-sixième espace intercostal pour tous les rats sauf ceux du lot contrôle négatif qui ont été injectés par de l'eau physiologique stérile au lieu de la carragénine.

Après quatre heures d'injection de la carragénine les rats ont été euthanasiés. La cage thoracique a été ouverte avec prudence et la cavité pleurale a été rincée avec 1ml d'une solution saline tamponnée au phosphate hepariné (PBS).

Les exsudats qui se sont formés ont été récupéré par aspiration. Tous les exsudats contaminés par le sang ont été rejetés. Le volume total du liquide a été mesuré en soustrayant le volume injecté du volume récupéré.

La solution Türck a été utilisée pour diluer les exsudats afin de calculer le nombre des polymorphonucléaires neutrophiles (PMNs). Après la mise en place des exsudats dilués dans des cellules de malassez, le comptage a été réalisé à l'aide d'un microscope optique (Optica Microscopes Italy DM-25). Les résultats ont été exprimés en tant que nombre de neutrophiles par ml d'exsudat pleural.

#### **2.2.4.2. Œdème de l'oreille induit par le xylène**

L'effet anti-oedémateux des deux extraits a été évalué selon le protocole décrit par **Adeyemi et ses collaborateurs (2008)**.

Le principe de ce test c'est l'induction d'un œdème par une application locale du xylène sur l'oreille du rat et le calcul du diamètre de la zone œdémateuse.

Les rats ont été répartis en 6 lots qui ont été traités comme suit:

**Lot I (Témoin):** reçoit une solution d'NaCl 0.9% à la dose de 10 ml/kg (p.c);

**Lot II (Référence):** reçoit une solution de diclofénac à la dose 10 mg/kg (p.c);

**Lot III et IV (Traité):** reçoit l'EMeJT aux doses 200 et 400 mg/kg (p.c) respectivement;

**Lot V et VI (Traité):** reçoit l'EMeFX aux doses 200 et 400 mg/kg (p.c) respectivement.

Une demi-heure après l'administration des différents traitements, l'œdème a été induit par application locale de 0.03 ml de xylène sur la face interne et externe de l'oreille droite de chaque rat. Le pied à coulisse digital a été utilisé pour mesurer l'épaisseur de l'oreille avant et deux heures après l'induction de l'œdème (**Delaporte et al., 2004**).

Le pourcentage d'inhibition de l'inflammation a été calculé selon la formule suivante:

$$\text{Inhibition (\%)} = (E_{p_{\text{Témoin}}} - E_{p_{\text{Traité}}} / E_{p_{\text{Témoin}}}) \times 100$$

Où :

$E_{p_{\text{Témoin}}}$  : Différence de l'épaisseur de l'oreille des rats du groupe témoin avant et après l'application du xylène.

$E_{p_{\text{Traité}}}$  : Différence de l'épaisseur de l'oreille des rats des groupes traités (médicament et extraits) avant et après l'application du xylène.

## 2.2.5. Activité antalgique

### 2.2.5.1. Test du writhing

L'effet antalgique a été évalué selon le protocole de **Koster et al., (1959)** cité par **Carino-Cortes et al., (2010)**. Le principe de ce test c'est de provoquer chez les rats un syndrome douloureux par l'injection de l'acide acétique qui se traduit par des contorsions et des mouvements d'étirement.

Les traitements des rats qui constituent les 6 lots a été comme suit :

**Lot I (Témoin):** reçoit une solution d'NaCl 0.9% à la dose de 10 ml/kg (p.c);

**Lot II (Référence):** reçoit une solution d'acide acétyl salicylique (Aspirine) 200 mg/kg (p.c);

**Lot III et IV (Traité):** reçoit l'EMeJT aux doses de 200 et 400 mg/kg (p.c) respectivement;

**Lot V et VI (Traité):** reçoit l'EMeFX aux doses 200 et 400 mg/kg (p.c) respectivement.

Une demi-heure après ces différents traitements, les rats ont reçu une injection intrapéritonéale d'une solution d'acide acétique (0.6%) à raison de 10 ml/kg. Juste après l'injection de l'acide acétique, chaque rat a été placé dans une cage d'observation et le nombre de contorsions a été compté pendant une période de 15 minutes.

Le pourcentage d'inhibition des contorsions induite par l'injection de l'acide acétique pour chaque groupe traité a été calculé selon la formule suivante:

$$\% \text{ inhibition} = [(\text{Témoin} - \text{Traité}) / \text{Témoin}] \times 100.$$

Témoin: Moyenne du nombre des contorsions du rat témoin;

Traité : Moyenne du nombre des contorsions du rat test (extrait ou référence).

Une réduction significative du nombre des contorsions du lot test par rapport au témoin est considérée comme une réponse antalgique positive.

### 2.2.5.2. Test au formaldéhyde

Le test est réalisé selon la méthode décrite par **Adebiyi et ses collaborateurs (2006)**.

Les rats ont été répartis en 6 lots et ont subi les traitements suivants:

**Lot I (Témoin):** reçoit une solution d'NaCl 0.9% à la dose de 10 ml/kg (p.c).

**Lot II (Référence):** reçoit une solution de diclofenac 5 mg/kg (p.c);

**Lot III et IV (Traité):** reçoit l'EMeJT aux doses de 200 et 400 mg/kg (p.c) respectivement;

**Lot V et VI (Traité):** reçoit l'EMeFX aux doses 200 et 400 mg/kg (p.c) respectivement

Une heure après les différents traitements, tous les rats ont été injectés dans les surfaces dorsales de leurs pattes postérieures gauches par 20 µl d'une solution aqueuse de formaldéhyde (1%).

Le temps passé à lécher ou à mordre la patte traitée a été compté immédiatement après l'injection de la solution du formaldéhyde. Le temps de léchage a été compté pendant les cinq premières minutes (phase précoce). Vingt minutes après le début de l'expérience, le temps de léchage a été également compté pendant 5 autres minutes (phase tardive).

### 2.2.6. Activité antipyrétique

La pyrexie a été induite par la levure de bière chez les rats selon la méthode d'écrite par **Ashok Kumar et al., (2011)**. Après la prise de la température rectale (Tv), les rats des 6 lots ont reçu par voie sous-cutanée dans la région dorso-latérale une suspension aqueuse de levure de bière (*Saccharomyces cerevisiae*) (20%) à raison de 20 ml/kg. Dix-neuf heures après, la température rectale (T0) a été prélevée de nouveau chez chaque rat et par la suite les rats des 6 lots ont été traité comme suit :

**Lot I (Témoin):** reçoit une solution d'NaCl 0.9% à la dose de 10 ml/kg (p.c);

**Lot II (référence):** reçoit une solution de paracétamol à la dose 150 mg/kg (p.c);

**Lot III et IV(Traité):** reçoit l'EMeJT aux doses 200 et 400 mg/kg (p.c) respectivement;

**Lot V et VI (Traité):** reçoit l'EMeFX aux doses 200 et 400 mg/kg (p.c) respectivement.

Une heure après les différents traitements, la prise de la température a été réalisée toutes les heures pendant cinq heures (jusqu'à 24 h après les traitements) qui correspond à T1, T2, T3, T4 et T5.

Le pourcentage de réduction de la pyrexie a été calculé selon la formule suivante :

Inhibition (%) =  $(T_0 - T_n) / (T_0 - T_v) \times 100$  ( **Muhammad et al., 2012**)

Où

T0 : Température moyenne après l'induction de la pyrexie;

Tn : Température moyenne aux temps T1, T2, T3, T4 et T5 h après traitement;

Tv : Température rectale moyenne la veille de l'expérience.

### **I.3. Etude statistique**

L'étude statistique a été réalisée par le logiciel GraphPad Prism. Les résultats obtenus à partir des expériences réalisées *in vitro* ont été exprimés en moyenne  $\pm$  SD tandis que celles réalisées *in vivo* ont été exprimés en moyenne  $\pm$  SEM. Les différences statistiques entre les groupes traités et les témoins ont été évalués par le test Anova univariée suivi par le test Dunnet /Tukey. P <0,05 a été considéré significatif (\* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001).

# **Chapitre II**

## ***Résultats et discussion***

## Chapitre II. RESULTATS ET DISCUSSION

### 1. Analyse phyto-chimique

#### 1.1. Rendement d'extraction

L'extraction est la première étape essentielle pour la récupération et la purification de nombreux composants bioactifs tels que les composés phénoliques à partir de matières végétales.

La méthode choisie est l'une des méthodes d'extraction classiques utilisées depuis de nombreuses décennies, nécessitant beaucoup de temps et de quantités relativement importantes de solvants. Elle repose principalement sur le choix des solvants, la chaleur et l'agitation pour augmenter la solubilité (Monfared *et al.*, 2013).

Trois solvants de polarité différente à savoir l'hexane, le dichlorométhane et le méthanol ont été utilisés pour extraire les différents métabolites secondaires de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides*.

Le rendement exprimé en pourcentage, la couleur et l'aspect des extraits organiques (EHx, EDm et EMe) sont représentés dans le tableau 1.

**Tableau 1.** Rendement, aspect et couleur des extraits obtenus.

	Extraits	Rendement %	Aspect et couleur
<i>J. thurifera</i>	Hexanique (EHxJT)	3.1	Pâteux, noir verdâtre
	Dichlorométhanique (EDmJT)	4.9	Pâteux, vert foncé
	Méthanolique (EMeJT)	8.5	Pâteux, vert
<i>F. xanthoxyloides</i>	Hexanique (EHxFX)	0.68	Huileux, vert foncé
	Dichlorométhanique (EDmFX)	1.26	Poudre, vert clair
	Méthanolique (EMeFX)	6.64	Pâteux, vert foncé

Les rendements des extraits méthanoliques de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides* ont atteint respectivement 8.5% et 6.64%, suivis de ceux des extraits dichlorométhaniques (4.9%, 1.26%), tandis que les extraits hexaniques ont présentés les rendements les plus faibles (3.1%, 0.68%). La variation des rendements est attribuée aux polarités des différents composés qui entrent dans la composition de chaque extrait (Ennajjar *et al.*, 2009).

Les différents rendements illustrés dans le tableau .1. viennent confirmer les résultats de Mahajan *et al.*, (2012). Cette équipe de recherche a trouvé que les valeurs des rendements des extraits de *J. indica* (Ether de pétrole 3.08%, acétate d'éthyle 6.62% et méthanolique

14,59%) indiquent la présence des quantités importantes de composés polaires que les composés non polaires.

Les valeurs de rendement des EMe de : l'écorce de *F. ornus* (Kostova *et al.*, 1993), des feuilles de *F. floribunda* (Lingadurai *et al.*, 2007), des branches de *J. communis* .var. *communis*, *J. communis*. var. *saxatilis*, *J. drupacea*, *J. oxycedrus*. subsp. *oxycedrus*, *J. oxycedrus*. subsp. *macrocarpa*. (Taviano *et al.*, 2011), des baies de *J. oxycedrus*. ssp. *oxycedrus*, *J. oxycedrus*. subsp. *macrocarpa* (Taviano *et al.*, 2013), des feuilles et des fruits de *J. phoenicea* (Amalich *et al.*, 2016), des tiges et des feuilles de *J. phoenicea* (Dane *et al.*, 2016) diffèrent nettement de nos résultats.

Une différence a été également constatée avec les rendements des extraits : EDM et EMe de *J. oxycedrus* (Moreno *et al.*, 1997), l'extrait d'éther de pétrole et l'extrait éthanolique de *J. communis* (Manvi et Garg, 2010).

Les rendements des EHx, EDM et EMe de *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* ont été respectivement 3.5%, 1.4% et 12.1% (Chaouche *et al.*, 2015). Seule la valeur de l'EHx qui est assez proche à celle de l'EHxJT.

L'EMe de *J. communis*. var. *communis* et *J. drupacea* ont présenté des pourcentages (6.40%, 6.65% respectivement) très proches à celui de l'EMeJT (Marino *et al.*, 2010).

La valeur du rendement de l'EMe de *J. foetidissima* (2.8%) est très faible par rapport à celle de l'EMeJT, tandis que celle de l'EHx de *J. communis* subsp. *nana* (2.96%) est assez proche de celle de l'EHxJT (Ozturk *et al.*, 2011).

Les valeurs extractives de: l'EMe de *J. communis* (11%) (Pramanik *et al.*, 2007), l'extrait d'éther de pétrole (4.67%) et éthanolique de *J. drupacea* (10.69 %) (Elghorab *et al.*, 2008), l'EMe de *J. oxycedrus*. subsp. *macrocarpa* (9.69 %) (Taviano *et al.*, 2011) ont présenté une certaine similitude avec nos résultats.

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 l'EMeJT a révélé une différence qui résulte probablement dans la polarité des deux solvants. Le rendement de l'EHx de *J. thurifera* var. *africana* égale à 8.1% (Barrero *et al.*, 2004). L'utilisation d'un appareil soxhlet pour l'extraction a fait en sorte qu'il ya une différence entre les résultats obtenus par Barrero et ses collaborateurs (2004) et nos résultats.

Le rendement de l'extrait hydro-éthanolique de *F. ornus* L. est 5% (Abouid *et al.*, 2013). Ce résultat a rapproché de celui de l'EMeFX.

Bien que l'extraction est la première étape vers l'expérimentation des activités biologiques des plantes, elle doit permettre l'extraction complète des composés d'intérêt et éviter toute modification chimique possible (**Hayouni et al., 2007**).

Nos résultats ont révélé une différence entre les rendements d'extraction de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides* et ceux rapportés par certains chercheurs. Il est relativement difficile de se comparer avec les données de la littérature car ces écarts dépendent principalement des procédures d'extraction, du nombre d'extractions répétées, de la température utilisée pour l'extraction, de la polarité des composés extraits, du rapport du solvant d'extraction et de l'échantillon, de la durée d'extraction, du choix des solvants utilisés, de la méthode de séchage et du site de la récolte (**Hayouni et al., 2007; Ennajjar et al., 2009; Atmani et al., 2009; Medini et al., 2013; Arunika et al., 2015; Dane et al., 2016; Ayouni et al., 2016**).

Le rendement de certaines espèces appartenant au genre *Juniperus* (**Balaban et al., 2003; Kozan et al., 2006; Akkol et al., 2009; Ennajjar et al., 2009; Khan et al., 2012; Orhan et al., 2017; Sahin Yaglioglu et Eser, 2017**) et au genre *Fraxinus* (**Berboucha et al., 2010; Ayouni et al., 2016**) différent selon la partie végétale soumise à l'extraction.

Dans de nombreuses études, plusieurs extractions intermédiaires sont effectuées afin d'assurer une extraction maximale des composés phytochimiques ciblés (**Djeridane et al., 2006; Hayouni et al., 2007**). Selon **Dane et al., (2016)** la différence entre les rendements d'extraction peut être attribuée à la biodisponibilité des composés extractibles qui résulte elle-même de la variation de la composition chimique des plantes. Par conséquent, il n'y a pas de procédure d'extraction standard. Les méthodes sélectionnées dans les recherches scientifiques dépendent de l'objectif d'étude et d'extraction (**Ayouni et al., 2016**).

## 1.2. Criblage phytochimique

La révélation de certains métabolites secondaires a été réalisée en utilisant les tests simples du screening chimique. Ces tests sont basés sur des réactions de colorations et de précipitations différentielles des principaux groupes de composés chimiques contenus dans les plantes par des réactifs spécifiques (**Bentabet et al., 2014**).

Les résultats de la composition phytochimique préliminaire de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides* sont rapportés dans le tableau 2. Ces tests ont révélé que les deux plantes contiennent aussi bien des tanins, des flavonoïdes, des saponines et des mucilages.

**Tableau 2.** Résultats du criblage phytochimique.

Groupes chimiques recherchés	Identification	
	<i>J. thurifera</i>	<i>F. xanthoxyloides</i>
Tanins	+	+
Flavonoïdes	+	+
Saponines	+	+
Mucilages	+	+

(+): Réaction positive; (-): Réaction négative.

Les flavonoïdes ont été mis en évidence dans: les tiges de *J. communis* (Manvi et Garg, 2010), les tiges et les feuilles de *J. excelsa* (Khan et al., 2012), les baies de *J. excelsa* (Nabi et al., 2012), les branches et brandilles de *J. indica* (Mahajan et al., 2012), les fruits de *J. communis* (Meena et al., 2012), les feuilles de *J. phoenicea* (Medini et al., 2013), la partie aérienne de *J. phoenicea* (El-Sawi et al., 2014; Aljaiyash et al., 2014), les feuilles de *J. excels* (Weli et al., 2014), les feuilles de *J. phoenicea* (Alzand et al., 2014), les feuilles de *J. communis*, *J. wallichiana*, *J. polycarpos*, *J. macropoda*, *J. indica*, *J. recurva* (Bais et Prashar, 2015), les feuilles et les fruits de *J. phoenicea* (Amalich et al., 2016), la partie aérienne de *J. oxycedrus* et *J. phoenicea* (Fadel et al., 2016), les fruits et les feuilles de *J. foetidissima* et *J. sabina* (Orhan et al., 2017), les feuilles de *J. communis* (Bais et al., 2017). De même les tanins ont été révéler dans: les tiges de *J. communis* (Manvi et Garg, 2010), les tiges et les feuilles de *J. excelsa* (Khan et al., 2012), les branches et brandilles de *J. indica* (Mahajan et al., 2012), les fruits de *J. communis* (Meena et al., 2012), les feuilles de *J. phoenicea* (Medini et al., 2013), la partie aérienne de *J. phoenicea* (Aljaiyash et al., 2014) les feuilles de *J. excels* (Weli et al., 2014), les feuilles *J. phoenicea* (Alzand et al., 2014), les feuilles de *J. communis*, *J. wallichiana*, *J. polycarpos*, *J. macropoda*, *J. indica*, *J. recurva* (Bais et Prashar, 2015), les feuilles et les fruits de *J. phoenicea* (Amalich et al., 2016), la partie aérienne de *J. oxycedrus* et *J. phoenicea* (Fadel et al., 2016), et les feuilles de *J. communis* (Bais et al., 2017).

Les saponines ont été mis en évidence dans: les baies de *J. excelsa* (Nabi et al., 2012), les branches et les brandilles de *J. indica* (Mahajan et al., 2012), les tiges et les feuilles de *J. excelsa* (Khan et al., 2012), les feuilles de *J. excels* (Weli et al., 2014), la partie aérienne de *J. phoenicea* (El-Sawi et al., 2014), et la partie aérienne de *J. oxycedrus* et *J. phoenicea* (Fadel et al., 2016).

Les résultats de l'étude de **Kumar et Kashyap (2015a)** ont révélé la présence des flavonoïdes dans le bois de *F. micrantha*, tandis que ceux de l'étude de **Lingadurai et al., (2007)** ont montré que les feuilles de *F. floribunda* contiennent des saponines. Les tanins et les flavonoïdes ont été mis en évidence dans l'extrait hydro-éthanolique de *F. ornus* (**Abouزيد et al., 2013**).

### 1.3. Teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins

La qualité des plantes destinées à la transformation par l'industrie pharmaceutique est généralement jugée sur la base de la teneur en métabolites secondaires (**Tavares et al., 2013**). Il est bien connu que les composés phytochimiques présentent une gamme de bio-activités telles que : antimicrobiennes, anticancéreuses, antioxydantes, anti-inflammatoires, anti-thrombotiques, vasodilatateurs, etc. (**Nasri et al., 2011**).

Il est important de révéler les composés phytochimiques présents dans les plantes afin de relier leur présence à la bio-activité observée et de connaître leur éventuel rôle thérapeutique (**Bonomo et al., 2017**).

Les résultats des dosages quantitatifs, colorimétriques des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins sont représentés dans le tableau 3.

**Tableau 3.** Teneur en polyphénols, flavonoïdes et tanins des extraits de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides*.

Extrait	Polyphénols <sup>(a)</sup>	Flavonoïdes <sup>(b)</sup>	Tanins <sup>(c)</sup>
EHxJT	73.22 ± 1.68	16.72 ± 0.09	49.20 ± 1.18
EDmJT	65.10 ± 1.63	38.53 ± 0.14	22.96 ± 1.30
EMeJT	178.11 ± 0.38	39.33 ± 0.04	133.35 ± 6.03
EHxFX	80.44 ± 0.97	32.12±0.55	16.21±0.73
EDmFX	76.80 ± 1.34	22.35±0.20	12.51 ± 0.56
EMeFX	182.63 ± 5.42	27.07 ± 0.34	36.32 ± 0.32

(a) mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait; (b) mg d'équivalent de la quercétine par gramme d'extrait; (c) mg d'équivalent de catéchine par gramme d'extrait.

(Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD).

Il n'existe aucune méthode permettant de doser de manière satisfaisante et simultanée l'ensemble des composés phénoliques présents dans un extrait végétal non purifié. Néanmoins, une estimation rapide (souvent très fortement sur-évaluée) de la teneur en phénols totaux peut

être obtenue par différentes méthodes, en particulier par l'utilisation d'un mélange de phosphomolybdate et de phosphotungstate commercialisé sous la dénomination de réactif de Folin-Ciocalteu. Le caractère reducteur des composés phénoliques et leur complexation possible avec les métaux lourds conduisent dans ce cas à la formation de complexes colorés bleus que l'on peut doser par colorimétrie vers 720 nm (Macheix *et al.*, 2005). Elle mesure réellement la capacité de réduction d'un échantillon. Par conséquent, elle a été acceptée comme un test de routine pour l'estimation approximative de la capacité antioxydante des extraits de plantes (Kirca et Arslan, 2008; Taviano *et al.*, 2013). L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans la méthode de Folin-Ciocalteu (Maisuthisakul *et al.*, 2008).

Les résultats ont montré que les tanins représentent la quasi-totalité (74,87%) des phénols totaux de l'EMeJT, tandis que dans l'EMeFX les tanins et les flavonoïdes représentent des pourcentages très rapprochés (19,89; 14,82% respectivement). Les teneurs en composés phénoliques étaient plus élevées dans les extraits les plus polaires (EmeJT et EMeFX) avec des teneurs égales à  $178.11 \pm 0.38$ ;  $182.63 \pm 5.42$  mg EGA/g respectivement.

De même les résultats de Hayouni *et al.*, (2007); Ennajar *et al.*, (2009); Chaouche *et al.*, (2014) ont montré que la teneur en polyphénols était fortement dépendante des solvants. Selon Keskes *et al.*, (2014); Chaouche *et al.*, (2014) 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.

Selon Kuppusamy *et al.*, (2015), les extraits ayant une teneur élevée en polyphénols n'ont pas par conséquent une teneur importante en flavonoïdes. Les résultats mentionnés dans le tableau .3. confirment la constatation de Kuppusamy et son équipe.

Les teneurs des extraits de *J. thurifera* diffèrent nettement de celles rapportées par des études antérieures réalisées sur d'autres espèces appartenant au même genre : *J. communis subsp. nana*, *J. excelsa*, *J. foetidissima*, *J. oxycedrus subsp. oxycedrus*, *J. phoenicea* et *J. sabina* (Ozturk *et al.*, 2011), *J. drupacea* Labill (Miceli *et al.*, 2011), *J. phoenicea ssp. phoenicea* (Medini *et al.*, 2013), *J. phoenicea* (Keskes *et al.*, 2014), *J. oxycedrus subsp. oxycedrus* (Chaouche *et al.*, 2014), *J. communis*, *J. wallichiana*, *J. indica*, *J. macropoda*, *J. recurva* et *J. polycarpus* (Bais et Prashar, 2015), *J. phoenicea* (Elmhdwi *et al.*, 2015), *J. communis* (Kurti *et al.*, 2015), *J. phoenicea* (Laouar *et al.*, 2017), et *J. procera*. (Mohammad Samaha *et al.*, 2017).

L'étude d'Eljemli *et al.*, (2016) a révélé que l'extrait aqueux de *J. thurifera* contient  $193.79 \pm 6.47$  µg EGA/mg, une teneur en polyphénols très proche à celle de l'EMeJT. De même les

extraits méthanoliques de *J. communis* var. *communis*, *J. communis* var. *saxatilis*, *J. drupacea* ont présenté des teneurs en polyphénols ( $170.43 \pm 2.13$ ;  $196.65 \pm 3.41$ ;  $184.23 \pm 4.33$  mg EGA/g respectivement) très proche à celle de l'EMeJT, tandis que les extraits méthanoliques des espèces *J. communis* var. *communis*, *J. drupacea*, *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus*, ont présenté des teneurs en tanins ( $138.54 \pm 4.40$ ;  $125.34 \pm 3.35$ ;  $128.23 \pm 1.94$  mg EC/g respectivement) très similaires à celle de l'EMeJT (Taviano et al., 2011).

Les teneurs rapportées par Ozturk et al., (2011) sont très faibles par rapport à nos résultats. Cette différence trouve probablement son explication dans le standard (pyrocatechol) utilisé pour le dosage des polyphénols.

Les constatations de certaines études élaborées sur le genre *Juniperus* expliquent éventuellement la différence entre nos résultats et ceux des travaux antérieurs:

Les espèces: *J. navicularis*, *J. oxycedrus badia*, *J. phoenicea* et *J. turbinata* ont présenté des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes qui varient selon les conditions saisonnières (Tavares et al., 2013).

Les teneurs en composés phénoliques des extraits de: *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* (Kirca et Arslan, 2008), *J. phoenicea* (Ennajar et al., 2009), *J. phoenicea*, *J. communis* ssp. *nana*, *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus*, *J. sabina*, *J. foetidissima*, *J. excelsa* (Orhan et al., 2011a), *J. sibirica* Burgsdorf (Lesjak et al., 2011), *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* (Chaouche et al., 2013), *J. foetidissima* (Lesjak et al., 2013), *J. macrocarpa* (Lesjak et al., 2014), *J. phoenicea* (Amalich et al., 2016), *J. excelsa* (Lesjak et al., 2017) varient en fonction de l'organe végétal utilisé pour l'extraction. De même la variation de la teneur en polyphénols et des flavonoïdes des extraits de *F. angustifolia*, *F. pennsylvanica* et *F. ornus* a été en fonction du matériel végétal soumis à l'extraction (Berboucha et al., 2010; Medjahed et al., 2016; Ayouni et al., 2016; Tahirovic et al., 2017).

Le contenu phénolique varie également selon l'espèce. Miceli et al., (2009) ont constaté que le contenu phénolique de *J. communis* var. *communis* est trois fois plus élevé que celui *J. communis* var. *saxatilis*. De même la teneur de *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* est trois fois plus élevée que celle de *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* (Taviano et al., 2013).

Les extraits des baies de *J. phoenicea* récoltés dans trois localités (Kairouan, Kasserine, Siliana) ont présenté des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes différentes d'un site un autre (Nasri et al., 2011). Le taux des polyphénols et des flavonoïdes des extraits des feuilles de *J. phoenicea* ssp. *phoenicea* récoltés à Jbal. Mansour est plus important que ceux récoltés à Tabarka (Medini et al., 2013). L'étude réalisée pour évaluer l'activité antioxydante des

extraits des baies de *J. communis* de 20 échantillons a révélé des teneurs variables en polyphénols (Kurti *et al.*, 2015).

L'extrait méthanolique et la fraction hexanique des feuilles de *F. xanthoxyloides* renferme respectivement une teneur en polyphénols égale à  $262.74 \pm 2.1$ ;  $202.22 \pm 4.2$  mg GAE /g et une teneur en flavonoïdes égale à  $41.7 \pm 5.8$ ;  $2.82 \pm 1.1$  mg RE/g et une teneur en tanins égale à  $46.80 \pm 2.9$ ;  $1.20 \pm 0.8$  mg GAE/g (Younis *et al.*, 2016c). On peut attribuer les différences constatées entre ces résultats et nos résultats au protocole d'extraction utilisé par Younis et ses collaborateurs, l'origine géographique de la plante et les standards utilisés pour établir les gammes d'étalonnages des flavonoïdes et des tanins.

Les teneurs de *F. xanthoxyloides* ont présenté des différences avec celles rapportées par des études antérieures réalisées sur d'autres espèces appartenant au genre *Fraxinus* : *F. angustifolia* Ayouni *et al.*, (2016), *F. ornus*, *F. pennsylvanica* (Tahirovic *et al.*, 2017), *F. angustifolia* (Touhami *et al.*, 2017), et *F. excelsior* (Khosroyar et Arastehnodeh, 2018).

Tahirovic et ses collaborateurs (2017) ont quantifié le taux des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de *F. ornus* et *F. pennsylvanica*. Les résultats ont révélé que les teneurs exprimés en équivalent de rutine étaient plus importantes que ceux exprimés en équivalent de quercétine.

Les résultats d'Arunika *et al.*, (2017) ont démontré l'influence des processus d'extraction (ébullition, ébullition sous pression, soxhlet et la percolation à froid) sur les teneurs en polyphénols de *F. floribunda*.

En conclusion les écarts résultent vraisemblablement de:

La faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tout les groupes d'hydroxyles non seulement ceux des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines etc. (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006). Le solvant d'extraction emporte des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les pigments qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique (Djeridane *et al.*, 2006). Le dosage par ce réactif donne donc une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait.

Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé (Tawaha *et al.*, 2007).

Les phénols simples ont un maximum d'absorption compris entre 220 et 280 nm, mais il existe une possibilité d'interférence avec d'autres substances qui absorbant dans l'UV telles que les protéines, les acides nucléiques et les acides aminés. Ces biomolécules ainsi que la couleur d'extraits peuvent être responsables d'une teneur élevée en polyphénols dans les

extraits (**Boulanouar et al., 2013**). Cette variation peut être aussi due au potentiel génétique d'espèces pour la biosynthèse des polyphénols (**Ben Jemia et al., 2013**).

La solubilité des composés phénoliques est en fonction du type du solvant utilisé, le degré de polymérisation des composés phénoliques, ainsi que l'interaction des composés phénoliques avec d'autres constituants et la formation de complexes insolubles. À cette fin, le méthanol était recommandé et fréquemment utilisé pour l'extraction des composés phénoliques (**Fallah et al., 2008; Touhami et al., 2017**).

L'accumulation différentielle des composés phénoliques dans les organes est liée à leurs tissus et leurs cellules spécifiques (à savoir mésophylle, épiderme, la cuticule, chloroplastes, trichomes), à l'interaction étroite entre les organes, aux différents processus de biosynthèse et / ou de dégradation, au transport impliqué dans la distribution de ces polyphénols au niveau de la plante et à la croissance phénologique des organes (**Touhami et al., 2017**).

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Il a été rapporté que la biosynthèse des métabolites secondaires tels que de polyphénols peut changer en réponse aux facteurs biotiques (agents pathogènes) et abiotiques (sécheresse, salinité, forte intensité lumineuse, faible ou une température élevée) (**Falleh et al., 2008; Tavares et al., 2013**).

De même, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) ce qui rend la comparaison difficile (**Podsedek, 2007; Falleh et al., 2008; Chaouche et al., 2013**).

Les résultats de **Tavares et al., 2013** ont confirmé que les conditions saisonnières ont modulé les teneurs totales en composés phénoliques et en flavonoïdes des quatre espèces de genévrier. Les niveaux les plus élevés en composés phytochimiques ont été obtenus lorsque les plantes ne sont pas en croissance active. Le stress salin et le traitement avec le méthyl jasmonate ont été efficaces pour améliorer la biosynthèse phénolique.

Selon **Martz et al., (2009); Artemkina et al., (2016)** et **Laouar et al., (2017)** une telle variation dans la composition par rapport aux autres études peut être attribuée à la diversité des environnements géographiques (sol, lumière, température, précipitations, altitude, etc).

Les coefficients de corrélation ( $R^2 = 0.221$ ;  $R^2 = 0.0006$ ) ont exprimé l'absence de relation entre la teneur des polyphénols et des flavonoïdes des extraits de *J. thurifera* ainsi que les extraits de *F. xanthoxyloides*. Par contre la teneur en tanins s'est corrélée significativement avec la teneur des polyphénols ( $R^2 = 0.969$ ;  $R^2 = 0.916$ ).

**Bilusic Vundac et ses collaborateurs, (2007)** ont démontré une corrélation négative entre la teneur des polyphénols totaux de 7 espèces de *Stachys taxa* et celle des flavonoïdes.

#### **1.4. Profil chimique par HPLC des extraits de *J. thurifera* et *F. xanrhoxyloides***

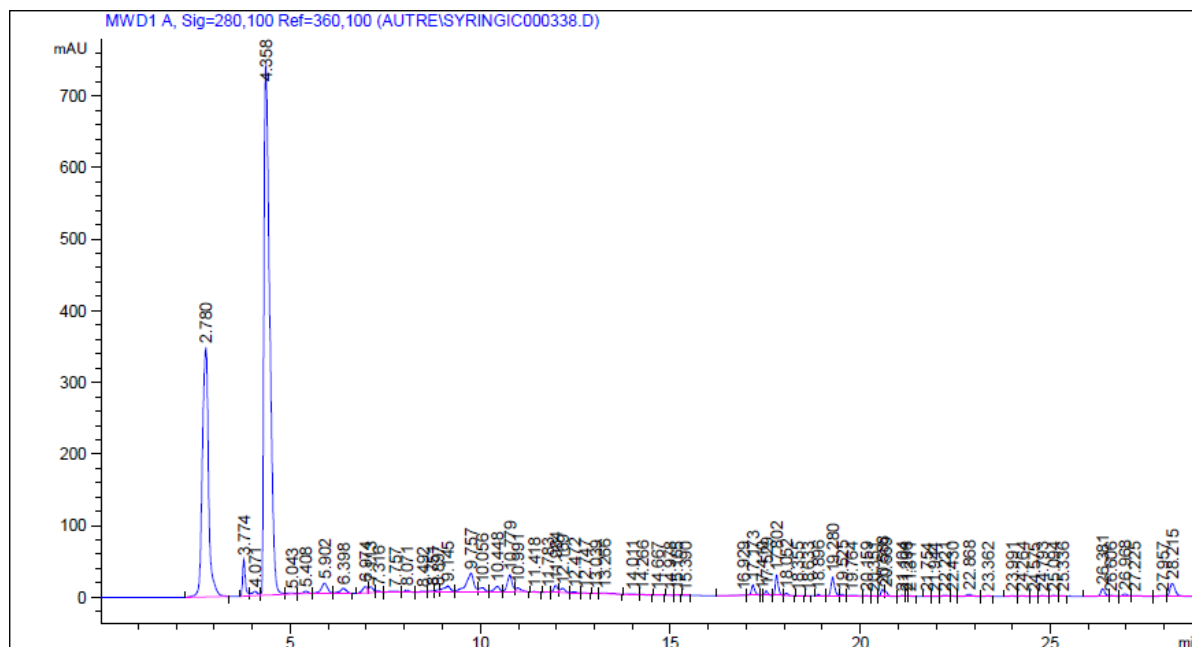
La chromatographie liquide à haute performance est la technique la plus performante et la plus utilisée pour la séparation et le dosage des composés phénoliques. Elle ne demande qu'une faible quantité d'échantillon végétal et permet de combiner en une seule opération rapide et reproductible les analyses qualitatives et quantitatives d'un extrait phénolique complexe. Les séparations sont basés, sur les polarités respectives des phases stationnaires utilisées, du solvant d'éluion et des composés phénoliques concernés, en particulier degré d'hydroxylation, de glycosylation et de méthylation (**Macheix et al., 2005**).

Les composés phénoliques ont été identifiés sur la base de leur temps de rétention, spectres d'absorption qui coïncidaient avec certains standards utilisés (**Dane et al., 2016**). Les figures (9, 10, 11, 12) montrent les chromatogrammes d'HPLC des extraits de chaque plante.

Les tableaux (4, 5) présentent le temps de rétention et la quantité des composés probables dans chaque extrait.

**Tableau 4.** Temps de rétention et la quantité des composés présents dans les extraits du *J. thurifera*.

Extrait	Composé probable	Temps de rétention (min)	Quantité (mg/ml)
<b>EMeJT</b>	Acide procatéchique	5.043	1.033*10 <sup>-3</sup>
	Acide hydroxycaféique	7.1133	6.265*10 <sup>-3</sup>
	Rutine	8.751	1.110*10 <sup>-3</sup>
	Lutéoline	9.757	6.392*10 <sup>-2</sup>
	Apigénine	10.991	8.198*10 <sup>-3</sup>
	Ladaneine	19.764	1.521*10 <sup>-3</sup>
	7-Methoxy-5hydroxy-flavanone	22.868	1.430*10 <sup>-3</sup>
<b>EDmJT</b>	Rutine	8.909	4.399*10 <sup>-4</sup>
	Lutéoline	9.804	3.200*10 <sup>-4</sup>
	Ladaneine	19.873	2.552*10 <sup>-3</sup>
	7-Methoxy-5hydroxy-flavanone	22.862	8.063*10 <sup>-3</sup>



**Figure 9.** Chromatogramme d'HPLC d'EMeJT enregistré à 280 nm.

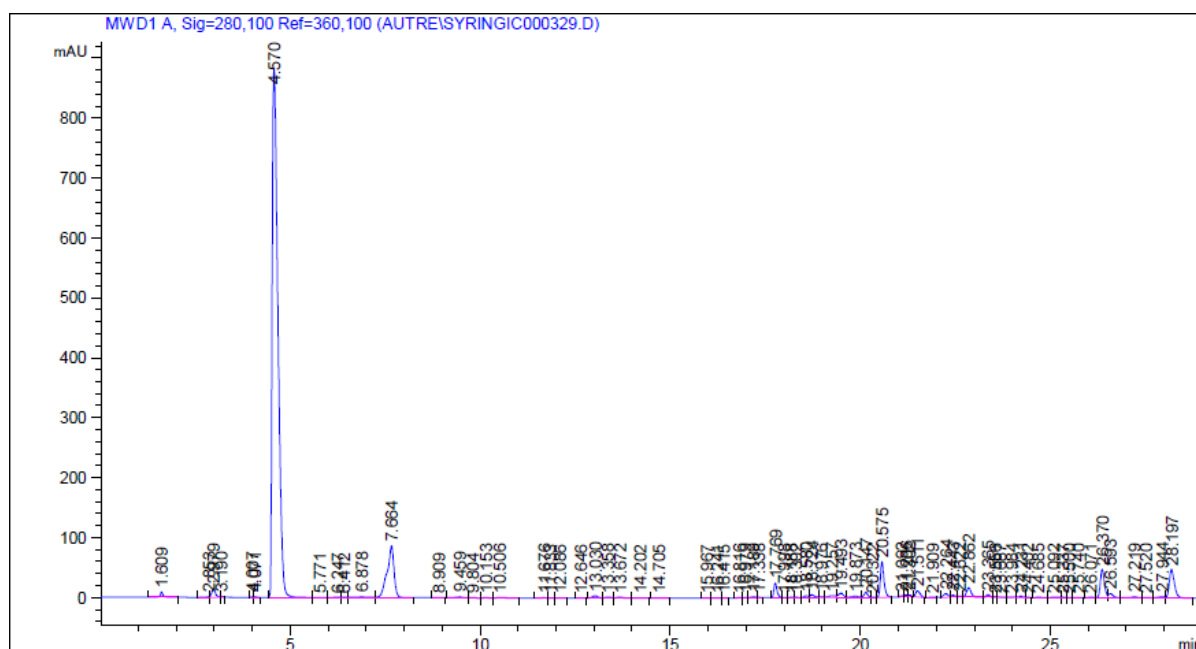


Figure 10. Chromatogramme d'HPLC d'EDmJT enregistré à 280 nm.

Tableau 5. Temps de rétention et la quantité des composés présents dans les extraits de *F. xanthoxloides*.

Extrait	Composé probable	Temps de rétention (min)	Quantité (mg/ml)
<b>EMeFX</b>	Acide hydroxycaféique	7.113	$3.152 \cdot 10^{-4}$
	Rutine	8.807	$3.787 \cdot 10^{-3}$
	Lutéoline	9.926	$1.234 \cdot 10^{-3}$
	Apigénine	11.00	$2.097 \cdot 10^{-3}$
	Ladaneine	19.66	$4.932 \cdot 10^{-3}$
	7-methoxy-5hydroxy-flavanone	22.918	$3.464 \cdot 10^{-4}$
<b>EDmFX</b>	Rutine	8.692	$9.059 \cdot 10^{-3}$
	Lutéoline	9.762	$4.534 \cdot 10^{-3}$
	Ladaneine	19.738	$3.961 \cdot 10^{-3}$
	7-methoxy-5hydroxy-flavanone	22.966	$1.128 \cdot 10^{-3}$

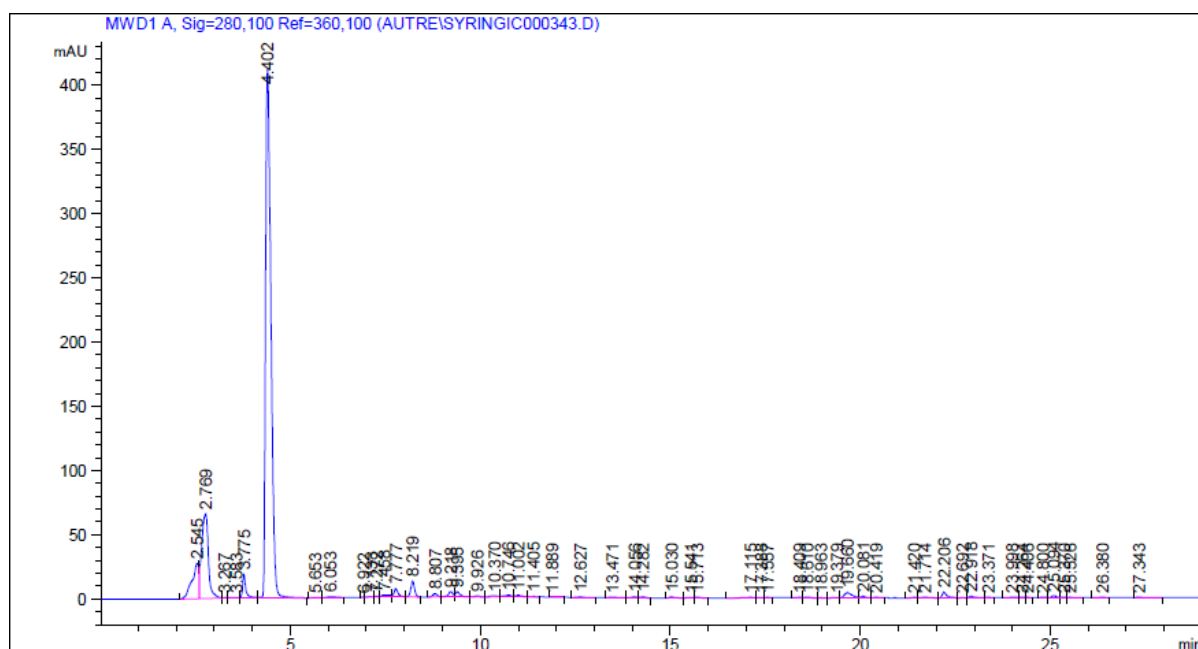


Figure 11. Chromatogramme d'HPLC d'EMeFX enregistré à 280 nm.

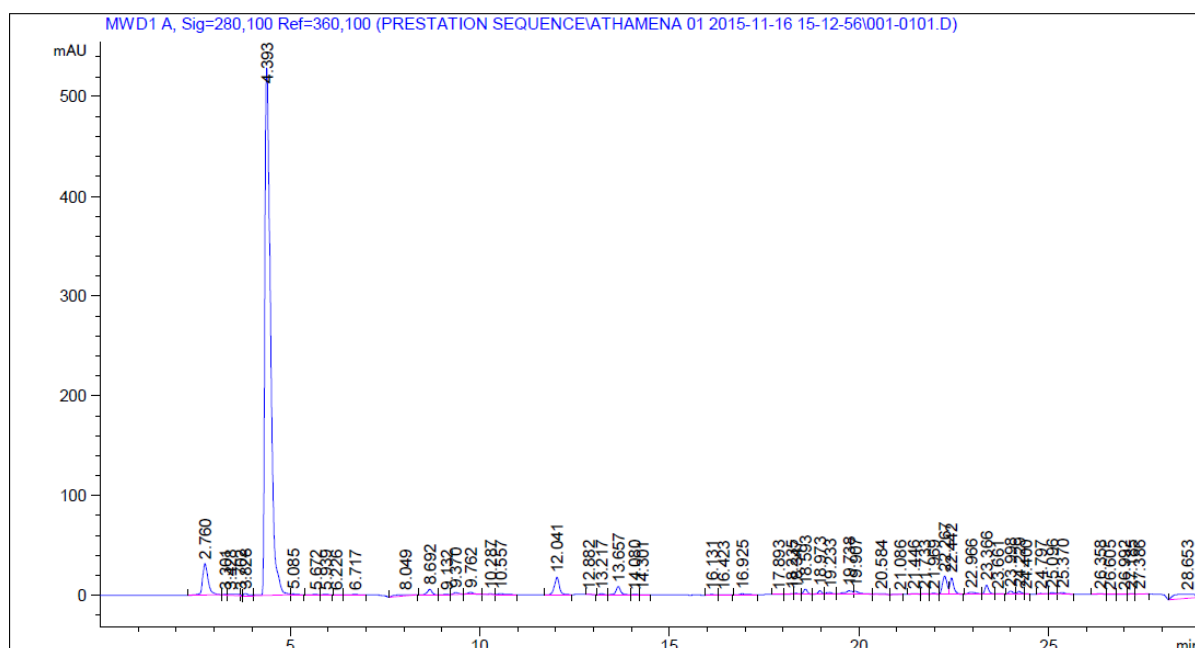


Figure 12. Chromatogramme d'HPLC d'EDmFX enregistré à 280 nm.

En fonction du temps de rétention des étalons, l'EMeJT a présenté un profil chimique dont sept composés phénoliques ont été identifiés, notamment : l'acide procatéchique, l'acide hydroxycatécholique, la rutine, la lutéoline, l'apigénine, la ladaneine et le 7-Methoxy-5hydroxy-

flavanone, tandis que l'EMeFX a présenté le même profil avec l'absence de l'acide procatéchique.

Les résultats obtenus dans cette partie de l'étude sont en accord avec les profils phénoliques de certaines espèces décrits dans des études antérieures cités ci-dessous.

Les profils phénoliques ont révélé la présence de: l'apigénine dans l'extrait méthanolique de *J. communis. var. communis* et *J. communis. var. saxatilis* (Miceli et al., 2009), la rutine dans l'extrait de *J. drupacea* (Miceli et al., 2011), l'apigénine, la lutéoline et la rutine dans l'extrait de *J. sibirica Burgsdorf* (Lesjak et al., 2011), la lutéoline dans les extraits de *J. navicularis*, *J. oxycedrus badia*, *J. phoenicea* et *J. turbinata* (Tavares et al., 2012); l'apigénine, la lutéoline, la rutine dans l'extrait de *J. foetidissima* (Lesjak et al., 2013), l'apigénine, la lutéoline et la rutine dans l'extrait de *J. macrocarpa* (Lesjak et al., 2014), la catéchine dans l'extrait de *J. phoenicea* (Dane et al., 2016), l'apigénine, la lutéoline et la rutine dans l'extrait de *J. excelsa* (Lesjak et al., 2017), la rutine dans les extraits de *J. communis*, *J. excelsa*, *J. foetidissima* et *J. oxycedrus* (Sahin Yaglioglu et Eser, 2017).

La lutéoline a été parmi les composés identifiée dans l'extrait de *F. angustifolia* (Medjahed et al., 2016), tandis que la rutine a été identifiée dans l'extrait de *F. xanthoxyloides* (Younis et al., 2016b).

### 1.5. Rendement en huile essentielle de *J. thurifera*

Le rendement des huiles essentielles de la partie aérienne de *J. thurifera* égale à 0.72%.

Le rendement des rameaux de *J. thurifera* égale à 1.32% (Mansouri et al., 2010; Satrani et al., 2015), une valeur plus importante que celle trouvée dans cette étude.

Achak et al., (2008) ont constaté que le rendement des huiles essentielles des feuilles sèches de *J. thurifera* récolté de trois sites différent selon l'altitude des sites géographiques. Les rendements ont été comme suit (1.03%, 2900 m); (0.67%, 2200 m); (0.57%, 2000 m).

Le rendement des feuilles des arbres femelles de *J. thurifera* (0.45%) est moins important que celui des arbres mâles (0.53%) (Zraib et al., 2014).

Selon (Mansouri et al., 2011a) les rendements en huiles essentielles de *J. phoenicea* sont variables selon la sous-espèce et la partie de la plante extraite.

L'étude de Medini et al., (2014) a montré qu'il y'a une différence dans le rendement des huiles essentielles de *J. oxycedrus*. Cette différence dépend de la période de la cueillette (stades phénologiques) et de la localité.

L'huile essentielle de *J. phoenicea* récolté dans quatres sites différents a présenté des rendements qui diffèrent d'un site à l'autre (Ramdani et al., 2013).

Des études antérieures ont montré que le rendement en huile essentielle de *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus*, *J. phoenicea* ssp. *turbinata* et *J. communis* ssp. *communis* varie en fonction de la partie végétale soumise à l'extraction (Angioni et al., 2003; Hayta et Bagci, 2014; Alan et al., 2016).

La pression utilisée lors de l'extraction par la méthode du dioxyde de carbone supercritique a influencé le rendement de l'huile essentielle de *J. oxycedrus* (Marongiu et al., 2003).

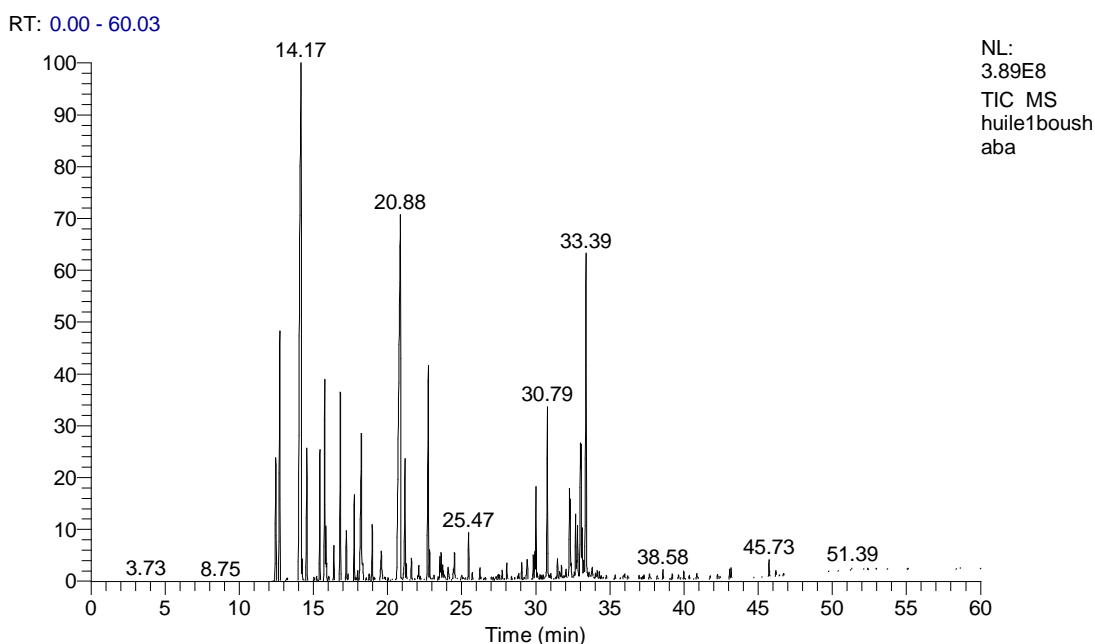
Le séchage à l'air a modérément affecté le rendement des huiles essentielles de *J. thurifera* var. *africana*. Les taux ont été respectivement 1.46% pour les huiles issues des feuilles fraîches et 1.14% pour celles des feuilles séchées (Achak et al., 2009).

Les huiles essentielles de *J. communis* obtenues par hydrodistillation et celles obtenues par hydrodistillation assistée par les micro-ondes ont montré une différence dans le rendement d'extraction (Dahmane et al., 2015).

### 1.6. Profil chimique par GC/SM de l'huile essentielle de *J. thurifera*

L'hydrodistillation a révélé que le *J. thurifera* est une plante medicinale aromatique, par contre le *F. xanthoxyloides* est une plante medicinale non aromatique.

Les huiles essentielles de *J. thurifera* obtenues par hydrodistillation ont été étudiées par GC/SM. Le chromatogramme et les composés qui entrent probablement dans la composition de cette huile essentielle sont présentés et énumérés dans la figure 13. et le tableau 6.



**Figure 13.** Profil chromatographique de l'huile essentielle de *J. thurifera* analysée par GC/SM.

**Tableau 6.** Composition chimique des huiles essentielles de la partie aérienne de *J. thurifera*.

RT	Composé	Nom usuel	Air %
12.47	à-Phellandrene	α-Phellandrène	2.21
12.73	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-, (ñ)-		4.25
14.17	((2-(3-Benzylsulfonyl-4-methylcyclohexyl)propyl)sulfonylmethyl)benzene		19.07
14.56	Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)-	β -Pinène	2.01
15.44	Bicyclo[4.1.0]hept-2-ene, 3,7,7-trimethyl-	2-Carène	1.68
15.77	Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-	β-Cymène	3.88
16.38	3-Carene		0.46
16.82	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	γ-Terpinène	2.8
17.22	Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (1à,2à,5à)-	Cis-sabinène hydrate	0.83
17.76	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	α-Terpinolène	1.09
18.24	3-Benzylsulfonyl-2,6,6-trimethylbicyclo(3.1.1)heptane		3.99
18.98	2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-, cis	Cis-2-p-Menthen-1-ol	0.93
19.58	2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-, trans-	Cis-p-menth-2-en-1-ol	0.8
20.88	(2,6,6-Trimethylcyclohex-1-nylmethanesulfonyl)benzene		15.21
21.18	-Cyclohexene-1-méthanol, à,à,4-trimethyl-, acetate	α-Terpenyl acétate	2.19
21.61	2-Cyclohexen-1-ol, 3-methyl-6-(1-methylethyl)-, trans-	trans-(-)-Piperitol	0.33
22.11	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (Z)-	Nérol	0.36
22.75	3-Benzylsulfonyl-2,6,6-trimethylbicyclo(3.1.1)heptane		4.49
23.62	2,4-Pentadienoic acid, 3,4-dimethyl-, isopropyl ester		1.14
24.08	Thujol		0.29
24.51	2,4-Decadien-1-ol		0.66
25.47	(+)-4-Carene		0.63

28.05	4,6-Heptadienoic acid, 3,3,6-trimethyl-, methyl ester		0.27
29.05	(-)-Isoledene		0.21
29.42	Isoledene		0.49
30.02	Naphthalene, 1,2,4a,5,8,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, [1S-(1à,4aá,8aà)]-	$\alpha$ -Cadinène	1.96
30.79	Naphthalene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,8a-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1R-(1à,7á,8aà)]-	Valencène	2.79
31.47	1-Hydroxy-1,7-dimethyl-4-isopropyl-2,7-yclodecadiene	Germacrène D-4-O1	0.37
32.27	Cedrol		2.46
32.69	Cubenol		0.89
32.81	ë-Selinene		0.94
33.01	tau.-Cadinol	Cedrelanol	4.31
33.39	1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1aà,4à,4aá,7bà)]-	$\alpha$ -Gurjunène	6.18
33.81	Pentanoic acid, 3-phenyl-2-propenyl ester	Cinnamyl-valérate	0.23
45.73	Oxiraneoctanoic acid, 3-octyl-, methyl ester		0.32
			<b>90.72</b>

La comparaison du profil chimique de l'huile essentielle de *J. thurifera* collecté dans le massif des Aurès en Algérie avec ceux collecté au Moyen Atlas du Maroc (Achak *et al.*, 2009 ; Mansouri *et al.*, 2010; Satrani *et al.*, 2015) et dans les Aurès (Zriab *et al.*, 2014) a permis de révéler la présence de certains des composés communs (Tableau 7.).

**Tableau 7.** Composés communs avec ceux de la littérature.

Nom usuel	Zraib	Mansouri	Achak	Satrani
$\alpha$ -Phellandrène	+	+	+	+
$\beta$ -Pinène	+	+	+	+
2-Carène	+	+	-	-
$\beta$ -Cymène	-	+	-	-
3-Carène	-	+	+	+
$\gamma$ -Terpinène	+	+	+	+
Cis-sabinène hydrate	+	-	+	-
$\alpha$ -Terpinolène	+	+	+	+
Cis-p-menth-2-en-1-ol	+	-	-	-
$\alpha$ -Terpenyl acétate	+	+	+	+
Trans-(-)-Piperitol	+	-	-	-
Nérol	+	-	-	-
2,4-Decadien-1-ol	+	-	-	-
$\alpha$ -Cadinène	-	+	+	-
Valencène	+	-	-	-
germacrène D-4-Ol	+	-	-	-
Cédrol	+	-	+	-
Cubénol	+	-	-	-
tau.-Cadinol	+	-	+	-
$\alpha$ -Gurjunène	+	-	-	-

(+) presence; (-) absence.

La composition de l'huile essentielle a présenté certains composés communs avec celle présentée dans l'étude de **Zraib et al., 2014**. Ce rapprochement trouve son explication dans le site de récolte (Aurès) commun.

D'autre part, cette étude a permis la révélation de:  $\beta$ -cymène ; 3-carène ; cis-p-menth-2-en-1-ol ; thujol ; (+)-4-carène ; (-)-isodène ; isodène ;  $\alpha$ -cadinène ;  $\beta$ -selinène ; cinnamyl-valérate qui n'ont pas été mentionnés dans les profils chimiques de **Zraib et al., (2014)**.

Les différences constatées peuvent s'expliquer par: l'adaptation de la plante aux facteurs abiotiques tels que, le climat spécifique, les facteurs géographiques comme l'altitude et la nature du sol qui orientent la biosynthèse vers la genèse préférentielle de certains métabolites (**Mansouri et al., 2011a**). De même la composition chimique diffère considérablement en

fonction des facteurs intrinsèques (sexe, saison, variations ontogénétiques et génétiques) (**Medini et al., 2014**).

Le profil chimique des huiles essentielles est influencé par certains paramètres. Les travaux rapportés sur quelques espèces de *Juniperus* cités ci-dessus ont mis en évidence un nombre de ces paramètres :

Les deux sous espèces de *J. oxycedrus* : sp. *macrocarpa* et sp. *oxycedrus* ont présenté une différence significative dans la composition de leurs huiles essentielles (**Valentini et al., 2003**). La composition qualitative et quantitative des huiles essentielles de *J. thurifera* var. *africana* a été influencée par le séchage à l'air libre. Les huiles essentielles des feuilles fraîches et séchées ont été caractérisées par un contenu riche en sabinène (16.5 à 21.8%),  $\delta$ -terpinène (9.3 à 11.5%) et  $\alpha$ -pinène (7.6 à 9.1%) (**Achak et al., 2009**).

Selon **Adams et al., (2003)** les huiles essentielles des espèces de *J. thurifera* marocaines étaient clairement différentes dans leurs quantités en sabinène,  $\delta$ -2-carène, limonène, acétate de linalyle et acétate de manoyle par rapport aux espèces européennes. Les fruits de *J. phoenicea* étaient plus riches en huiles essentielles que ses feuilles avec une très forte dominance d' $\alpha$ -pinène (**Amalich et al., 2015**).

Dans un travail portant sur 50 échantillons de *J. phoenicea* subsp. *turbinata* récoltés dans différents sites de Corse, **Rezzi et al., (2001)** ont souligné une variabilité chimique intra-spécifique et ont distingué deux groupes d'huiles essentielles en fonction de leur contenu en  $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -phellandrène et  $\alpha$ -terpenyl acetate. L'impact des sites d'échantillonnage (la différence d'altitude et les conditions microclimatiques) a montré une différenciation dans la composition chimique des huiles essentielles de *J. communis* et *J. oxycedrus* (**Koukos et Papadopdou, 1997, Hajdari et al., 2014**).

Les huiles essentielles des deux sous-espèces : *J. oxycedrus* ssp. *macrocarpa* et *J. oxycedrus* ssp. *rufescens* ont révélé une grande différence dans la composition chimique, la teneur et le nombre des composés identifiés. Cette variation est en fonction de leur stade phénologique et les conditions climatiques (**Medini et al., 2012**).

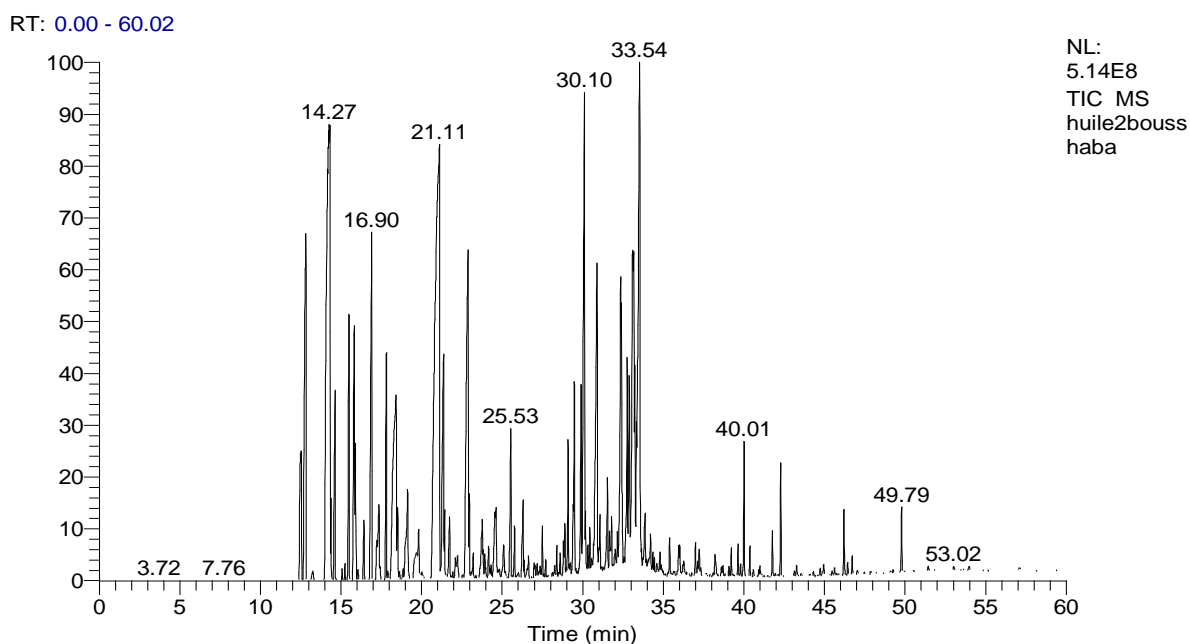
Les baies vertes non mûres et les baies noirs bleuâtres récoltées en pleine maturité de *J. communis* ont présenté des différences qualitatives et quantitatives remarquables dans le profil chimique de leurs huiles essentielles (**Koukos et Papadopdou, 1997, Falasca et al., 2016**).

Des variations quantitatives et qualitatives dans les profils chimiques des huiles essentielles des feuilles, des écorces et des cônes de *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* ont été mises en évidence par **Hayta et Bagci, (2014)**.

Les huiles essentielles des feuilles et des rameaux de *J. communis*. var. *saxatilis* obtenues par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation ont présenté des différences remarquables dans leurs compositions, selon que le matériel végétal a été broyé ou non et selon la durée de la distillation associée ( **Karlsen et Svendsen, 2002**).

Certains composés ont été détecté seulement dans les huiles essentielles des arbres femelles de *J. thurifera* ( $\beta$ -phellandrène, isobutyl benzène,  $\alpha$ -muurolène, epoxyde humulène II, valencène,  $\alpha$ -muurolol,  $\beta$ -eudesmol et le phytol). Par contre les composés :  $\delta$ -2-carène, p-cymène-7-ol, verbanone, piperitone, cedrol, 1-epi-cubénol, cubénol et le  $\gamma$ -gurjunène figurent seulement dans la composition des huiles essentielles des arbres mâles. le sexe de l'arbre affecte la composition chimique des huiles essentielles ( **Zraib et al., 2014**).

L'hydrodistillation a été reprise une deuxième fois en rajoutant deux grammes de NaCl au milieu. Les résultats d'analyse de l'huile essentielle obtenue sont présentés dans le tableau 8. et la figure 14.



**Figure 14.** Profil chromatographique de l'huile essentielle de *J. thurifera* après l'ajout de 2g de NaCl analysée par GC/SM.

**Tableau 8.** Composition chimique des huiles essentielles de la partie aérienne de *J. thurifera* après l'ajout de 2g de NaCl.

RT	Composé	Nom usuel	Air %
12.52	à-Phellandrene	α-Phellandrène	1.54
12.81	3-Carene		3.54
14.27	2,11-Dioxatricyclo[10.2.2.0(4,9)]hexadeca-3(8),5,13,15-tetraene-4,7-dione, 13,14-dimethyl-		11.3
14.63	Santolina triene		1.14
15.49	Bicyclo[4.1.0]hept-2-ene, 3,7,7-trimethyl-	2-Carène	1.53
15.83	Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-	O-Cymène	2.68
16.90	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	γ-Terpinène	2.73
17.36	Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (1à,2à,5à)-	Cis-sabinène hydrate	0.98
17.82	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	αTerpinolène	1.31
18.42	3-Benzylsulfonyl-2,6,6-rimethylbicyclo(3.1.1)heptane		4.27
19.14	Éthanol, 2-(3,3-dimethylcyclohexylidene)-, (Z)-	Grandlure II	1.17
19.82	5-Caranol, (1S,3R,5S,6R)-(-)-	Trans-5-caranol	0.32
21.36	3-Cyclohexene-1-méthanol, à,à,4-trimethyl-, acetate	α-Terpenyl acétate	2.41
21.74	2-Cyclohexen-1-ol, 3-methyl-6-(1-methylethyl)-, trans-	Trans-Piperitol	0.42
22.89	4,8,13-Cyclotetradecatriene-1,3-diol, 1,5,9-trimethyl-12-(1-methylethyl)-	4,8,13-Duvatriene-1,3-diol	4.71
23.77	Ethyl octyne carbonate		0.85
25.53	2-Methylbicyclo[4.3.0]non-1(6)-ene		0.93
26.30	à-Cyclogeraniol acetate		0.64
29.09	(-)-Isoledene		0.75
29.48	Naphthalene, 1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1à,4aà,8aà)-	α-Cadinène	1.45
29.89	Isoledene		1.08
30.10	Naphthalene, 1,2,4a,5,8,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, [1S-(1à,4aá,8aà)]-		4.59
30.89	2-Naphthaleneméthanol, 1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydro-à,à,4a,8-tetramethyl-, (2R-cis)-	γ-Eudésmol	3.51

31.53	1-Hydroxy-1,7-dimethyl-4-isopropyl-2,7-cyclodecadiene	Germacrène D-4-Ol	0.63
32.36	4a,7-Methano-4aH-naphth[1,8a-b]oxirene, octahydro-4,4,8,8-tetramethyl-		3.47
32.76	Cubenol		1.25
32.88	Naphthalene, 1,2,4a,5,8,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1à,4aá,8aà)-(ñ)-		1.35
33.10	.tau.-Cadinol		5.67
33.54	1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1aà,4à,4aá,7bà)]-	α-Gurjunène	6.9
33.87	Pentanoic acid, 3-phenyl-2-propenyl ester	Cinnamyl-valérate	0.49
40.01	Naphthalene, decahydro-1,1,4a-trimethyl-6-methylene-5-(3-methylene-4-pentenyl)-, [4aS-(4aà,5à,8aá)]-	Sclarène	0.66
42.29	1,3,6,10-Cyclotetradecatetraene, 3,7,11-trimethyl-14-(1-methylethyl)-, [S-(E,Z,E,E)]-	Thunbergène	0.52
			<b>74,79</b>

L'ajout du NaCl a permis l'identification d'autres composés: santolina triene; O-cymène; γ-terpinène; grandlure II ; trans-5-caranol; 4,8,13-duvatriene-1,3-diol; à-cyclogeraniol acétate ; γ-eudesmol; sclarène et thunbergene.

**Zraib et al., 2014** ont mis en évidence la présence du γ-eudesmol et du γ-terpinène dans l'huile essentielle de *J. thurifera*.

## 2. Evaluation de l'activité biologique

### 2.1. Activité anti-oxydante

De nombreuses plantes aromatiques, médicinales et épices contiennent des composés antioxydants. Cependant, les informations sur les propriétés anti-oxydantes des plantes utilisées en médecine traditionnelle ne sont pas actuellement disponibles. Par conséquent, l'évaluation de ces propriétés est intéressante, en particulier pour découvrir des nouvelles sources d'antioxydants naturels. De nos jours, les antioxydants naturels sont des matières

attractives, non seulement pour leurs propriétés anti-radicalaires, mais aussi parce qu'ils sont des sources naturelles sans effets secondaires (Moein et Moein, 2010).

L'activité anti-oxydante est un procédé complexe qui s'achève par plusieurs mécanismes d'actions telles que : l'inhibition des enzymes oxydants, la chélation des métaux de transition, le transfert d'hydrogène ou un électron unique à des radicaux, la désactivation de l'oxygène singulet ou la détoxification enzymatique des ROS (Lesjak *et al.*, 2011; Eljemli *et al.*, 2016).

Il existe plusieurs méthodes pour évaluer l'activité anti-oxydante d'un extrait végétal, mais chaque méthode a ses propres limites. L'activité anti-oxydante ne peut pas être validée par une méthode particulière en raison de la nature complexe des composés phytochimiques et de leurs interactions. Une seule méthode est insuffisante pour fournir une image complète sur le profil antioxydant d'un échantillon étudié et qu'une combinaison de plusieurs méthodes doit être utilisée pour évaluer les activités anti-oxydantes et prendre en compte les divers mécanismes d'action des antioxydants (Miceli *et al.*, 2011; Taviano *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2013; Ved *et al.*, 2017).

Ainsi, la présente étude a été établie dans le but de montrer les potentiels antioxydants des extraits de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides* en utilisant trois méthodes connues (test du DPPH, blanchiment du  $\beta$ -carotène et FRAP) et d'établir des corrélations possibles entre l'activité anti-oxydante et les teneurs en composés phénoliques des extraits.

## 2.1. Piégeage du radical DPPH

### 2.1.1.1. *In vitro*

#### •Extraits organiques

Le test DPPH a été largement utilisé pour évaluer les effets de piégeage des radicaux libres par les antioxydants naturels en raison de sa stabilité sous forme radicalaire, la simplicité du test et le temps relativement court par rapport à d'autres méthodes (Elmasta *et al.*, 2006; Miceli *et al.*, 2009; Taviano *et al.*, 2011; Amalich *et al.*, 2016).

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité anti-oxydante des composés phénoliques (Bentabet *et al.*, 2014).

Le radical DPPH possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Cette délocalisation est responsable de la couleur violette bien caractéristique de la solution de DPPH•. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, par spectrophotométrie à 515-518 nm. Le piégeage des radicaux libres par

les antioxydants se fait par deux types de mécanismes: le transfert d'un atome d'hydrogène du groupement hydroxyle (cinétique rapide de certains acides et dérivés phénoliques); le transfert d'un électron (cinétique lente des dérivées glycosylées et des anthocyanes). Dans le cas des composés phénoliques, le mécanisme principal d'action du piégeage des radicaux libres se fait par le transfert de l'atome d'hydrogène sur le DPPH• qui se transforme en une molécule stable DPPH-H (Popovici *et al.*, 2009).

Le degré de décoloration du violet au jaune indique la quantité de DPPH piégée. Plus l'action de la décoloration est importante, plus l'activité anti-radicalaire est élevée, ce qui se traduit par une valeur d'IC50 plus faible (Middleton *et al.*, 2005; Miceli *et al.*, 2009; Taviano *et al.*, 2013; Moein *et al.*, 2014; Touhami *et al.*, (2017).

La mesure de l'absorbance (ou densité optique) a été effectuée par spectrophotométrie.

A partir des valeurs obtenues, les pourcentages d'inhibition ont été calculés en utilisant la formule donnée auparavant. Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes ci – dessous. Les Figures (15, 16, 17, 18, 19, 20) représentent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits. L'IC50 (mg/ml) est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés qui représentent les pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations utilisées en utilisant le logiciel Excel.

L'ensemble des extraits de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides* mélangés avec le DPPH le décolorent en raison de leurs capacités de donner un atome d'hydrogène ou un électron.

Les extraits de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides* ont montré une activité de piégeage du radical DPPH donnant suite à une réponse dose-dépendante.

Sur la base des valeurs d'IC50, l'EMeJT et l'EMeFX ont montré la plus importante capacité du piégeage du radical DPPH. Les résultats expérimentaux ont aussi révélé que les extraits ont un effet moins important que celui de l'antioxydant synthétique (TBHQ). Les potentiels anti-radicalaires des extraits de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides* ont suivi l'ordre suivant : TBHQ>EMe> EDm> EHx.

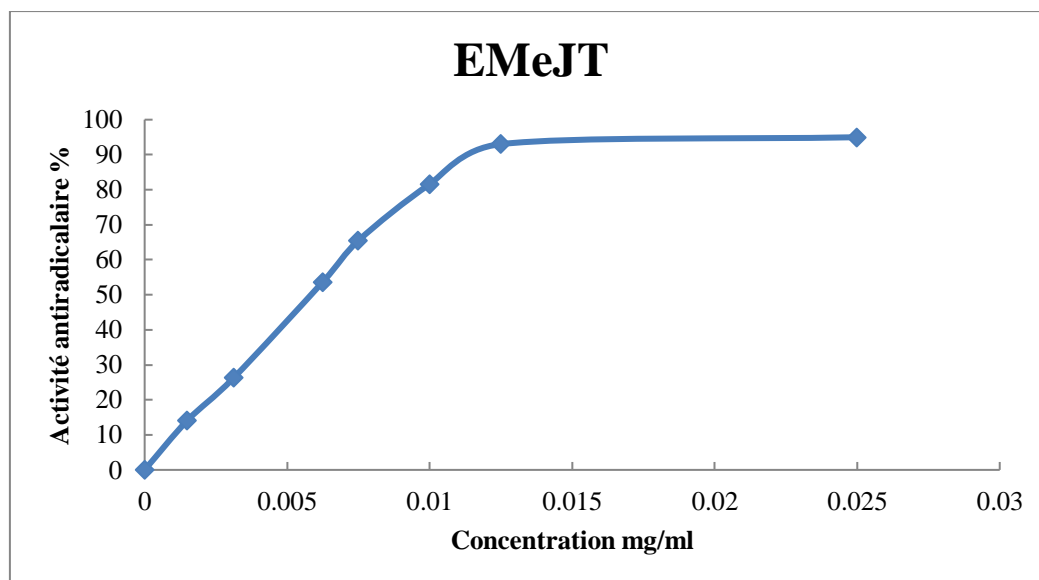
Le TBHQ est 190 à 57 fois respectivement plus actif que l'EHxJT et l'EDmJT. Il n'ya pas de différence significative entre l'effet du standard TBHQ et l'EMeJT ( $p \geq 0.05$ ). Une différence très significative entre l'effet des trois extraits de *J. thurifera* ( $p < 0.001$ ).

Le TBHQ est 302 fois plus actif que l'EHxFX, 22 fois plus active que l'EDmFx et 12 plus active que l'EMeFX. Les effets de l'EMeFX et l'EDmFX n'ont pas présenté de différence significative avec l'effet du TBHQ ( $p \geq 0.05$ ). D'un autre côté, il n'ya pas de différence significative entre l'effet de l'EMeFX et l'effet de l'EDmFX ( $p \geq 0.05$ ).

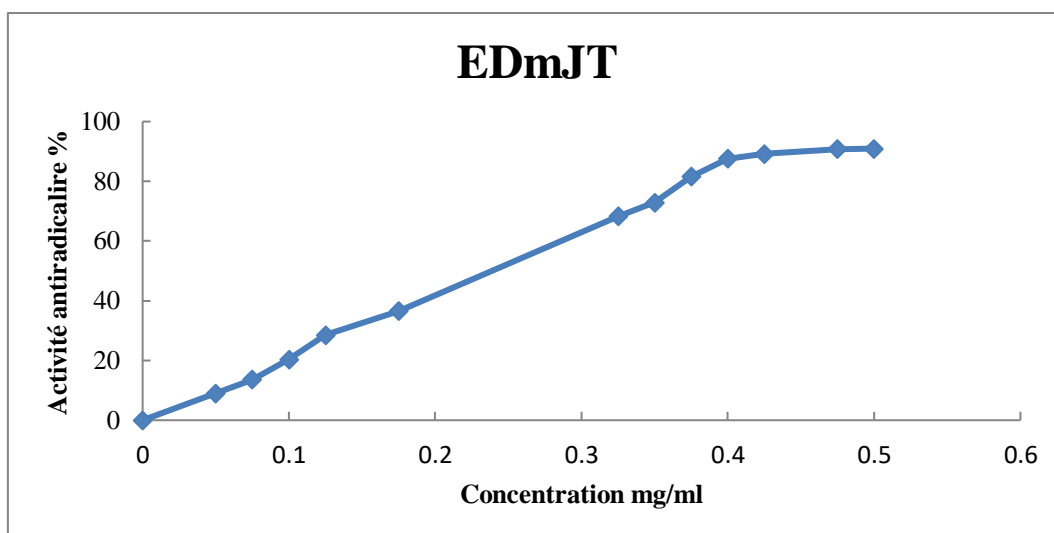
**Tableau 9.** Valeurs d'IC<sub>50</sub> des extraits de *J. thurifera*, *F. xanthoxyloides* et du standard TBHQ.

Extrait et standard	IC <sub>50</sub> (mg/ml)	CE <sub>50</sub> (mg/mgDPPH)	APR
<b>EHxJT</b>	0.76±0.03	32.51±1.47	3.08±0.14
<b>EDmJT</b>	0.23± 0.01	9.93±0.47	10.08±0.47
<b>EMeJT</b>	0.006± 0.00-	0.25±0.002	395.89±3.08
<b>EHxFX</b>	1.21± 0.08	51.65±3.42	1.94±0.13
<b>EDmFX</b>	0.09±0.007	3.87±0.28	25.96±1.82
<b>EMeFX</b>	0.05±0.002	2.04±0.07	49.03±1.72
<b>TBHQ</b>	0.0036±0.00	0.156±0.003	639.51±11.90

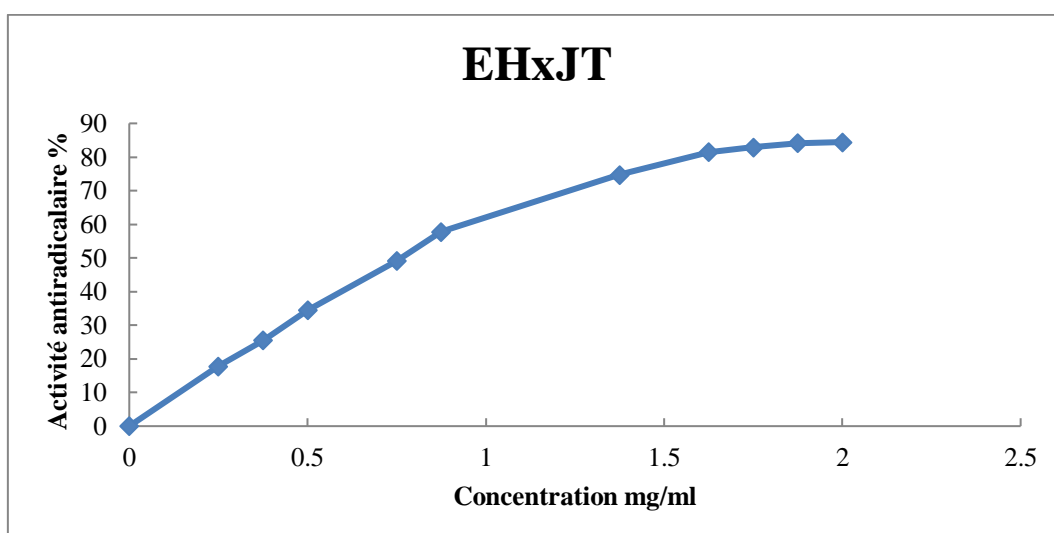
Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± SD.



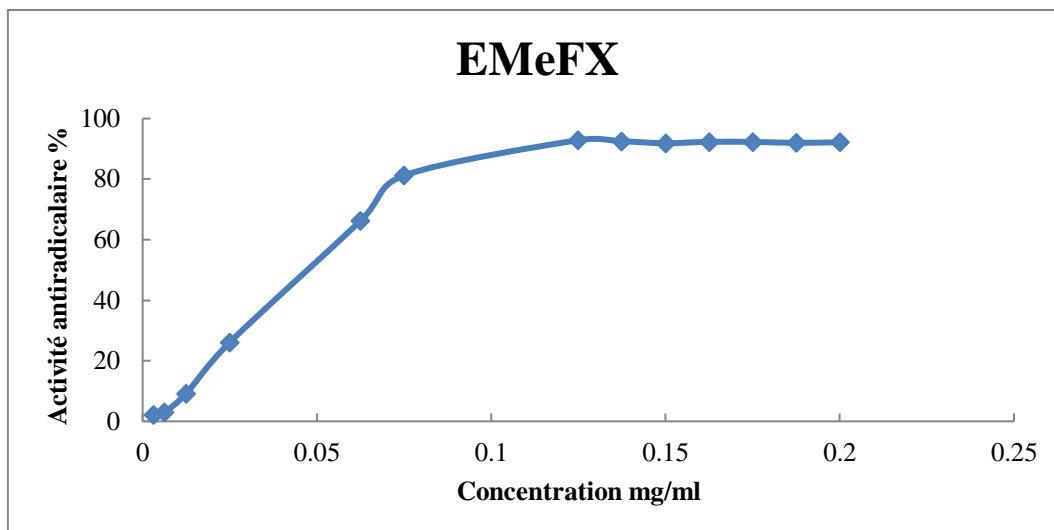
**Figure 15.** Activité anti-radicalaire de l'EMeJT.  
(Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).



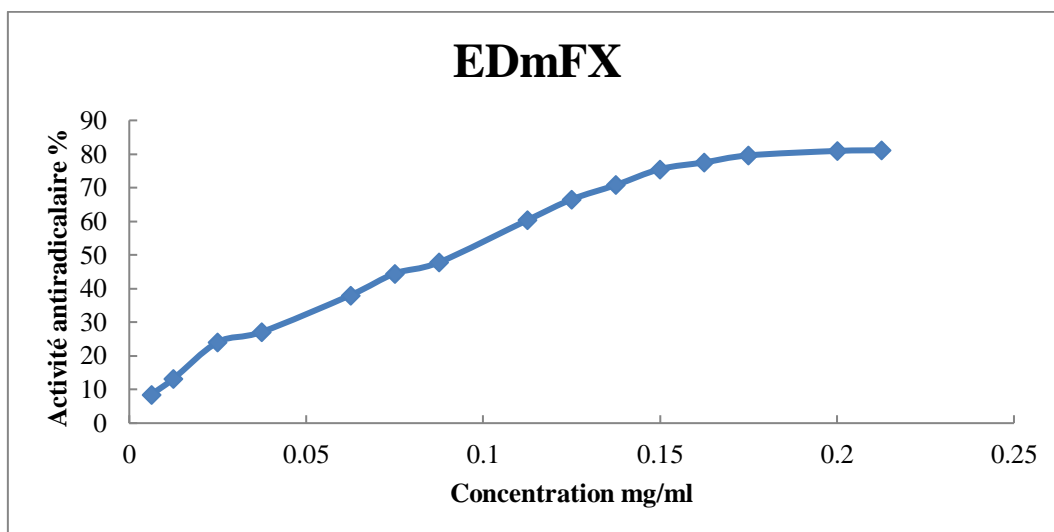
**Figure 16.** Activité anti-radicalaire de l'EDmJT.  
(Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).



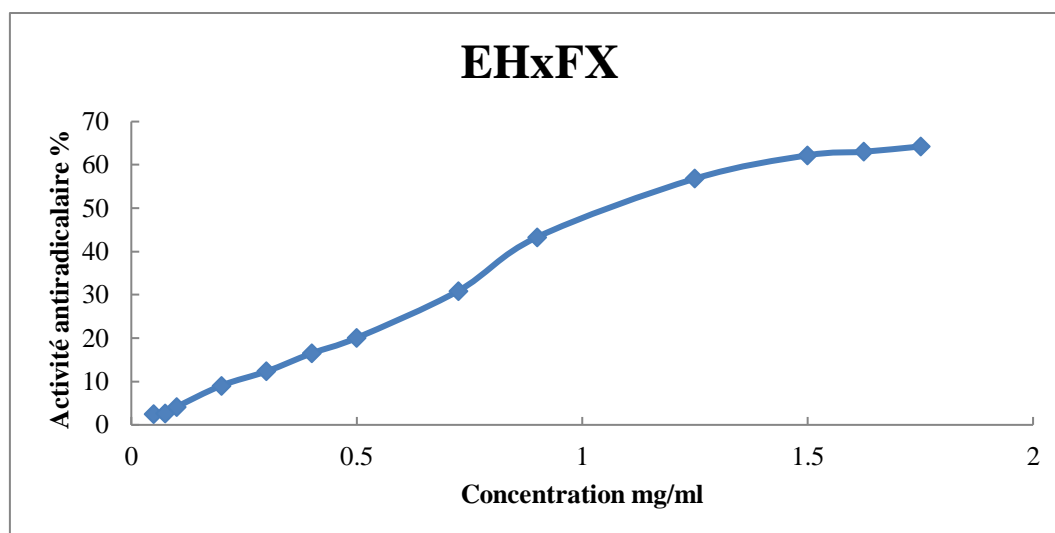
**Figure 17.** Activité anti-radicalaire de l'EHxJT.  
(Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).



**Figure 18.** Activité anti-radicalaire de l'EMeFX.  
(Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).



**Figure 19.** Activité anti-radicalaire de l'EDmFX.  
(Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).



**Figure 20.** Activité anti-radicalaire de l'EHxFX.

(Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).

Les résultats ont montré que l'EMeJT a une activité anti-radicalaire importante avec une IC50 égale à 0.006 mg/ml. L'effet de l'EMeJT est plus important que celui de l'extrait aqueux de *J. thurifera* (0.024 mg/ml) (Eljemli *et al.*, 2016).

La valeur d'IC50 de l'EMeJT est très proche à celle de l'extrait méthanolique des aiguilles de *J. sibirica Burgsdorf* (0.0062 mg/ml) (Lesjak *et al.*, 2011) et à celle de l'extrait méthanolique des cônes de *J. excelsa* (0.0052 mg/ml) (Lesjak *et al.*, 2017).

Les valeurs d'IC50 des extraits méthanoliques du bois de *J. chinensis* (Lim *et al.*, 2002), des baies de *J. communis. var. communis* et *J. communis. var. saxatilis* (Miceli *et al.*, 2009), des feuilles et des baies de *J. phoenicea* (Ennajar *et al.*, 2009), des branches de *J. communis var. communis*, *J. communis var. saxatilis*, *J. drupacea*, *J. oxycedrus subp. oxycedrus* et *J. oxycedrus subp. macrocarpa* (Taviano *et al.*, 2011), des fruits de *J. sabina*, *J. communis subp. nana*, *J. oxycedrus subp. oxyvedrus*, *J. foetidissima* et *J. phoenicea* (Ozturk *et al.*, 2011), des baies de *J. drupacea* (Miceli *et al.*, 2011), des aiguilles de *J. sibirica Burgsdorf* (Lesjak *et al.*, 2011), des baies *J. oxycedrus subp. macrocarpa* et *J. oxycedrus subp. oxycedrus* (Taviano *et al.*, 2013), des feuilles et des cônes de *J. macrocarpa* (Lesjak *et al.*, 2014) ont été plus importantes que celle de l'EMeJT. De ce fait l'EMeJT est le plus puissant par ce qu'il a présenté la concentration la plus faible.

Par contre, l'effet anti-radicalaire de l'extrait méthanolique des feuilles et des cônes de *J. foetidissima* (0.0025; 0.0039 mg/ml) (Lesjak *et al.*, 2013) et celui de l'extrait méthanolique

des feuilles de *J. excelsa* (0.0034 mg/ml) (**Lesjak et al., 2017**) ont été plus important que celui de l'EMeJT.

L'extrait d'éther de pétrole de *J. phoenicea* a présenté une IC50 supérieur à 0.15 mg/ml. Une valeur qui indique que l'effet de cet extrait est plus important que celui de l'EHxJT (**Medini et al., 2013**).

L'analyse des résultats des études de **Lesjak et al., (2011, 2013, 2014, 2017)**, (**Chaouche et al., 2013**) a permis de conclure que l'effet anti-radicalaire varie selon l'organe végétal de la même espèce, tandis que l'étude de **Miceli et al., (2009)** a révélé que l'effet anti-radicalaire dépend de la variété de la même espèce.

Les valeurs moyennes de la capacité anti-oxydante obtenues dans le test DPPH ont révélé que l'extrait des feuilles de *F. ornus* a un effet plus important que celui des écorces (**Tahirovic et al., 2017**). De même **Ayouni et al., (2016)** ont trouvé que l'extrait éthanolique d'écorces de *F. angustifolia* présente un pouvoir anti-radicalaire plus élevé que celui des extraits des feuilles.

L'effet de l'extrait méthanolique de *J. phoenicea* est plus important que celui de l'extrait d'acétate d'éthyle (**Keskes et al., 2014**). L'extrait méthanolique de *J. procera* a été 50 fois plus capable de réduire le radical DPPH que l'extrait chloroformique (**Mohammad Samaha et al., 2017**). L'extrait éthanolique de *J. drupacea* a été plus puissant que l'extrait d'éther de pétrole (**Elghorab et al., 2008**). De même les extraits aqueux des feuilles de *J. foetidissima*, *J. excelsa* et *J. communis* ont été plus puissants que les extraits éthanoliques (**Karapandzova et al., 2014**). Les potentiels de piégeage des radicaux libres des extraits des feuilles de *J. excelsa* ont suivi l'ordre suivant l'extrait hydroalcoolique > l'extrait chloroformique > l'extrait d'acétate d'éthyle > extrait hexanique (**Weli et al., 2014**).

Les extraits obtenus en utilisant des solvants de haute polarité étaient considérablement plus efficaces que ceux obtenus en utilisant des solvants de basse polarité. La polarité des solvants change la capacité de dissoudre un groupe choisi de composés antioxydants, ce qui affecte l'évaluation de l'activité anti-oxydante (**Hayouni et al., 2007; Turkmen et al., 2007**). L'effet anti-radicalaire augmente avec la polarité des solvants fait également constater dans cette étude.

Par contre, **Elmasta et al., (2006)** ont trouvé que l'extrait éthanolique de *J. communis* a montré un effet de piégeage des radicaux libres plus important que celui de l'extrait aqueux. De même **Chaouche et al., (2014)** ont trouvé que l'effet de l'extrait méthanolique de *J. oxycedrus subsp. oxycedrus* est plus élevé que celui de l'extrait aqueux.

L'influence des facteurs géographiques a été mise en évidence par **Medini et al., (2013)**. L'extrait méthanolique de *J. phoenicea* dont le site de récolte se trouve à Tabarka a un effet anti-radicalaire faible (0.020 mg/ml) par rapport à celui récolté à Jbal mansour (0.0087 mg/ml). L'étude de **Touhami et al., (2017)** dont le but est l'évaluation de l'activité antioxydante de deux extraits éthanolique et aqueux des écorces et des feuilles de *F. angustifolia* provenant de Béja et Nefza, a révélé que l'effet anti-radicalaire dépend du site de récolte, l'organe végétal et du type du solvant. En effet, l'extrait éthanolique d'écorces de *F. angustifolia* récolté du site Nefza a montré la plus faible valeur d'IC50 (0.007 mg/ml), indiquant une activité anti-oxydante élevée. Cette valeur est plus importante que celle de l'EMeFX (0.05 mg/ml).

Le protocole d'extraction est l'un des points cruciaux pour l'extraction des composés bioactifs. L'influence de la variation des solvants et les techniques d'extraction sur la teneur en composés phytochimiques a été rapportée par **Arunika et al., (2015)**.

Plusieurs extraits de *F. floribunda* ont été préparés par plusieurs méthodes. L'extrait de *F. floribunda* obtenu par ébullition et sous pression a présenté la valeur d'CI50 la plus basse (0,241 mg/ml) et la teneur la plus élevée en polyphénols. Les résultats de cette étude ont suggéré que la méthode d'extraction par ébullition sous pression est la plus efficace pour acquérir les antioxydants et que la variation des processus d'extraction a un effet sur l'évaluation de l'activité anti-oxydante (**Arunika et al., 2015**).

L'extrait méthanolique de *F. excelsior* est le plus puissant dans le test DPPH avec une valeur D'IC50 égale à 0.0135 mg/ml. Cette valeur est plus faible que celle de l'EMeFX. Les valeurs D'IC50 de l'extrait hexanique et de l'extrait dichlorométhanique n'ont pas été déterminées en raison de l'interférence des fortes quantités de chlorophylle présentes dans ces extraits, cette dernière absorbe également la lumière à la longueur d'onde de 517 nm (**Middleton et al., 2005**). Ces résultats peuvent expliquer la valeur élevée d'IC50 de l'EHxFX (1.21± 0.08mg/ml).

Les écarts dans les pouvoirs anti-radicalaires des extraits testés peuvent être en fonction des profils phénoliques qualitatifs. Les composés phénoliques, y compris les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les lignanes représentent la principale classe d'antioxydants naturels. Ils agissent comme des antioxydants de plusieurs mécanismes: en tant que piègeurs de radicaux libres, inhibiteurs de la peroxydation lipidique et chélateurs d'ions métalliques (**Miceli et al., 2011; Li et al., 2013**). Selon **Hayouni et al., (2007)**, les antioxydants d'origine végétale ont tendance à être hydrosolubles, car ils apparaissent fréquemment combinés sous forme de glycosides.

Une activité anti-oxydante importante a été rapportée pour la quercétine, la rutine, l'acide caféique et l'acide p-coumarique (Ali *et al.*, 2010).

On peut attribuer l'effet antioxydant à la rutine révélée par HPLC dans les extraits EMeJT, EDmJT, EMeFX, EDmFX. Cette dernière est un flavonol doté de multiples activités pharmacologiques, notamment activité anti-oxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, antitumoral, hépatoprotectrice, vasoprotectrice, anticarcinogène, neuroprotectrice, cardioprotectrice, antiallergique et antidiabétique (Younis *et al.*, 2016b; Tavares et Seca, 2018).

En raison de la diversité et de la complexité des composés phénoliques contenus dans les extraits de plantes, il n'est pas facile de caractériser chaque composé et d'évaluer ses activités anti-oxydantes (Djeridane *et al.*, 2006).

La relation ambiguë entre l'activité anti-oxydante et les composés phénoliques totaux peut s'expliquer de plusieurs façons. En effet, la teneur totale en composés phénoliques n'incorpore pas tous les antioxydants, de plus, la synergie entre les antioxydants dans le mélange rend l'activité anti-oxydante non seulement dépendante de la concentration, mais également de la structure et de l'interaction entre les antioxydants (Almela *et al.*, 2006; Djeridane *et al.*, 2006).

Plusieurs études sont axées sur la relation entre l'activité anti-oxydante des composés phénoliques et leurs structures chimiques Khosroyar et Arastehnodeh, (2018). L'activité anti-oxydante des composés phénoliques dépend principalement du nombre et de la position des groupes hydroxyles donneurs d'hydrogène sur les cycles aromatiques des molécules phénoliques (Djeridane *et al.*, 2006).

Laouar *et al.*, (2017) ont rapporté que l'activité anti-oxydante des flavonoïdes et des tannins condensés dépend de la présence de groupes OH libres, en particulier de la présence du 3-OH. Une corrélation significative a été constatée entre la teneur en polyphénols et en flavonoïdes et l'effet anti-radicalaire des extraits de *J. thurifera* avec un coefficient égal  $R^2=0.4680$ ,  $R^2=0,9288$  respectivement; toute fois, il n'ya pas de corrélation entre le taux des tanins et l'effet anti-radicalaire ( $R^2= 0.3158$ ), Ce qui signifie que les composés phénoliques peuvent être impliqués dans le piégeage des radicaux libres.

Ces résultats sont conformes aux résultats de beaucoup de groupes de recherche, qui ont rapporté une telle corrélation positive entre le contenu phénolique total et l'activité radicalaire exprimés en IC50 des genévriers (Al-mustafa et Al-thunibat (2008); Ennajjar *et al.*, (2009); Moein et Moein (2010); Orhan *et al.*, (2011a); Taviano *et al.*, ( 2011); Moein *et al.*,

(2014), Karapandzova *et al.*, (2014); Kurti *et al.*, (2015); Eljemli *et al.*, (2016); Mohammad Samaha *et al.*, (2017)).

Le coefficient de corrélation entre la teneur des extraits *J. thurifera* en flavonoïdes et l'activité anti-radicalaire a été fortement significatif, indiquant que 92% de la capacité anti-radicalaire d'extraits est dû à la contribution des flavonoïdes et qu'ils sont les antioxydants dominants.

Les études de Moein et Moein (2010), Eljemli *et al.*, (2016) et Mohammad Samaha *et al.*, (2017) ont également montré une telle corrélation entre les flavonoïdes et l'activité anti-radicalaire de *J. excelsa.*, *J. thurifera* et *J. procera*.

Les coefficients de corrélation ( $R^2=0.2397$ ,  $R^2=0.1134$ ) ont signalé l'absence d'une corrélation significative entre la teneur des polyphénols et les tanins des extraits de *F. xanthoxyloides*.

Par ailleurs, une corrélation significative entre l'effet anti-radicalaire et la teneur en flavonoïdes des extraits de *F. xanthoxyloides* est trouvée ( $R^2=0.7269$ ).

une corrélation négative statistiquement non significative a été constatée entre les teneurs en composés phénolique et l'activité anti-radicalaire de *F. floribunda* (Arunika *et al.*, 2015). Par contre, une forte corrélation a été constatée entre l'activité de piégeage du DPPH d'extraits de *F. angustifolia* ( $r = 0.97$ ) et leurs teneur en phénols totaux (Atmani *et al.*, 2009).

Les effets anti-radicalaires des extraits des feuilles de *F. ornus* et *F. pennsylvanica* ont présenté des corrélations très significatives avec leurs teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes, Par contre ceux des écorces ont présenté uniquement des corrélations avec la teneur en composés phénoliques (Tahirovic *et al.*, 2017).

Le contenu phénolique élevé est un facteur important pour déterminer les capacités anti-oxydantes des plantes. Les composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins possèdent diverses activités biologiques telles que des activités anti-inflammatoires, anti-cancérigènes et anti-athérosclérotiques. Ces activités pourraient trouver leur explication dans leur caractéristique anti-oxydante (Li *et al.*, 2008).

Le niveau de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité anti-oxydante est un aspect intéressant, mais il faut prendre en considération que les composés phénoliques répondent différemment dans l'analyse, selon le nombre de groupes phénoliques et que les composés phénoliques totaux n'incorporent pas nécessairement tous les antioxydants qui peuvent être présents dans un extrait (Tawaha *et al.*, 2007).

Selon Arunika *et al.*, (2015) la présence de composés non phénoliques, tels que les acides uroniques et les acides aminés est susceptible d'engendrer un pouvoir antioxydant supérieur à ceux générés par les polyphénols. L'attribution exacte de la capacité anti-oxydante à un

composé, ou à un petit groupe de composants dans un extrait de plante est une tâche difficile, du fait que l'activité efficace dépend de plusieurs facteurs, tels que la concentration, les formes isomériques et l'interaction synergique avec d'autres composants (Almela *et al.*, 2006).

#### • Huile essentielle de *J.thurifera*

Nos résultats ont révélé que l'huile essentielle de la partie aérienne de *J. thurifera* n'est pas dotée d'un effet anti-radicalaire. À une concentration très élevée (80 mg/ml) elle a présenté un pourcentage d'inhibition très faible (0.17%).

Par contre les résultats de **Satrani *et al.*, (2015)** ont révélé que l'huile essentielle des branches de *J. thurifera* est dotée d'une activité anti-radicalaire avec une IC50 égale à 4.75 µg/ml. Les auteurs ont expliqué cette capacité par la richesse en terpènes oxygénés (42%).

Nos résultats viennent corroborer ceux rapportés ci-dessous :

Selon **Burits *et al.*, (1999)** il n'a pas été possible de mesurer les concentrations de l'huile essentielle de *J. procera* qui aboutissent à une inhibition de 50% dans les conditions du test DPPH. **Ennajar *et al.*, (2009)** ont attribué la faible réactivité de l'huile essentielle des feuilles et des baies de *J. phoenicea* (5.36 ; 14.71 mg/ml respectivement) à la forte concentration des composés terpéniques (91.0% pour les feuilles et 98.3% pour les baies).

Les extraits de *J. phoenicea* étaient significativement plus efficaces en tant que piègeurs de radicaux libres (IC50=0.029 mg/ml) que les huiles essentielles. Cette activité peut être due aux phénols présents dans ces extraits, absents dans les huiles essentielles (**Boulanouar *et al.*, 2013**). L'huile essentielle des fruits et des feuilles de *J. phoenicea* a montré une capacité anti-oxydante relativement faible (**Menaceur *et al.*, 2013**). De même, l'huile essentielle et l'extrait hexanique de *J. phoenicea* n'ont montré aucune activité anti-radicalaire (**Keskes *et al.*, 2014**). **Höferl *et al.*, (2014)** a révélé que l'huile essentielle des baies de *J. communis* est un réducteur très faible du radical DPPH avec une valeur d'IC50 égale à 34.80 mg/ml.

Dans l'essai DPPH, les huiles essentielles des feuilles et des fruits de *J. communis* subsp. *hemisphaerica* et *J. oblonga* n'ont pas présenté le même effet antioxydant. Les huiles essentielles des feuilles de *J. communis* subsp. *hemisphaerica* ont été les plus actives avec une inhibition égale à 24.0% à une concentration de 4 µl/ml. Les composés purs utilisés comme standards ont montré une activité anti-oxydante très différente, allant de 17.74 % pour le δ-terpinène, aucune activité pour le α-pinène et une activité extrêmement faible pour le β-pinène et le limonène. Selon **Emami *et al.*, (2007)**, les résultats obtenus ne reflètent pas la capacité anti-oxydante réelle des huiles essentielles et leurs composés testés. L'augmentation de l'absorption de leurs solutions peut être due à la production de chromogènes par divers

composés dans la solution, entraînant par conséquent une fausse diminution de l'activité anti-oxydante.

Les résultats de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire de l'huile essentielle des baies de *J. oxycedrus* ssp. *macrocarpa* et *J. oxycedrus* ssp. *rufescens*, en fonction de leur phase de maturité et des sites de récolte ont révélé que l'huile essentielle *J. oxycedrus* ssp. *macrocarpa* récoltée du site Hawaria et extraite des baies mûres est l'antioxydant le plus puissant avec une IC50 égale à 8 µg/ml. Les huiles essentielles des baies mûres ont présenté une activité anti-oxydante relativement forte par rapport aux huiles des baies non mûres. Aucune différence significative entre les effets antioxydants des deux sous-espèces (**Medini et al., 2012**).

Enfin, il existe des différences dans la composition quantitative des huiles essentielles en raison d'un certain nombre de facteurs: l'origine géographique, degré de maturité, méthode d'extraction, etc. Ces différences sont à la base des propriétés biologiques individuelles des huiles essentielles (**Höferl et al., 2014**).

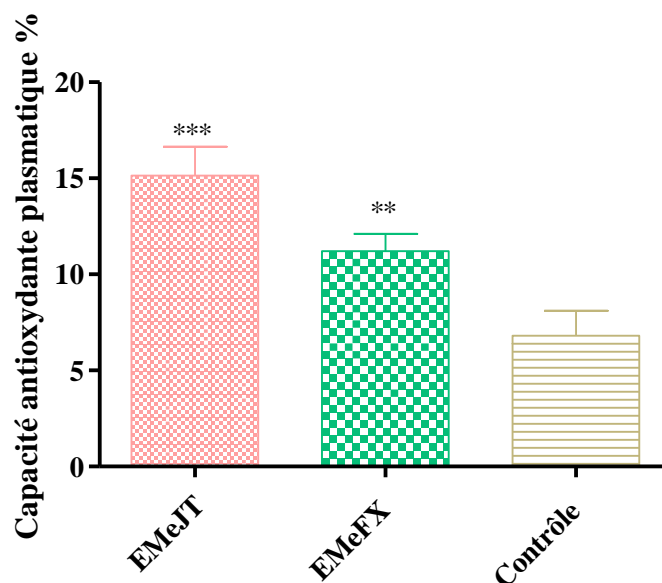
### 7.1.2. *In vivo*

Diverses méthodes ont été appliquées pour estimer la capacité anti-oxydante du plasma sanguin notamment: le pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP), la capacité anti-oxydante en équivalent Trolox (TEAC), la capacité d'absorption des radicaux oxygénés (ORAC), l'effet scavenger du radical DPPH, etc.

Les résultats des différents dosages du même matériel végétal peuvent présenter des différences significatives. Ces derniers sont principalement dus à la diversité de la réactivité des divers antioxydants contribuant à la capacité anti-oxydante du plasma sanguin avec les indicateurs. Seules trois méthodes ont fait l'objet d'applications dans le cadre d'une routine clinique. Il s'agit des tests : ORAC, TEAC et FRAP.

Le test de la réduction du DPPH est rarement utilisé pour déterminer la capacité anti-oxydante plasmatique du plasma sanguin (**Janaszewska et Bartosz, 2002**).

L'administration de l'EMeJT à la dose 400 mg/kg chez les rats pendant 28 jours a entraîné une augmentation très significative ( $p < 0.001$ ) de la capacité anti-oxydante plasmatique ( $15.15 \pm 0.67\%$ ) par rapport au contrôle ( $6.81 \pm 0.57\%$ ). Par contre, l'administration de l'EMeFX a entraîné une augmentation significative ( $p < 0,01$ ) du pouvoir scavenger plasmatique ( $11,21 \pm 0.90\%$ ) (Figure 21.).



**Figure 21.** Capacité anti-oxydante plasmatique de l'EMeJT et de l'EMeFX vis-à-vis du radical DPPH.

(Les valeurs sont les moyennes  $\pm$  SEM (n=5) ; \*\*\* :  $p < 0,001$ , \*\* :  $p < 0,01$  : significativement différent par rapport au témoin.

Le plasma contient un réseau d'antioxydants endogènes tels que l'albumine, bilirubine, glutathion réduit et l'acide urique, ainsi que d'antioxydants exogènes dérivés des aliments. Ces antioxydants peuvent agir de manière complémentaire et synergique pour fournir une meilleure protection contre les ERO (Zerargui *et al.*, 2016).

Selon Pincemail *et al.*, (2014) l'acide urique contribue de 35 à 65%, la vitamine C de 0 à 24%, la vitamine E de 10% et les protéines totaux de 10 à 50% dans la capacité anti-oxydante plasmatique.

Plusieurs études ont montré une amélioration de la capacité anti-oxydante du plasma après un apport alimentaire (Avila-Nava *et al.*, 2014; Zerargui *et al.*, 2016). La plupart des études nutritionnelles ont souligné que l'augmentation du taux plasmatique en polyphénols après la consommation d'aliments riches en ces composés s'accompagne d'une augmentation significative de la capacité anti-oxydante plasmatique mesurée par le test DPPH. Les polyphénols peuvent affecter les voies métaboliques conduisant à la synthèse d'enzymes antioxydants et d'antioxydants endogènes de faible poids moléculaire (Chedea et Pop, 2019). L'augmentation de la capacité anti-oxydante plasmatique est probablement attribuée aux niveaux élevés d'antioxydants exogènes (polyphénols) acquis suite à une administration

orale de l'EMeJT et l'EMeFX dont les propriétés anti-oxydantes ont été déjà démontrées *in vitro*.

### 2.1.2 Pouvoir reducteur du fer ferrique

Dans ce test la réduction du  $Fe^{3+}$  (fer ferrique) en  $Fe^{2+}$  (fer ferreux) est mise en évidence par la mesure spectrophotométrique de l'intensité de la couleur bleu prusse obtenue. Une absorbance élevée du mélange réactionnel indique un pouvoir réducteur élevé. La capacité réductrice d'un composé peut servir d'indicateur significatif de son potentiel antioxydant (Elmasta *et al.*, 2006; Miceli *et al.*, 2009; Elmhdwi *et al.*, 2015).

Tous les extraits (Figure 22, 23) ont présenté un pouvoir réducteur avec l'absence d'une différence significative entre leurs effets ( $p \geq 0.05$ ). À une concentration de 0.060 mg/ml, le BHA a présenté une absorbance égale à 0.131. Tous les extraits ont présenté des absorbances plus faibles que celle du BHA à la même concentration.

Toutes les concentrations des extraits (EHxJT, EDmJT, EMeJT, EHxFX et EDmFX) ont montré des activités moins élevées que l'antioxydant synthétique (BHA). Les différences par rapport à l'antioxydant synthétique ont été statistiquement très significatifs ( $p < 0.01$ ) en ce qui concerne l'EHxJT, l'EDmJT et l'EDmFx et significative ( $p < 0.05$ ) pour l'EMeJT et l'EHxFX.

Seul l'EMeFX qui a présenté une valeur d'absorbance (0.806) se rapproche de celle du BHA (1.790). Statiquement il n'a pas présenté de différence significative par rapport au BHA ( $p \geq 0.05$ ).

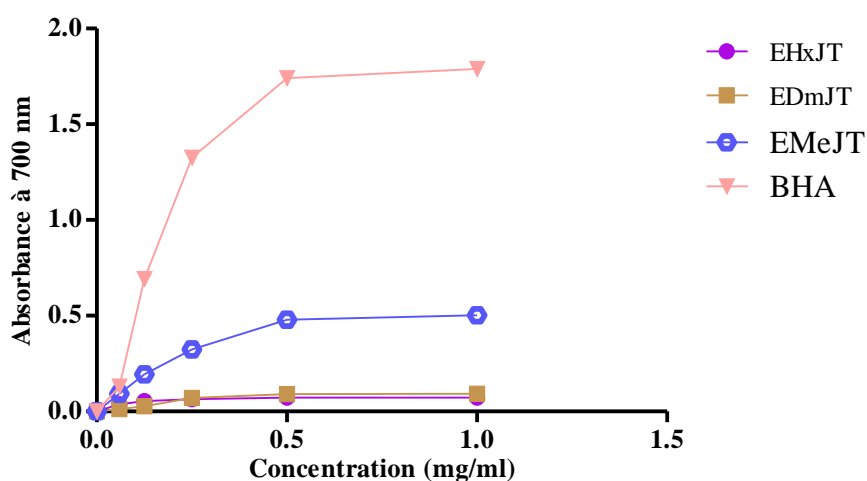
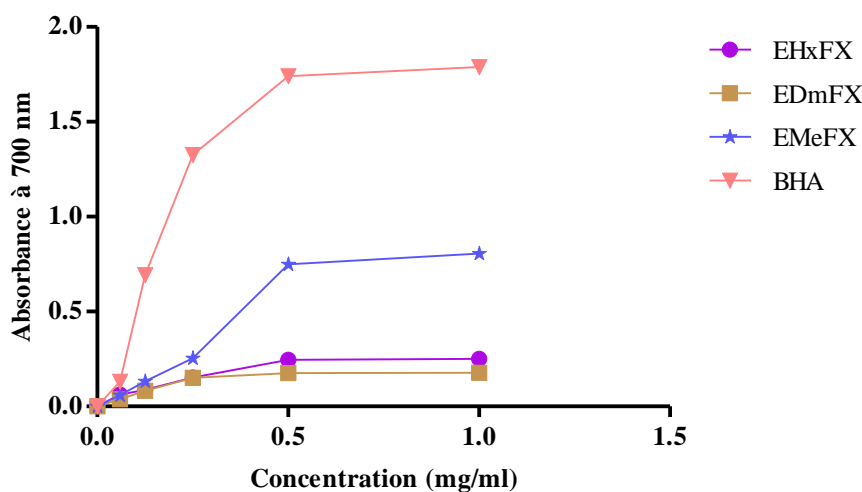


Figure 22. Pouvoir réducteur des extraits de *J. thurifera* et le BHA.

(Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).



**Figure 23.** Pouvoir réducteur des extraits de *F. xanthoxyloides* et le BHA.

(Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).

Des études ont révélé le pouvoir réducteur de quelques espèces qui appartiennent au genre *Juniperus* et *Fraxinus*:

**Eljemli et al.**, ont rapporté en 2016 que l'extrait aqueux de *J. thurifera* a présenté un pouvoir réducteur avec une IC50 égale à  $35.83 \pm 0.37$   $\mu\text{g/ml}$ . L'absorbance des extraits éthanoliques des fruits et des feuilles de *J. foetidissima* et *J. sabina* à la concentration 1mg/ml égale à 0.138; 0.146; 0.072; 0.092 respectivement. Les effets réducteurs ont été moins importants que l'effet de l'EMeJT (0.502) (**Orhan et al.**, 2017).

Les différents espèces du genre *Juniperus* qui représentent le matériel végétal des études de **Lesjak et al.**, (2011); **Lesjak et al.**, (2013); **Lesjak et al.**, (2014); **Lesjak et al.**, (2017); **Chaouche et al.**, (2013) et **Orhan et al.**, (2017) ont témoigné d'une activité réductrice qui dépend nettement de l'organe végétal soumis à l'extraction.

Le pouvoir réducteur des extraits de certaines espèces appartenant au genre *Juniperus* varie d'une espèce végétale à une autre, et au sein de la même espèce. Cette constatation a été mise en évidence par les études de **Miceli et al.**, (2009); **Taviano et al.**, (2011) et **Taviano et al.**, (2013).

D'un autre côté les études d'**Elmasta et al.**, (2006); **Taviano et al.**, (2011) et **Elmhdwi et al.**, (2015) ont montré que la polarité du solvant utilisé pour l'extraction affecte le pouvoir réducteur de : *J. communis* var. *communis*; *J. communis* var. *saxatilis*; *J. drupacea*; *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*; *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* et *J. phoenicea*.

Les extraits méthanoliques de deux espèces appartenant à la famille *Fraxinus* (*F. ornus* et *F. pennsylvanica*) ont montré un pouvoir réducteur, où le pouvoir des extraits des feuilles a été plus important que celui des extraits des écorces (**Tahirovic et al., 2017**).

L'extrait méthanolique et aqueux de *F. rhynchophylla* ont été parmi les extraits des plantes qui ont présenté la plus haute capacité anti-oxydante dans le test FRAP (**Li et al., 2008; Li et al., 2013**). De même l'extrait éthanolique de *F. excelsior* a montré un pouvoir réducteur important (**Bonomo et al., 2017**).

Le pouvoir réducteur des extraits (hexanique, acétate d'éthyle, chloroformique et éthanolique) de *F. angustifolia* est généralement faible, tandis que les fractions aqueuse issues d'acétate d'éthyle et du chloroforme ont présenté un pouvoir réducteur comparable à celui du  $\alpha$ -tocophérol (**Atmani et al., 2009**).

Le pouvoir réducteur (FRAP) et le test DPPH utilisent le même mécanisme de transfert d'un électron unique. Ainsi, la révélation d'une importante activité mesurée selon ces méthodes, montre un pouvoir réducteur des composants constituant les extraits. Bien qu'avec le même mécanisme d'action dans ces deux méthodes et le même extrait, un composé phénolique peut avoir une cinétique d'oxydation différente selon le test utilisé et par conséquent un comportement différent (**Boulanouar et al., 2013**).

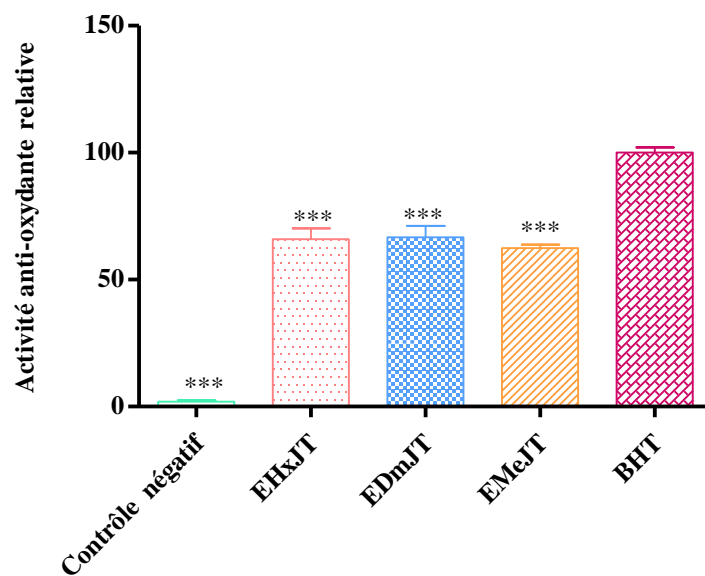
### II.2.1.3. Blanchiment du $\beta$ -carotène

L'inhibition de la peroxydation lipidique par les extraits de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides* a été déterminée par le test de blanchiment de la  $\beta$ -carotène / acide linoléique. Ce test simule l'oxydation des composants lipidiques de la membrane en présence d'antioxydants à l'intérieur des cellules (**Keskes et al., 2014**).

Selon **Chaouche et al., (2013)**, l'oxydation de l'acide linoléique produit des radicaux libres de type dérivés d'hydroperoxydes qui attaquent les onze paires des doubles liaisons de la  $\beta$ -carotène, entraînant la disparition de sa couleur jaune.

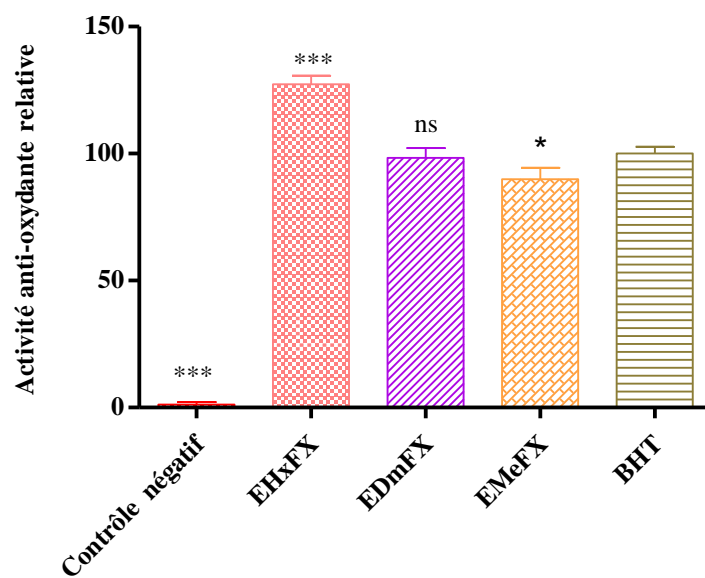
La présence d'échantillons à activité anti-oxydante peut retarder la décoloration du  $\beta$ -carotène en neutralisant les radicaux libres formés dans le système (**Keskes et al., 2014**).

Comme le montre les résultats de ce test exprimés en AAR, tous les extraits de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides* ont inhibé la décoloration du  $\beta$ -carotène en piégeant les radicaux libres dérivés des linoléates (Figures 24, 25.).



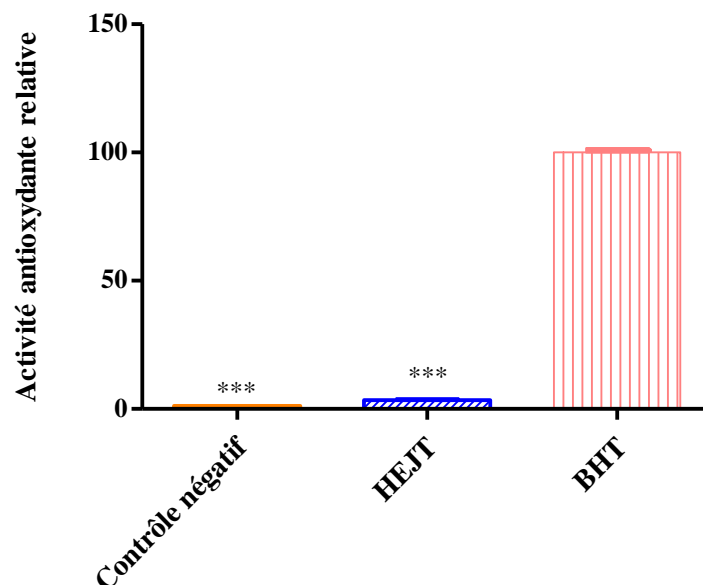
**Figure 24.** Activité anti-oxydante relative des extraits *J. thurifera* et du BHT.

(Les valeurs sont la moyenne de trois répétitions ± SD ; \*\*\* :  $p < 0,001$  : significativement différent par rapport au témoin).



**Figure 25.** Activité antioxydante relative des extraits *F. xanthoxyloides* et du BHT.

(Les valeurs sont la moyenne de trois répétitions ± SD ; \*\*\* :  $p < 0,001$  ; \* :  $p < 0,05$  : significativement différent par rapport au témoin, ns: différences non significative par rapport au témoin).



**Figure 26.** Activité antioxydante relative de l’huile essentielle de *J. thurifera* et du BHT.

(Les valeurs sont la moyenne de trois répétitions  $\pm$  SD ; \*\*\* :  $p < 0,001$  : significativement différent par rapport au témoin).

Les activités anti-oxydantes relatives des trois extraits de *J. thurifera* (EHxJT=65.90  $\pm$  4.25%, EDmJT=66.61  $\pm$  4.56%, et EMeJT=62.46  $\pm$  1.34%) n’ont pas présenté statiquement des différences significatives ( $p \geq 0.05$ ); par contre une différence très significative par rapport à l’antioxydant synthétique BHT ( $p < 0.001$ ) a été constatée.

L’ordre croissant de la capacité antioxydante relative des extraits de *F. xanthoxloides* a été comme suit : L’EHeFX (127.34  $\pm$  3.31%); EDmFX (98.25  $\pm$  3.92%); EMeFX (89.97  $\pm$  4.51%).

L’activité de L’EHeFX est significativement supérieure ( $p < 0,001$ ) à celle du BHT. L’effet de l’extrait EDmFX a été appréciable et son pouvoir antioxydant n’a pas présenté une différence par rapport au BHT ( $p \geq 0.05$ ). Une différence significative a été constatée entre L’EMeFX et le BHT ( $p < 0.05$ ). Seuls l’EDmFX et l’EMeFX qui n’ont pas présenté de différence significative entre eux ( $p \geq 0.05$ ).

L’effet de l’huile de *J. thurifera* a présenté un effet très faible (3.73  $\pm$  1.07%), ce qui a été exprimée statiquement par l’absence d’une différence significative ( $p \geq 0.05$ ) par rapport au contrôle négatif (Figure 26.).

Tous les échantillons testés de *J. drupacea* ont présenté une activité anti-oxydante appréciable. L’extrait éthanolique et l’extrait d’éther de pétrole à la concentration 200  $\mu\text{g/ml}$

ont présenté des taux d'inhibition égales à 88.9 et 83.6% respectivement (**El-ghorab et al., 2008**).

Le pourcentage d'inhibition de la décoloration du  $\beta$ -carotène présenté par l'extrait méthanolique des feuilles de *J. phoenicea* est égale à 13.90%, tandis que celui des rameaux est égale à 20.33 % et celui des baies égale à 2.51% (**Soltani et al., 2017**). En effet, les taux d'inhibition des extraits de *J. phoenicea* sont inférieures par rapport à celui de l'EMeJT (62.49%). De plus, l'extrait d'écorce des racines de *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* a inhibé la décoloration du  $\beta$ -carotène d'une manière plus importante que l'extrait des aiguilles (**Chaouche et al., 2013**).

Les extraits méthanoliques de *J. foetidissima*; *J. phoenicea*; *J. excelsa*; *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*; *J. communis* subsp. *nana*; *J. sabina* ont efficacement inhibé l'oxydation de l'acide linoléique. Les extraits méthanoliques de *J. phoenicea* et *J. sabina* ont été les plus puissants et ont présenté à la concentration 100  $\mu\text{g/ml}$  un taux d'inhibition égale à 81.14; 74.13% respectivement (**Ozturk et al., 2011**).

La méthode du blanchiment du  $\beta$ - carotène a mis en évidence l'inhibition modérée (38.41%) de l'extrait éthanolique du *F. excelsior* (**Bonomo et al., 2017**). Un effet faible par rapport à celui de l'EMeFX (89.97%).

Contrairement à l'HEJT obtenue par distillation, l'huile essentielle de *J. phoenicea* obtenue par un Clevenger a été dotée d'une activité très importante où le taux d'inhibition a atteint un taux de 89.9%. En outre, son extrait méthanolique a été un puissant antioxydant (79.2%), alors que son extrait hexanique n'a pas montré aucune activité anti-oxydante (**Keskes et al., 2014**).

L'étude de **Soltani et al., (2017)** a révélé que l'inhibition du blanchiment du  $\beta$ -carotène dépend d'un côté de l'organe végétal et d'un autre côté du solvant utilisé pour l'extraction.

Les résultats de cette étude ont révélé l'absence d'une corrélation entre les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins et l'activité anti-oxydante relatives des extraits de *J. thurifera* ( $R^2=0.2727$ ;  $R^2=0.04146$ ;  $R^2=0.2635$  respectivement). Les composés phénoliques n'agissent pas comme les plus importants composants antioxydants d'un extrait. Il peut y en avoir d'autres constituants actifs non phénoliques tels que les acides uroniques et les acides aminés, susceptibles de produire un pouvoir antioxydant supérieur à ceux générés par les polyphénols (**Arunika et al., 2015**).

Les effets antioxydants des extraits de *F. xanthoxyloides* se sont corrélés avec les teneurs en polyphénols, les flavonoïdes et les tanins ( $R^2=0.4681$ ;  $R^2=0.5070$ ;  $R^2=0.6210$  respectivement).

## 2.2. Activité antimicrobienne

La résistance aux agents antimicrobiens est actuellement reconnue comme un problème mondial majeur de la santé publique. Les extraits des plantes doués d'effet antimicrobien ont été considérés comme une source de nouveaux agents antimicrobiens pour l'avenir. Les composés phénoliques sont connus pour avoir une activité contre un grand nombre de micro-organismes (Miceli *et al.*, 2011).

### •Extraits organiques

Le potentiel antimicrobien des extraits de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides* a été évalué en utilisant plusieurs souches, chacune possédant une structure cellulaire et un métabolisme particulier.

Les zones d'inhibition obtenues sont représentées dans les tableaux ci-dessous.

**Tableau 10.** Diamètre de la zone d'inhibition de l'EMeJT.

Les souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition *(mm)			
	Les dilutions de l'EMeJT			
	1/2	1/4	1/8	1/16
<i>Escherichia coli</i> ATCC	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	13.66± 1.69	12.66 ± 1.54	9.66 ± 0.58	8.00 ± 0.00
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	16.33 ± 1.15	14.33 ± 0.58	11.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00
<i>Entérobacter</i> sp BLSE	-	-	-	-
<i>Klebseila pneumoniae</i> BLSE	-	-	-	-

**Tableau 11.** Diamètre de la zone d'inhibition de l'EDmJT.

Les souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition *(mm)			
	Les dilutions de l'EDmJT			
	1/2	1/4	1/8	1/16
<i>Escherichia coli</i> ATCC	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	7.00± 0.00	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	11.66 ± 0.58	10.33 ± 2.08	10.00 ± 0.00	9.33 ± 0.58
<i>Entérobacter</i> sp BLSE	-	-	-	-
<i>Klebseila pneumoniae</i> BLSE	-	-	-	-

**Tableau 12.** Diamètre de la zone d'inhibition de l'EHxJT.

Les souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition *(mm)			
	les dilutions de l'EHxJT			
	1/2	1/4	1/8	1/16
<i>Escherichia coli</i> ATCC	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	7.00± 0.00	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	15.66 ± 0.58	14.66 ± 0.58	13.33 ± 1.54	12.33 ± 0.58
<i>Entérobacter sp</i> BLSE	-	-	-	-
<i>Klebseila pneumoniae</i> BLSE	-	-	-	-

(\*) Diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques par l'ajout de 10 µL d'extrait.  
(Diamètre du disque est inclus) les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ±SD.

La sensibilité à l'extrait éthanolique de *J. Capparis spinosa*, *Juniperus phoenicea*, *Ruta graveolans* et *Artimisia herba alba* est classée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit : non sensible (-) pour le diamètre moins de 6 mm; sensible (+) pour un diamètre entre 6-15 mm; très sensible (++) pour un diamètre entre 16-25 mm et extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus que 25 mm (Aljayash *et al.*, 2014).

Le tableau 13. ci-dessous montre la sensibilité des souches testées vis-à-vis les extraits de *J. thurifera*.

**Tableau 13.** La sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les extraits de *J. thurifera*.

Souches bactériennes	Sensibilité		
	EMeJT	EDmJT	EHxJT
<i>Escherichia coli</i> ATCC	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	++	+	++
<i>Entérobacter sp</i> BLSE	-	-	-
<i>Klebseila pneumoniae</i> BLSE	-	-	-

Non sensible (-), Sensible (+), Très sensible (++) , Extrêmement sensible (+++)

Les résultats ont montré que:

Les souches *Escherichia coli* ATCC, *Entérobacter sp* BLSE, *Klebseila pneumoniae* BLSE possèdent un potentiel de résistance très élevé contre l'action antibactérienne des 3 extraits de *J. thurifera*.

L'EMeJT, EDmJT et l'EHxJT se sont avérés actifs contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC et *Staphylococcus aureus* ATCC. Cette dernière a été sensibilisée même à faibles concentrations d'extraits. À la dilution 1/16 L'EHxJT est demeuré actif contre *Staphylococcus aureus* ATCC (12.33mm).

Tous les extraits de *F. xanthoxyloides* ne sont pas doués d'effet antibactérien.

Les résultats ont révélé des réponses variables en fonction des souches, de la concentration, du type de l'extrait testé et que la sensibilité ou la résistance aux antibiotiques n'a aucun rapport avec celle des extraits.

Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram (+) vis-à-vis les extraits de certains espèces de *Juniperus* par rapport aux Gram (-) ( **Ennajar et al., 2009; Miceli et al., 2009; Miceli et al., 2011; Taviano et al., 2011; Ehsani et al., 2012; Taviano et al., 2013; Weli et al., 2014; Mohammad Samaha et al., 2017**), ceci peut être attribué à la différence de la composition des membranes externes des bactéries Gram (-) et Gram (+).

Les extraits hexaniques et éthanoliques de *J. excels* à la concentration 2 mg/ml n'ont aucun effet sur *E. coli*, mais ils ont inhibé la croissance de *S. aureus* (13.29 mm) et *P. aeruginosa* (8.7 mm) (**Weli et al., 2014**).

Les extraits de *J. foetidissima; J. phoenicea; J. excelsa; J. oxycedrus subsp. oxycedrus; J. communis subsp. nana; J. sabina* à une concentration de 20 mg/ml ont présenté une activité contre certains des microorganismes testés. L'extrait méthanolique de *J. sabina* a présenté une zone de 8 mm contre *P. aeruginosa* ATCC. *S. aureus* ATCC a été inhibé par l'extrait hexanique de *J. excelsa*, l'extrait méthanolique de *J. foetidissima* et *J. sabina* (7, 8, 8.5 mm respectivement) (**Ozturk et al., 2011**).

Des effets antibactériens intéressants par rapport à ceux enregistrés chez l'EHxJT et l'EMeJT qui ont été utilisés à des concentrations qui s'étendent de 62.5 jusqu'à 500 mg/ml.

Les extraits méthanoliques de *J. communis var. communis, J. communis var. saxatilis, J. drupacea, J. oxycedrus subsp. oxycedrus, J. oxycedrus subsp. macrocarpa, J. drupacea* ont montré une meilleure activité contre *S. aureus* (**Taviano et al., 2011; Miceli et al., 2011; Taviano et al., 2013**).

L'effet antibactérien des différents extraits de *J. indica, J. oxycedrus et J. communis* change selon les solvants utilisés pour l'extraction (**Karaman et al., 2003; Kumar et al., 2010a; Kumar et al., 2010b; Sati et Joshi, 2010; Mahajan et al., 2012**).

La croissance d'*E. coli* a été inhibée par des extraits d'autres espèces qui appartiennent au genre *Juniperus*, notamment : l'extrait méthanolique de *J. oxycedrus* (**Digrak et al., 1999**), l'extrait éthanolique et l'extrait d'ether de pétrole de *J. drupacea* (**El-ghorab et al., 2008**),

l'extrait méthanolique et hexanique de *J. communis* (Sati et Joshi, 2010), l'extrait méthanolique de *J. phoenicea* et *J. communis* subsp. *nana* (Ozturk et al., 2011), l'extrait d'éther de pétrole de *J. indica* (Mahajan et al., 2012), et l'extrait méthanolique de *J. phoenicea* ssp. *phoenicea* (Elmhdwi et al., 2015).

L'extrait méthanolique et d'éther de pétrole de *J. communis* à la concentration 100 mg/ml s'est avéré actif vis-à-vis *P. aeruginosa*, *E. coli* et *S. aureus* dont les zones d'inhibitions varient entre 14 mm et 16.5 mm. On peut attribuer la différence entre les résultats trouvés par Kumar et al., (2010) et nos résultats à la méthode d'extraction (soxhlet) utilisée.

L'étude de Digrak et al., (1999) a révélé que l'activité antimicrobienne *J. oxycedrus* est organo-dépendante.

L'extrait éthanolique des branches de *F. uhleia* s'est révélé actif contre *S. aureus* et inactif vis-à-vis *E. coli* (Dimayuga et Garcia, 1991).

L'étude (Middleton et al., 2005) n'a révélé aucune activité antimicrobienne sélective vis-à-vis les bactéries Gram (+) ou Gram (-). Toutes les espèces bactériennes testées à l'aide de la microplaque à 96 puits notamment *E. coli* NCIMB 8110 ; *E. coli* NCIMB 4174; *S. aureus* NCTC 10788; *S. aureus* NCTC 11940 et *P. aeruginosa* NCTC 6750 ont été sensibles à l'extrait hexanique et dichlorométhanolique de *F. Excelsior*. L'extrait méthanolique n'a pas inhibé la croissance d'*E. coli* NCIMB 4174 et *S. aureus* NCTC 11940.

Les bactéries Gram (-) indépendamment de la membrane cellulaire, possèdent une couche supplémentaire, qui se compose de phospholipides, de protéines et de lipopolysaccharides. Cette membrane est imperméable à la plupart des molécules. Néanmoins, la présence des porines dans cette couche permettra la diffusion libre des molécules ayant une masse moléculaire en-dessous de 600 Da (Georgantelis et al., 2007).

La différence structurelle des bactéries joue un rôle important dans leur sensibilité. Sans membrane externe, la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif peut être pénétrée facilement et par conséquent la force motrice des protons, le flux d'électrons, le transport actif et la coagulation du contenu cellulaire est perturbé (Ennajjar et al., 2009).

L'hypersensibilité de la souche *Staphylococcus aureus* ATCC peut s'expliquer par la probabilité de la sensibilité des bactéries Gram (+) aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH, et les extraits naturels dus à l'absence de la membrane externe (Balentine et al., 2006).

L'inhibition de la croissance des bactéries Gram (-) a été rapportée, particulièrement en présence des facteurs qui peuvent déranger l'intégrité de la cellule et/ou la perméabilité de la

membrane, telle que les basses valeurs du pH et les concentrations accrues en NaCl (**Georgantelis et al., 2007**).

Pour qu'un composé phénolique fonctionne efficacement comme un agent antimicrobien, il doit être partiellement hydrophobe. L'hydrophobicité partielle de certains composés phénoliques leur permet d'agir efficacement au niveau de l'interface membranaire, ce qui déstabilise en conséquence la cellule en affaiblissant son intégrité membranaire.

De plus, l'activité bactériostatique contre les bactéries Gram (+) peut être due à la formation d'agrégats pseudomulticellulaires. Il a été récemment démontré que le 3-O-octanoyl (-) épicatechine induit la formation de ces agrégats. Probablement, les flavonoïdes ne tuent pas les cellules bactériennes mais induisent simplement la formation d'agrégats bactériens et réduisent ainsi le nombre d'UFC dans les comptes viables (**Miceli et al., 2011**).

Plusieurs études ont rapporté que les différences trouvées peuvent être attribuées à plusieurs variables tels que les facteurs inhérents (variété, facteurs écologiques, variations saisonnières) (**Moreira et al., 2005; Sagdic et Ozcan 2003; Celiktas et al., 2007b; Turkmen et al., 2007**), le solvant et la méthode utilisée pour l'extraction, la sensibilité des bactéries (**Loziene et al., 2007**), la charge du disque (**Rasooli et al., 2008**), la méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne (**Natarajan et al., 2005; Fazeli et al., 2007**) et finalement l'organe de la plante utilisé (**Natarajan et al., 2005**).

Plusieurs classes de polyphénols telles que les acides phénoliques, flavonoïdes et les tanins servent comme un mécanisme de défense des plantes contre les micro-organismes, les insectes, et les herbivores pathogènes (**Falleh et al., 2008**). L'epigallocatechine, la catéchine, la myricétine, la quercétine, (**Shan et al., 2007**) et la lutéoline (**Askun et al., 2009**) sont des substances antibactériennes importantes.

Selon **Miceli et al., (2009)** les polyphénols, en particulier les flavonoïdes, se sont révélés des agents antimicrobiens efficaces contre plusieurs micro-organismes. Des études dont le but est la recherche du mécanisme d'action des flavonoïdes ont montré que ces composés ont des multiples cibles et non pas un site spécifique. L'activité de l'apigénine, a été partiellement attribuée à l'inhibition de l'ADN gyrase.

Il est certain que l'activité antimicrobienne des extraits dépend non seulement de la présence des composés phénoliques mais également d'autres métabolites secondaire tels que les terpénoïdes, dont l'activité antimicrobienne a été largement confirmée (**Miceli et al., 2009**). Selon **Falleh et al., (2008)** l'activité antimicrobienne dépend de l'emplacement et le nombre des groupes d'hydroxyles.

La présence de l'apigénine, lutéoline révélée par HPLC, peut expliquer l'activité antibactérienne de certains extraits de *J. thurifera*. L'inefficacité des extraits de *F. xanthoxyloides* pourrait être due à l'incapacité des agents antibactériens de diffuser uniformément dans l'agar (Hayouni *et al.*, 2007).

Il est important, de préciser qu'un résultat observé lors de l'évaluation d'un extrait brut ou d'une fraction enrichie est la composante de deux paramètres : l'activité intrinsèque des produits actifs et leur quantité relative dans l'extrait. Par exemple, une activité avérée d'un extrait peut aussi bien être le reflet d'une faible quantité de constituants très actifs que d'une grande quantité de constituants peu actifs (Ferrari, 2002), ou à certains constituants tels que les hydrocarbures et les alcools qui ont démontré une synergie (Chaibi *et al.*, 1997).

Il ne faut pas oublier que le produit actif qui se présente dans la plante peut être : soit actif sans être métabolisé et aura ainsi une activité *in vitro* et *in vivo* ; soit actif après métabolisme et dans ce cas il sera inactif *in vitro* et actif *in vivo*.

Des études ont montré qu'en fonction de la période de la récolte, il aura des variations très importantes dans la composition chimique et par conséquent dans l'activité biologique. A titre d'exemple le taux d'acide vanillique dans le latex obtenu par incision du tronc d'*Alafia multiflora* varie selon la période de récolte de 5% à 16% et parallèlement son effet d'un facteur 3. Il est toujours possible que l'ajout de DMSO à un extrait végétal diminue son effet de telle manière que le résultat n'a qu'une valeur relative (Balansard, 2007).

Finalement, il s'agit d'extraits, contenant un grand nombre de composés différents. Il est donc probable qu'ils contiennent des composés qu'une fois purifiés, auront une activité comparable à celle d'un agent chimique.

#### • Huile essentielle de *J. thurifera*

De même, la sensibilité aux différentes huiles a été classée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit : non sensible (-) pour le diamètre moins de 8 mm ; sensible (+) pour un diamètre entre 9-14 mm; très sensible (+ +) pour un diamètre entre 15-19 mm et extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus que 20 mm (Moreira *et al.*, 2005) (Tableau 14.).

**Tableau 14.** Diamètre de la zone d'inhibition de l'HEJT la sensibilité des souches microbiennes.

Souches microbiennes	Diametre de la zone d'inhibition (mm)*	Sensibilité
<i>Escherichia coli</i> ATCC	7.33 ± 1.15	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	39.33±1.15	+++
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	13.66±0.58	+
<i>Entérocooccus feacalis</i>	-	-
<i>Klebseila pneumoniae</i> BLSE	-	-
<i>Candida albicans</i>	14±1.00	+

(\*) Diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques par l'ajout de 10 µL d'extrait. (Diamètre du disque est inclus) les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ±SD.

(-) non sensible; (+) sensible et (+++) extrêmement sensible.

Les résultats ont montré que :

L'HEJT s'est révélée actif contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, *Staphylococcus aureus* ATCC et *Candida albicans*.

L'HEJT a montré un effet antimicrobien remarquable et comparable à celui de quelques antifongiques et des antibiotiques de référence.

La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* ATCC est une bactérie Gram (-), mais elle s'est révélée extrêmement sensible à l'EHJT. La zone d'inhibition de L'HEJT (39 mm) est supérieure à celle obtenue avec quelques antibiotiques (Gentamicine 14 mm, Imipeneme 16mm ; Ticarcilline + Acide clavulanique 23mm)

L'effet de l'HEJT contre *Candida albicans* (14mm) est similaire à celui de l'antifongique l'Amphoteric -B.

L'HEJT n'a pas conservé son effet microbien après les dilutions (1/250, 1/500, 1/1000, 1/2000).

Les huiles essentielles extraites des rameaux de *J. thurifera* se sont montrées actives et ont inhibé tous les micro-organismes (*E. coli*, *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *Micrococcus luteus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium expansum*) à la concentration de 1/100. Le germe le plus sensible était *Penicillium expansum* dont la croissance est inhibée a une concentration 1/2000 (Mansouri et al., 2010).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles des baies mûres et non mûres et des feuilles de *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus*, *J. phoenicea* ssp. *turbinata* et *J. communis* ssp. *communis*

contre *Candida albicans*, *S. aureus*, *E. coli*, et *P. aeruginosa* était généralement non significative (Angioni *et al.*, 2003). La concentration 1/250 de l'huile essentielle des rameaux de *J. communis* était suffisante pour inhiber la croissance d'*E. coli*, *S. aureus* (Mansouri *et al.*, 2011b).

Six souches bactériennes (y compris *S. aureus* ATCC, *Enterococcus faecalis* MFBF) parmi les neuf souches testées ont été sensibles à l'huile essentielle des baies de *J. communis*. La souche *E. coli* a été résistante. Les bactéries Gram (-) ont été moins sensibles que les Gram (+). Toutes les levures et les champignons (y compris *Candida albicans* MFBF) se sont avérés sensible (Pepeljnjak *et al.*, 2005).

L'huile essentielle de feuilles de *J. phoenicea* a montré une activité antimicrobienne modérée contre les souches bactériennes Gram (+) et inactive contre les souches Gram (-) (Aitouazzou *et al.*, 2012).

Angioni *et al.*, (2003) ont signalé que les huiles essentielles des feuilles de *J. phoenicea* ont une faible activité contre *S. aureus* et aucune activité contre *E. coli* et *P. aeruginosa*.

L'huile essentielle de feuilles de *J. phoenicea* a présenté également une faible activité antimicrobienne vis-à-vis *S. aureus* (10.3 mm); *E. coli* (9.6 mm); *P. aeruginosa* (6.8 mm) (Mazari *et al.*, 2010).

Les résultats de la méthode de microdilution en bouillon ont montré que les huiles essentielles de *J. communis*, *J. oxycedrus* et *J. phoenicea* subsp. *turbinata* n'ont pas inhibé la croissance d'*E. coli* ATCC, *S. aureus* ATCC et *P. aeruginosa* ATCC (Cosentino *et al.*, 2003). La comparaison des valeurs des CMI (Concentration minimal inhibitrice) a montré que les huiles essentielles des rameaux *J. sabina* et des feuilles de *J. foetidissima* ont une faible activité antimicrobienne contre *Candida albicans*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* (Asili *et al.*, 2010).

L'huile essentielle des feuilles de *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* a montré une activité marquée contre certains souches *Candida*, en particulier *C. krusei*, *C. glabrata* et *C. albicans* D5 (Cavaleiro *et al.*, 2006).

Les huiles essentielles des baies de *J. drupacea*; *J. oxycedrus*. subsp. *macrocarpa*; *J. oxycedrus*. subsp. *oxycedrus*; *J. phoenicea* sont plus actives que les huiles des feuilles.

La croissance des souches *Candida albicans*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* a été inhibée seulement par l'huile essentielle des baies. L'huile essentielle des baies de *J. oxycedrus* sp. *oxycedrus* était la plus active tandis que celle des feuilles de *J. phoenicea* était la plus faible. L'activité antibactérienne des fractions de l'huile essentielle des baies *J.*

*oxycedrus* subsp. *oxycedrus* a été testée et les résultats ont montré que la fraction la plus active était riche (88.4%) en  $\alpha$ -terpineol (Stassi *et al.*, 1996).

Il y'a une efficacité d'inhibition plus remarquable des huiles essentielles des rameaux des deux sous-espèces de *J. phoenicea* (*J. phoenicea* ssp. *lycia* et *J. phoenicea* ssp. *turbinata*) par rapport aux huiles essentielles des fruits (Mansouri *et al.*, 2011a).

De même les résultats d'El-Sawi *et al.*, (2007); Ennajjar *et al.*, (2009) et Amalich *et al.*, (2015) ont montré que l'effet de l'huile essentielle de *J. phoenicea* est organo-dépendant.

L'influence de la méthode de séchage sur le rendement, la composition chimique et l'activité anti-oxydante et antimicrobienne des huiles essentielles des feuilles et des baies de *J. phoenicea* a été rapporté par Ennajjar *et al.*, (2010).

Ennajjar et ses collaborateurs (2009) ont attribué la différence dans l'effet antimicrobien des huiles des feuilles et des baies de *J. phoenicea* à la présence des monoterpènes et sesquiterpènes oxygénés dans le profil chimique de l'huile essentielle des feuilles.

L'étude de Balaban *et al.*, (2003) a montré que l'activité antifongique des extraits de *J. foetidissima* diffèrent largement en fonction des espèces de champignons et de la polarité des extraits.

L'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *J. phoenicea* récolté à partir de 4 sites différents (Boutaleb (Setif), Boussâada (M'sila), Menâa et T'kout (Batna) et Elhadjab (Biskra)) ont montré des activités qui varient d'un site à autre. L'échantillon d'Elhadjab a été le plus actif (Ramdani *et al.*, 2013).

L'étude de Moein *et al.*, (2010) a révélé l'effet de la charge du disque sur l'effet antimicrobien. Les disques ont été imbibés soit par 2, 4 ou 8  $\mu$ l de l'huile essentielle de *J. excelsa*. sp. *polycarpus*. La quantité de 8 $\mu$ l par disque qui a permis l'inhibition de tous les microorganismes testés.

L'influence du contenu de la gélose sur la solubilité de certains constituants de l'huile a été établie. Plus la teneur en agar est élevée, plus la solubilité est faible, plus les zones d'inhibition sont petites. Le pH du milieu semble également jouer un rôle important. Par exemple l'huile d'anis était plus active contre *Penicillium brevicompactum*, *Aspergillus fumigatus* et *Cladosporium herbarum* à pH égale à 4.8 qu'à pH égale à 6.8 (Janssen *et al.*, 1987).

La différence dans la sensibilité des souches testées peut être attribuée à la capacité de la pénétration des constituants de l'huile essentielle à travers la paroi cellulaire. La capacité de l'huile essentielle à rompre la barrière de perméabilité des membranes cellulaires et la perte du (Ennajjar *et al.*, 2010).

L'huile essentielle de la plante *J. sabina* possède une activité antimicrobienne qui s'est corrélée avec les teneurs en terpènes (**Abdel-Kader et al., 2017**).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles pourrait, en partie être associée à leurs constituants majeurs. Des études antérieures ont montré l'effet antimicrobien de certains composants tels que:  $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -phellandrène,  $\alpha$ -terpinyl acétate et le cédrol. Par ailleurs, les composants en quantité mineure peuvent également contribuer à l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, impliquant probablement un certain type de synergie avec d'autres composés actifs (**Ennajjar et al., 2009; Mazari et al., 2010**).

Les huiles essentielles des brindilles et des feuilles de *J. excelsa* ont montré des activités antimicrobiennes intéressantes contre *S. aureus*, par contre elles étaient inefficaces contre *E. coli* et *C. albicans*. Les trois principaux constituants ( $\alpha$ -Pinène  $\alpha$ -Cédrol et le  $\delta$ -Car-3-ène) ont été testés séparément et en mélange en fonction de leurs quantités respectives dans l'huile (40%  $\alpha$ -pinène, 30%  $\alpha$ -cédrol, 5%  $\delta$ -car-3-ène,). Le  $\delta$ -Car-3-ène a été le composant le plus actif. La plupart des composants de cette huile ont été identifiés et n'ont pas expliqué en détail l'activité biologique de cette huile (**Khoury et al., 2014**).

Il est difficile d'attribuer l'activité d'un mélange complexe à un constituant particulier. L'attribution de l'activité de *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* au composé principal le  $\alpha$ -pinène ne semble pas fondée par ce que l'évaluation de l'activité antifongique du  $\alpha$ -pinène et du  $\delta$ -3-carène a révélé que ce dernier est le plus actif constituant de l'huile essentielle de *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* (**Cavaleiro et al., 2006**).

L'huile essentielle de *J. communis* et ses fractions obtenues ont été testées pour évaluer leur activité antimicrobienne contre certaines bactéries, levures et champignons. Il a été établi que les fractions contenant les concentrations élevées en  $\alpha$ -pinène (99.5%) ou le  $\alpha$ -pinène et sabinène (63.1%, 35.7%) ont inhibé efficacement la croissance des micro-organismes en particulier celle des champignons. L'huile essentielle a présenté une faible activité antimicrobienne (**Glisic et al., 2007**).

Les zones d'inhibition les plus importantes de l'huile essentielle de *J. communis* ont été observées chez les deux souches de *C. albicans* (37 et 29.3 mm) et les deux souches de *S. aureus* (24 et 28 mm). Le reste des souches testées, y compris *P. aeruginosa*, se sont avérées peu sensible ou résistantes. Aucun des composants de l'huile essentielle n'a été un inhibiteur antibactérien ou antifongique plus puissant que l'huile elle-même. L'effet antimicrobien peut être le résultat de l'effet synergique de tous les composants ou l'activité d'un seul composant qui n'est pas encore identifié (**Filipowicz et al., 2003**).

Selon **Aitouazzou et al., (2012)** la souche d'*E. coli* a présenté une sensibilité significativement plus élevée à un certain nombre de composés, tels que le terpinène-4-ol et le linalol. Comme ces deux composés n'ont pas été préalablement détectés dans l'huile essentielle de *J. thurifera*, ceci peut expliquer la résistance d'*E. coli* à cette huile.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des arbres mâles et femelles de *J. thurifera* a montré que l'effet antimicrobien dépend du type de l'huile extraite.

L'huile essentielle des arbres femelles ont été les plus actives. La zone d'inhibition maximale a été enregistrée chez *S. aureus* ATCC (17 mm) et *E. coli* ATCC (16 mm). La croissance de *P. aeruginosa* ATCC n'a pas été inhibée. Le sexe de l'arbre affecte la composition chimique et l'activité antibactérienne des huiles essentielles. La croissance des arbres femelles est moins active que les arbres mâles, par contre la biosynthèse des métabolites secondaires est plus importante chez les arbres femelles, ce qui peut expliquer l'effet antibactérien des huiles essentielles de ce type d'arbres (**Zeraïb et al., 2014**).

Comme la variabilité de la composition chimique d'une huile essentielle influe son effet antimicrobien, il convient de signaler que la composition elle-même est influencée par les facteurs suivants: la source botanique (espèce), le lieu de récolte du matériel végétal, période de la récolte, stade de développement, l'état du matériel végétal (frais ou séché), et la technique d'extraction.

L'activité antimicrobienne peut parfois être très différente, même au sein d'une même espèce lorsque l'on utilise différentes souches du même micro-organisme.

La période d'essai pour les champignons est longue, la décomposition de l'huile essentielle peut se produire pendant cette période. Le milieu d'essai est un facteur important pour la détermination de l'activité antimicrobienne d'une substance. Les composants du milieu peuvent réagir avec les composants des huiles essentielles en les activant ou en les désactivant (**Janssen et al., 1987**).

**Mansouri et al., (2010)** ont attribué l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle des rameaux de *J. thurifera* à la présence du  $\beta$ -pinène (36.26%). Son pouvoir bioactif a été prouvé et a permis son utilisation comme un désinfectant et un insecticide.

Le sabinène, le terpinène et le cadinène (**Mansouri et al., 2011b**), linalool,  $\alpha$ -cadinol, globulol, viridiflorol, pulegone, epi- $\alpha$ -cadinol, terpinen-4-ol, germacrene A et le *para*-methyl anisole (**Zraïb et al., 2014**) sont connus comme des agents antibactériens.

L'activité de l'huile essentielle de *J. thurifera* peut s'expliquer par la présence du  $\beta$ -pinène, sabinène et le cadinène. L'effet synergique entre les constituants majoritaires et minoritaires

de l'huile essentielle de cette espèce peut aussi être pris en compte pour expliquer cette activité constatée.

### **2.3.Toxicité**

L'introduction des extraits en tant que produits pharmaceutiques, n'aura lieu que s'ils sont dépourvus de risques. L'exemple des fruits de grenade a illustré la nécessité d'explorer et d'utiliser de manière adéquate certains aliments. L'activité anti-oxydante des fruits de grenade a été rapportée et a présenté une grande utilité pharmaceutique. Cependant, ils ont signalé que certaines préparations galéniques de grenade ont été toxiques en raison de leurs teneur en alcaloïdes (**Nasri et al., 2011**).

L'hypothèse selon laquelle les préparations et les remèdes à base de plantes médicinales sont efficaces et dépourvus d'effets secondaires indésirables ou toxiques par rapport aux médicaments synthétiques a influencé la consommation aveugle de ces remèdes. Ils peuvent être administrés pendant une longue période sans tenir compte de la dose ou de la concentration qui entraînera des effets secondaires toxiques (**Unuofin et al., 2018**).

Compte tenu des rapports antérieurs sur les effets néfastes des extraits de plantes susceptibles d'entraîner même des mortalités, l'évaluation toxicologique des plantes aux propriétés phytothérapeutiques est d'une importance primordiale et nécessite un dépistage. Ceci afin de prendre en compte les effets indésirables légers qui peuvent se manifester qu'aux niveaux physiologiques ou histologiques (**Kumar et al., 2017**). Une évaluation scientifique de la toxicité par voie orale de ces substances est nécessaire afin de révéler les signes cliniques induits et de déterminer les intervalles des doses qui peuvent être utilisés sans risque (**Das et al., 2015**).

#### **2.3.1. Toxicité aiguë**

La toxicité aiguë d'une substance correspond aux effets indésirables qui se manifestent après l'administration par voie orale ou cutanée d'une dose unique, ou plusieurs doses réparties sur un intervalle de temps de 24 heures, ou suite à une exposition à l'inhalation pendant 4 heures (**SGH, 2003; Shukla et al., 2010**).

Les signes cliniques apparus chez les rats de chaque groupe ont été suivis continuellement au cours de l'expérimentation. Le taux de mortalité, les changements dans le comportement des rats, les signes cliniques d'intoxication (salivation, urine décolorée, respiration irrégulière, pâleur, léthargie, diarrhée, tremblements et convulsions, chute de poils, éruptions, larmolement, etc.) ont été enregistrés (**OCDE 423, 2001**).

Selon le Système Général Harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques (SGH, 2013) et l'OCDE 423, (2001) les extraits méthanoliques de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides* sont classés dans la catégorie 5 qui identifie les substances dont la toxicité aiguë est relativement faible mais qui peuvent sous certaines conditions être dangereuses pour les populations vulnérables.

La DL50 (Dose létale médiane) se situe dans l'intervalle 2000-5000 mg/kg de poids corporel. Aucune mortalité n'a été signalée, même à la dose maximale (2000 mg/kg de poids corporel). Les doses 200 mg/kg et 400 mg/kg de poids corporel (Younis *et al.*, 2018a) ont été sélectionnées pour les tests ultérieurs.

Pour confirmer le caractère non toxique de tout produit végétal, il faut prendre en compte plusieurs facteurs pouvant affecter la présence et / ou la concentration des composants actifs notamment: le stade de la croissance et la maturité de la plante, organe végétal utilisé (feuilles, racines, fleurs, graines, etc.), la variation saisonnière, les conditions de stockage du produit (fraîchement collecté ou stocké pour longtemps) (Tahraoui *et al.*, 2010), la méthode d'extraction, la posologie (Algandaby, 2015).

Tous les extraits des feuilles et des fruits de *J. phoenicea* n'ont présenté aucun risque. L'extrait d'acétate d'éthyle a été le moins toxique, suivi par l'extrait chloroformique, l'extrait d'éther de pétrole et l'extrait éthanolique. D'autre part les extraits des feuilles étaient moins toxiques que les extraits des fruits (El-sawi *et al.*, 2014). Cette étude a révélé que la toxicité d'une plante dépend de la nature de l'extrait ainsi que de la partie végétale.

Les extraits éthanoliques des baies de *J. communis* ont été tolérables et n'ont montré aucun effet secondaire chez les rats à la dose 2500 mg/kg (Mascolo *et al.*, 1987). De même les extraits (Ether de pétrole, chloroformique, éthanolique et aqueux) des tiges de *J. communis* administré par voie intrapéritonéale à la dose 2000 mg/kg n'ont montré aucune toxicité (Manvi et Garg, 2010).

Des doses allant jusqu'à 2 000 mg/kg de l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *J. communis* ont été administrées aux rats afin d'explorer la toxicité orale aiguë. Au cours de la durée de l'étude (14 jours), aucune mortalité n'a été observée et les animaux n'ont pas modifié leurs apparences générales (Ved *et al.*, 2017).

Les études élaborées par Banerjee *et al.*, (2012, 2013); Bais *et al.*, (2017) ont révélé aussi que l'extrait méthanolique des feuilles de *J. communis* aux doses maximales (5000 mg/kg, 2000 mg/kg respectivement) ne présente aucun symptôme toxique comme le changement du comportement, la perte du poids corporel, la locomotion et la mortalité.

Selon **Moreno et al., (1998)** les extraits méthanoliques et dichlorométhanoliques des feuilles et des tiges de *J. oxycedrus* ont montré une toxicité limitée avec une DL50 supérieur à 3000 mg/kg. A la fin de la période d'observation (48 h), les extraits méthanoliques des feuilles, fruits et des tiges de: *J. drupacea*, *J. communis* var. *communis*, *J. communis* var. *saxatilis*, *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* et *J. oxycedrus* subsp. *Macrocarpa* n'ont montré aucun signe de toxicité aiguë (**Akkol et al., 2009**).

Après administration par voie intra-gastrique de l'extrait méthanolique de *F. xanthoxyloides*, aucune mortalité même à la dose la plus élevée (3000 mg/kg) n'a été enregistrée (**Younis et al., 2018a**).

Les animaux ont été gardés sous observation et les symptômes toxiques ainsi que le taux de mortalité ont été enregistrés pendant 48 h après administration par voie orale des extraits éthanoliques de 4 algues et 16 plantes (y compris le *F. ornus*). L'extrait éthanolique de *F. ornus* était sans effet, même lorsque la dose administrée a atteint 2000 mg/kg (**Abouzi et al., 2014**).

L'extrait aqueux des écorces de *F. floribunda* n'a causé aucune mortalité, même à la dose maximale 1000 mg/kg (**Arunika et al., 2017**). Aucune mortalité, ni changement du comportement général des rats pendant la période du test de toxicité subchronique des extraits éthanoliques des feuilles et des écorces de *F. angustifolia* n'a été signalée (**Medjahed et al., 2016**).

### 2.3.2. Toxicité subaiguë

Pendant les 28 jours de l'administration orale et quotidienne de l'EMeJT et l'EMeFX à la dose 400 mg/kg, aucun décès ou des signes de toxicité tels que : diarrhée, agitation, cheveux hispides, convulsions, tremblements, dyspnée n'ont été enregistrés, ce qui soutient, de plus l'hypothèse de la faible toxicité des deux extraits testés.

Les normes de l'OCDE indiquent que le changement significatif dans la consommation d'aliments, d'eau et dans le poids corporel, le poids des organes internes et les comportements généraux sont considérés comme les paramètres de dépistage préliminaire de toutes les toxines (**Panunto et al., 2011; OCDE, 2013**).

#### • Effet sur le poids corporel des rats

Le changement du poids est utilisé comme un indicateur général des effets indésirables des extraits testés, c'est à dire le bien-être des animaux dépend des variations du poids corporel (**Unuofin et al., 2018**). Les animaux qui survivent ne peuvent pas perdre plus de 10% du

poids corporel initial (Feres *et al.*, 2006). La perte de poids est corrélée à l'état physiologique de l'animal (tels que le métabolisme) et peut être expliquée par l'effet anorexique (Panunto *et al.*, 2011, Betti *et al.*, 2012).

Il a été rapporté que le gavage oral provoque de nombreuses complications pouvant augmenter la probabilité de mortalité, notamment la perforation de l'œsophage, la pneumonie d'aspiration et le stress (Park *et al.*, 2019).

Tous les animaux traités ont connu une évolution pondérale positive, comme le montre le tableau 15. Les rats du groupe témoin ont montré une augmentation progressive dans le poids corporel pendant la période du traitement jusqu'à  $16.8 \pm 2.54$  g de gain de poids. En revanche, l'administration de l'EMeJT et l'EMeFX (400 mg/kg / jour) a montré un gain de poids égale respectivement  $27.2 \pm 7.10$  g;  $15.4 \pm 1.75$  g.

**Tableau 15.** Effet de l'EMeJT et l'EMeFX sur le poids corporel des rats.

Groupes	Poids corporel (g)			
	1 <sup>er</sup> jour	9 <sup>ème</sup> jour	18 <sup>ème</sup> jour	28 <sup>ème</sup> jour
<b>Témoin</b>	$177.6 \pm 8.55$	$184.6 \pm 8.79$	$188.6 \pm 8.43$	$194.4 \pm 7.14$
<b>EMeJT (400 mg/kg)</b>	$162.6 \pm 0.01$ ns	$176.6 \pm 9.59$ ns	$178 \pm 9.26$ ns	$189.8 \pm 5.67$ ns
<b>EMeFX (400 mg/kg)</b>	$162.8 \pm 4.42$ ns	$166.6 \pm 4.54$ ns	$169.4 \pm 5.69$ ns	$178.2 \pm 5.49$ ns

(Les valeurs représentent les moyennes  $\pm$  SEM;

ns: différence non significative par rapport au groupe témoin ( $p \geq 0,05$ )).

Après 28 jours de traitement, tous les animaux ont présenté une augmentation progressive du poids corporel. Ceci indique que l'apport quotidien des extraits n'a pas empêché la prise de poids et la stabilité de l'appétit pendant la période du test.

Les gains de poids des rats traités avec l'EMeJT et l'EMeFX n'ont pas montré une différence significative avec ceux des rats du lot témoin ( $P \geq 0,05$ ). Cette différence non significative observée peut indiquer que l'administration orale des extraits de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides* a été sans complication et n'a pas perturbé la croissance saine des rats.

•Effet des extraits sur le poids relatif des organes

Les poids des organes sont des indicateurs de l'état physiologique et pathologique des animaux. Le changement du poids des organes est un signe spécifique de la toxicité chez les animaux de laboratoire. L'effet toxique des remèdes à base de plantes est plus susceptible d'être ressenti par des organes importants tels que la rate, le cœur, le foie et les reins en raison du rôle vital qu'ils jouent dans le corps. Le foie étant l'organe principal de la biotransformation des xénobiotiques, tandis que le rein est l'organe excréteur des xénobiotiques (Unuofin *et al.*, 2018).

Le poids des organes prélevés (foie, rein et cœur) ont été converti en poids relatif. Les résultats ont montré qu'il n'y a pas de différence significative entre les poids relatifs des organes des rats traités avec l'EMeJT et l'EMeFX à la dose 400 mg/kg et ceux des rats du groupe témoin, ce qui prouve de plus l'atotoxicité de ces extraits (Tableau 16.).

**Tableau 16.** Effet des d'EMeJT et d'EMeFX sur les poids relatifs des organes.

Groupes	Poids du foie (g)	Poids du rein (g)	Poids du cœur (g)
Témoin	2.79 ± 0.22	0.26 ± 0.00	0.37 ± 0.00
EMeJT (400 mg/kg)	3.38 ± 0.28ns	0.29 ± 0.01ns	0.34 ± 0.01ns
EMeFX (400 mg/kg)	2.86 ± 0.15ns	0.30 ± 0.01ns	0.37 ± 0.02ns

(Les valeurs représentent les moyennes ± SEM;

ns: différence non significative par rapport au groupe témoin (p ≥ 0,05)).

•Effet des extraits sur les paramètres hématologiques

Le sang est le principal moyen de transport des nutriments et des corps étrangers dans le corps. Pour cette raison, les composants du sang tels que les globules rouges, les globules blancs, les plaquettes et l'hémoglobine sont les premiers à être exposés aux concentrations élevées de toxines. L'atteinte des cellules sanguines ont un effet néfaste sur le fonctionnement normal du corps (Adewaale *et al.*, 2016, Calil Brondani *et al.*, 2017). Les paramètres hématologiques et biochimiques du sérum sont des indicateurs importants de la toxicité d'un substrat (Park *et al.*, 2019).

Comme le montre le tableau 17. les doses orales de l'EMeJT et l'EMeFX n'ont pas entraîné un changement significatif de paramètres hématologiques mesurés par rapport aux témoins. Cela indique que la production des plaquettes, l'hématopoïèse et la leucopoïèse n'ont pas été touchées après l'administration orale des extraits, même si le système hématopoïétique est l'une des cibles les plus sensibles des composés toxiques ainsi qu'un marqueur important de

l'état physiologique et pathologique de l'être humain et des animaux (**Algendaby, 2015**). Par conséquent, ces résultats suggèrent que les deux extraits n'ont pas provoqué de changements hématologiques chez le rat d'où l'effet non toxique des deux plantes.

**Tableau .17.** Effet de l'EMeJT et l'EMeFX sur les paramètres hématologiques des rats.

Paramètres	Témoin	EMeJT (400mg/kg)	EMeFX (400mg/kg)
Globules blancs ( $10^9/L$ )	1.86 ± 0.23	3.22 ± 0.69 ns	2.92 ± 0,23 ns
Lymphocytes ( $10^9/L$ )	1.4 ± 0.15	2.56 ± 0.33 ns	1.32 ± 0.49 ns
MID ( $10^9/L$ )	0.14 ± 0.02	0.3 ± 0.09 ns	0.28 ± 0.04 ns
Neutrophiles ( $10^9/L$ )	0.32 ± 0.07	0.72 ± 0.27 ns	0.6 ± 0.12 ns
Globules rouges ( $10^{12}/L$ )	7.09 ± 0.26	6.56 ± 0.45 ns	6.68 ± 0.51 ns
Hémoglobine (g/dL)	14.34 ± 0.62	14 ± 0.25 ns	13.32 ± 1.21 ns
Hématocrite (%)	44.16 ± 1.78	41.4 ± 1.20 ns	40.14 ± 3.57 ns
Volume globulaire moyen (fL)	62.28 ± 0.91	64.2 ± 3.16 ns	60 ± 1.02 ns
Teneur corpusculaire en hémoglobine (MCH) (pg)	20.14 ± 0.37	21.75 ± 1.46 ns	19.82 ± 0.37 ns
Corpusculaire moyenne en hémoglobine (MCHC) (g/dL)	32.4 ± 0.18	33.6 ± 0.61 ns	33.12 ± 0.21 ns
Plaquettes ( $10^9/L$ )	464.6 ± 30.11	599.6 ± 107.16 ns	567.2 ± 33.06 ns
Volume plaquettaire moyen (fL)	7.46 ± 0.06	8.32 ± 0.80 ns	7.42 ± 0.08 ns

(Les valeurs représentent les moyennes ± SEM;

ns: différence non significative par rapport au groupe témoin ( $p \geq 0,05$ )).

#### ●Effet des extraits sur les paramètres biochimiques

L'analyse des paramètres biochimiques est importante car plusieurs cas de toxicité hépatique liés à l'utilisation de produits phytothérapeutiques ont été rapportés (**Feres et al., 2006**).

La créatinine et l'urée sont des indices couramment utilisés pour mesurer la toxicité rénale. Par conséquent, toute augmentation de la créatinine et de l'urée sérique sera considérée comme un marqueur des lésions rénales (**Al-Saleem et al., 2018**).

Le foie est le principal organe responsable de la biotransformation des xénobiotiques dans l'organisme et par conséquent, il est l'une des principales cibles des effets néfastes causés par

les substances toxiques. Les valeurs sériques d'ALT (Alanine aminotransférase) et la phosphatase alcaline sont respectivement utilisées comme des indicateurs de lésions hépatocellulaires et de maladies hépatobiliaires (**Park et al., 2019**).

En règle générale, l'atteinte des cellules hépatiques parenchymateuses entraîne une élévation des taux des deux transaminases (AST (Aspartate aminotransférase), ALT). Les ALT sont les plus spécifiques d'une atteinte hépatique que les AST.

L'AST est présent dans différents tissus (y compris le cœur, les muscles squelettiques, les reins, le cerveau et le foie), tandis que l'ALT est principalement localisé dans le foie. De plus, l'AST peut exister sous forme de complexe avec une immunoglobuline, cette macromolécule peut provoquer une élévation du taux sérique de l'AST, qui peut être détectée lors de l'analyse de la chimie du sang et être induit par erreur (**Algandaby, 2015**).

Finalement la glycémie est un autre indicateur fiable pour étudier l'effet des composés toxiques sur le métabolisme (**Kumar et al., 2017**).

Les résultats présentés dans le tableau 18. ont montré l'absence d'une différence significative dans l'analyse biochimique des sérums des rats traités et ceux des rats du lot témoin.

**Tableau 18.** Effet de l'EMeJT et l'EMeFX sur les paramètres biochimiques des rats.

Paramètres	Témoin	EMeJT (400 mg/kg)	EMeFX (400 mg/kg)
Glucose (mg/dl)	87.8 ± 3.86	90.2 ± 4.70 ns	80.8 ± 2.52 ns
Urée (mg/dl)	30.8 ± 2.60	37.6 ± 4.87 ns	32.4 ± 3.70 ns
AST (U/L)	67 ± 6.33	74.6 ± 14.64 ns	64.6 ± 14.55 ns
ALT (U/L)	84 ± 7.39	86.6 ± 17.14 ns	68.8 ± 14.14 ns
Créatinine (mg/dl)	0.79 ± 0.06	0.92 ± 0.08 ns	0.81 ± 0.08 ns
Phosphatase alcaline (U/L)	174.62 ± 9.13	181.62 ± 21.74 ns	186.64 ± 23.79 ns

(Les résultats sont exprimées en moyenne ± SEM;

ns: différence non significative par rapport au groupe témoin ( $p \geq 0,05$ )).

Les taux sériques d'AST et d'ALT, phosphatase alcaline et de la créatinine ne diffèrent pas des taux du témoin. Par conséquent l'ingestion subaiguë de l'EMeJT et l'EMeFX à la dose 400mg/kg n'est ni néphrotoxique ni hépatotoxique chez le rat. Ces résultats peuvent être une indication des propriétés hépatorénales protectrices de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides*.

De même, comme le révèlent les dosages du glucose, les extraits EMeJT et EMeFX n'ont pas perturbé le métabolisme glucidique.

La rutine, la lutéoline et l'apigénine sont connus pour avoir des effets hépatoprotecteurs (**Calil Brondani et al., 2017**). Leur présence dans les extraits de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides* identifiées par HPLC peut expliquer l'effet non hépatotoxique de ces extraits.

Les espèces suivantes: *J. phoenicea* (**Aboul-ela et al., 2005; Ali et al., 2010; Alqasoumi et al., 2013; Laouar et al., 2017**), *J. procera* (**Alqasoumi et Abdel-Kader, 2012**), *J. sabina* (**Abdel-kader et al., 2017**), *J. communis* (**Manvi et Garg, 2010; Ved et al., 2017; Amresh Gupta et al., 2017**), *F. rhynchophylla* (**Peng et al., 2010; Guo et al., 2017**) *F. xanthoxyloides* (**Younis et al., 2016b**), *F. angustifolia* (**Madjahed et al., 2016**), *F. floribunda* (**Arunika et al., 2017**) ont été précédemment signalé pour avoir des effets hépatoprotecteurs et peuvent être utilisés comme des agents thérapeutiques.

Selon **Lima et al., (2014)** les divers paramètres physiologiques des animaux du laboratoire peuvent varier entre les différentes souches d'une même espèce et aussi en fonction des facteurs intrinsèques et extrinsèques. Par conséquent, il est impératif que chaque centre de recherche établisse des valeurs de référence pour les animaux en fonction de l'espèce, du régime alimentaire, de la lignée, du sexe, de l'âge, ainsi que de la méthodologie utilisée pour l'analyse des paramètres.

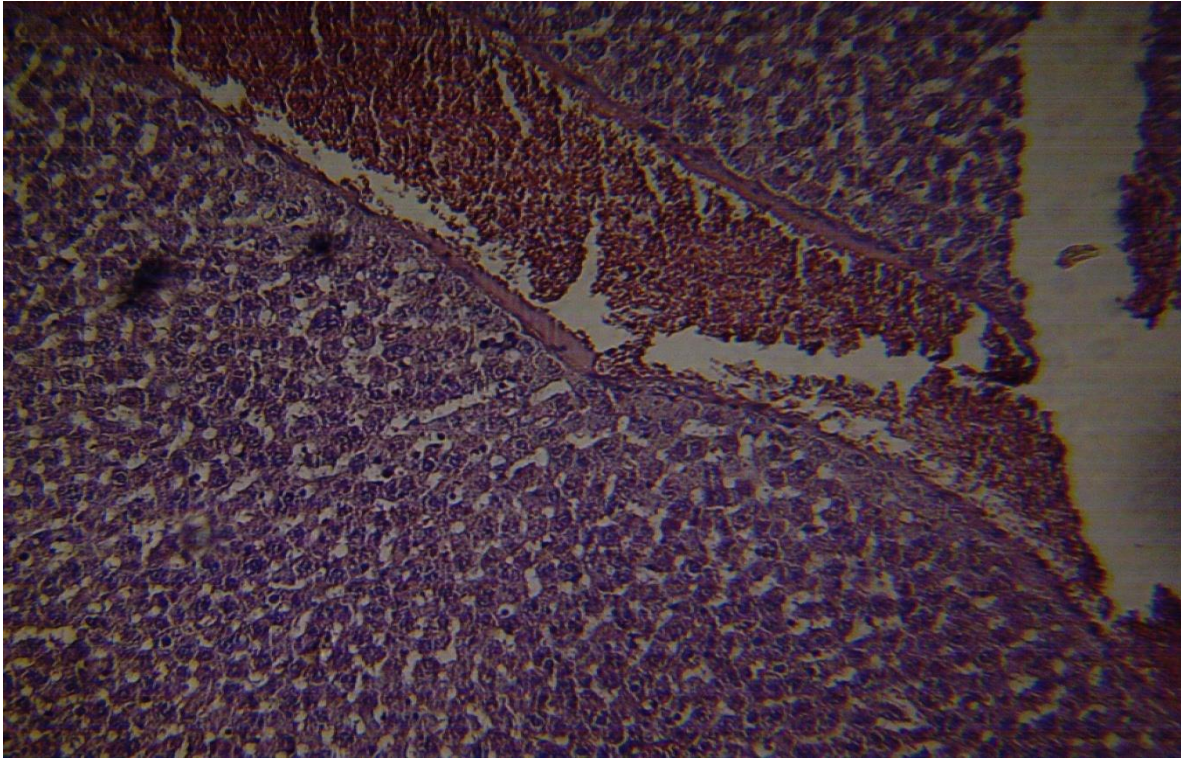
Dans cette étude, toutes les différences non signalées avec quelques paramètres physiologiques des rats (*Rattus norvegicus* Wistar) cité dans la littérature par **Lima et al., (2014)** représentent éventuellement des idiosyncrasies et des variations individuelles chez les animaux et ne sont pas associées à un effet toxique des extraits (**Calil Brondani et al., 2017**).

#### •Histologie du foie et des reins des rats

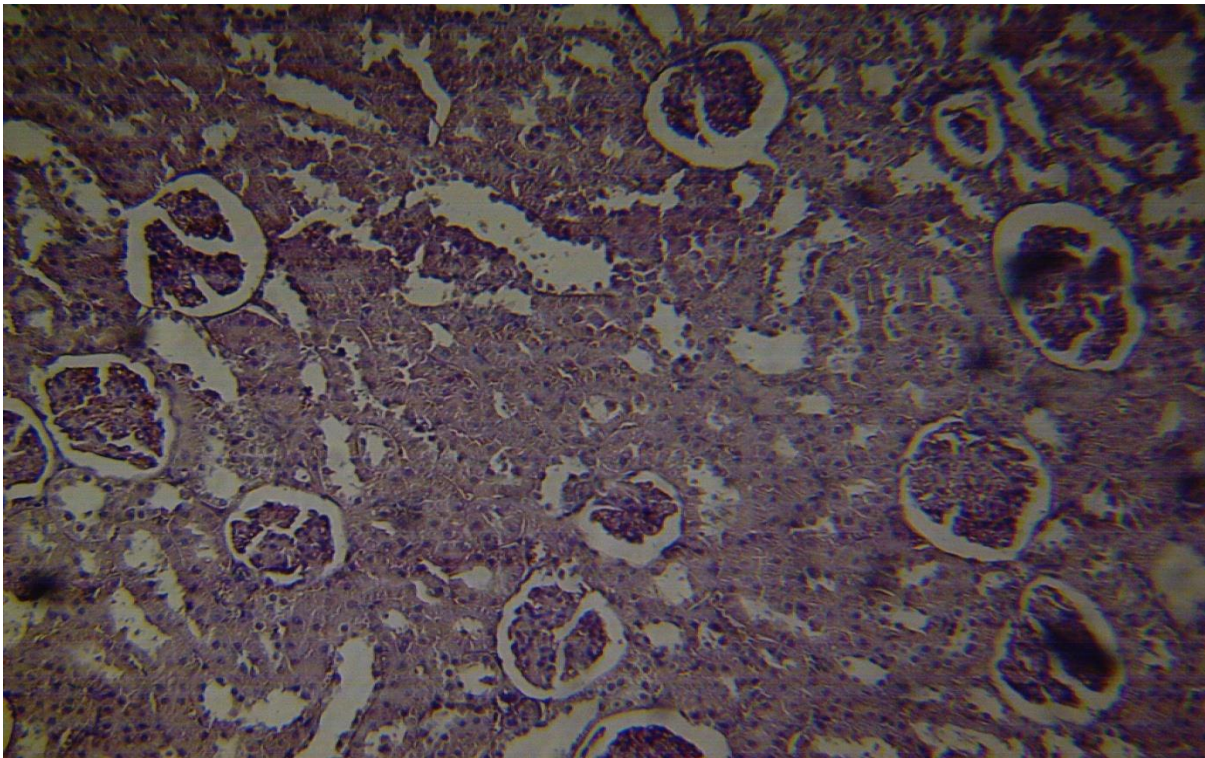
Le poids des organes (foie, reins, poumons, cœur et rate) chez les rats traités ne diffèrent pas significativement de ceux du groupe témoin. Par conséquent, un examen de sections du foie et du rein prélevés est nécessaire afin de détecter d'éventuels changements microscopiques.

Les coupes histologiques (Figure 27, 28, 29, 30) des rats traités avec l'EMeJT et l'EMeFX n'ont présenté aucune particularité et l'aspect physiologique des tissus a été maintenu.

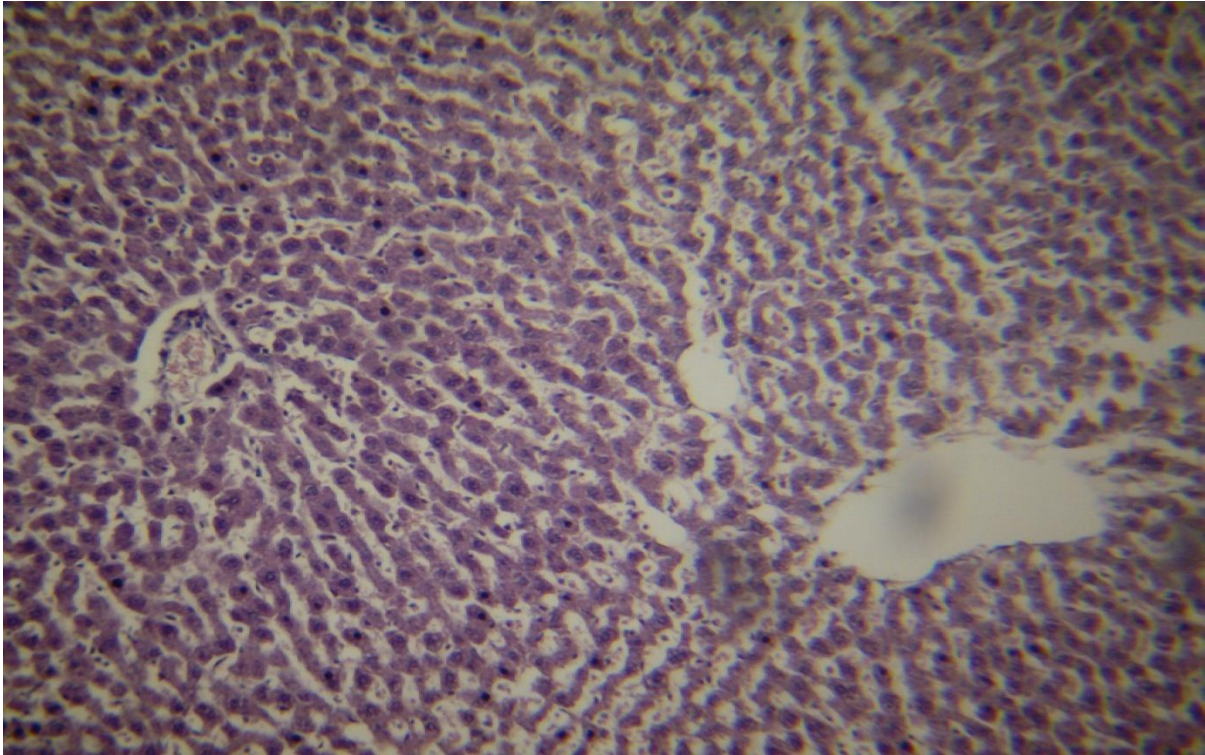
L'examen histologique affirme l'hypothèse de la faible toxicité des extraits et la possibilité d'utilisation des deux plantes à des fins thérapeutiques.



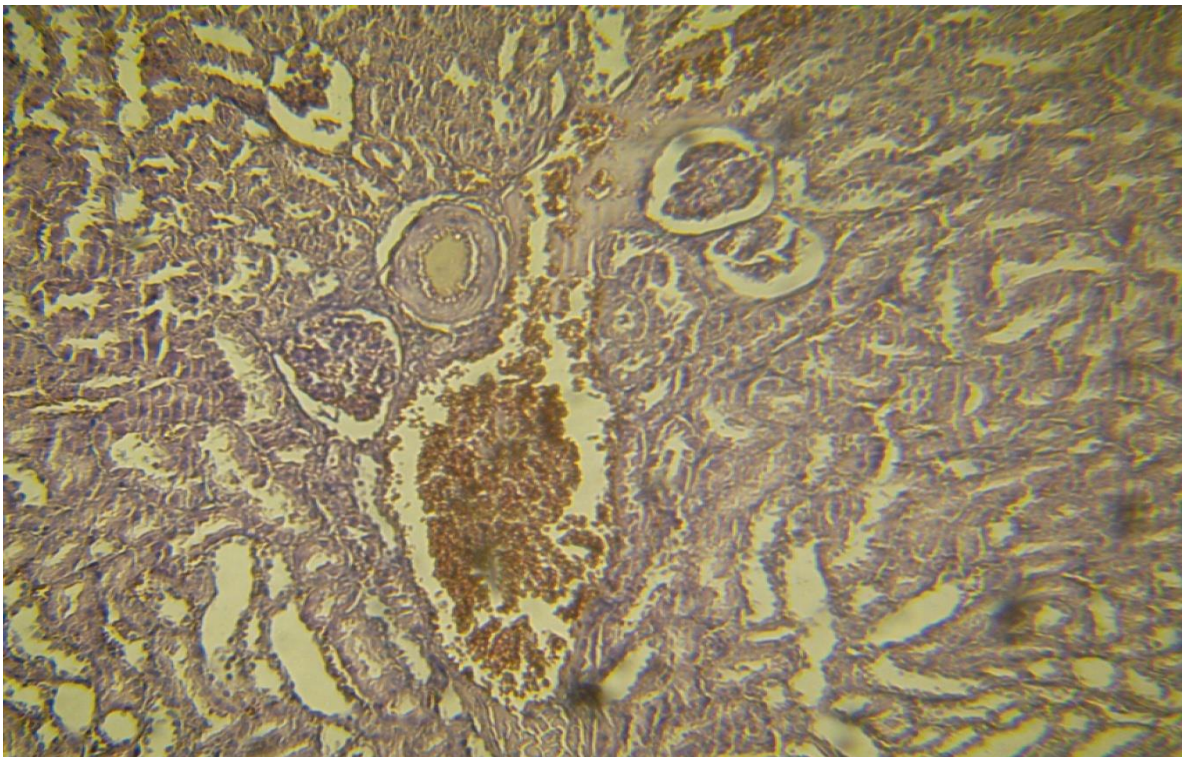
**Figure 27.** Photomicrographie de l'histologie du foie des rats traités avec l'EMeJT à la dose 400 mg/kg (coupes en paraffine, hématoxyline-éosine,  $\times 10$ ).



**Figure 28.** Photomicrographie de l'histologie du rein des rats traités avec l'EMeJT à la dose 400 mg/kg (coupes en paraffine, hématoxyline-éosine,  $\times 10$ ).



**Figure 29.** Photomicrographie de l'histologie du foie des rats traités avec l'EMeFX à la dose 400 mg/kg (coupes en paraffine, hématoxyline-éosine,  $\times 10$ ).



**Figure 30.** Photomicrographie de l'histologie du rein des rats traités avec l'EMeFX à la dose 400 mg/kg (coupes en paraffine, hématoxyline-éosine,  $\times 10$ ).

## 2.4. Activité anti-inflammatoire

Des études *in vivo* ont été nécessaires pour confirmer la qualité avantageuse de ces extraits.

Depuis les deux dernières décennies, la médecine complémentaire et alternative gagne de plus en plus de popularité dans le monde entier (**Bagad et al., 2013**).

En raison de la diversité des structures chimiques et des propriétés pharmacologiques, les plantes médicinales ont été une source d'étude importante pour la recherche de nouveaux médicaments (**Florentino et al., 2016**).

L'inflammation est un mécanisme de défense immunologique déclenché en réponse à plusieurs stimuli nocifs (**Aouey et al., 2016**). Elle se déroule principalement en trois phases distinctes. La première phase se caractérise par une augmentation de la perméabilité vasculaire entraînant une exsudation des fluides du sang dans l'espace interstitiel; la deuxième phase implique l'infiltration des leucocytes du sang dans le tissu et la troisième phase est caractérisée par la formation de granulomes et la réparation des tissus (**Bagad et al., 2013**).

Les médiateurs inflammatoires tels que l'histamine, la sérotonine, l'oxyde nitrique (NO), les prostaglandines (PGE), les leucotriènes et les cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 et IL-6) jouent un rôle crucial dans la réaction inflammatoire en augmentant la perméabilité vasculaire, facilitant ainsi la migration des leucocytes vers le site (**Sarkhel, 2015**) et induisent des signes inflammatoires tels que la douleur, l'œdème et la rougeur.

En raison de l'implication de l'inflammation dans la plupart des maladies (tels que l'arthrite, les maladies neurodégénératives, l'ulcère peptique, la colite et le cancer, etc.), elle est devenue un axe de recherche scientifique mondiale (**Agbaje et Fageyinbo, 2012; Al-sayed et Abdel-daim, 2018**). Les médicaments synthétiques, à savoir les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), les opioïdes et les corticostéroïdes sont les médicaments les plus importants sur le plan clinique utilisés pour le traitement des troubles inflammatoires. Cependant, leur utilisation à long terme peut induire des effets toxiques, notamment: des ulcères gastro-intestinaux, des saignements, des troubles rénaux, des hémorroïdes, l'hépatite, etc. ce qui limite en conséquence leurs utilisation (**Afsar et al., 2015; Kumar et Kashyap, 2015b; Aouey et al., 2016**). De même ils n'ont pas été couronnés de succès pour la guérison des maladies inflammatoires chroniques tels que la polyarthrite et la dermatite atopique (**Kim et al., 2004**).

Pour cette raison, des études ont été menées pour développer et introduire de nouveaux médicaments ayant moins d'effets indésirables et plus efficaces. Les produits naturels, en particulier ceux provenant de plantes supérieures ont été une source importante de substances

ayant un potentiel thérapeutique pertinent, malgré le manque de connaissances sur leurs mécanismes d'action (Igbe *et al.*, 2010; Ait El Cadi *et al.*, 2012; Jan et Khan, 2016).

#### 2.4.1. Pleurésie induite par la carragénine

La pleurésie induite par la carragénine est un modèle expérimental d'inflammation bien caractérisé utilisé pour évaluer la migration cellulaire, la formation d'exsudat et d'autres paramètres inflammatoires (Florentino *et al.*, 2016).

Carragénines est un nom générique d'une famille de galactanes linéaires sulfatés, obtenus à partir de certaines espèces d'algues rouges marines. Les trois principaux types industriels sont les carragénines kappa, iota et lambda (Silva *et al.*, 2010). L'étude de Silva *et al.*, (2010) a démontré que les carragénines iota et lambda ont un potentiel inflammatoire plus élevé que les carragénines kappa.

L'étude de Vinigar, (1973) a démontré que l'injection intrapleurale de cet irritant (carragénine) a provoqué chez le rat une réaction inflammatoire aiguë dont laquelle il est possible de récupérer quantitativement les cellules inflammatoires mobilisées et l'exsudat. L'évolution temporelle de la formation d'exsudats et la mobilisation des neutrophiles a suggéré que ces phénomènes sont liés. Les deux courbes ont été sigmoïdes et ont augmenté fortement entre la première et la troisième heure.

La pleurésie induite par la carragénine chez le rat est un excellent modèle inflammatoire aigu. Il est très utile pour caractériser et / ou cribler de nouveaux médicaments anti-inflammatoires car l'extravasation du fluide, la migration des leucocytes et divers paramètres biochimiques (tels que les marqueurs des leucocytes activés, la myéloperoxydase (MPO), l'adénosine-désaminase (ADA), NO) etc.) impliqués dans la réponse inflammatoire peuvent être facilement quantifiés dans les exsudats pleuraux obtenus (Mikami et Miyasaka, 1983; Saleh *et al.*, 1996; Dalmarco *et al.*, 2002; Luchese *et al.*, 2012; Ampadu *et al.*, 2018).

Les paramètres quantifiés dans ce travail sont: le nombre des neutrophiles et le volume des exsudats. Les neutrophiles sont un type des leucocytes polymorphonucléaires, bien reconnus comme l'un des effecteurs majeurs de l'inflammation aiguë. Ils sont généralement les premiers leucocytes à être recrutés dans le site inflammatoire. Ils sont capables d'éliminer les agents pathogènes par multiples mécanismes (Kolaczowska et Kubes, 2013). L'identification des molécules qui inhibent l'infiltration des neutrophiles dans le site inflammatoire peut envisager de nouvelles approches pour traiter les patients ayant des maladies inflammatoires (Ampadu *et al.*, 2018).

L'infiltration des polymorphonucléaires neutrophiles (PMNs) vers la cavité pleurale des rats durant les 4 premières heures qui suivent l'injection de la carragénine a été exploitée pour évaluer l'effet anti-inflammatoire *in vivo* de l'EMeJT et l'EMeFX.

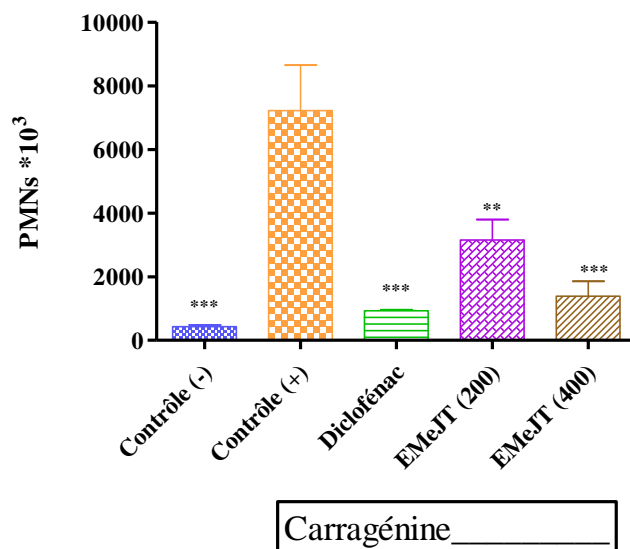
L'anti-inflammatoire de contrôle, le diclofénac est un inhibiteur de la cyclo-oxygénase est parmi les anti-inflammatoires les plus utilisés comme témoins dans la recherche des nouveaux médicaments anti-inflammatoires (**Kim et al., 2007**).

Le nombre des PMNs des rats du contrôle négatif est très faible ( $425.56 \pm 62.23$ ) $10^3$  cellule/ml soit approximativement 6% du nombre des PMNs comptés chez les rats du groupe contrôle positif ( $7221.67 \pm 1425.13$ )  $10^3$  cellule/ml.

Le prétraitement des rats avec le diclofénac (10mg/kg) a réduit significativement ( $P < 0,001$ ) la migration des neutrophiles dans le lieu de l'inflammation 4 heures après l'injection de la carragénine avec une valeur égale à ( $6291.67 \pm 1431.41$ ) $10^3$  cellule/ml par rapport au contrôle positif.

Les groupes traités avec l'EMeJT et l'EMeFX ont montré significativement moins de neutrophiles dans les exsudats pleuraux que chez les témoins.

L'administration orale de l'EMeJT aux doses 200 mg/kg et 400 mg/kg a inhibé l'afflux des PMNs dans la cavité pleurale. L'EMeJT à la dose 200 mg/kg a diminué le nombre des PMNs ( $4071.67 \pm 1299.21$ ) $10^3$  cellule/ml par rapport au contrôle positif soit une diminution de 56% dans le nombre des PMNs présents dans l'exsudat. L'effet de l'extrait à la dose 400 mg/kg est plus important et plus significatif ( $P < 0,001$ ) par rapport au contrôle positif. Le nombre des PMNs a été réduit d'une valeur égale à ( $5834.99 \pm 1003.61$ ) $10^3$  cellule/ml soit un pourcentage d'inhibition égale approximativement à 81% (Figure 31.).

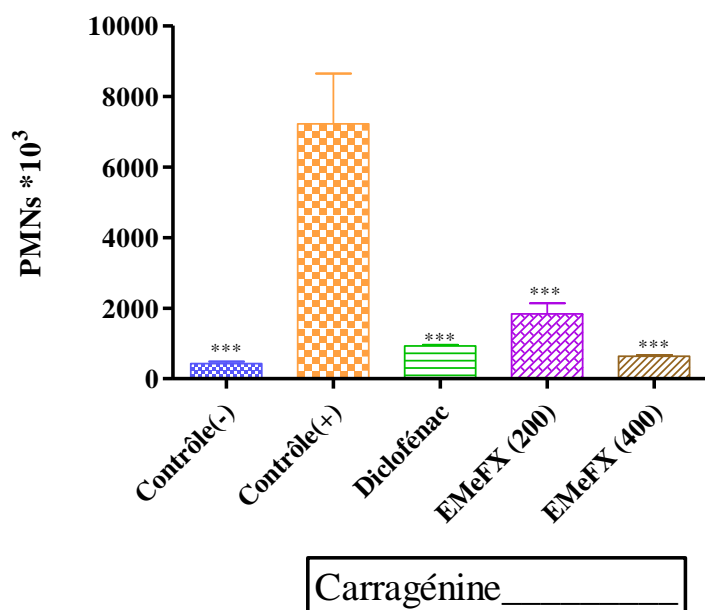


**Figure 31.** Effet de l'EMeJT sur le nombre des PMNs après 4 heures de l'injection de la carragénine.

(Les valeurs représentent les moyennes  $\pm$  SEM; \*\*\* :  $p < 0,001$ ; \*\*:  $p < 0,01$  significativement différent par rapport au témoin).

Le Prétraitement des rats avec l'EMeFX aux doses 200mg/kg et 400mg/kg a atténué le nombre des cellules polymorphonucléaires après l'injection de la carragénine. L'EMeFX à la dose 200mg/kg a diminué le nombre des PMNs à  $(1840.00 \pm 297.99)10^3$  cellule/ml par rapport au contrôle positif, soit une diminution de 75 % du nombre des PMNs présents dans l'exsudat. Après l'administration de l'EMeFX à la dose 400mg/kg le nombre des PMNs a été réduit d'une valeur égale à  $(640.00 \pm 34.40)10^3$  cellule/ml soit un pourcentage d'inhibition égale à 91%. L'effet de l'extrait aux deux doses était très significatif ( $p < 0,001$ ) par rapport au contrôle positif. (Figure 32.). Les effets des extraits des deux plantes aux deux doses n'ont pas présenté de différence significative ( $P \geq 0,05$ ).

Le pouvoir anti-inflammatoire des différents extraits était statistiquement similaire à celui du diclofénac ( $P \geq 0,05$ ).



**Figure 32.** Effet de l'EMeFX sur le nombre des PMNs après 4 heures de l'injection de la carragénine.

(Les valeurs représentent les moyennes ± SEM; \*\*\*:p < 0,001 significativement différent par rapport au témoin).

L'autre signe d'inflammation évalué était la quantité d'exsudat. Après l'injection de la carragénine dans la cavité pleurale des rats, le volume des exsudats a augmenté d'une valeur égale à  $0,98 \pm 0,11$  ml.

Le prétraitement avec l'EMeJT aux doses 200 et 400 mg/kg une heure avant l'injection de la carragénine, a réduit le volume des exsudats à  $0,60 \pm 0,14$  ml et  $0,55 \pm 0,28$  ml, respectivement.

De même l'EMeFX aux doses 200 et 400 mg/kg a réduit le volume des exsudats à  $0,89 \pm 0,10$  ml et  $0,91 \pm 0,14$  ml respectivement.

L'extrait méthanolique de *J. communis subsp. communis* a inhibé l'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat d'un taux égale à 60% (Mascolo *et al.*, 1987). De même les extraits méthanoliques et dichlorométhanoliques des feuilles et des tiges de *J. oxycedrus* ont présenté un effet anti-inflammatoire significatif (Moreno *et al.*, 1998).

Le modèle d'œdème de la patte induit par la carragénine a été utilisé afin d'évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits des feuilles et des baies de *J. excelsa*, *J. foetidissima* *J. sabina*

et *J. oxycedrus subsp. oxycedrus*. Les résultats ont révélé que seulement l'extrait éthanolique des baies de *J. foetidissima* et la fraction n-butanolique de *J. oxycedrus subsp. oxycedrus* qui ont présenté un effet anti-inflammatoire significatif (26.9%, 23.7% respectivement) à la dose 100 mg/kg (Orhan *et al.*, 2012).

Lesjak et ses collaborateurs ont évalué l'effet inhibiteur des extraits de *J. sibirica* Burgsdorf, *J. foetidissima* et *J. macrocarpa* vis-à-vis l'activité de la COX-1 et la lipoxigenase (12-LOX) deux enzymes incluse dans le processus inflammatoire. Les résultats de ces travaux ont révélé que tous les extraits des 3 espèces sont doués d'activité anti-inflammatoire (Lesjak *et al.*, (2011); (2013); (2014)).

Les résultats des 3 études élaborés par Lesjak et ses collaborateurs (2011; 2013; 2014) ont montré que l'effet anti-inflammatoire dépend de la nature de l'extrait et du type d'organe soumis à l'extraction.

Les extraits méthanoliques des fruits et des feuilles de *J. oxycedrus subsp. oxycedrus* et *J. communis var. saxatilis* ont inhibé d'une façon significative l'œdème de la patte induit par la carragénine (extraits de *J. oxycedrus subsp. oxycedrus* : fruits 29.3%, feuilles 32.6% ; extraits de *J. communis var. saxatilis* : fruits 31.9%, feuilles 28.9%). Les mêmes extraits ont montré également une activité anti-inflammatoire significative dans le modèle d'œdème de la patte induit par la PGE<sub>2</sub>, (extraits de *oxycedrus subsp. oxycedrus* : fruits 27.9%, 26.7% feuilles; extraits de *de J. communis var. saxatilis* : fruits 24.3%, feuilles 29.6%). Cette étude a révélé nettement que l'effet anti-inflammatoire dépend non seulement de l'espèce mais aussi de l'organe végétal (Akkol *et al.*, 2009).

Après l'administration intrapéritonéale, l'extrait éthanolique de *F. ornus* à la dose 15mg/kg a inhibé d'une façon significative l'œdème de la patte induit soit par le zymosane soit par la carragénine chez la souris (66% ,63% respectivement). Il a également inhibé la voie classique et la voie alternative d'activation du complément (Stefanova *et al.*, 1995).

L'administration d'une dose de 10 mg/kg d'extrait méthanolique des parties aériennes de *F. micrantha* a inhibé significativement (27%) l'œdème de la patte induit par la carragénine. Cet effet a été comparable à celui du médicament référence le Phénylbutazone (30.8%) (Kumar et Kashyap, 2015b).

L'extrait de *F. floribunda* obtenu par cette méthode a inhibé l'œdème induit par la carragénine d'une manière significative (55%) (Arunika *et al.*, 2017).

Plusieurs tests *in vivo* et *in vitro* ont été réalisés pour évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique du *F. xanthoxyloides* et ses fractions. Les résultats ont montré un potentiel anti-inflammatoire très intéressant de *F. xanthoxyloides* tout en réduisant le nombre

des médiateurs inflammatoires tels que l'oxyde nitrique. Dans le test de l'œdème de la patte induit par la carragénine, la fraction chloroformique à la dose 200 mg/kg a présenté un pourcentage d'inhibition très significatif (77%) (**Younis et al., 2016a**).

Le profil bi-phasique de la migration cellulaire est caractérisé par une migration précoce (4 h) et tardive (48 h) des neutrophiles et des mononucléaires respectivement. Ces deux phases de la réponse inflammatoire au carragénine sont nommées première (précoce) et deuxième (tardive) (**Fröde et Medeiros, 2001; Fröde et al., 2009**).

Selon **Ekuadzi et al., (2018)** la migration cellulaire implique plusieurs processus y compris l'adhésion et la mobilité cellulaire. L'inhibition de l'infiltration des neutrophiles par l'EMeJT et l'EMeFX peut être due à l'inhibition de l'adhésion cellulaire.

Dans la réponse précoce il aura une genèse massive des médiateurs pro-inflammatoires (tels que : PGE2, TNF, IL-1 $\beta$  et NO) et une activité accrue d'importants enzymes pro-inflammatoires (tels que l'adénosine désaminase (ADA) et de myéloperoxydase (MPO)) (**Ekuadzi et al., 2018**).

La PGE2 est le médiateur principal responsable de l'exsudation qui caractérise la pleurésie. Cet effet physiologique de la PGE2 survient lorsque celle-ci interagit avec les récepteurs EP2 et EP3 (**Ampadu et al., 2018**). Par conséquent, l'inhibition des récepteurs EP2 et EP3 pourrait contribuer à l'activité anti-inflammatoire des extraits des deux plantes.

De même le NO libéré joue un rôle important en tant que vasodilatateur et contribue à l'exsudation (**Luz et al., 2016**). La formation d'exsudats est directement liée à l'augmentation de la quantité du NO produite par l'activation de l'oxyde nitrique synthase **Dalmarco et al., (2002)**. Certains composés phénoliques tels que la (+)-catechine, l'amentoflavone isolés de l'extrait méthanolique de *J. rigida* ont inhibé la production de l'oxyde nitrique (**Jeong et al., 2011**). La réduction des volumes d'exsudats par l'EMeJT et EMeFX peut être expliquée par l'hypothèse d'inhibition de l'oxyde nitrique synthase.

Il convient de noter que les effets inhibiteurs induits par les deux extraits n'étaient pas dose dépendant ce qui a été également trouvé par **Dalmarco et al., (2002)**.

Il a été démontré que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires *in vivo*. Certains rapports ont montré que cette dernière est importante et sans effets ulcérogènes caractérisant les médicaments anti-inflammatoires (**Di Carlo et al., 1999**).

Selon **Kim et al., (2004)** l'inhibition de la libération des médiateurs pro-inflammatoires est certainement l'une des cibles d'action des flavonoïdes. La rutine s'est avérée être un inhibiteur de la production du TNF, la lutéoline est un inhibiteur de la production du NO, l'apigénine est l'un des inhibiteurs de la production du NO et de l'enzyme COX (**Afsar et al., 2015**).

L'administration orale de la rutine a significativement réduit la migration des neutrophiles et l'œdème de la patte induit chez le rat par la carragénine (Younis *et al.*, 2016a). L'acide caféique a exercé des effets anti-inflammatoires *in vitro* et *in vivo* probablement par le biais de la modulation de l'expression de NOS (l'oxyde nitrique synthase) et d'autres médiateurs inflammatoires (Afsar *et al.*, 2015).

Le diterpène bicyclique l'acide sandaracopimarique isolé de *J. thurifera* est un inhibiteur de lipoxygénase (Seca et Silva, 2005).

En tant que modulateurs naturels de l'expression des gènes pro-inflammatoires, certains flavonoïdes pourraient constituer de nouveaux agents anti-inflammatoires et se sont considérés comme des candidats rationnels pour des nouveaux médicaments anti-inflammatoires (Kim *et al.*, 2004, Subash *et al.*, 2016). Différents flavonoïdes (rutine, lutéoline, apéginine) ont été révélés par HPLC douées d'activité anti-oxydante et de la capacité de moduler plusieurs enzymes. Il est donc possible que ces flavonoïdes soient responsables de l'activité anti-inflammatoire de ces extraits, bien qu'une analyse supplémentaire est nécessaire pour confirmer cette possibilité.

Plusieurs études ont montré que les tanins sont capables d'induire des effets analgésiques et de diminuer l'œdème de la patte induit par le formol et la carragénine (Bokanisereme *et al.*, 2013). L'effet anti-inflammatoire des extraits méthanoliques de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides* peut être due à la présence de ces tanins.

le stress oxydatif induit par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et l'azote (RNS) tels que anion superoxyde, peroxydite, oxyde nitrique est considérée comme un facteur primordial dans l'étiologie de diverses maladies inflammatoires (Dalmarco *et al.*, 2009).

Le lien commun entre les oxydants et les réactions inflammatoires est bien établi. Les leucocytes et d'autres cellules phagocytaires libèrent des radicaux libres oxydants (NO, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et OH<sup>-</sup>) pour défendre l'organisme. Les antioxydants semblent inhiber l'action de certains oxydants générés dans l'inflammation (Omisore *et al.*, 2004).

Une balance déséquilibrée dans les niveaux des radicaux libres induits par l'injection de carragénine et les antioxydants peut entraîner l'initiation des dommages cellulaires et tissulaire (Ekuadzi *et al.*, 2018). L'EMeJT et l'EMeFX sont des antioxydants ayant tendance à réduire le stress inflammatoire et maintenir l'équilibre de la balance oxydants /antioxydants.

Les résultats de Khosroyar et Arastehnodeh, (2018) ont révélé qu'il ya une relation directe entre l'activité anti-oxydante et anti-inflammatoire et la teneur en extraits phénoliques et flavonoïdes de différentes plantes.

L'amentoflavone est un flavonoïde dimère composé de deux unités d'apigénine révélé chez plusieurs espèces de *Juniperus* (*J. oxycedrus*, *J. phoenicea*, *J. rigida*, *J. virginiana*, *J. chinensis*, *J. communis*, *J. drupacea*, *J. foetidissima*, *J. bermudiana*, *J. indica*, *J. macrocarpa* et *J. occidentalis*) doué d'effets biologiques, telles que antifongiques, antimicrobiens, antioxydants, anti-inflammatoires, antidiabétiques, etc. (Tavares et Seca, 2018). L'omniprésence de ce flavonoïde a permis de lui attribuer l'effet anti-inflammatoire de l'EMeJT.

La désoxypodophyllotoxine, la désoxypicropodophyllotoxine et l'acide thuriférique ont été isolés à partir des feuilles de *J. thurifera* et testés en tant qu'agents analgésiques et anti-inflammatoires et cytotoxiques. L'acide thuriférique, a été mille fois moins toxique que la désoxypodophyllotoxine et a inhibé significativement l'évolution de l'œdème de la patte (63,4%), un effet comparable à celui de la désoxypodophyllotoxine (66%) et l'indométacine (61,5%) (Guerrero *et al.*, 2013). L'effet anti-inflammatoire dans le modèle de la pleurésie peut être dû à la présence probable de l'acide thuriférique dans l'EMeJT.

Selon Azab *et al.*, (2016), lorsque un extrait entier est utilisé, il y'a une possibilité de synergie entre ses différents composants actifs. Une telle synergie peut être perdue lorsque chacun de ces composants est isolé. Le mélange de différents composés peut également conduire à des effets inhibiteurs, à savoir qu'un composant peut réduire l'activité biologique de l'autre. En accord avec cette hypothèse, certaines études ont montré que l'activité anti-inflammatoire des composés purs (tels que l'amentoflavone, la pseudohypericine, et l'hyperforine, isolée à partir d'extraits d'*Hypericum perforatum*) est plus élevée que celle des extraits.

La sélection du solvant pour l'extraction des matières végétales est l'un des facteurs les plus importants pour déterminer l'activité potentielle de l'extrait, puisque la polarité du solvant détermine quels composés seront extraits et lesquels ne le seront pas. Par exemple, il est peu probable que l'eau (très polaire) extrait le composé anti-inflammatoire actif le monoterpène-1,8-cinéole (*Achillea millefolium*) mais extrait facilement l'acide protocatéchique (*Boswellia dalzielii*) et vice versa pour le n-hexane (non polaire).

#### 2.4.2. Œdème de l'oreille induit par le xylène

L'œdème auriculaire induit par le xylène est un modèle d'inflammation aiguë qui présente un symptôme typique de l'inflammation (**Bribi et al., 2016**). IL est utile pour le criblage des agents anti-inflammatoires. La suppression de cette réponse inflammatoire est considérée comme une indication d'effet antiphlogistique (**Sowemimo et al., 2013**).

Il est partiellement associé à la substance P, un décapeptide largement distribué dans le système nerveux central et périphérique et fonctionne comme un neurotransmetteur ou neuromodulateur dans divers processus physiologiques. La libération de la substance P par les neurones sensoriels provoque une vasodilatation et des exsudations plasmatiques, suggérant ainsi son rôle dans l'inflammation neurogène et provoquant ainsi le gonflement de l'oreille chez les rats (**Agbaje et Fageyinbo, 2012**).

L'œdème de l'oreille est associé aussi d'autres médiateurs inflammatoires tels que l'histamine, la kinine et la fibrinolyse (**Bagad et al., 2013; Sofidiya et al., 2014**).

Ce test est utilisé pour évaluer les anti-inflammatoires stéroïdiens ainsi que les non stéroïdiens, en particulier ceux qui inhibent la phospholipase A2 (**Bagad et al., 2013; Sofidiya et al., 2014; Bribi et al., 2016**). Il est moins sensible aux anti-inflammatoires non stéroïdiens (**Igbe et al., 2010**).

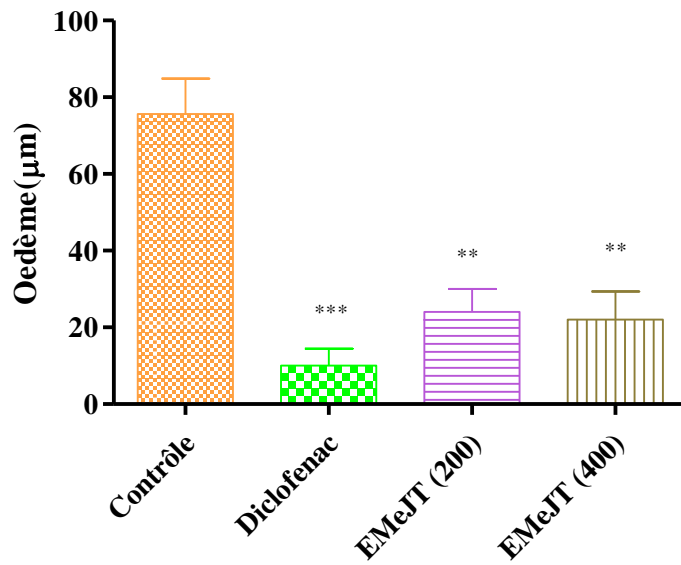
Une vasodilatation sévère, modifications cutanées œdémateuses et l'infiltration des cellules inflammatoires sont les signes d'inflammation aiguë détectées après l'application topique du xylène (**Igbe et al., 2010**).

Les rats du lot témoin ont développé un œdème sur la face interne de l'oreille droite de  $75.6 \pm 14.74\mu\text{m}$ . Le diclofénac à la dose de 10 mg/Kg a fortement inhibé ( $p < 0,001$ ) l'œdème de l'oreille comparé aux rats du lot témoin. La différence de l'épaisseur de l'oreille avant et 2 h après l'application du xylène était de  $10 \pm 4.47\mu\text{m}$ , ce qui correspond à une inhibition de 86.77% (Figure 33, 34).

Le prétraitement avec l'EMeJT aux doses 200 et 400 mg/Kg a réduit de manière significative ( $p < 0,01$ ) l'inflammation par rapport aux rats du groupe témoin. Les deux doses ont présenté un pourcentage d'inhibition égale respectivement 68.25 et 70.90%.

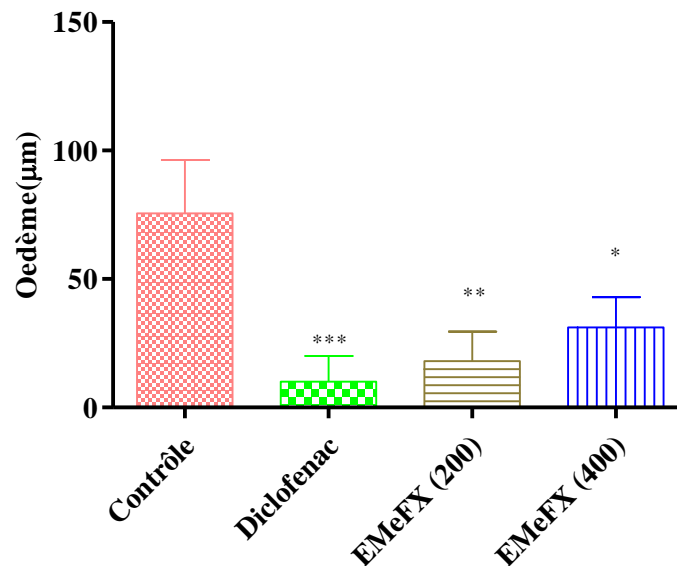
L'EMeFX aux doses 200 et 400mg/kg administrées oralement ont présenté un pourcentage d'inhibition significatif de 76.19 et 58.73 % respectivement.

L'effet antinflammatoire de l'EMeJT et l'EMeFX n'est pas dose dépendant. Les deux doses testées n'ont pas présenté une différence significative entre eux ( $p \geq 0,05$ ).



**Figure 33.** Effet de l'EMeJT sur l'oedème de l'oreille induit par le xylène chez les rats.

(Les valeurs représentent les moyennes  $\pm$  SEM; \*\*\*:  $p < 0,001$ ; \*\*:  $p < 0,01$  significativement différent par rapport au témoin).



**Figure 34.** Effet de L'EMeFX sur l'oedème de l'oreille induit par le xylène chez les rats. (Les

valeurs représentent les moyennes  $\pm$  SEM ; \*\*\*:  $P < 0,001$ ; \*\*:  $p < 0,01$ ; \*:  $p < 0,05$  significativement différent par rapport au témoin).

Les extraits de *F. angustifolia* ont réduit d'une manière significative l'œdème de la patte induit par la carragénine et ont également inhibé de manière significative l'œdème de l'oreille induit par des doses uniques et multiples de 12-O-tétradécanoylphorbol (Atmani *et al.*, 2017). Dans l'essai d'œdème auriculaire induit par le xylène, les médiateurs d'inflammation libérés aboutissent à une dilatation des artérioles et des veinules et à une augmentation de la perméabilité vasculaire (Eidi *et al.*, 2011). L'EMeJT et l'EMeFx ont exercé leurs effets inhibiteurs tout en stabilisant la membrane, en réduisant la perméabilité capillaire et / ou en inhibant la libération des médiateurs d'inflammation.

L'activité anti-inflammatoire de l'EMeJT et l'EMeFX dans ce modèle peut suggérer l'inhibition de la phospholipase A<sub>2</sub> qui est impliqué dans la physiopathologie de l'inflammation due au xylène (Sowemimo *et al.*, 2013; Sowemimo *et al.*, 2015).

Il existe une abondante littérature qui a révélé des corrélations entre les effets anti-inflammatoires, analgésiques et les contenus des plantes médicinales en composés phénoliques (Sofidiya *et al.*, 2014). Autres études ont montré que les effets anti-inflammatoires et analgésiques peuvent être dus à la teneur élevée en polyphénols en particulier les acides phénoliques et les flavonoïdes (Sowemimo *et al.*, 2013).

La richesse de l'EMeJT et l'EMeFX en polyphénols peut être responsable des activités biologiques observées.

## 2.5. Activité antalgique

### 2.5.1. Test du writhing : Effet antalgique périphérique

Le test de Koster est un modèle de douleur viscérale non spécifique, simple et fiable, largement utilisé pour évaluer rapidement l'effet antalgique périphérique des médicaments ou des constituants à base de plantes (Shukla *et al.*, 2010; Hossain *et al.*, 2011; Jan et Khan, 2016). Dans ce modèle, l'acide acétique induit une douleur inflammatoire suite à la libération de certains médiateurs endogènes (Florentino *et al.*, 2016) tels que l'histamine, les prostaglandines (PGE<sub>2</sub> et PGE<sub>α</sub>), la sérotonine, la bradykinine, la substance P et les cytokines telles que IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  et IL-8 (Ribeiro *et al.*, 2010, Banerjee *et al.*, 2012).

La douleur résultante est caractérisée par des contractions du muscle abdominal accompagnée d'un étirement des membres antérieurs et d'un allongement du corps (Rauf *et al.*, 2014).

Dans ce modèle de nociception périphérique, il y'aura une biogenèse des prostaglandines via la voie de la COX et les leucotriènes via la voie de la lipoxygénase (Siddiqui *et al.*, 2018).

Ces médiateurs ont été mis en évidence en quantités élevées dans les exsudats péritonéaux des rongeurs après injection de l'acide acétique (Kouakou *et al.*, 2010a; Chakraborty *et al.*,

2012). Ils vont stimuler les récepteurs nociceptifs situés au niveau péritonéal (**Kouakou et al., 2010b; Pingsusaen et al., 2014**). Les prostaglandines libérées, principalement PGE2 sont responsables de la sensation de la douleur en excitant les fibres -A $\delta$  des nocicepteurs (**Zahid Hosen et al., 2011**).

Tout agent qui réduit le nombre des crampes démontre un effet antalgique périphérique tout en inhibant la synthèse des prostaglandines (**Zulfiker et al., 2010; Muhammad et al., 2012; Sofidiya et al., 2014**). Les AINS vont inhiber l'enzyme COX dans les tissus périphériques et affecter le mécanisme de stimulation des nocicepteurs afférents (**Afsar et al., 2015**).

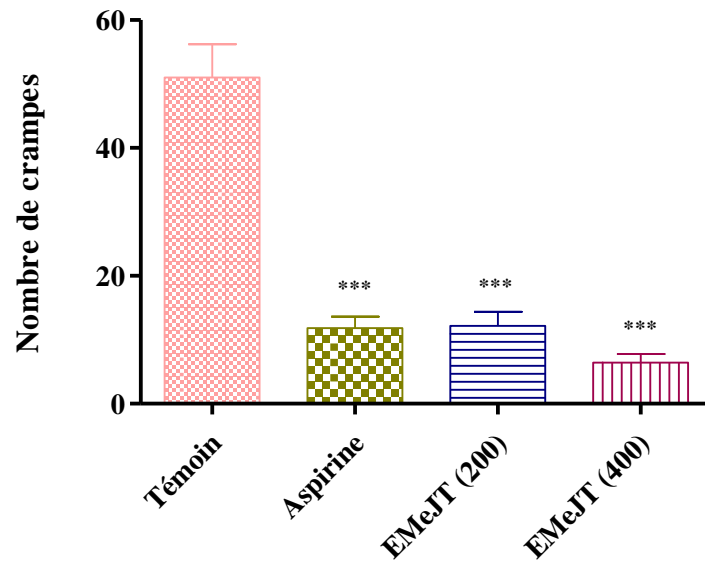
Dans notre étude l'injection de l'acide acétique au lot témoin provoque des crampes abdominales au bout de 15 min. Les produits administrés (l'aspirine, l'EMeJT et l'EMeFX) ont diminué le nombre des crampes abdominales dans le même intervalle de temps.

Les pourcentages d'inhibition des contractions de l'EMeJT aux doses 200 mg/kg et 400 mg/kg ont été respectivement de 76.45% et 87.64% par rapport au témoin. L'EMeJT a inhibé la douleur provoquée par l'acide acétique d'une façon non dose dépendante et d'une manière très significative ( $p < 0.001$ ) par rapport au témoin.

De même l'EMeFX a réduit le nombre des contorsions abdominales d'une façon non dose-dépendante et d'une manière très significative ( $p < 0.001$ ) par rapport au témoin.

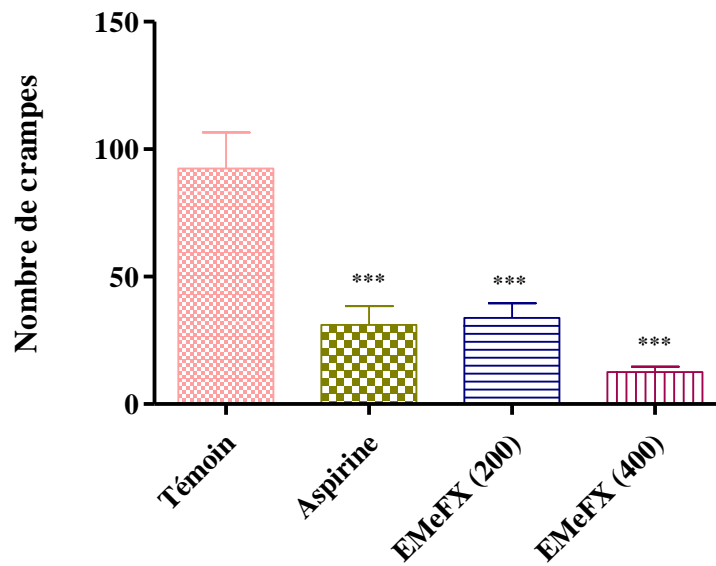
Aux doses testées (200 mg/kg et 400 mg/kg) l'EmeFX a présenté un pourcentage d'inhibition égale à 62.61% et 86.06% respectivement (Figure 35, 36).

L'effet inhibiteur de médicament de référence (Aspirine) n'a pas montré de différence significative avec ceux de l'EMeJT et l'EMeFX.



**Figure 35.** Pouvoir antalgique de l'EMeJT sur les contorsions induites par l'acide acétique.

(Les valeurs représentent les moyennes ± SEM; \*\*\* p<0,001 significativement différent par rapport au témoin).



**Figure 36.** Pouvoir antalgique de l'EMeFX sur les contorsions induites par l'acide acétique.

(Les valeurs représentent les moyennes ± SEM; \*\*\* p<0,001 significativement différent par rapport au témoin).

Le prétraitement avec les extraits méthanoliques et dichlorométhanoliques des feuilles et des tiges de *J. oxycedrus* a montré un effet antalgique en réduisant significativement le pourcentage des mouvements de torsion (63.6%, 40 % respectivement) (**Moreno et al., 1998**). Le test des crampes abdominales induites par la p-benzoquinone est un autre modèle d'évaluation de l'activité antalgique similaire à celui de l'acide acétique. Les taux d'inhibition des extraits méthanoliques des fruits et des feuilles de *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* et *J. communis* var. *saxatilis* à la dose 100mg/kg ont été respectivement 28.2%, 27.2% et 30.5%, 35.2%. Les extraits ont montré une inhibition des crampes sans induire des dommages gastriques ni de toxicité aiguë apparente. Quatre souris sur les six traitées par l'acide acétylsalicylique ont souffert des lésions gastriques sévères (**Akkol et al., 2009**).

La fraction n-butanolique des baies de *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* à la dose 100 mg/kg a montré une activité anti-nociceptive significative (25.9 %) dans le test de torsion induit par la p-benzoquinone sans induire des dommages gastriques ou de toxicité (**Orhan et al., 2012**).

L'extrait méthanolique de *J. communis* a été testé pour évaluer l'activité antalgique par différents tests (le test du formol, test writhing et le test tail flick). L'extrait a montré une activité antalgique significative dans les trois tests. Dans le test writhing l'extrait méthanolique utilisé aux doses 100 mg/kg et 200 mg/kg a montré une inhibition significative et dose-dépendante (52.39%, 56.55% respectivement) par rapport au groupe témoin (**Banerjee et al., 2012**).

La désoxypodophyllotoxine, la désoxypicropodophyllotoxine et l'acide thuriférique isolés à partir du *J. thurifera* ont été analysés en tant qu'agents antalgiques et anti-inflammatoires et cytotoxiques. Les résultats de l'activité antalgique ont montré que la désoxypicropodophylline est moins toxique et plus efficace que la désoxypodophyllotoxine et inhibe les crampes induites par l'acide acétique chez la souris (77.8%, 71.3% respectivement) (**Guerrero et al., 2013**).

Outre l'effet anti-inflammatoire significatif de l'extrait méthanolique des feuilles de *F. floribunda* révélé dans les trois modèles d'inflammation, la douleur induite par l'acide acétique a été significativement réduite par cet extrait en fonction de la dose. A la dose 100 mg/kg le pourcentage d'inhibition était de 22.57%, tandis qu'à la dose 200 mg/kg était de 32.23%. La dose 400mg/kg a présenté le taux d'inhibition le plus élevé (48.87%) (**Lingadurai et al., 2007**).

L'acide acétique et le test de la plaque chauffante ont été utilisés pour évaluer les effets antalgiques des extraits méthanoliques et les fractions de *F. xanthoxyloides* chez le rat. L'extrait méthanolique et ses fractions ont présenté une réponse dose dépendante. La fraction

chloroformique à la dose 200 mg/kg a réduit significativement les crampes jusqu'à 77.23% contre un taux d'inhibition égale à 80.04 % et 73.00 % pour le diclofénac sodique et l'aspirine, respectivement (**Younis et al., 2016a**).

Les résultats obtenus ont révélé que l'EMeJT et l'EMeFX ont un effet inhibiteur significatif non dose-dépend. L'effet inhibiteur marqué de l'EMeJT et l'EMeFX suggère une activité antalgique périphérique des principes actifs impliquant probablement l'inhibition des voies de la biogénèse lipooxygénase et / ou de la cyclooxygénase (**Siddiqui et al., 2018**) ou l'inhibition de la sensibilité des nocicepteurs vis-à-vis les substances algogènes (bradykinine, histamine). Ils peuvent également agir en bloquant la transmission des messages douloureux aux centres supérieurs du contrôle de la douleur (**Kouakou et al., 2010 b**).

Selon **Bokanisereme et al., (2013)** l'inhibition de la torsion induite par l'acide acétique chez le rat peut résulter d'un blocage de l'afflux de calcium et / ou de mécanismes intracellulaires dépendant du calcium.

L'inflammation est généralement associée à la douleur et par conséquent les médicaments anti-inflammatoires sont doués d'une activité antalgique (**Al-Sayed et al., 2018**). L'activité antalgique de l'EMeJT et l'EMeFX peut suivre les effets anti-inflammatoires observés auparavant.

Les AINS exercent leurs effets antalgiques et anti-inflammatoires par l'inhibition de l'activité de la COX (**Hosseinzadeh et Younesi, 2002**). L'association entre les effets anti-inflammatoires et antalgiques des extraits peut être liée à l'inhibition de la COX.

Ce test présente une bonne sensibilité aux antalgiques centraux et périphériques pour l'évaluation préliminaire de l'activité anti-nociceptive, mais une faible spécificité aux antihistaminiques, les myorelaxants ainsi que d'autres médicaments qui peuvent inhiber la réponse convulsive abdominale, ce qui laisse une marge possible d'interprétation erronée des résultats (**Hossain et al., 2014; Chakraborty et al., 2012; Sofidiya et al., 2014**).

Les composés phénoliques sont dotés de plusieurs propriétés thérapeutiques, d'ailleurs l'hypothèse probable de l'efficacité de nombreuses plantes médicinales repose totalement ou partiellement sur leurs présences dans ces plantes (**Soltani et al., 2017**).

Selon **Kouakou et al., (2010a); Kouakou et al., (2010b)** les flavonoïdes sont dotée de propriété anti inflammatoire par l'inhibition de la production des prostaglandines et des leucotriènes. Il est rapporté que les flavonoïdes (tels que quercétine, kaempferol, isorhamnétine rutine, lutéoline, hespéridine et les biflavonoïdes), les terpènes, les coumarines, les tanins et les stéroïdes sont responsables d'effet anti-nociceptif et / ou anti-

inflammatoire significatif (**Hosseinzadeh et Younesi, 2002; Ojewole, 2007; Alwashli et al., 2012**).

Il existe plusieurs rapports sur le rôle des flavonoïdes et des tanins isolés des plantes médicinales en tant qu'agents analgésiques et anti-inflammatoires (**Hossain et al., 2014**). Ainsi, les activités révélées de l'EMeJT et l'EMeFX peuvent être attribuées aux flavonoïdes et aux tanins présents dans les extraits des deux plantes.

La rutine et l'acide caféique ont un effet inhibiteur vis-à-vis la COX et la 5-lipoxygénase (**Afsar et al., 2015**). La présence de la rutine révélée par HPLC peut expliquer l'activité analgésique de ces extraits testés.

### 2.5.2. Test au formaldéhyde

Le test writhing a montré que l'effet antalgique de l'EMeJT et l'EMeFX est significatif, mais pas spécifique, c'est à dire il n'a pas indiqué si l'effet résulte d'actions centrales et / ou périphériques (**Zhu et al., 2011**). Par conséquent, afin d'obtenir un résultat précis et d'éviter une mauvaise interprétation des résultats, le test au formol a été réalisé.

Le test au formol comprend 2 phases distinctes reflétant éventuellement différents types de mécanismes de la douleur. Les scores nociceptifs sont enregistrés entre 0 et 5 minutes (phase précoce) et entre 15 et 30 minutes (phase tardive) après l'injection du formol, représentant ainsi les réponses à la douleur neurogène et inflammatoire respectivement. (**Reanmongkol et al., 2009 ; Ribeiro et al., 2010; Sofidiya et al., 2014; Florentino et al., 2016; Abotsi et al., 2017**). Le temps (en secondes) passé à lécher et à mordre la patte injectée a été pris comme indicateur de la réponse à la douleur (**Vijay et Vijayvergia, 2010**).

Les médicaments à action centrale tels que la morphine inhibent les phases précoce et tardive, alors que les médicaments à action périphérique tels que l'aspirine n'inhibent que la deuxième phase (**Reanmongkol et al., 2009**).

Dans la présente étude l'injection du formaldéhyde a induit des démangeaisons chez tous les rats. La recherche bibliographique n'a pas révélé ce type de réponse chez les rats. Des tremblements ont été signalés comme réponse après l'injection du formaldéhyde par **Nonato et ses collaborateurs (2009)**.

## 2.6. Activité antipyrétique

La pyrexie est le second signe de l'inflammation, associé à la libération accrue de certains pyrogènes qui induisent la synthèse des prostaglandines (PGE<sub>2</sub>) (**Jan et Khan, 2016**).

L'injection sous-cutanée de la levure de bière induit une pyrexie (appelée fièvre pathogène) en augmentant la synthèse des prostaglandines. C'est un test utile pour le criblage du potentiel antipyrétique des substances végétales ainsi que les substances synthétiques (**Afsar et al., 2015**). C'est une méthode fiable et peu coûteuse (induite par un pyrogène non toxique facilement disponible), permet l'induction d'une fièvre, qui est contrôlée par les antipyrétiques couramment utilisés chez l'homme et les nouveaux antipyrétiques sélectionnés pour les petits animaux (**Abotsi et al., 2017**), et persistante chez la majorité des animaux (**Tomazetti et al., 2005**).

La fièvre est produite par plusieurs substances endogènes tels que l'interleukine IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, le facteur de nécrose tumorale- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), la protéine macrophagique de l'inflammation (MIP-1) et les prostaglandines. La levure de bière induit à la fois la synthèse du TNF- $\alpha$  et des prostaglandines. Les antipyrétiques, tels que l'aspirine et le paracétamol sont largement utilisés depuis la fin du 19<sup>ème</sup> siècle. Il est maintenant clair que la plupart des antipyrétiques agissent en inhibant la synthèse des prostaglandines au sein de l'hypothalamus tout en bloquant l'activité enzymatique de la cyclooxygénase. Récemment, d'autres mécanismes d'action des antipyrétiques ont été suggérés, notamment leur capacité de réduire les médiateurs pro-inflammatoires, de renforcer les signaux anti-inflammatoires ou de stimuler les messages antipyrétiques (**Bokanisereme et al., 2013**). L'activité antipyrétique est souvent citée comme caractéristique des médicaments ou des composés qui ont un effet inhibiteur sur la biosynthèse des prostaglandines (**Afsar et al., 2015**).

Après dix neuf heures de l'injection de la suspension de la levure de bière une élévation de la température rectale chez tous les rats constitutifs des différents lots a été constatée (Tableaux 19, 20). Pour les rats témoins (contrôles hyperthermiques) la température est passée de  $36.54 \pm 0.25$  °C à T<sub>v</sub> pour atteindre  $38.5 \pm 0.08$  °C à T<sub>0</sub> ; soit une variation de 1.96 °C de T<sub>v</sub> à T<sub>0</sub>. La température prise par voie rectale des rats du lot témoin reste élevée à partir de T<sub>0</sub> jusqu'à la fin de l'expérience. Il ressort des résultats qu'il n'ya pas de différence significative ( $P \geq 0.05$ ) entre les lots traité avec l'EMeJT et l'EMeFX aux doses 200 et 400 mg/kg et le lot témoin pendant toutes les heures de l'expérience à l'exception à T<sub>1</sub> et T<sub>5</sub> où l'EMeJT (200mg/kg) et l'EMeFX (400mg/kg) ont présenté une différence significative ( $p < 0.05$ ).

Le paracétamol utilisé comme antipyrétique de référence a diminué d'une façon très significative la fièvre par rapport au lot témoin ( $p < 0,001$ ), soit de  $38.02 \pm 0.12$  °C (T<sub>0</sub>) à

37.22 ± 0.25°C (T1). L'effet du paracétamol s'est révélé intéressant dès la première heure qui suit son administration, il est maintenu jusqu'à la 5<sup>ème</sup> heure (37.66 ± 0.12 °C pour le paracétamol contre 38.92 ± 0.34°C pour le témoin).

**Tableau 19.** Effet de l'EMeJT et le paracétamol sur la pyrexie induite par la levure de bière chez les rats.

	Température °C						
	Tv	T0	T1	T2	T3	T4	T5
<b>Témoin</b>	36.54±0.25	38.5±0.08	39.32±0.21	38.88±0.28	39.08±0.32	38.76±0.27	38.92±0.35
<b>Paracétamol</b>	36.02±0.19	38.02±0.12	37.22±0.25***	36.82±0.33***	36.90±0.39***	37.28±0.38***	37.66±0.12***
<b>EMeJT (200mg/kg)</b>	37.12±0.12	38.28±0.18	38.66±0.18*	38.7±0.17ns	38.64±0.13ns	38.32±0.15ns	38.4±0.19ns
<b>EMeJT (400mk/kg)</b>	36.86±0.07	38.46±0.05	39.12±0.07ns	39.08±0.15ns	38.84±0.20ns	38.68±0.18ns	39.04±0.09ns

(Les valeurs représentent la moyenne ± SE ; \* : P<0,05, \*\*\* : P<0,001: indique une différence statistiquement significative par rapport au groupe témoin; ns: différence non significative par rapport au groupe témoin).

**Tableau 20.** Effet de l'EMeFX et le paracétamol sur la pyrexie induite par la levure de bière chez les rats.

	Température °C						
	Tv	T0	T1	T2	T3	T4	T5
<b>Témoin</b>	36.54±0.25	38.5±0.08	39.32±0.21	38.88±0.28	39.08±0.32	38.76±0.27	38.92±0.35
<b>Paracétamol</b>	36.02±0.19	38.02±0.12	37.22±0.25***	36.82±0.33***	36.90±0.39***	37.28±0.38***	37.66±0.12***
<b>EMeFX (200mg/kg)</b>	36.5±0.30	38.74±0.10	38.84±0.22ns	38.82±0.17ns	38.72±0.13ns	39.08±0.15ns	38.94±0.17ns
<b>EMeFX (400mg/kg)</b>	36.46±0.26	38.88±0.09	38.78±0.14ns	38.7±0.22ns	38.62±0.21ns	38.84±0.27ns	38.66±0.21*

(Les valeurs représentent la moyenne ± SEM ; \* : P<0,05, \*\*\*: P<0,01: indique une différence statistiquement significative par rapport au groupe témoin; ns: différence non significative par rapport au groupe témoin).

Une fois les médiateurs pro-inflammatoires (TNF $\alpha$ , l'interleukine 6, 1 $\beta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ ) parvenues dans la circulation agissent éventuellement sur l'hypothalamus et stimulent la synthèse de la PGE2 dans la région préoptique des centres thermorégulateurs de l'hypothalamus antérieur (**Ribeiro et al., 2010; Ouédraogo et al., 2012; Gupta et al., 2013; Pingsusaen et al., 2014**).

La plupart des médicaments antipyrétiques inhibent l'expression de la COX-2 afin de réduire la température corporelle élevée en inhibant la biosynthèse de la PGE2. Ces antipyrétiques synthétiques inhibent de manière sélective et irréversible la COX-2, par contre ils sont toxiques pour les cellules hépatiques, les glomérules, le cortex cérébrale et le muscle cardiaque, alors que les inhibiteurs naturels de la COX-2 ont une sélectivité inférieure avec moins d'effets secondaires. La recherche de plantes médicinales ayant une activité antipyrétique puissante a récemment pris de l'ampleur, car les antipyrétiques disponibles, tels que le paracétamol, le nimusulide, etc. ont un effet toxique sur les divers organes du corps (**Ashok Kumar et al., 2011; Jan et Khan, 2016**).

L'administration orale de l'EMeJT et l'EMeFX n'a pas atténué la température rectale chez les rats fébriles ce qui suggère que les deux extraits ne sont pas capable de traverser la barrière hémato-encéphalique pour exercer des effets antipyrétiques (**Pingsusaen et al., 2014**).

Selon **Siddiqui et al., (2018)** tout médicament ayant un effet d'inhibition sur la biogenèse des prostaglandines a généralement un effet antipyrétique. L'Effet anti-inflammatoire de l'EMeJT et l'EMeFx n'a pas reflété un effet antipyrétique.

Il y a une autre possibilité d'influence de certains composés sur la sécrétion de la vasopressine et l'arginine qui agissent comme des agents antipyrétiques (**Siddiqui et al., 2018**).

En fait, la biodisponibilité des substances actives peut être réduite lorsqu'ils sont administrés par voie orale, en raison de leurs instabilité dans les liquides gastriques et intestinaux et / ou leurs mauvaise absorption dans le tractus gastro-intestinal (**Nonato et al., 2009**).

La nature et la concentration des composants actifs peuvent varier, ce qui peut entraîner des variations dans les activités internes individuelles de ces composants. L'interaction interne des composants actifs peut entraîner certains effets synergiques ou antagonistes pouvant imposer une interférence sur les activités pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des principes actifs (**Siddiqui et al., 2018**).

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'utilisation des plantes ou leurs composés naturels est devenue un axe de recherche important non seulement dans la médecine et la pharmacologie, mais aussi dans les industries agro-alimentaires et cosmétiques.

Ce travail a eu pour objectif l'évaluation de l'activité biologique *in vitro* et *in vivo* des extraits de *Juniperus. thurifera* et *Fraxinus xanthoxyloides*.

Les extraits polaires (EMeJT et EMeFX) ont été les plus riches en polyphénols. Les teneurs en tanins ont été importantes dans L'EMeJT, tandis que les teneurs en tanins et des flavonoïdes ont été très rapprochées dans l'EMeFX.

L'HPLC a permis l'identification de la présence de sept composés phénoliques dans l'EMeJT et six composés dans l'EMeFX. L'analyse CG/SM a révélé la présence de certains composés pour la première fois dans le profil chimique de l'HEJT.

Les résultats du test au DPPH ont montré que l'EMeJT, l'EMeFX et l'EDmFX ont présenté des effets anti-radicalaires significatifs. Une corrélation significative entre l'effet anti-radicalaire et la teneur en flavonoïdes des extraits de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides* a été démontrée.

L'administration orale de l'EMeJT et l'EMeFX à la dose 400 mg/ml a entraîné une augmentation significative de la capacité anti-oxydante plasmatique vis-à-vis le radical DPPH.

Seul l'EMeFX a réduit significativement le fer ferrique en fer ferreux. L'inhibition de l'oxydation couplée de l'acide linoléique  $\beta$ -carotène par L'EHxFX a été significativement supérieure à celle du BHT. Le pouvoir antioxydant de l'EDmFX est similaire à celui du BHT. Tous les extraits de *J. thurifera* ont montré une activité anti-oxydante qui demeure statistiquement non significative. Seuls les effets antioxydants des extraits de *F. xanthoxyloides* se sont révélés corrélés avec les teneurs en polyphénols, les flavonoïdes et les tanins.

L'huile de *J. thurifera* n'est pas dotée d'un effet anti-radicalaire et s'est révélé aussi comme un antioxydant très faible.

Les extraits et l'huile essentielle de *J. thurifera* se sont avérés actifs contre un certain nombre de microorganismes testés, par contre tous les extraits de *F. xanthoxyloides* ne sont pas doués d'un effet antibactérien.

L'EMeJT et l'EMeFX se sont avérés non toxiques. Les doses des extraits sélectionnées (200mg/kg ; 400mg/kg) ont un effet anti-inflammatoire en inhibant l'afflux des PMNs dans la cavité pleurale et en réduisant l'œdème de l'oreille chez le rat. De même l'EMeJT et

l'EMeFX sont doués d'un effet analgésique en inhibant la douleur provoquée par l'acide acétique, par contre aucun effet antipyrétique n'a été constaté chez les deux espèces.

Les résultats présentés dans notre travail peuvent contribuer à la connaissance des potentiels thérapeutiques de ces espèces et semblent justifier leurs utilisations dans la médecine populaire. Les résultats démontrent également leurs potentiels en tant que sources de composés antioxydants, anti-inflammatoires et antalgiques naturels.

Une prolongation de ce travail à l'avenir est souhaitable pour identifier les composants responsables des effets bioactifs des extraits ainsi que leurs mécanismes d'action.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### A

- Abdelguerfi, A., Laouar, M. (2000) Le Frêne (*Fraxinus* spp.) et le Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*): écologie et utilisation en Algérie. *Fodder Shrubs Development in Arid and Semi-Arid Zones*. **II**: 385-389.
- Abdel-Kader, M.S., Alanazi, M.T., Bin Saeedan, A.S., Al-Saikhan, F.I., Hamad, A.M. (2017) Hepatoprotective and nephroprotective activities of *Juniperus sabina* L. aerial parts. *J P P Res*. **5(1)**: 29-39.
- Wonder Kofi Mensah Abotsi, Stanley Benjamin Lamptey, Stephen Afrane, Eric Boakye-Gyasi, Ruth Uwa Umoh & Eric Woode (2017) An evaluation of the anti-inflammatory, antipyretic and analgesic effects of hydroéthanol leaf extract of *Albizia zygia* in animal models, *Pharmaceutical Biology*, 55:1, 338-348, DOI: 10.1080/13880209.2016.1262434.
- Aboul-ela, M., El-shaer, N., Abd El-Azim, T. (2005) Chemical constituents and antihepatotoxic effect of berries of *Juniperus Phoenicea* Part II. *Nat Prod Sci*. **11(4)**: 240-247.
- Abouzid, S.F., Ahmed, O.M., Ahmed, R.R., Mahmoud, A., Abdella E., Ashour, M.B. (2013) Antihyperglycemic Effect of Crude Extracts of Some Egyptian Plants and Algae . *J Med Food*. **00 (0)**: 1-7.
- Robert P. Adams , Luke E. Mumba , Shelley A. James , Ram Naresh Pandey , Thierry Gauquelin & Wadi Badri (2003) Geographic Variation in the Leaf Oils and DNA Fingerprints (RAPDs) of *Juniperus thurifera* L. from Morocco and Europe, *Journal of Essential Oil Research*, 15:3, 148-154, DOI: [10.1080/10412905.2003.9712098](https://doi.org/10.1080/10412905.2003.9712098).
- Nadia Achak , Abderrahmane Romane , Mohamed Alifriqui & Robert P. Adams (2008) Effect of the Leaf Drying and Geographic Sources on the Essential Oil Composition of *Juniperus thurifera* L. var. *Africana* Maire from the Tensift-Al Haouz, Marrakech Region, *Journal of Essential Oil Research*, 20:3, 200-204, DOI: [10.1080/10412905.2008.9699990](https://doi.org/10.1080/10412905.2008.9699990).
- Nadia Achak , Abderrahmane Romane , Mohamed Alifriqui & Robert P. Adams (2009) Chemical Studies of Leaf Essential Oils of Three Species of *Juniperus* From Tensift Al Haouz-Marrakech Region (Morocco), *Journal of Essential Oil Research*, 21:4, 337-341, DOI: [10.1080/10412905.2009.9700185](https://doi.org/10.1080/10412905.2009.9700185).
- Adebiyi, R.A., Elsa, A.T., Agaie, B.M., Etuk, E.U. (2006) Antinociceptive and antidepressant like effects of *Securidaca longepedunculata* root extract in mice. *J Ethnopharmacol*. **107**: 234-239.
- Adeyemi, O.O., Yemitan, O.K., Afolabi, L. (2008) Inhibition of chemically induced inflammation and pain by orally and topically administered leaf extract of *Manihot esculenta* Crantz in rodents. *J Ethnopharmacol*. **119 (1)**: 6-11.
- Afsar, T., Khan, M.R., Razak, S., Ullah, S., Mirza, B. (2015) Antipyretic, anti-inflammatory and analgesic activity of *Acacia hydaspica* R. Parker and its phytochemical. *BMC Complement Altern Med*. **15**: 136.

Agrawal, OP., Bharadwaj, S., Mathur, R. (1980) Antifertility Effects of Fruits of *Juniperus communis*. *Planta Med. suppl*: 98-101.

Jong Hoon Ahn, Eunjin Shin, Qing Liu, Seon Beom Kim, Kyeong-Mi Choi, Hwan-Soo Yoo, Bang Yeon Hwang & Mi Kyeong Lee (2013): Secoiridoids from the stem barks of *Fraxinus rhynchophylla* with pancreatic lipase inhibitory activity, *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 27:12, 1132-1135.

Ait-Ouazzou, A., Loran, S., Arakrak, A., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, A., Pagan, 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 Res Int.* **45**: 313-319.

Akkol, E K., Guvenc, A., Yesilada, E. (2009) A comparative study on the antinociceptive and anti-inflammatory activities of five *Juniperus* taxa. *J Ethnopharmacol.* **125**: 330-336.

Alabri, T.H.A., Al Musalami, A.H.S., Hossain, M.A., Weli, A.M., Al-Riyami, Q. (2014) Comparative study of phytochemical screening antioxidant and antimicrobial capacities of fresh and dry leaves crude plant extracts of *Datura metel* L. *J King Saud Univ Sci.* **26**: 37-243.

Alan, S., kurkcuoglu, M., Sener, G. (2016) Composition of the essential oils of *Juniperus oxycedrus* L.subsp. *oxycedrus* growing in Turkey. *Turk J Pharm Sci.* **13(3)**: 300-303.

Al-Attar, A.M. et al., Effect of *Olea oleaster* and *Juniperus procera* leaves extracts on thioacetamide induced hepatic cirrhosis in male albino mice. *Saudi Journal of Biological Sciences* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.08.011>.

Algandaby, M.M.A (2015) Assessment of acute and subacute toxic effects of the Saudi folk herb *Retama raetam* in rats. *J Chin Med Assoc.* **78**: 691-701.

Al Groshi, A., Evans, AR., Ismail, FMD., Nahar1 L., Sarker, S D. (2018) Cytotoxicity of Libyan *Juniperus phoenicea* against Human Cancer Cell Lines A549, EJ138, Hepg2 and MCF7. *Pharm Sci.* **24**: 3-7.

Ali, A.M., Mackeen, M.M., Inta-Safinar, I., Hamid, M., Lajis, N.H., El-Sharkawy, SH., Murakoshi, M.( 1996) Antitumour-promoting and antitumour activities of the crude extract from the leaves of *Juniperus chinensis*. *J Ethnopharmacol.* **53**: 165-169.

Ali, S.A, Rizk, M.Z., Ibrahim, N.A, Abdallah, M.S., Sharara, H.M., Moustafa, M.M. (2010) Protective role of *Juniperus phoenicea* and *Cupressus sempervirens* against CCl<sub>4</sub>. *World J Gastrointest Pharmacol Ther.* **1(6)**: 123-131.

Aljaiyash, A.A., Gonaid, M.H., Islam, M., Chaouch, A. (2014) Antibacterial and cytotoxic activities of some Libyan medicinal plants. *J Nat Prod Plant Resour.* **4 (2)**: 43-51.

Almela, L., Sanchez-Munoz, B., Fernandez-Lopez, J A., Roca, M.J, Rabe, V. (2006) Liquid chromatographic- mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. *J Chromatography A.* **1120**: 221-229.

Al-Mustafa, A.H., Al-Thunibat, O.Y (2008) Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pak J Biol Sci.* **11 (3)**: 351-358.

Alqasoumi, S.I., Abdel-Kader, M.S. (2012) Terpenoids from *Juniperus procera* with hepatoprotective activity. *Pak J Pharm Sci.* **25 (2)**: 315-322.

Alqasoumi, S.I., Farraj, AI., Abdel-Kader, MS. (2013) Study of the hepatoprotective effect of *Juniperus phoenicea* constituents. *Pak J Pharm Sci.* **26 (5)**: 999-1008.

Al-Sayed, E., Abdel-Daim, M.M. (2018) Analgesic and anti-inflammatory activities of epicatechin gallate from *Bauhinia hookeri*. *Drug Dev Res.* 1-8.

Ali Esmail Al-Snafi., *Medical importance of juniperus communis - A Review, Indo Am. J. P. Sci,* 2018; 05(03).

Alwashli, A., Al Sobarry, M., Cherrah, Y., Alaoui, K. (2012) Toxicité aiguë et activité analgésique de l'extrait méthanolique de *Rumex nervosus* Vahl. *Phytothérapie.* **10 (5)**: 293-297.

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 J Pharm Res.* **(3) 10**: 951-965.

Alzergy, A.A., Elgharbawy, S.M.S. (2017) Hepatoprotective effects of *Juniperus phoenicea* L. on trichloroacetic acid induced toxicity in mice: Histological, Ultrastructure and Biochemical Studies. *J Am Sci.* **13(12)**: 41-61.

Amalich, S., Zekri, N., Soro, N.K., Fadili, K., Khabbal, Y., Mahjoubi, M., Akdim, E.H., Zaïr, T. (2015) Chemical Characterization and Antibacterial Evaluation of *Juniperus phoenicea* L. Leaves and Fruits' Essential Oils from Eastern High Atlas (Morocco) *International Journal of Innovation and Applied Studies.* **13 (4)**: 881-889.

Amalich, S., Fadili, K., Fahim, M., EL Hilali, F., Zaïr, T. (2016) Polyphenols content and antioxidant power of fruits and leaves of *Juniperus phoenicea* L. From Tounfite (Morocco). *Mor J Chem.* **4 (1)**: 177-186.

Amand, L., Langlois, L. (2009) Agriculture biologique. Educagri (ED). Dijon. 235p.

Amezouar, F., Badri, W., Hsaine, M., Bourhim, N., Fougrach, H. (2013) Evaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire de *Erica arborea* L. du Maroc. *Pathol Biol.* **61** : 254-258.

Amiot, M.J., Riollet, C., Landrier, J.F. (2009) Polyphénols et syndrome métabolique. *Médecine des maladies Métaboliques.* **3(5)**: 476-482.

Amresh Gupta, A.V., Singh Rawat A. K. (2017) Antioxidant and hepatoprotective potential of phenol-rich fraction of *Juniperus communis* Linn. leaves. *Pharmacogn Mag.* **13(49)**: 108-113.

Angioni, A., Barra, A., Russo, M .T.,Coroneo, V., Dessiä, S, Cabras, P. (2003) Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 3073-3078.

Ardestani, A., Yazdanparast, R. (2007) Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chem.* **104**: 21-29.

Artemkinaa, N.A., Orlovab, M.A., Lukinab N.V. (2016) Chemical composition of *Juniperus sibirica* Needles (Cupressaceae) in the Forest-Tundra Ecotone, the Khibiny Mountains. *Russian Journal of Ecology.* **47(4)**: 321-328.

Arunika, S., Palash, M. (2015) Antioxidant potential of *Fraxinus floribunda* bark extracted through various aqueous processing. *Free Rad Antiox.* **5 (1)**: 6-12.

Arunika, S., Bhaskar, D., Ram Kumar, S., Palash, M. (2017) Antioxidant, anti-inflammatory, and hepatoprotective activity of *Fraxinus floribunda* bark and the influence of extraction process on their bioactivity. *Journal of Pharmacy Research.* **11(8)**: 983-990.

Ashok Kumar B.S., Lakshman, K., Jayaveera K.N. (2011) Comparative antipyretic activity of méthanol extracts of some species of *Amaranthus*. *Asian Pac J Trop Biomed.* **1**: 47-50.

J. Asili , S.A. Emami , M. Rahimizadeh , B.S. Fazly-Bazzaz & M.K. Hassanzadeh (2010) Chemical and Antimicrobial Studies of *Juniperus Sabina* L. and *Juniperus foetidissima* Willd. Essential Oils, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13:1, 25-36, DOI: [10.1080/0972060X.2010.10643787](https://doi.org/10.1080/0972060X.2010.10643787).

Askun, T., Tumen, G., Satil, F., Ates, M. (2009) *In vitro* activity of méthanol extracts of plants used as spices against *Mycobacterium tuberculosis* and other bacteria. *Food Chem.* **116**: 289-294.

Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., Atmani D. (2009) Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chem.***112**: 303-309.

Atmani, D., Charid, I., Remila, S., Moulaoui, K., Atmani Kilani, D., Saidène, N., Schrauwen, S., Tuyaerts, S., Amant, F., Connat, J.L. (2017) Cytotoxic, antidiabetic and anti-inflammatory activities of selected Algerian medicinal plants: From traditional use to scientific validation. *J Plant Physiol Pathol.* **5(5)**.

Avila-Nava, A., Calderon-Oliver, M., Medina-Campos, O. N., Zou, T., Gu, L., Torres, N., R. Tovar, A., Pedraza-Chaverri, J. (2014) Extract of cactus (*Opuntia ficus indica*) cladodes scavenges reactive oxygen species *in vitro* and enhances plasma antioxidant capacity in humans. *J Funct Foods.* **10**: 13-24.

Avenel-Audran, M. (2019) Allergie de contact aux huiles essentielles. *Revue française d'allergologie.* (in press).

Ayouni, K., et al., Metabolomic tool to identify antioxidant compounds of *Fraxinus angustifolia* leaf and stem bark extracts. *Ind. Crops Prod.* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.01.001>.

## B

Ba., K, Tine, E., Destain, J., Cissé, N., Thonart, P. (2010) Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnol Agron Soc Environ.* **14(1)**: 131-139.

Bais, S., Prashar, Y. (2015) Identification and characterization of amentoflavone from six species of *Juniperus* Against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Induced oxidative damage in human erythrocytes and leucocytes. *Res J Phytochem.* **9 (2)**: 41-55.

Bais, S., Abrol, N., Prashar, Y., Kumari, R. (2017) Modulatory effect of standardised amentoflavone isolated from *Juniperus communis* L. against Freund's adjuvant induced arthritis in rats (histopathological and X Ray analysis). *Biomed Pharmacother.* **86**: 381-392.

Balaban, M., Atik, C., Ucar, G. (2003) Fungal growth inhibition by wood extracts from *Juniperus foetidissima* and *J. oxycedrus*. *Holz als Roh - und Werkstoff.* **61**: 231-232.

Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006) Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* **99**: 191-203.

Balentine, C.W., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., Duong, D.Q., Pohlman, F.W. (2006) The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Sci.* **73**: 413-421.

Balansard, G. (2007) Analyse critique des protocoles pharmacologiques utilisés pour la recherche d'extraits et de substances pures d'origine végétale à propriétés Antibactérienne ou antiparasitaire. *Revue ethnopharmacologie.* **42**.

Banerjee, S., Mukherjee, A., Chatterjee, TK. (2012) Evaluation of analgesic activities of méthanolic extract of medicinal plant *Juniperus communis* Linn. *Int J Pharm Pharm Sci.* **(4) Suppl 5**: 547-550.

Banerjee, S., Singh, H., Chatterjee, TK. (2013) Evaluation of anti-diabetic and anti-hyperlipidemic potential Of méthanolic extract of *Juniperus communis* (L.) in streptozotocin –nicotinamide Induced diabetic rats. *Int J Pharm Bio Sci.* **4 (3)**: 10-17.

Barrero, AF., Quilez del Moral, JF., Mar Herrador, M., Akssira M., Bennamara A., Akkad S., Aitigri M.(2004) Oxygenated diterpenes and other constituents from Moroccan *Juniperus phoenicea* and *Juniperus thurifera* var. *Africana*. *Phytochemistry.* **65**: 2507-2515.

Barnes, P. J. (1998) Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clin Sci.* **94(6)**: 557-572.

Batista, J. A., Dias, E.G.N., Brito, T.V., Prudêncio, R.S., Silva, R.O., Ribeiro, R.A., Souza, M.H.L.P., De Paula, R.C.M., Feitosa, J.P.A., Chaves, L.S., Melo, M.R.S., Freitas, A.L.P., Medeiros, J.V.R. Barbosa, A.L.R. (2014) Polysaccharide isolated from *Agardhiella ramosissima*: Chemical structure and anti-inflammation activity. *Carbohydr Polym.* **99**: 59-67.

Bégué, P Astruc, J. (1999) Pathologie infectieuse de l'enfant. Elsevier Masson. (ED). Paris. 612p.

Bello, R., Moreno, L., Beltrán, B., Primo-Yúfera, E., Esplugues, J. (1997) Effects on Arterial Blood Pressure of Méthanol and Dichlorométhanol Extracts from *Juniperus oxycedrus L.* *Phytother Res.* **11**: 161-162.

Ben Ali, M.J., Guesmi, F., Harrath, A.H., Alwasel, S., Hedfi, A., Ncib, S., Landoulsi, A., Aldahmash, B., Ben-Attia, Mossadok. (2015) Investigation of antiulcer and antioxidant activity of *Juniperus phoenicea L.* (1753) essential oil in an experimental rat model. *Biol Pharm Bull.* **38 (11)**: 1738-1746.

Mariem Ben Jemia , Wissem Aidi Wannes , Olfa Ouchikh , Maurizio Bruno & Mohamed Elyes Kchouk , Natural Product Research (2013): Antioxidant activity of Tunisian Geranium robertianum L. (Geraniaceae), Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters, DOI: 10.1080/14786419.2013.782492.

Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K. (2014) Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie.*

Berboucha, M., Ayouni, K., Atmani, D., Atmani, D., Benboubetra, M. (2010) Kinetic study on the inhibition of Xanthine Oxidase by extracts from two Selected Algerian Plants traditionally used for the treatment of inflammatory diseases. *J Med Food.* **13 (4)**: 896-904.

Bilusic Vundac, V., Brantner, A.H., Plazibat, M. (2007) Content of polyphenolic constituents and antioxidant activity of some *Stachys* taxa. *Food Chem.* **104 (3)**:1277-1281.

Blétry, O., Kahn, J.E., Somogyi, A. (2006) immunopathologie Réaction Inflammatoire. 2<sup>ème</sup> Edition. Elsevier Masson (ED). Paris, 375p.

Bokanisereme, Y. Umar F., Okechukwu, P. N. (2013) Anti-inflammatory, analgesic and anti-pyretic activity of cassava leaves extract. *Asian J Pharm Clin Res.* **6 (4)**: 89-92.

Maria Grazia Bonomo., *et al.* "Antimicrobial Activity, Antioxidant Properties and Phytochemical Screening of *Echinacea angustifolia*, *Fraxinus excelsior* and *Crataegus oxyacantha* Mother Tinctures Against Food-Borne Bacteria". *EC Microbiology* 7.5 (2017): 173-181.

Bouhassira, D., Calvino, B. (2009). Douleurs : physiologie, physiopathologie et pharmacologie. Arnette (ED) France. 384p.

Boulanouar, B., Abdelaziz, G., Aazza, S., Gago, C., Miguel, M.G. (2013) Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Ind Crop Prod.* **46**: 85- 96.

Bourrain, J.L. (2013) Allergies aux huiles essentielles : aspects pratiques. *Revue française d'allergologie.* **53**: S30-S32.

Bruneton, J. (2009) Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4<sup>ème</sup> Edition. Tec & Doc (Ed). Paris,1243 p.

Burits, M., Asres, K., Bucar, F. (2001) The antioxidant activity of the essential oils of *Artemisia afra*, *Artemisia abyssinica* and *Juniperus procera*. *Phytother Res.* **15**: 103-108.

## C

Calis, I., Hosny, M., Khalifa, T., Nishibe, S. (1993) Secoiridoids from *Fraxinus angustifolia*. *Phytochemistry.* **33** (6): 1453-1456.

Carino-Cortes, R., Gayosso-De-Lucio, J.A., Ortiz, M.I., Sanchez- Gutierrez, M., Garcia-Reyna, P.B., Cilia-Lopez, V.G., Perez- Hernandez, N., Morenoa, E., Ponce-Monter, H. (2010) Antinociceptive genotoxic and histopathological study of *Heliopsis longipes* S.F. Blake in mice. *J Ethnopharmacol.* **130**: 216-221.

Carpenter, C.D., O'Neill, T., Picot, N., Johnson, J.A., Robichaud, G.A., Webster, D., Gray, C.A. (2012) Anti-mycobacterial natural products from the Canadian medicinal plant *Juniperus communis*. *J Ethnopharmacol.* **143**: 695-700.

Cavaleiro, C., Pinto, E., Goncalves, M.J., Salgueiro, L. (2006) Antifungal activity of *Juniperus* essential oils against dermatophyte, *Aspergillus* and *Candida* strains. *J Appl Microbiol.* **100**: 1333-1338.

Celiktas, O.Y, Bedir, E., Vardar Sukan, F. (2007a) *In vitro* antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide. *Food Chem.* **101**: 1457-1464.

Celiktas, O.Y., Hames Kocabas, E.E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T., Baser, K.H.C. (2007b) Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chem.* **100**: 553-559.

Chakraborty, R., De, B., Devanna, N., Sen, S. (2012) Antiinflammatory, antinociceptive and antioxidant activities of *Phyllanthus acidus* L. extracts. *Asian Pac J Trop Biomed.* S953-S961.

Chaouche, T.M., Haddouchi, F., Ksouri, R., Medini, F., Atik-Bekara, F. (2013) *In vitro* evaluation of antioxidant activity of the hydro-methanolic extracts of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. *Phytotherapie.* **11**: 244-249.

Chaouche, T.M., et al., Antioxidant, haemolytic activities and HPLC–DAD–ESI–MSn characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. *Ind. Crops Prod.* (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.051>.

Chedea, V.S., Pop R.M. (2019) Total Polyphenols Content and Antioxidant DPPH Assays on Biological Samples in Polyphenols in Plants. 169-183.

Yujuan Chen, Gang Xue, Feizhou Liu & Xiuling Gong (2016): Immunosuppressive effect of extracts from leaves of *Fraxinus Mandshurica* Rupr., Bioengineered, DOI: 10.1080/21655979.2016.1221023.

Chugh, C.A., Mehta, S. Dua, H. (2012) Phytochemical screening and evaluation of biological activities of some medicinal plants of Phagwara Punjab. *Asian J Chem.* **24**: 5903-5905.

Chung, K.T., Wei, C.I., Johnson, M.G. (1998) Are tannins a double-edged sword in biology and health. *Trends Food Sci Tech.* **9**: 168-175.

Cosentino, S., Barra, A., Pisano, B., Cabizza, M., Pirisi, F.M., Palmas, F. (2003) Composition and Antimicrobial Properties of Sardinian *Juniperus* Essential Oils against Foodborne Pathogens and Spoilage Microorganisms. *J Food Prot.* **66(7)** :1288-1291.

Couic-Marinier, F., Lobstein, A. (2013) Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques.* **525**: 18-21.

## D

Dacosta, E. (2003) Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris,317p.

Dahmane, D., Dob, T., Chelghoum, C. (2015) Chemical composition of essential oils of *Juniperus communis* L. obtained by hydrodistillation and microwave-assisted hydrodistillation. *J Mater Environ Sci.* **6 (5)**: 1253-1259.

Dane, Y., Mouhouche, F., Canela-Garayoa, R., Delpino-Rius, A. (2016) Phytochemical Analysis of Méthanolic Extracts of *Artemisia absinthium* L. 1753 (Asteraceae), *Juniperus phoenicea* L., and *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast, 1892 (Cupressaceae) and evaluation of their biological activity for stored grain protection. *Arab J Sci Eng.* **41**: 2147-2158.

Daoudi, A., Hrouk, H., Belaidi, R., Slimani, I., Ibijbijen, J., Nassiri, L. (2016) Valorisation de *Ruta montana* et *Ruta chalepensis*: Etude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien . *J Mater Environ Sci.* **7 (3)**: 926-935.

M. Darvishi, et al., Anticancer effect and enhancement of therapeutic potential of Vincristine by extract from aerial parts of *Juniperus excelsa* on pre-B acute lymphoblastic leukemia cell lines, *J. App.* (2017), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jab.2017.04.002>.

Das, N., Goshwami, D., Hasan, M.S, Raihan, S.Z. (2015). Evaluation of acute and subacute toxicity induced by méthanol extract of *Terminalia citrina* leaves in Sprague Dawley rats. *J Acute Dis.* **4(4)**: 316-321.

Deba, F., Dang Xuan, T., Yasuda, M., Tawata, S. (2008) Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food Control.* **19**: 346-352.

Delaporte, R. H., Sarragiotto, M. H., Takemura, O.S., Sanchez, G.M., Nakamura C.V. (2004). Evaluation of the antioedematogenic free radical scavenging and antimicrobial activities of aerial parts of *Tillandsia streptocarpa* Baker–*Bromeliaceae*. *J ethnopharmacol.* **95(2)**: 229-233.

Derwich, E., Benziane, Z., Boukir, A. (2010) Chemical composition of leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* and evaluation of its antibacterial activity. *Int J Agric Biol.* **12**: 199-204.

Descamps, E., Gelé, P., Bordet, R., Vamecq, J. (2006) Modulation pharmacologique du stress oxydatif. *La Lettre du Pharmacologue.* **20 (4)**: 107-108.

Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traoré, A., Coulibaly, K., Maïga, A. (2004) Etude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (*Rhamnaceae*) utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *Compte rendu Chimie.* **7(10)**: 1073-1080.

Digrak, M., Ilcim, A., Alma, M.H. (1999) Antimicrobial Activities of Several Parts of *Pinus brutia*, *Juniperus oxycedrus*, *Abies cilicia*, *Cedrus libani* and *Pinus nigra*. *Phytother. Res.* **13**: 584-587.

Dimayuga, R.E., Garcia, S.K. (1991) antimicrobial screening of medicinal plants from Baja California Sur, Mexico. *J ethnopharmacol.* **31**: 181- 192.

Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006) Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* **97**: 654-660.

## E

Eddouks, M., Maghrani, M. (2004) Phlorizin-like effect of *Fraxinus excelsior* in normal and diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* **94**: 149-154.

Eddouks, M., Maghrani, M., Zeggwagh, N.A., Haloui, M., Michel, J.B. (2005) *Fraxinus excelsior* L. evokes a hypotensive action in normal and spontaneously hypertensive rats. *J Ethnopharmacol.* **99**: 49-54.

Ehsani, E., Akbari, K., Teimouri, M., Khadem, A. (2012) Chemical composition and antibacterial activity of two *Juniperus* species essential oils. *Afr J Microbiol Res.* **6(38)**: 6704-6710.

El-Ghorab A, Shaaban, HA., 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. *J Agric Food Chem.* **56**: 5021-5025.

El-Hawary, S.S., Mohammed, R., Abouzid, S.F., Hassan, H.M., Taher, M. A (2016) Chemical composition and anti-microbial activity of the lipid extract from the *Fraxinus ornus* (L.) seeds, family oleacea. *World J Pharm Pharm Sci.* **5(5)**: 155-162.

El Jemli, M., Kamal, R., Marmouzi, I., Zerrouki, A., Cherrah, Y., Alaoui, K. (2016) Radical-Scavenging Activity and Ferric Reducing Ability of *Juniperus thurifera* (L.), *J. oxycedrus* (L.), *J. phoenicea* (L.) and *Tetraclinis articulata* (L.) *Adv Pharmacol Sci.* **2016**.

Dr.Mahfuz Elmasta , lhami Glin , kr Beydemir , irfan Kfreviolu & Hassan Y. AboulEnein (2006) A Study on the In Vitro Antioxidant Activity of Juniper (*Juniperus communis* L.) Fruit Extracts, *Analytical Letters*, 39:1, 47-65, DOI: [10.1080/00032710500423385](https://doi.org/10.1080/00032710500423385).

Elmhdwi MF, Attitalla IH, Khan BA (2015) Evaluation of Antibacterial Activity and Antioxidant Potential of Different Extracts from the Leaves of *Juniperus Phoenicea*. *J Plant Pathol Microb* 6: 300. doi:[10.4172/2157-7471.1000300](https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000300).

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. *Afr J Trad CAM.* **4 (4)**: 417-426.

Salma Ahmed El-Sawi , Hemaia Mohamed Motawae , Mohamed Aboufotouh Sleem , Abdel-Rahman Omar El-Shabrawy , Amani Sleem & Maii Abdel-naby Ismail (2014) Phytochemical 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, DOI: [10.1080/10496475.2013.825894](https://doi.org/10.1080/10496475.2013.825894).

Emami, S.A., Javadi, B., Hassanzadeh, M.K. (2007) Antioxidant activity of the essential oils of different parts of *Juniperus communis* subsp. *hemisphaerica* and *Juniperus oblonga*. *Pharm Biol.* **45(10)**: 769-776.

Emami, SA, Abedindo, BF., Hassanzadeh-Khayyat, M (2011) Antioxidant activity of the essential oils of different parts of *Juniperus excelsa* M. Bieb. subsp. *excelsa* and *J. excelsa* M. Bieb. subsp. *polycarpus* (K. Koch) Takhtajan (Cupressaceae). *Iran J Pharm Res.* **10 (4)**: 799-810.

Ennajar, 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). *J Food science.* **74(7)**: 364-371.

Ennajar, M., Bouajila, J., Lebrihi, A., Mathieu F., Savagnac, A., Abderraba M., Raies, A., Romdhane, A. (2010) The influence of organ, season and drying method on chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of *Juniperus phoenicea* L. essential oils. *J Sci Food Agric.* **90**: 462-470.

## F

Fablet, C., Madec, F. (2009) Protéines de la phase aiguë de l'inflammation chez le porc : Intérêt en santé animale et en santé publique vétérinaire. *Revue Méd Vét.* **160(1)**: 28-43.

Fadel, H., Benayache, F., Benayache, S. (2016) Antioxidant properties of four Algerian medicinal and aromatic plants *Juniperus oxycedrus* L., *Juniperus phoenicea* L., *Marrubium vulgare* L. and *Cedrus atlantica* (Manetti ex Endl). *Pharm Lett.* **8 (3)**: 72-79.

Falasca, A., Caprari, C., De Felice, V., Fortini, P., Saviano, G., Zollo, F., Iorizzi, M. (2016) GC-MS analysis of the essential oils of *Juniperus communis* L. berries growing wild in the Molise region: Seasonal variability and in vitro antifungal activity. *Biochem Syst Ecol.* **69**:166-175.

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly C., (2008) Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C R Biol.* **331**: 372-379.

Favier, A. (2003) Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Act Chim.* 108-115.

Favier, A. (2006) Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann Pharm Fr.* **64**: 390-396.

Fontaine, E. (2007) Radicaux libres et vieillissement. *Cah Nutr Diét.* **42 (2)**: 110-115.

Fazeli, M. R., Amin, G., Ahmadian-Attari, M. M., Ashtiani, H., Jamalifar, H., Samadi, N. (2007) Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. *Food Control* **18**: 646-649.

Filipowicz, N., Kamin, ski M., Kurlenda, J., Asztemborska, M., Ochocka, J.R. (2003) Antibacterial and Antifungal Activity of Juniper Berry Oil and its Selected Components. *Phytother Res.* **17**: 227–231.

Iziara F. Florentino, Daiany P.B. Silva, Pablinny M. Galdino, Roberta C. Lino, José L.R. Martins, Dayane M. Silva, José R. de Paula, Leonice M.F. Tresvenzol and Elson A. Costa, Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Memora nodosa* and allantoin in mice, *Journal of Ethnopharmacology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.010>.

## G

Gamet-Payraastre, L., Manenti, S., Gratacap, M.P., Tulliez, J., Chap, H., Payraastre, B. (1999) Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. *Gene Pharmacol.* **32**: 279-286.

Garrel, C., Bigard X. (2017) Stress oxydatif et micronutriments antioxydants. *Nutrition du Sportif* (3e édition): 151-196.

Gauquelin, T., Bertaudière, V., Cambecèdes, J., Largier, G. (2003) Le genevrier thurifere (*Juniperus thurifera* L.) dans les Pyrénées état de conservation et perspectives. *Acta Bot Barc.* **49**: 83-94.

Gdoura, N., Murat JC., Abdelmouleh, A., Elfeki, A. (2013) Effects of *Juniperus phoenicea* extract on uricemia and activity of antioxidant enzymes in liver, erythrocyte and testis of hyperuricemic (oxonate-treated) rats . *Afr J Pharm Pharmacol.* **7(8)**: 416-425.

Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., Georgakis, S A. (2007) Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Sci.* **76**: 172-181.

Ghasemzadeh, A., Ghasemzadeh, N. (2011) Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *J Med Plant Res.* **5 (31)**: 6697-6703.

Ghedira, K. (2005) Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie.* **4**: 162-169.

Glisic, S.B., Milojevic, S.Z., Dimitrijevic, S.I. Orlovic, A.M., Skala, D.U. (2007) Antimicrobial activity of the essential oil and different fractions of *Juniperus communis* L. and a comparison with some commercial antibiotics. *J Serb Chem Soc.* **72 (4)**: 311-320.

Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A. (2006) Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharm Biomed Anal.* **41**: 1220-1234.

Gordien, AY., Gray, AI., Franzblau, SG, Seidel, V. (2009) Antimycobacterial terpenoids from *Juniperus communis* L. (Cupressaceae). *J Ethnopharmacol.* **126(3)**: 500-505.

Goudable, J., Favier, A. (1997) Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin Métabol.* **11**: 115-20.

Estela Guerrero, Andrés Abad, Gisela Montenegro, Esther del Olmo, José Luis López-Pérez & Arturo San Feliciano (2013) Analgesic and anti-inflammatory activity of podophyllotoxin derivatives, *Pharmaceutical Biology*, 51:5, 566-572, DOI: 10.3109/13880209.2012.749921.

Guo, S., Guo, T., Cheng, N., Liu, Q., Zhang, Y., Bai, L., Zhang, L., Cao, W., Ho, C.T., Bai, N. (2017) Hepatoprotective standardized EtOH-water extract from the seeds of *Fraxinus rhynchophylla* Hance. *J Traditional and Complementary Medicine*. 7: 158-164.

## H

Aldjia Hadroug, Rachid Belhattab, Kalina Alipieva & Paraskev T. Nedialkov (2018): Isofraxisecoside, a new coumarin-secoiridoid from the stem bark of *Fraxinus xanthoxyloides*, *Natural Product Research*, DOI: 10.1080/14786419.2018.1475379.

Hajdari, A., Mustafa, B., Gashi, V., Nebija, D., Ibraliu, A., Novak, J. (2014) Chemical composition of the essential oils of ripe berries of *Juniperus oxycedrus* L., growing wild in Kosovo. *Biochem Syst Ecol*. 57: 90-94.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P. (2007) Le stress oxydant. *Rev Med Liege*. 62(10): 628-638.

Ji-Won Han, Do-Wan Shim, Woo-Young Shin, Myong-Ki Kim, Eun-Jeong Shim, Xiao Sun, Sushruta Koppula, Tack-Joong Kim, Tae-Bong Kang and Kwang-Ho Lee, *Juniperus rigida* Sieb. extract inhibits inflammatory responses via attenuation of TRIF-dependent signaling and inflammasome activation, *Journal of Ethnopharmacology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.05.059>.

Hasani, P., Yasa, N., Vosough-Ghanbari, S., Mohammadirad, A., Dehghan, G., Abdollahi, M. (2007). *In vivo* antioxidant potential of *Teucrium polium* as compared to  $\alpha$ -tocopherol. *Acta pharmaceutica*. 57: 123-129.

Hayouni, EA., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M. (2007) The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chem*. 105: 1126-1134.

Sukru Hayta & Eyup Bagci (2014) Essential oil constituents of the leaves, bark and cones of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* L. from Turkey, *Acta Botanica Gallica: Botany Letters*, 161:2, 201-207, DOI: 10.1080/12538078.2014.921642.

Heimler, D., Vignolini, P., Giulia Dini, M., Francesco Vincieri, F., Rmani, A. (2006) Antiradical activity and polyphenol composition of local *Brassicaceae* edible varieties. *Food Chem*. 99: 464-469.

Hong, G.E., Park, H.S., Kim, J.A., Nagappan, A., Zhang, J., Kang, S.R., Won, C.k., Cho, J.H., Kim, E.H., Kim, G.S. (2012) Anti-oxidant and anti-inflammatory effects of *Fraxinus rhynchophylla* on lipopolysaccharide (LPS)-induced murine Raw 264.7 cells. *J. Biomed. Res*. 13(4): 331-338.

Höferl, M., Stoilova, I., Schmidt, E., Wanner, J., Jirovetz, L., Trifonova, D., Krastev, L., Krastanov, A. (2014) Chemical composition and antioxidant properties of Juniper berry (*Juniperus communis* L.) essential oil. Action of the essential oil on the antioxidant protection of *Saccharomyces cerevisiae* Model Organism. *Antioxidants*. 3: 81-98.

Hossain, F., Saha, S., Islam, M.M, Shimana N., Adhikari, S. (2014) Analgesic and Anti-Inflammatory Activity of *Commelina benghalensis* Linn. *Turk J Pharm Sci* **11(1)**: 25-32.

Hosseinzadeh, H., Younesi, H.M (2002) Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacology*.

Huh, M.K., Cho, K.S., Jeon, S.J (2015) Inhibitory effect of lipoxygenase and dpph radical scavenging activity of *Fraxinus rhynchophylla*. *European Journal of Advanced Research in Biological and Life Sciences*. **3(3)**: 10-16.

Ting Huyan, Qi Li, Yi-Lin Wang, Jing Li, Jian-Yang Zhang, Ya-Xiong Liu, Muhammad Riaz Shahid, Hui Yang and Huan-Qing Li, Antitumor Effect of Hot Aqueous Extracts from *Sonchus Oleraceus* (L.) L. and *Juniperus sabina* L-Two Traditional Medicinal Plants in China, *Journal of Ethnopharmacology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.03.044>.

## I

Iftikhar, M., Riaz, N., Saleem, M., Musaddiq, S., Abdul Jabbar, S., Tareen R. B. (2015) Xanthoxyloidin, a New Biscoumarin from *Fraxinus xanthoxyloides*. *J Chem Soc Pak*. **37(03)**: 492-494.

Iwalewa, E. O., McGaw, L.J., Naidoo, V., Eloff, J. N. (2007) Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *Afr J Biotechnol*. **6(25)**: 2868-2885.

## J

Shumaila Jan and Muhammad Rashid Khan, Antipyretic, analgesic and anti-inflammatory effects of *Kickxia ramosissima*, *Journal of Ethnopharmacology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.02.020>.

Janaszewska, A., Bartosz, G. (2002) Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. *Scand J Clin Lab Inv*. **62**: 231-236.

Janssen, A.M., Scheffer, J.J.C., Baerheim Svendsen, A. (1987) Antimicrobial activity of essential oils: A 1976-1986 literature review. Aspects of the test methods. *Planta medica*. 395-398.

Jarrige, D.R., Ruckebusch, Y., Demarquilly, C., Farce, M.H., Journet, M. (1995) Nutrition des ruminants domestiques: INRA (ED). Paris. 901p.

Jegal J., Park, N.J., Park, S.A., Bong, S.K., Jegal, H., Kim, S.N., Yang, M.H. (2018) *Juniperus chinensis* Fruits Attenuate Oxazolone- and 2,4-Dinitrochlorobenzene-Induced Atopic Dermatitis Symptoms in Mice. *Biol Pharm Bull*. **41**: 259-265.

Jiang, J.H., Jin, C.M., Kim, Y.C., Kim, H.S., Park, W.C., Park, H. (2008) Anti-toxoplasmosis Effects of Oleuropein Isolated from *Fraxinus rhynchophylla*. *Biol Pharm Bull*. **31(12)**: 2273-2276.

Ju, J.B., Kim, J.S., Choi, C.W., Lee, H.K., Oh, T.K., Kim, S.C. (2008) Comparison between ethanolic and aqueous extracts from Chinese juniper berries for hypoglycaemic and hypolipidemic effects in alloxan-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. **115**: 110-115.

## K

Karaman, I., Sahin, F., Gulluce, M., Ogutcu, H., Sengul, M., Adiguzel A. (2003) Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *J Ethnopharmacol.* **85**: 231-235.

Karapandzova, M., Stefkov, G, Cvetkovikj, I., Sela, F., Panovska, TK., Kulevanova, S. (2014) Chemical characterization and radical scavenging activity of leaves of *Juniperus foetidissima*, *J. excelsa* and *J. communis* from Macedonian flora. *Macedonian pharmaceutical bulletin.* **60(2)**: 29-37.

Karlsen, Jan., Svendsen, A. B. (2002) The influence of the isolation method on the composition of the essential oil of leaves and twigs of *Juniperus communis* L. var. *saxatilis* Pall. growing in Norway. *Sci Pharm.* **70**: 87-92.

Khan, M., Khan, A., Ur-Rehman, N., Gilani, A.H. (2012) Pharmacological explanation for the medicinal use of *Juniperus excelsa* in hyperactive gastrointestinal and respiratory disorders. *J Nat Med.* **66**: 292-301.

Khosroyar, S., Arastehnodeh, A. (2018) Comparison of anti-inflammatory and antioxidant capacity of alcoholic extraction of *Fraxinus fxcelsior* and *melilotus officinalis* plant. *Plant Archives.* **18(1)**: 443-448.

Khourya, M., El Beyrouthy, M., Ouaini, N., Iriti, M., Eparvier, V., Stien, D. (2014) Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Juniperus excelsa* M.Bieb. Growing Wild in Lebanon. *Chem Biodivers.* **11**: 825-830.

Keskes, H., Mnafgui, K., Hamden, K., Damak, M., El Feki, A., Allouche, N. (2014) *In vitro* anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant proprieties of *Juniperus phoenicea* L. leaves from Tunisia. *Asian Pac J Trop Biomed.* **4(Suppl 2)**: S649-S655.

Kim, S.J., Young Jung, J., Won Kim, H., Park, T. (2008) Anti-obesity effects of *Juniperus chinensis* extract are associated with increased AMP-activated Protein Kinase expression and phosphorylation in the visceral adipose tissue of rats. *Biol Pharm Bull.* **31(7)**: 1415-1421.

Kirca, A., Arslan, E. (2008) Antioxidant capacity and total phenolic content of selected plants from Turkey. *Int J Food Sci Tech.* **(43)**: 2038-2046.

Koehlin-Ramonatxo, C. (2006) Oxygène, stress oxydant et suppléments anti-oxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutr Clin Metab.* **20**: 165-177.

Kostova, I.N., Nikolov, N.M., Chipilskab L.N. (1993) Antimicrobial properties of some hydroxycoumarins and *Fraxinus ornus* bark extracts. *J Ethnopharmacol.* **39**: 205-208.

Paul K. Koukos & Kaiti I. Papadopoulou (1997) Essential Oil of *Juniperus communis* L. Grown in Northern Greece: Variation of Fruit Oil Yield and Composition, *Journal of Essential Oil Research*, 9:1, 35-39, DOI: [10.1080/10412905.1997.9700711](https://doi.org/10.1080/10412905.1997.9700711).

Kozan, E., Kupeli, E., Yesilada, E. (2006) Evaluation of some plants used in Turkish folk medicine against parasitic infections for their in vivo anthelmintic activity. *J Ethnopharmacol.* **108**: 211-216.

Kroyer, G.Th. (2004) Red clover extract as antioxidant active and functional food ingredient. *Innov Food Sci Emerg.* **5**: 101-105.

Kumar P, Bhatt RP, Singh L, Shaliya, Chandra H, Prasad R (2010a) Identification of phytochemical content and antibacterial activity of *Juniperus communis* leaves. *Int J Biotechnol Biochem.***6(1)**: 87-91.

Kumar, P., Bhatt, RP., Sati, OP., Dhatwalia, VK, Singh L. (2010b) In-vitro antifungal activity of different fraction of *Juniperus communis* leaves and bark against *Aspergillus niger* and Aflatoxigenic *Aspergillus flavus*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences.* **1(1)**: 1-7.

Kumar, S., Kashyap, P. (2015a) Antiproliferative activity and nitric oxide production of a methanolic extract of *Fraxinus micrantha* on Michigan Cancer Foundation-7 mammalian breast carcinoma cell line. *J Intercult Ethnopharmacol.* **4**: 109-113.

Kumar, S., Kashyap, P. (2015b) *In-Vivo* Anti-Inflammatory Activity of an Méthanolic extract of *Fraxinus Micrantha*. *J Pharm Sci.* **1 (1)**: 1-4.

Kumar, K., Sharma, S., Kumar, A., Bhardwaj, P., Barhwal, K., Hota, S.K., Acute and sub-acute toxicological evaluation of lyophilized *Nymphaea x rubra* Roxb. ex Andrews rhizome extract, *Regulatory Toxicology and Pharmacology* (2017), doi: 10.1016/j.yrtph.2017.04.008.

Kurti, L., Jovanova, B., Kelmendi, A., Hamidi, M.,Kadifkova-Panovska, T., Kulevanova S. (2015) Antioxidant activity of Macedonian Juniper (*Juniperus communis* L.) fruit extracts. *Toxicology Letters.* **238S**: S56-S383.

## L

Laouar, A., Klibet, F., Bourogaa, E., Benamara, A., Boumendjel, A., Chefrour, A., Messarah, M. (2017) Potential antioxidant properties and hepatoprotective effects of *Juniperus phoenicea* berries against CCl<sub>4</sub> induced hepatic damage in rats. *Asian Pac J Trop Med.* **10(3)**: 263-269.

Lee, B.C., Lee, S.Y., Lee, H. J., Sim , G.S., Kim, J.H., Kim , J.H., Cho , Y.H., Lee, D.H., Pyo, H.B., Choe , T.B., Moon, D.C.; Yun, Y. P., Hong, J.T. (2007) Coumarins Isolated from *Fraxinus chinensis*. *Arch Pharm Res.* **30 (10)**: 1293-1301.

Lesjak, M.M., Beara, I.N., Orcic, D.Z., Anackov G.T., Balog , K.J., Franciskovic M.M., Mimica-Dukic, N.M. (2011) *Juniperus sibirica* Burgsdorf. as a novel source of antioxidant and anti-inflammatory agents. *Food Chem.* **124**: 850-856.

Lesjak, M.M., Beara, I.N., Orcic, D.Z., Risti, J.D., Anackov G.T., Bozin, B.N., Mimica-Dukic, N.M. (2013) Chemical characterisation and biological effects of *Juniperus foetidissima* Willd.1806. *LWT-Food Sci Technol.* **53**: 530-539.

Lesjak, M.M., Beara, I.N., Orcic, D.Z., Petar, K.N., Simin, N.D., Emilija, S.D., Mimica-Dukic, N.M. (2014) Phytochemical composition and antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activities of *Juniperus macrocarpa* Sibth. et Sm. *J Funct Foods*. **(In press)**.

Marija Lesjak, Ivana Beara, Dejan Orčić, Goran Anačkov, Petar Knežević, Zorica Mrkonjić & Neda Mimica–Dukić (2017) Bioactivity and chemical profiling of the *Juniperus excelsa*, which support its usage as a food preservative and nutraceutical, *International Journal of Food Properties*, 20:sup2, 1652-1663, DOI: 10.1080/10942912.2017.1352598.

Li, H.B., Wong, C.C, Cheng, K.W., Chen, F. (2008) Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in méthanol extracts from medicinal plants. *LWT*. **41**: 385-390.

Li, S., Li, S.K., Gan, R.Y., Song, F.L., Kuang, L., Li, H.B. (2013) Antioxidant capacities and total phenolic contents of infusions from 223 medicinal plants. *Ind Crop Prod*. **51**: 289- 298.

Li, A.N., Li, S., Zhang, Y.J, Xu, X.R., Chen, Y.M., Li, H.B. (2014) Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*. **6**: 6020-6047.

Lim, J.P., Song, Y.C., Kim, J.W., Ku, C.H., Eun, J.S., Leem, K.H., Kim D.K. (2002) Free Radical Scavengers from the Heartwood of *Juniperus Chinensis*. *Arch Pharm Res*. **25(4)**: 449-452.

Lingadurai, S., Kanta Nath, L., Kumar Kar, P., E.Besra, S., Vedasiromani Joseph R. (2007) Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of méthanolic extract of the leaves of *Fraxinus floribunda* wallich. *Afr J Trad CAM*. **4 (4)**: 411-416.

Lopes-Lutz, D., S. Alviano, D., S. Alviano, C., P. Kolodziejczyk, P. (2008) Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils *Phytochemistry*. **69**: 1732-1738.

Lopez-Carreras, N., Fernandez-Vallinas, S., Hernandez, R., Miguel, M., Aleixandre, A. (2013) Short-term effect of an aqueous *Fraxinus excelsior* L. seed extract in spontaneously hypertensive rats. *Food Res Int*. **53**: 81-87.

Loziene, K., Venskutonis, P.R., Sipailiené, A., Labokas, J. (2007) Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes. *Food Chem*. **103**: 546-559.

Lu, M., Yuan, B., Zeng, M., Chen, J. (2011) Antioxidant capacity and major phenolic compounds of spices commonly consumed in China. *Food Res. Int*. **44(2)**: 530-536.

## M

Macheix, J-J., Fleuriet, A., Jay-allemant, C. (2005) Les composés phénoliques des végétaux. Presses polytechniques et universitaires romandes (Ed). Lausanne. 164p.

Mahajan, B., Tirtha, MS., Gyawali, R. (2012) Antibacterial and cytotoxic activity of *Juniperus Indica* Bertol from Nepalese Himalaya. *Int J Pharm Sci Res*. **3(4)**: 1104-1107.

- Maisuthisakul, P., Pasuk, S., Ritthiruangdej, P. (2008) Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *J Food Compos Anal.* **21**: 229-240.
- Mansouri, N., Satrani, B., Ghanmi, M., El ghadraoui, L., Aafi, A., Farah, A. (2010) Valorisation des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* et de *Juniperus oxycedrus* du Maroc. *Phytothérapie.* **3**: 1-1.
- Mansouri, N., Satrani, B., Ghanmi, M., El ghadraoui, L., Aafi, A. (2011a) Étude chimique et biologique des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* ssp. *lycia* et *Juniperus phoenicea* ssp. *turbinata* du Maroc. *Biotechnol Agron Soc Environ.* **15(3)**: 415-424.
- Mansouri, N., Satrani, B., Ghanmi, M., El ghadraoui, L., Guedira, A., Aafi, A. (2011b) Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Juniperus communis* du maroc. *Bull Soc R. Sci. Liège.* 791-805.
- Manvi, Garg GP. (2010) Screening and evaluation of pharmacognostic, phytochemical and hepatoprotective activity of *Juniperus communis* linn. stems. *Int J Pharma Bio Sci.* **1(3)**.
- Marino, A., Bellinghieri, V., Nostro, A., Miceli, N., Taviano, FM., Aysegul G, Bisignano, G. (2010) *In vitro* effect of branch extracts of *Juniperus* species from Turkey on *Staphylococcus aureus* biofilm. *Med Microbiol.* **59**: 470-476.
- Marinova, E.M., Yanishlieva, N.I., Kostova, I.N. (1994) Antioxidative action of the éthanolic extract and some hydroxycoumarins of *Fraxinus ornus* bark. *Food Chem.* **51**: 125-132.
- Markowicz Bastos, D. H., Saldanha, L. A., Catharino, R. R., Sawaya, A.C.H. F., Cunha, I B. S., Carvalho, P. O. Eberlin, M. N. (2007) Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. *Molecules.* **12**: 423-432.
- Marongiu, B., Porcedda, S., Caredda, A., De Gioannis, B., Vargiu, L., La Colla, P. (2003) Extraction of *Juniperus oxycedrus* ssp. *Oxycedrus* essential oil by supercritical carbon dioxide: influence of some process parameters and biological activity. *Flavour Fragr J.* **18**: 390-397.
- Martin, S., Andriantsitohaina, R. (2002) Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie.* **51**: 304-315.
- Martz, F., Peltola, R., Fontanay, S., Duval, R., Julkunen-Tiitto, R., Stark, S. (2009) Effect of latitude and altitude on the terpenoid and soluble phenolic composition of Juniper (*Juniperus communis*) needles and evaluation of their antibacterial activity in the Boreal zone. *J Agric Food Chem.* **57**: 9575-9584.
- Mascolo, N., Autore, G., Capasso, F., Menghini, A., Fasulo, MP. (1987) Biological screening of Italian Medicinal Plants for Anti-inflammatory Activity. *Phyther Res.* **(1)1**: 28-31.

Mazari, K., Bendimerad, N., Bekhechi, C., Fernandez, X. (2010) Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L. *J Med Plant Res.* **4(10)**: 959-964.

McSweeney, C.S., Palmer, B., McNeill, D.M., Krause, D.O. (2001) Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Anim Feed Sci Tech.* **91**: 83-93.

Medini, H., Elaissi, A., Khouja, ML., Chraief, I., Farhat, F., Hammami, M., Chemli, R., (2010) Harzallah-Skhiri, F. Leaf essential oil of *Juniperus oxycedrus* L. (Cupressaceae) harvested in Northern Tunisia: composition and intra-specific variability. *Chem Biodivers.* **7**: 1254-1266.

Medini Hanène , Elaissi Ameer , Khouja Med Larbi , Alessandra Piras , Silvia Porcedda , Danilo Falconieri , Bruno Marongiu , Farhat Farhat & Rachid Chemli (2012) Chemical composition of the essential oils of the berries of *Juniperus oxycedrus* L. ssp. *Rufescens* (L. K.) and *Juniperus oxycedrus* L. ssp. *macrocarpa* (S. & m.) Ball. and their antioxidant activities, *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 26:9, 810-820, DOI: [10.1080/14786419.2011.558014](https://doi.org/10.1080/14786419.2011.558014).

Medini, H ., Elaissi, A., Khouja, ML., Chemli, R. (2013) Phytochemical screening and antioxidant activity of *juniperus phoenicea* ssp. *phoenicea* L. Extracts from two tunisian locations. *Journal of experimental biology and agricultural sciences.* **1(2)**: 78-82.

Medjahed, Z., Atmani-Kilani, D., Fauconnier, M.L., Richard, G., Atmani, D. (2016) Hepatoprotective and antidiabetic activities of *Fraxinus angustifolia* Vahl extracts in animal models: characterization by high performance liquid chromatography analysis. *Turk J Med Sci.* **46**: 910-920.

Meena, A.K., Verma, SC., Rani, R., Rao, M.M., Panda, P., Padhi, M.M., Devalla, R.B. (2012) Evaluation of preliminary phytochemical and physicochemical studies on *Juniperus Communis* L. Fruit used In Ayurvedic formulations. *Research J Pharm and Tech.* **5(1)**: 88-91.

Fouad Menaceur , Ahmed Benchabane , Mohamed Hazzit & Aoumeur Baaliouamer (2013) Chemical Composition and Antioxidant Activity of Algerian *Juniperus phoenicea* L. Extracts, *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 3:1, 87-96, DOI: [10.1080/22311866.2013.782754](https://doi.org/10.1080/22311866.2013.782754).

Miceli, N., Trovato, A., Dugo, P., Cacciola, F., Donato, P., Marino, A., Bellinghieri, V., La Barbera, T.M., Guvenc, A., Taviano, M.F. (2009) Comparative analysis of flavonoid profile, antioxidant and antimicrobial activity of the berries of *Juniperus communis* L. var. *communis* and *Juniperus communis* L. var. *saxatilis* Pall. from Turkey. *J Agric Food Chem.* **57(15)**: 6570-6577.

Miceli, N., Trovato, A., Marino, A., Bellinghieri, V., Melchini, A., Dugo, P., Cacciola, F., Donato, P., Mondello, L., Güvenç, A., De Pasquale R., Taviano, MF. (2011) Phenolic composition and biological activities of *Juniperus drupacea* Labill. berries from Turkey. *Food Chem Toxicol.* **49**: 2600-2608.

Minatel, I.O., Borges, C.V., Ferreira, M.I., Gomez, H.A.G., Chen, C.Y.O., Lima, G.P.P. (2017). Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability

in Phenolic Compounds - Biological Activity. Marcos Soto-Hernández, Mariana Palma Tenango, Rosario García-Mateos. (ED). Croatie. 238 p.

Moein, S., Moein, M.R. (2010) Antioxidant activities and phenolic content of *Juniperus excelsa* extract. *IJPS*: **6(2)**: 133-140.

Moein, M.R., Moein S., Mousavi, F. (2014) Study the relationship between antioxidant potential and phenolic contents of *Juniperus excelsa* fruit. *Int J Pharm Pharm Sci*. **6(7)**: 192-194.

Mohammad Samaha, H.A., Awadh Ali, N.A., Mansi, I., Abu-El-Halawa, R. (2017) Antimicrobial, antiradical and xanthinoxidase inhibitory activities of *Juniperus procera* plant extracts from Albaha. *World J Pharm Pharm Sci*. **6**: 232-242.

K. Ebrahimi Monfared , Z. Rafiee & S.M. Jafari (2012) Phenolic Content and Antioxidant Activity of *Falcaria vulgaris* Extracts, *Analytical Chemistry Letters*, 2:3, 159-170, DOI: 10.1080/22297928.2000.10648264.

Monto, F., Arce, C., Noguera, M.A., Ivorra, M. D., Flanagan, J., Roller, M., Issaly, N., D'ocon, P. (2014) Action of an extract from the seeds of *Fraxinus excelsior* L. on metabolic disorders in hypertensive and obese animal models. *Food Funct*. **5**: 786-796.

Moreira, M.R., Ponce, A.G, del Valle, C.E., Roura, S.I. (2005) Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT*. **38**: 565-570.

Moreno, L., Bello, R., Beltran, R., Calatayud, S., Primo-Yufera, E., Esplugues, J. (1998) Pharmacological screening of different *Juniperus oxycedrus* L. extracts. *Pharmacol Toxicol*. **82**: 108-112.

Middleton, P., Stewart, F., Al-Qahtani, S., Egan, P., O'Rourke, C., Abdulrahman, A., Byres, M., Middleton, M., Kumarasamy, Y., Shoeb, M., Nahar, L., Delazar, A., Sarker, S. D. (2005) Antioxidant, Antibacterial Activities and General Toxicity of *Alnus glutinosa*, *Fraxinus excelsior* and *Papaver rhoeas*. *Iranian J Pharm Res*. **2**: 81-86.

Montès, N. (1999) Potentialités, dynamique et gestion d'une formation arborée à genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) des atlas marocains: le cas de la vallée de l'Azzaden. Thèse de doctorat, Université toulouse le mirail. 212 p.

Moore A.R. (2003). Pleural models of inflammation. In: *Inflammation protocols*. Humana Press (Ed), New Jersey. **225**: pp123-128.

Moreno, L., Bello, R., Primo-Yufera, E., Espluges, J. (1997) *In vitro* studies of méthanol and dichlorométhanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *Phytother Res*. **11**: 309-311.

Moujir, L, Seca, AML., Silva, AMS., Barreto, MC. (2008) Cytotoxic Activity of Diterpenes and Extracts of *Juniperus brevifolia*. *Letter Planta Med*. **74**: 751-753.

Soufiane M'sou, Mohamed Alifriqui & Abderrahmane Romane (2017) Phytochemical study and biological effects of the essential oil of *Fraxinus dimorpha* Coss & Durieu, *Natural Product Research*, 31:23, 2797-2800, DOI: 10.1080/14786419.2017.1294173.

Muhammad, N., Saeed, M., Khan, H. (2012) Antipyretic, analgesic and anti-inflammatory activity of *Viola betonicifolia* whole plant. *BMC Complement Altern Med.* **12**(59).

Muster, D. (2005) Médicaments de l'inflammation. *EMC-Stomatologie.* **1** : 21-29.

## N

Nabi, S., Ahmed, N., Khan, MJ, Bazai, Z., Yasinzai, M., Al-Kahraman, YMSA. (2012) *In vitro* Antileishmanial, antitumor activities and phytochemical studies of méthanolic extract and its fractions of *Juniperus Excelsa* Berries. *World Appl Sci J.* **19** (10): 1495-1500.

Nonato, F.R., Barros, T.A.A., Lucchese, A.M., Oliveira, C.E.C. Santos, R.R.d, Soares, M.B.P., Villarre, C.F. (2009) Antiinflammatory and antinociceptive activities of *Blechnum occidentale* L. extract. *J Ethnopharmacol.* **125**: 102-107.

Nardi, G.M., Siqueira Junior, J.M., Delle Monache, F., Pizzolatti, M.G., Ckless, K. Ribeiro-do-Valle, R.M. (2007) Antioxidant and anti-inflammatory effects of products from *Croton celtidifolius* Bailon on carrageenan-induced pleurisy in rats. *Phytomedicine.* **14**:115-122.

Natarajan D., John Britto S., Srinivasan K., Nagamurugan N., Mohanasundari C., Perumal G. (2005) Anti-bacterial activity of *Euphorbia fusiformis*-A rare medicinal herb. *J Ethnopharmacol.* **102**: 123-126.

Nizar Nasri , Nizar Tlili , Walid Elfalleh , Emna Cherif , Ali Ferchichi , Abdelhamid Khaldi & Saida Triki (2011) Chemical compounds from Phoenician juniper berries (*Juniperus phoenicea*), *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 25:18, 1733-1742, DOI: [10.1080/14786419.2010.523827](https://doi.org/10.1080/14786419.2010.523827).

Nègre, D.I., Beloeil, H. (2015) *Mémo Douleur. Arnette.* (ED) France. 104p.

Ngameni, B., Kuete, V., Simo I.K., Mbaveng, A.T., Awoussong, P.K., Patnam, R., Roy, R., Ngadjui, B.T. (2009) Antibacterial and antifungal activities of the crude extract and compounds from *Dorstenia turbinata* (Moraceae). *S Afr J Bot.* **75**: 256-261.

## O

Ogoina, D. (2011) Fever, fever patterns and diseases called 'fever' - A review. *J Infection and Public Health.* **4**: 108-124.

Ojewole, J.A.O. (2007) Analgesic, anti-inflammatory and hypoglycaemic effects of *Rhus chirindensis* (Baker F.) (Anacardiaceae) stem-bark aqueous extract in mice and rats. *J Ethnopharmacol.* **113**: 338-345.

Organization for Economic Cooperation and Development. (2001) Guidelines for testing of chemicals No. 423: Acute oral toxicity–acute toxic class method. Paris, France.

Orhan, N., Orhan, I.E., Ergun, F. (2011a) Insights into cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of five *Juniperus* species. *Food Chem Toxicol.* **49**: 2305-2312.

Orhan, N., Berkkan, A., Orhan, DD., Aslan, M., Ergun, F.(2011b) Effects of *Juniperus oxycedrus ssp. oxycedrus* on tissue lipid peroxidation, trace elements (Cu, Zn, Fe) and blood glucose levels in experimental diabetes. *J Ethnopharmacol.* **133**: 759-764.

Orhan, N., Aslana, M., Pekcanb, M., Orhan, D. D., Bedirc, E., Erguna, Fatma. (2012a) Identification of hypoglycaemic compounds from berries of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* through bioactivity guided isolation technique. *J Ethnopharmacol.* **139**: 110- 118.

Orhan, N., Akkol, E., Ergun, F. (2012b) Evaluation of antiinflammatory and antinociceptive effects of some *Juniperus* species growing in Turkey. *Turk J Biol.* **36**: 719-726.

Orhan, N., Orhan, DD., Gokbulut, 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. *Iran J Pharm Res.* **16 (Special Issue)**: 64-74.

Osinski T, et al. Modulation et dérèglements neurophysiologiques des voies de la douleur. *Kinesither Rev* (2017), <http://dx.doi.org/10.1016/j.kine.2017.02.131>.

Ozturk, M., Tumen,I., Ugur, A., Aydogmus-Ozturk, F., Topcu, G. (2011) Evaluation of fruit extracts of six Turkish *Juniperus* species for their antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activities. *J Sci Food Agric.* **91**: 867-876.

## **P**

Pandey, K.B., Rizvi, S.I. (2009) Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev.* (2)5: 270-278.

Pasquier, C. (1995) Stress oxydatif et inflammation. *Revue Française des laboratoires.* **276**: 87-92.

Peng, W.H., Tien, Y.C., Huang, C.Y., Huang, T.H., Liao, J.C., Kuo, C.L., Lin, Y.C. (2010) *Fraxinus rhynchophylla* ethanol extract attenuates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats via down-regulating the expressions of uPA, MMP-2, MMP-9 and TIMP-1. *J Ethnopharmacol.* **127**: 606-613.

Pepeljnjak, S., Kosalec, I., Kalodera, Z., Blazevi, N. (2005) Antimicrobial activity of juniper berry essential oil (*Juniperus communis* L., Cupressaceae). *Acta Pharm.* **55**: 417-422.

Perruchoud, C., Albrecht, Eric., Moret, V. (2017) Manuel pratique d'algologie: Prise en charge de la douleur chronique. Elsevier Masson. (ED). France. 392 p.

Petti, S., Scully, C. (2009) Polyphenols, oral health and disease: A review. *J dentistry.* **37**:413-423.

Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O. (2002) Mécanismes physiologiques de la défense anti-oxydante. *Nutr Clin Metab.* **16**: 233-239.

Pincemail J, Cillard J, Nève J, Defraigne JO. Mesure de la capacité antioxydante globale du plasma : une revue critique. *Ann Biol Clin* 2014 ; 72(4) : 413-21 doi:10.1684/abc.2014.0971.

Phornchai Pingsusaen, Puongtip Kunanusorn, Parirat Khonsung, Natthakarn Chiranthanut, Ampai Panthong, Chaiyong Rujjanawate, Investigation of anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic activities of *Stahlianthus involucratus* rhizome ethanol extract, *Journal of Ethnopharmacology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.10.060>.

Podsdek, A. (2007) Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT*. **40**:1-11.

Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B. (2009) Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*. **4**: 25-39.

Pourtet. J. (1949) Catalogue des espèces cultivées dans l'arboretum des barres. 445p.

Pramanik, KC., Biswas, R., Bandyopadhyay, D., Mishra, M., Ghosh, C., Chatterjee, TK. (2007) Evaluation of anti-ulcer properties of the leaf extract of *Juniperus communis* L. in animals. *J Natural Remedies*. **7(2)**: 207-213.

Vijay, P., Vijayvergia, R. (2010) Analgesic , anti-inflammatory and antipyretic activity of *Cissus quadrangularis*. *J Pharm Sci & Res*. **2(1)**: 64-7.

## Q

Qnais, E.Y., Abdulla, F.A., Abu Ghalyun, Y.Y. (2005) Antidiarrheal effects of *Juniperus Phoenicia* L. leaves extract in rats. *Pak J Biol Sci*. **(8)6**: 867-871.

Queneau, D.P., Ostermann, G. (1998) Soulager la douleur. Odile Jacob. (ED). Paris. 316 p.

Quezel, P., Santa, S. (1962) Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I. C.N.R.S. (Ed). Paris, 575p.

Quezel, P., Santa, S. (1963) Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. C.N.R.S. (Ed). Paris, 610p.

## K

Kaplanski, G., Marin, V. (2 0 0 2) Mécanismes de la fièvre. *Rev. Prat*. **52**: 135-138.

Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, A. (2007) Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L.using a suitable extraction procedure. *Food Chem*. **100**: 584-589.

Kim, Y.R., Park, B.K., Kim, Y.H., Shim , I., Kang, I.C., Lee M.Y. (2018) Antidepressant effect of *Fraxinus rhynchophylla* Hance extract in a mouse model of chronic stress-induced depression . *Biomed Res Int*. **(2018)**.

Koechlin-Ramonatxo, C. (2006) Oxygène, stress oxydant et suppléments anti-oxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*. **20**: 165-177.

Khosroyar, S., Arastehnodeh, A., (2018) Comparison of anti-inflammatory and antioxidant capacity of alcoholic extraction of *fraxinus fxcelsior* and *melilotus officinalis* plant. *Plant Archives*. **18 (1)**: 443-448.

Kostova, I.N., Nikolov, N.M., Chipilska, L.N. (1993) Antimicrobial properties of some hydroxycoumarins and *Fraxinus ornus* bark extracts. *J Ethnopharmacol*. **39**: 205-208.

Kouakou , S.G., Irie, N.G., Dally, I., Mohou, B., Kamenan, A., Kouakou, L. Kablan, B.J. (2010a) Etude de l'activité analgésique de l'extrait méthanolique des feuilles de *Gossypium hirsutum* linn. (Malvaceae). *J Sci Pharm Biol.***11(1)**: 6-12.

Kouakou, S. L., Kouakou, G. S., Dally Laba, I., Brou, J. K. (2010b) Evaluation de l'activité analgésique de l'extrait aqueux des feuilles de *Mitracarpus scaber* Zucc (Rubiaceae), une plante médicinale de Côte d'Ivoire. *Int J Biol Chem Sci.* **4(2)**: 456-463.

Kuppusamy, S., et al., Assessment of antioxidant activity, minerals, phenols and flavonoid contents of common plant/tree waste extracts. *Ind. Crops Prod.* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.060>.

## R

Raghavendra, G.M., Varaprasad, K., Jayaramudu, T. (2015) Biomaterials: design, development and biomedical applications. *Nanotechnology Applications for Tissue Engineering.* 21-44.

Ramdani, M., Lograda, T., Silini, H., Zeraib, A., Chalard, P., Figueredo, G., Bouchaala, M., Zerrar S. (2013) Antibacterial activity of essential oils of *Juniperus phoenicea* from Eastern Algeria. *J Appl Pharm Sci.* **3 (11)**: 022-028.

Rasooli, I., Fakoor, M.H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A., Rezaei, M.B. ( 2008) Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *Int J Food Microbiol.* **122**:135-139.

Rauf, A., Uddin, G., Siddiqui, B.S., Muhammad, N., Khan, H. (2014) Antipyretic and antinociceptive activity of *Diospyros lotus* L. in animals. *Asian Pac J Trop Biomed.* **4 (Suppl 1)**: S382-S386.

Reanmongkol, W., Noppapan, T., Subhadhirasakul, S. (2009) Antinociceptive, antipyretic, and anti-inflammatory activities of *Putranjiva roxburghii* Wall. leaf extract in experimental animals. *J Nat Med.* **63**:290-296.

Reimund, J.M. (2002) Stress oxydant au cours des syndromes inflammatoires chroniques. *Nutr Clin Metab.* **16**: 275-284.

Rezzi, S., Cavaleiro, Carlos., Bighelli, A., Salgueiro, L., Proenca da Cunha., A., Casanova, J. (2001) Intraspecific chemical variability of the leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* subsp. *turbinata* from Corsica. *Biochem Syst Ecol.* **29**: 179-188.

Ribeiro, R.V., Silva, R.M.d, Lima, J.C.d.S., Martins, D. T.O. (2010). Antiinflammatory, antinociceptive and antipyretic effects of hydroéthanolic extract from *Macrosiphonia velame* (A. St.-Hil.) M. Arg. in animal models. *Braz J Pharm Sci.* **46(3)**: 515-523.

## S

Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. (2005) Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem.* **91**: 621-632.

Sadeghi-aliabadi, H., Emami, A., Sadeghi, B., Jafarian, A. (2008) *In vitro* cytotoxicity of two subspecies of *Juniperus excelsa* on cancer cells. *Iran J Basic Med Sci.* **11(4)**: 250-253.

Sagdic, O., Ozcan, M. (2003) Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. *Food Control.* **14**: 141-143.

Sahin Yaglioglu, A., Eser, F. (2017) Screening of some *Juniperus* extracts for the phenolic compounds and their antiproliferative activities. *S Afr J Bot.* **113**: 29-33.

Sanchez de Meclina, F., Gamez, M. J., Jiménez, I., Jiménez, J., Osuna, J. I., Zarzuelo, A. (1994) Hypoglycemic Activity of Juniper "Berries". *Planta Med.* **60**: 197- 200.

San Feliciano, A., Medarde, M., Lopez, J.L., Miguel Del Corral, J.M. (1986) Two new cinnamyl isovalerate derivatives from *Juniperus thurifera* leaves. *J Nat Prod.* **49 (4)**: 677-679.

San Feliciano, A., Lopez, J.L., Medarde, M., Miguel Del Corral, JM., De Pascual-Teresa, B., Puebla. P. (1988a) *Thuriferic acid. a novel lignan type from Juniperus thurifera* L. *Tetrahedron.* **44 (23)**: 7255-7260.

San feliciano, A., Medarde, M.J., Lopez, L., Miguel Del Corral, J. M., Puebla, P., Barrero, A. F. (1988b) Terpenoids from leaves of *Juniperus thurifera* . *Phytochemistry.* **27(7)**: 2241-2248.

San feliciano, A., Medarde, M., Lopez, J. L., Puebla, P., Miguel del corral, JM., Barrero, A. F. (1989) Lignans from *Juniperus thurifera*. *Phytochemistry.* **28 (10)**: 2863-2866.

San feliciano, A., Miguel del corral, JM., Lopez, JL., De Pascual-Teresa, B. (1992a) Lignans from polar extracts of *Juniperus thurifera*. *Phytochemistry.* **31(1)**: 267- 270.

San feliciano, A., Miguel del corral, JM., Lopez, JL., de Pascual-Teresa, B. (1992b) 8-hydroxy-labdanes from *Juniperus thurifera*. *Phytochemistry.* **31 (5)**: 1713-1717.

Sarfraz, I., Rasul, A., Jabeen, F., Younis, T., Zahoor, M. K., Arshad, M., Ali, M. (2017) *Fraxinus*: A Plant with Versatile Pharmacological and Biological Activities. *Evid Based Complement Alternat Med.* (2017).

Sati, SC., Joshi, S. (2010) Antibacterial potential of leaf extracts of *Juniperus communis* L. from Kumaun Himalaya. *Afr J Microbiol Res.* **4 (12)**: 1291-1294.

Satrani, B., Ghanmi, M., Mansouri, N., Amusant, N. (2015) Antioxidant properties of essential oils extracted from three species of Moroccan junipers. *Environmental Science An Indian Journal .* **11 (7)**: 239-247.

Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Révész, C., Jiménez, L. (2005) Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr.* **45**: 287-306.

Schofield, P, Mlbugua., D.M., Pell., A.N. (2001) Analysis of condensed tannins: a review.. *Anim Feed Sci Tech.* **91**:21-40.

SGH. (2003). système général harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques. Toxicité aiguë. Nations Unies New York et Genève, 5<sup>ème</sup> édition révisée. 547p.

Seca, A.M.L., Silva, A.M.S. (2005) The chemical composition of the *Juniperus* Genus (1970–2004) in Recent Progress in Medicinal Plants. *Phytomedicines*. **16**: 402-522.

Serhan, C.N, Ward, P.A., Gilroy, D.W. (2010) Fundamentals of Inflammation. Cambridge University Press (ED). New York. 473p.

Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D., Corke, H. (2007) The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *Int J Food Microbiol*. **117**: 112-119.

Shukla, S., Mehta , A., Mehta, P., Vyas, S.P., Shukla, S., Bajpai, V.K. (2010) Studies on anti-inflammatory, antipyretic and analgesic properties of *Caesalpinia bonducella* F. seed oil in experimental animal models Food. *Chem Toxicol*. **48**: 61-64.

Siddiqui, S. A., Rahman, A., Oliur Rahman, M., Akbar, M. A., Shamsur Rouf, A. S., Ali, M. A., Al-Hemaid, F.M.A., Farah, M. A. (2018) Evaluation of anti-nociceptive, anti-inflammatory and antipyretic potential of *Mikania cordata* (Burm. f.) Robinson in experimental animal model. *Saudi J Biol Sci*. **25**: 1049-1055.

Sofidiya, M.O., Imeh, E., Ezeani, C., Aigbe, F.R., Akindele, A.J. (2014) Antinociceptive and anti-inflammatory activities of éthanolic extract of *Alafia barteri*. *Rev Bras Farma*. **24**: 348-354.

Soltani, Y., Ali-Bouzidi, M., Toumi, F., Benyamina, A. (2017) Antioxidant activities of the extracts of the three organs of *Juniperus phoenicea* L.in Western Algeria. *Phytothérapie* .  
Stassi, v. (1996) The antimicrobial activity of the essential oils of four *Juniperus* species growing Wild in Greece. *Flavour Frag*. **11**:71-74.

Steeds CE, The anatomy and physiology of pain, Surgery (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.mpsur.2015.11.005>.

Stoclet, J-C., Schini-Kerth V. (2011) Flavonoïdes alimentaires et santé humaine. *Ann Pharm Fr*. **69**: 78-90.

## T

Tahirovic, A., Basic, N., Avdibegovic, S. (2017) Antioxidant capacity and phenolic content of *Fraxinus ornus* L.and *Fraxinus pennsylvanica* Marsch. Leaves and bark extracts. *Works of the Faculty of Forestry University of Sarajevo*.**1**: 1-12.

Tahraoui, A., Israili, Z. H., Lyoussi, B. (2010) Acute and sub-chronic toxicity of a lyophilised aqueous extract of *Centaurium erythraea* in rodents. *J Ethnopharmacol*. **132**: 48-55.

Tanase, C., Cosarca, S., Muntean, D.L. (2019) A Critical Review of Phenolic ompounds Extracted from the Bark of Woody Vascular Plants and Their Potential Biological Activity. *Molecules*. **24**:1182.

Tavares, L., McDougall, G.J., Fortalezas, S., Stewart, D., Ferreira, R. B., Santos, C.N (2012) The neuroprotective potential of phenolic-enriched fractions from four *Juniperus* species found in Portugal. *Food Chemistry*. **135**: 562-570.

Tavares, L., Pimpao, R., McDougall, G., Stewart, D., Ferreira, RB., Santos, CN. (2013) Elucidating Phytochemical Production in *Juniperus* sp.: Seasonality and Response to Stress Situations. *J Agric Food Chem*. **61**: 4044-4052.

Tavares, WR., Seca AML.(2018)The current status of the pharmaceutical potential of *Juniperus* L. metabolites. *Medicines*. **5 (81)**.

Maria Fernanda Taviano, Andreana Marino, Ada Trovato, Valentina Bellinghieri, Tommaso Massimo La Barbera, Ayşegül Güvenç, Muhammed Mesud Hürkul, Rita De Pasquale & Natalizia Miceli (2011) Antioxidant and antimicrobial activities of branches extracts of five *Juniperus* species from Turkey, *Pharmaceutical Biology*, 49:10, 1014-1022, DOI: 10.3109/13880209.2011.560161.

Taviano, MF., Marino, A., Trovato, A., Bellinghieri, V., Melchini, A., Dugo, P., Cacciola, F., Donato, P., Mondello, L., Guvenc, A., De Pasquale, R., 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 Chem Toxicol*. **58**: 22-29.

Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., El-Elimat, T. (2007) Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chem*. **(in press)**.

Teng, C.M, Lin, C.H., Kuo, Y.H., Lin, Y.L., Huang, T.F. (1994) Antiplatelet and vasorelaxing actions of the acetoxy derivative of cedranediol isolated from *Juniperus squamata*. *Planta Med*. **60**: 209-213.

Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A., Sokmen, A. (2006) Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chem*. **95**: 200-204.

Tessier, F., Marconnet, P. (1995) Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Sci Sport*. **10**:1-13.

Tomazetti, J., Avila, D.S, Ferreira, A.P.O., Martins, J.S., Souza, F.R., Royer, C., Rubin, MA., Oliveira, M.R., Bonacorso, H.G., Martins, M.A.P., Zanatta, N., Mello C.F. (2005) Baker yeast-induced fever in young rats: Characterization and validation of an animal model for antipyretics screening. *J Neurosci Methods*. **147**: 29-35.

Touhami, I., Ghazghazi, H., Sellimi, H., Khaldi, A., Mahmoudi, H. (2017) Antioxidant activities and phenolic contents of bark and leave extracts from Tunisian native tree: *Fraxinus angustifolia* Vahl. subsp. *angustifolia*. *J new sciences, Agriculture and Biotechnology*. **45(5)**: 2496-2501.

Tréchet, P., Jouzeau, J.Y. (2014) Bases chimiques et pharmacologiques des AINS. *Revue française d'allergologie*. **54**: 212-217.

Tsao, R. (2010) Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*. **2**: 1231-1246.

Tunon, H., Olavsdotter, C., Bohlin, L. (1995) medicinal plants. Inhibition of prostaglandin biosynthesis and PAF-induced exocytosis. *J Ethnopharmacol*. **48**: 61-76.

Turkmen, N., Velioglu, Y. S, Sari, F., Polat, G. (2007) Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of Black Tea. *Molecules*. **12**: 484-496.

## U

J.O. Unuofin, G.A. Otunola, A.J. Afolayan, Evaluation of acute and subacute toxicity of whole-plant aqueous extract of *Vernonia mespilifolia* Less. in Wistar rats, *Journal of Integrative Medicine* (2018), doi: <https://doi.org/10.1016/j.joim.2018.07.003>.

## V

Giuseppa Valentini , Bice Bellomaria , Filippo Maggi & Aurelio Manzi (2003) The Leaf and Female Cone Oils of *Juniperus oxycedrus* L. ssp. *oxycedrus* and *J. oxycedrus* ssp. *macrocarpa* (Sibth. et Sm.) Ball. from Abruzzo, *Journal of Essential Oil Research*, 15:6, 418-421, DOI: [10.1080/10412905.2003.9698628](https://doi.org/10.1080/10412905.2003.9698628).

Valko, M., Rhodes, C.J.b, Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006) Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*. **160**: 1-40.

Ved, A., Gupta, A., Rawat, AK. (2017) Antioxidant and Hepatoprotective Potential of Phenol-Rich Fraction of *Juniperus communis* Linn. Leaves. *Pharmacogn Mag*. **13(49)**: 108-113.

## W

Wallander, E. (2012) Systematics and floral evolution in *Fraxinus* (Oleaceae) *Belgische Dendrologie Belge*. 39-58.

Wesmael, A. (1892) Monographie des espèces du genre *Fraxinus*. *Bull. Soc. r. bot. Belge* : **31**: 69-117.

Weill, B., Batteux, F. (2003) Immunopathologie et réactions inflammatoires. De Boeck (ED). Bruxelles. 312p

Weli, AM., AL-Hinai, JRK., Al-Mjrafi, JMA., Alnaaimi, JRS., Hossain, MA., Saeed, S., Aktar MS. (2014) Effect of different polarities leaves crude extracts of Omani *Juniperus excels* on antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities and their biochemical screening . *Asian Pac J Reprod*. **3(3)**: 218-223.

Wong, C.C., Li H.B., Cheng, K.W., Chen, F. (2006) A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem*. **97**: 705-711.

## Y

Yang, E.J., Kim, S.I., Ku, H.Y., Lee, D.S., Lee, J.W., Kim, Y.S., Seong, Y.H., Song, K.S. (2010) Syringin from Stem Bark of *Fraxinus rhynchophylla* Protects A $\beta$ (25-35)-induced Toxicity in Neuronal Cells0 *Arch Pharm Res.* **33(4)**: 531-538.

Yi Z., Yu Y., Liang Y. et Zeng B. (2008). *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus cultivar and its main flavonoids. *LWT-Food Science and Technology.* **41(4)**: 597-603.

Younis, T., Khan, M .R., Sajid, M., Majid, M., Zahra, Z., Ali Shah, N. (2016a) *Fraxinus xanthoxyloides* leaves reduced the level of inflammatory mediators during *in vitro* and *in vivo* studies. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* **16 (230)**.

Younis, T., Khan, M .R., Sajid, M., (2016b) Protective effects of *Fraxinus xanthoxyloides* (Wall.) leaves against CCl<sub>4</sub> induced hepatic toxicity in rat. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* **16 (407)**.

Younis, T., Khan, 1M. R., Shah, N.A., Zai, J. A., Khan, H. (2016c) Anti-leishmanial evaluation of *Fraxinus xanthoxyloides* (G. Don) DC. collected from District Islamabad *J.Chem.Soc.Pak.* **38(05)**: 921-927.

Younis, T., Rasul, A., Jabeen, F., Hussain, G., Altaf, J., Jafri, L., R., Rani, Khan, R.M., Sarfraz, I., Ali, M. (2018a) Ameliorating role of méthanolic leaves extract of *Fraxinus xanthoxyloides* against CCl<sub>4</sub>-challenged nephrotoxicity in rats. *Pak J Pharm Sci.* **31.4 (Suppl)**: 1475-1484.

Younis, T., Khan, M.I., Khan, M.R, Azhar, R., Majid, M., Adhami, V.M., Mukhtar, H. (2018b) Nummularic acid, a triterpenoid, from the medicinal plant *Fraxinus*. *Mol Carcinog.* doi 10.1002/mc.22841.

## **Z**

Zahid Hosen, S.M., Das, R., Rahim, Z.B, Chowdhury, N., Paul, L., Saha, D. (2011) Study of analgesic activity of the méthanolic extract of *Acorus calamus* L. and *Oroxylum indicum* vent by acetic acid induced writhing method. *Bull Pharm Res.* **1(3)**: 63-7.

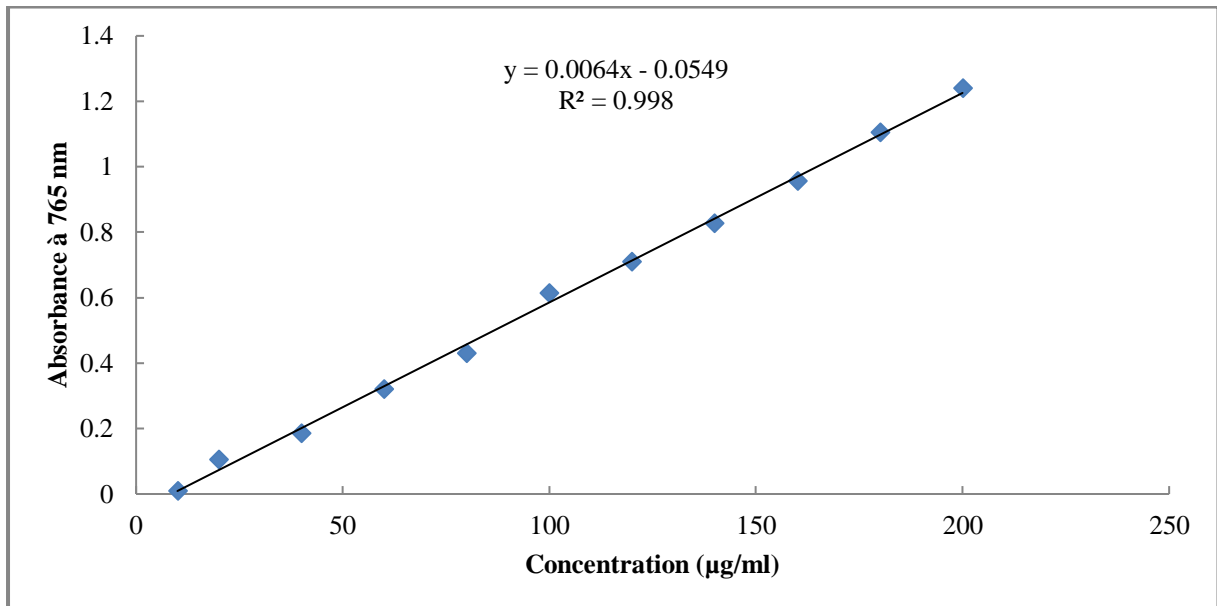
Zeraib, A., Ramdani, M., Boudjedjou, L., Chalard, P., Figuredo, G. (2014) Chemical composition and antibacterial activity of *Juniperus thurifera* L. essential oils. *J BioSci Biotech.* **3(2)**: 147-154.

Zhu, Z.Z., Ma, K.J., Rana, X., Zhang, H., Zheng, C.J., Han, T., Zhang, Q.Y., Qin, L.P. (2011) Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of the petroleum ether fraction from the éthanol extract of *Desmodium podocarpum*. *J Ethnopharmacol.* **133**: 1126-1131.

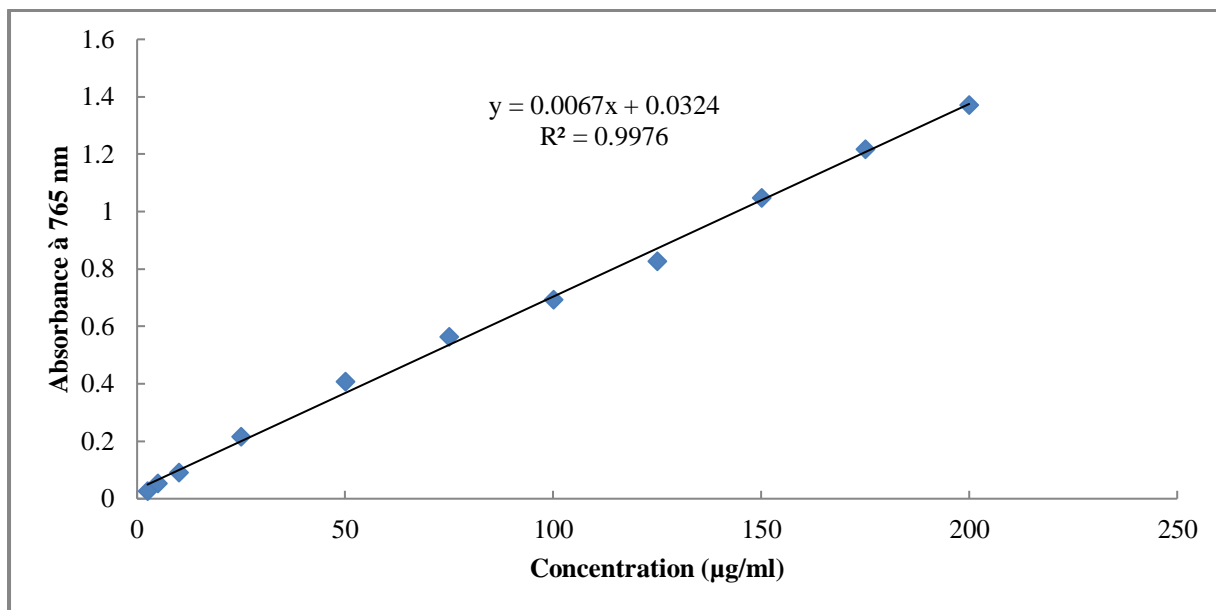
Zerargui, F., Baghiani A., Khenouf, S., Arrar, L. (2016) Antioxidant activity assessment of *Tamus communis* L. roots. *Int J Pharm Pharm Sci.* **8(12)**: 64-71.

Zulfiker, A.H.M., Rahman, M.M., Hossain, M.K., Hamid, K., Mazumder, M.E.H., Rana, M.S. (2010) *In vivo* analgesic activity of éthanolic extracts of two medicinal plants - *Scoparia dulcis* L. and *Ficus racemosa* Linn. *Biol Med.* **2(2)**: 42-48.

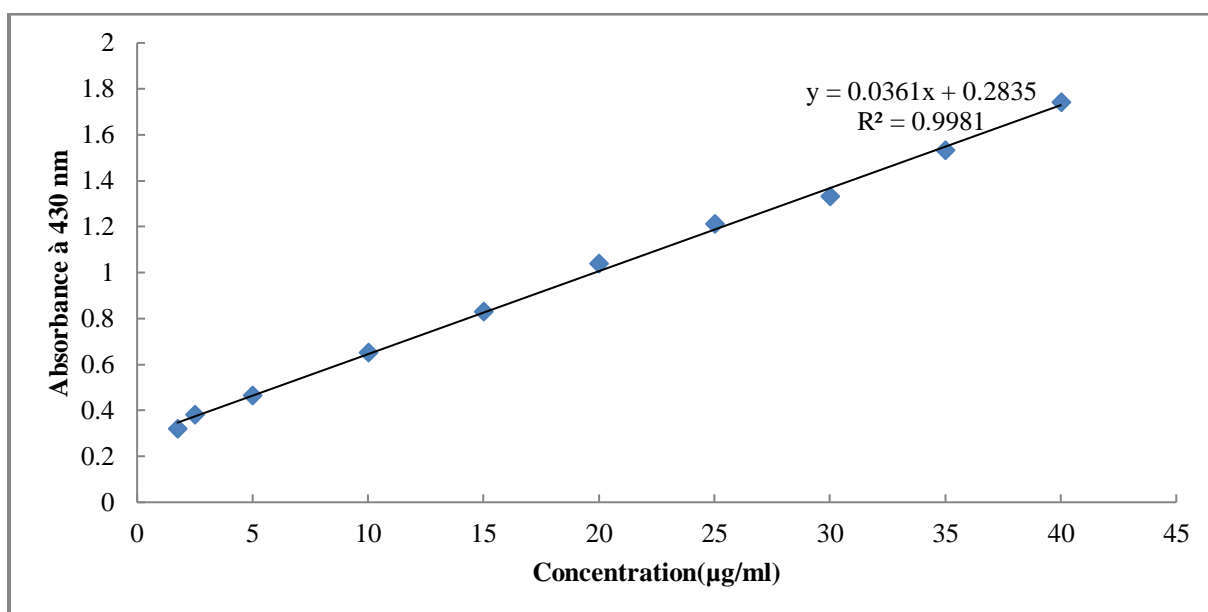
## Annexes



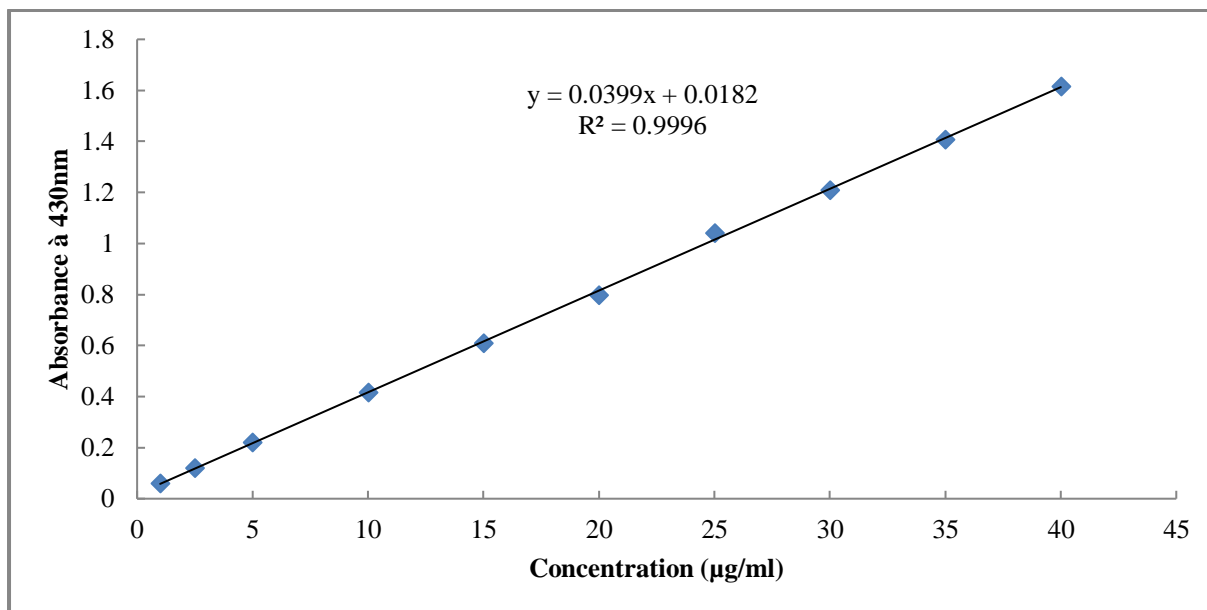
**Figure.37.** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique utilisée pour le dosage des extraits de *J.thurifera* (Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).



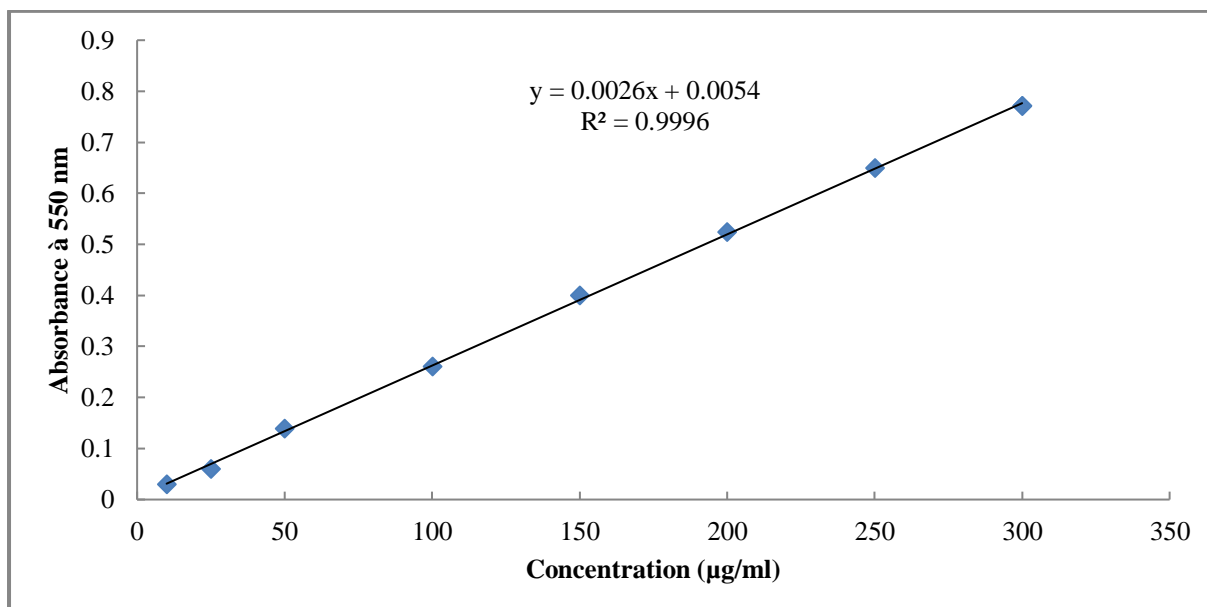
**Figure.38.** Courbe d'étalonnage d'acide gallique utilisée pour le dosage des extraits de *F. xanthoxyloides* (Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).



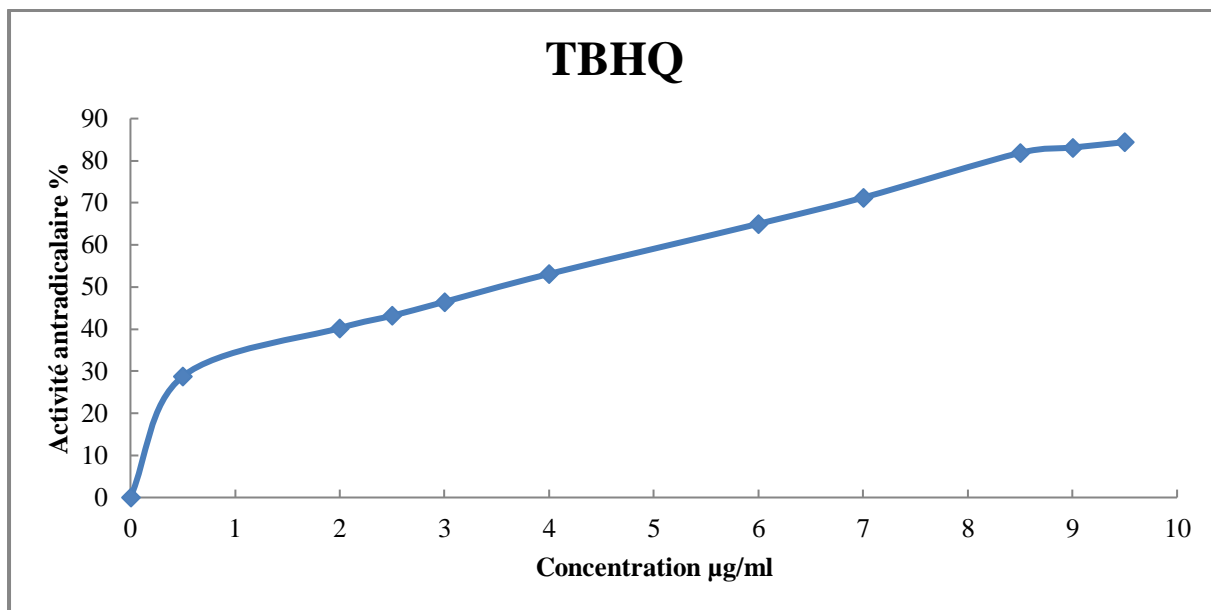
**Figure.39.** Courbe d'étalonnage de la quercétine utilisée pour le dosage des extraits de *J. thurifera* (Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).



**Figure.40.** Courbe d'étalonnage de la quercétine utilisée pour le dosage des extraits de *F. xanthoxyloides* (Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).



**Figure.41.** Courbe d'étalonnage de la catéchine utilisée pour le dosage des extraits de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides* (Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).



**Figure.42.** Activité anti-radicalaire du TBHQ  
(Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).

#### الملخص

تعد الاستعمالات الطبية المختلفة لجنس *Juniperus* و المحفز *Fraxinus* الأساسى للقيام بهذه الدراسة التي تهدف إلى تقييم النشاط البيولوجي لمستخلصات *Juniperus thurifera* و *Fraxinus xanthoxyloides*. كشف التقدير الكمي وجود المركبات الفينولية، الفلافونيدات و التانين في مستخلصات *Juniperus* و *Fraxinus*. تتمثل المركبات التي تم الكشف عليها بواسطة كروماتوغرافيا السائل العالي الأداء في مستخلص MeJT في: L'acide procatéchique، l'acide hydroxycatéchique، la rutine، la lutéoline، l'apigénine، la ladanéine، MeFX. أظهر مستخلص MeFX نفس التركيب الكيميائي مع غياب l'acide procatéchique.

بينت تقنية CG/SM أن المركبات:  $\beta$ -cymène، 3-carène، thujol، 4-carène (+)، (-)-isolepène، (-)-isolepène،  $\alpha$ -cadinène،  $\epsilon$ -selinène، cinnamyl-valérate تدخل في التركيب الكيميائي للزيت الأساسى لنبتة *J. thurifera*.

أوضحت نتائج النشاط المضاد للأكسدة أن مستخلصات MeJT و MeFX و DmFX لها نشاط ازاحي لجنر DPPH ذو دلالة معتبرة، أين قدرت قيم IC50 بـ: 0.006 مغ/مل، 0.05 مغ/مل و 0.09 مغ/مل على التوالي. من ناحية أخرى بينت النتائج أن الزيت الأساسى لنبتة *J. thurifera* لا يتميز بنشاط ازاحي.

معالجة الفئران بمستخلصات MeJT و MeFX بتركيز 400 مغ/كغ لمدة 28 يوم أدت إلى تحسن ذو دلالة معتبرة للنشاط البلازمي المضاد للأكسدة اتجاه الجنر DPPH (% 15.5 و % 11.21 على التوالي). أظهرت جميع تراكيز المستخلصات المختبرة قدرة ارجاعية لشوارد الحديد ( $Fe^{+3}$ )، مع عدم تسجيل أي فرق ذو دلالة بين القدرة الارجاعية لمستخلص MeFX وقدرة BHA.

أظهرت جميع المستخلصات قدرة تثبيط الأوكسدة المزدوجة لحمض لينولييك  $\beta$ -كاروتين. النشاط المضاد للأوكسدة لمستخلص HeFX (127.3 %) ذو دلالة عالية مقارنة بـ BHT. بينما نشاط مستخلص DmFX (98.5%) مماثل لنشاط هذا الأخير. النشاط المضاد للأوكسدة للزيت الأساسى لنبتة *J. thurifera* جد ضعيف (3.73%) في هذا الاختبار.

نتائج النشاط المضاد للميكروبات بينت أن جميع مستخلصات نبتة *J. thurifera* فعالة ضد *P. aeruginosa* ATCC و *S. aureus* ATCC. بينما مستخلصات نبتة *F. xanthoxyloides* لا تتميز بنشاط مضاد للسلاطات المختبرة. الزيت الأساسى لنبتة *J. thurifera* فعال ضد *P. aeruginosa* ATCC، *S. aureus* ATCC و *Candida albicans*.

تبين أن مستخلصات MeJT و MeFX غير سامة و أن معالجة الفئران بها بتركيز 200 مغ/كغ و 400 مغ/كغ أدى إلى انخفاض عدد الخلايا المتعادلة المتدفقة بعد حقن الكراجينان، بنسب قدرت بـ 56 % ، 81 % و 75 % ، 91 % على التوالي. النشاط المضاد للالتهاب لكل المستخلصات كان ذو دلالة معتبرة.

أدت المعالجة المسبقة بمستخلصات MeJT و MeFX بتركيز 200 مغ/كغ و 400 مغ/كغ إلى انخفاض معتبر لوزمة الأذن المحفزة Xylène. نسب تثبيط المستخلصات هي على التوالي: 60.25% ، 70.80 % و 76.19 % ، 58.73.

تتميز مستخلصات MeJT و MeFX بتركيز 200 مغ/كغ و 400 مغ/كغ بنشاط مسكن للألم الناتج بعد حقن حمض الخل بطريقة معتبرة. ، نسب تثبيط التشنجات قدرت بـ 76.45 % ، 87.64 % و 62.61 % ، 68.06 % على التوالي . تسبب حقن معلق خميرة الجعة في ارتفاع درجة حرارة كل الفئران. خفض الحرارة النموذجي (الباراسيتامول) كان له تأثير ذو دلالة معتبرة ، بينما لم يكن للمعالجة بمستخلصي MeJT و MeFX عن طريق الفم أي تأثير .

**الكلمات المفاتيح:** *F. xanthoxyloides* ، *J. thurifera* ، مضاد للأوكسدة ، مضاد للميكروبات ، مضاد للالتهاب ، مسكن للألم ، خفض للحرارة.

## ABSTRACT

The various medicinal applications of the genus *Juniperus* and *Fraxinus* encouraged us to carry out this study, the aim of which is to assess the biological activity of the *Juniperus thurifera* and *Fraxinus xanthoxyloides* extracts.

The colorimetric quantification revealed the presence of polyphenols, flavonoids and tannins in the different extracts of *J. thurifera* and *F. xanthoxyloides*.

Procatechic acid, hydroxy-cafeic acid, rutin, luteolin, apigenin, ladaneine, 7-Methoxy-5hydroxy-flavanone are the compounds identified by HPLC in MeEJT. The MeEFX presented the same chemical profile in the absence of procatechic acid.

The CG/SM has shown that the compounds:  $\beta$ -Cymene, 3-Carene, cis-p-menth-2-en-1-ol, thujol, (+) -4-Carene, (-) - isolede, isolede,  $\alpha$ -Cadinene, Cadinene,  $\epsilon$ - Selinene, cinnamyl-valerate appear in the chemical profile of EOJT.

The expression of the results of the antioxidant activity has shown that the MeEJT, the EMeFX and the DmeFX have significant scavenging effect of the DPPH radical, with IC50 values of 0.006 mg/ml, 0.05 mg/ml and 0.09 mg/ml respectively. On the other side, the EOJT does not have DPPH scavenging capacity.

Administrating MeEJT and MeEFX at the 400 mg/ml dose in rats for 28 days resulted in a significant increase in the plasma antioxidant capacity against the DPPH radical (15.15%, 11.21% respectively).

All the concentrations of the tested extracts showed a power reducing of ferric ions ( $Fe^{+3}$ ). No significant difference was found between the power reducing of MeEFX and that of BHA.

All extracts showed an inhibitory activity on the linoleic acid/ $\beta$ -carotene coupled oxidation. The HeEFX antioxidant activity (127.3%) is significantly higher than that of BHT, while that of EDmFX (98.25%) is similar to the latter. In this test, EOJT showed a very weak antioxidant effect (3.73%).

The results of the antimicrobial activity have shown that the *J. thurifera* extracts are active against *P. aeruginosa* ATCC and *S. aureus* ATCC. Although, those of *F. xanthoxyloides* are inactive against all of the strains tested. EOJT has been shown to be active against *P. aeruginosa* ATCC, *S. aureus* ATCC and *Candida albicans*.

MeEJT and MeEFX were found to be non-toxic. Pretreatment of rats with these extracts at 200 mg/kg and 400 mg/kg doses attenuated the number of migrating neutrophils after the injection of carrageenan, with a reduction of 56%, 81% and 75%, 91% respectively. The anti-inflammatory effect of the different extracts was statistically significant.

Pretreatment with MeEJT and MeEFX at the 200 and 400 mg/Kg doses reduced significantly xylene induced ear edema. The inhibition percentages found using the extracts are: 68.25%, 70.90% and 76.19%, 58.73% respectively.

The MeEJT and the MeEFX presented an analgesic effect by relieving the pain caused by the injection of acetic acid in a very significant manner. The inhibition percentages of the MeEJT contractions at the 200 mg/kg and 400 mg/kg doses were 76.45% and 87.64%, while those of the MeEFX were 62.61% and 86.06% respectively.

After the injection of Brewer's yeast suspension, a rise in temperature was observed in all rats. The standard antipyretic (Paracetamol) reduced very significantly the fever; however oral administration of MeEJT and MeEFX had no effect.

**Key words:** *J. thurifera*, *F. xanthoxyloides*, antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, analgesic, antipyretic.

## RESUME

Les diverses applications médicinales du genre *Juniperus* et *Fraxinus* nous ont encouragés à mener cette étude dont le but est d'évaluer l'activité biologique des extraits de *Juniperus thurifera* et *Fraxinus xanthoxyloides*.

Le dosage colorimétrique a révélé la présence des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins dans les extraits de *J. thurifera* et *F. xanthoxyloides*.

L'acide procatechique, l'acide hydroxycatécholique, la rutine, la lutéoline, l'apigénine, la ladanéine, le 7-Methoxy-5hydroxy-flavanone sont les composés identifiés par HPLC dans l'EMeJT. L'EMeFX a présenté le même profil chimique avec l'absence de l'acide procatechique.

La CG/SM a montré que les composés:  $\beta$ -cymène, 3-carène, cis-p-menth-2-en-1-ol, thujol, (+)-4-carène, (-)-isodène, isodène,  $\alpha$ -cadinène,  $\beta$ -selinène, cinnamyl valérate figurent dans le profil chimique de l'HEJT.

L'expression des résultats de l'activité antioxydante a montré que l'EMeJT, l'EMeFX et l'EDmFX ont des effets scavenger du radical DPPH significatifs, avec des valeurs d'IC50 de l'ordre de 0.006 mg/ml, 0.05 mg/ml et 0.09 mg/ml respectivement. D'une autre part, l'HEJT n'est pas dotée d'un effet anti-radicalaire.

L'administration de l'EMeJT et l'EMeFX à la dose 400 mg/kg chez les rats pendant 28 jours a entraîné une augmentation significative de la capacité anti-oxydante plasmatique vis-à-vis le radical DPPH (15,15%, 11,21% respectivement).

Toutes les concentrations des extraits testés ont montré un pouvoir réducteur des ions ferriques ( $Fe^{+3}$ ). Aucune différence significative n'a été constatée entre le pouvoir réducteur de l'EMeFX et celui de BHA.

Tous les extraits ont montré une activité inhibitrice de l'oxydation couplée de l'acide linoléique/ $\beta$ -carotène. L'activité antioxydante de l'EHeFX (127.3%) est significativement supérieure à celle de BHT, tandis que celle de l'EDmFX (98.25%) est similaire à ce dernier. Dans ce test, l'HEJT a présenté un effet antioxydant très faible (3.73%).

Les résultats de l'activité antimicrobienne ont montré que les extraits de *J. thurifera* sont actifs contre *P. aeruginosa* ATCC et *S. aureus* ATCC. Bien que, ceux de *F. xanthoxyloides* sont inactifs vis-à-vis l'ensemble des souches testées. L'HEJT s'est révélée actif contre *P. aeruginosa* ATCC, *S. aureus* ATCC et *Candida albicans*.

L'EMeJT et l'EMeFX se sont avérés non toxiques. Le prétraitement des rats par ces extraits aux doses 200 mg/kg et 400 mg/kg a atténué le nombre des PMNs après l'injection de la carragénine, soit une diminution de 56%, 81% et 75%, 91% respectivement. L'effet anti-inflammatoire des extraits était statistiquement significatif.

Le prétraitement par l'EMeJT et l'EMeFX aux doses 200 mg/kg et 400 mg/Kg a réduit de manière significative l'œdème de l'oreille induit par le xylène. Les pourcentages d'inhibition retrouvés avec les deux extraits sont: 68.25%, 70,90% et 76,19%, 58,73 % respectivement.

L'EMeJT et l'EMeFX ont présenté un effet analgésique en calmant la douleur provoquée par l'injection de l'acide acétique d'une manière très significative. Les pourcentages d'inhibition des contractions de l'EMeJT aux doses 200 mg/kg et 400 mg/kg ont été de 76.45 % et 87.64%, tandis que ceux de l'EmeFX ont été de 62.61% et 86.06% respectivement.

Après l'injection de la suspension de la levure de bière, une élévation de la température a été constatée chez tous les rats. L'antipyrétique de référence (Paracetamol) a fait diminuer d'une façon très significative la fièvre, tandis que l'administration orale de l'EMeJT et l'EMeFX n'a eu aucun effet.

**Mots clés:** *J. thurifera*, *F. xanthoxyloides*, antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, analgésique, antipyrétique.