

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université de Ghardaia**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre**

**Département de Biologie**

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER**

**Spécialité** : Sciences biologiques

**Option** : Biochimie appliquée

**Présenté par** :

- **CHENINI Amina**

- **BOUMEGOUAS Wafa**

**Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits  
de l'espèce *Ephedra alata*.**

**Soutenu publiquement Le : 03/10/2020**

**Devant le jury composé de**

M. Benkherara Salah	Maitre de conférences B	Univ. Ghardaia	Président
Mme KEBILI Zohra	Maitre Assistant A	Univ. Ghardaia	Directrice de mémoire
M. Kraïmat Mohamed	Maitre de conférences B	Univ. Ghardaia	Examineur

**Année universitaire : 2019- 2020**

## **Remerciements**

*Nous tenons tout d'abord à remercier le bon Dieu tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force, la patience, la volonté et la santé d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous adressons nos remerciements les plus sincères à notre encadreur Madame KEBILI Zohra, MAA à l'université de Ghardaïa, qui a guidé et suivi le déroulement et l'exécution du travail de ce mémoire, En nous apportant toute l'aide possible et pour ses pertinents conseils.*

*Nous tenons à présenter nos vifs remerciements aux membres de jury qui nous ont fait l'honneur d'examiner ce travail :*

*-M. Benkherara Salah, MCB à l'université de Ghardaïa,*

*- M. Kraïmat Mohamed, MCB à l'université de Ghardaïa*

*Nous tenons à saisir cette occasion pour adresser nos profonds remerciements et nos profondes reconnaissances aux responsables et au personnel de l'université de Ghardaïa (Département de Biologie).*

*Nous adressons nos remerciements à tous les enseignants qui nous ont formés.*

*Nous tenons aussi à remercier respectueusement les techniciens de laboratoire pour leur soutien lors de nos travaux au laboratoire de l'université de Ghardaïa.*

*Nous désirons aussi remercier les amis et collègues qui nous ont apportés un soutien moral et intellectuel.*

*Nous exprimons particulièrement toute notre gratitude à nos familles qui nous ont donnés leurs pleins soutiens et leurs encouragements pour faire ce travail.*

**Très cordialement**

# *Dédicaces*

*A l'aide d'ALLAH tout puissant, qui nous a tracé le chemin de vie*

*À nos chers parents,*

*Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragement tout au long de la vie.*

*Vous nous avez apportés le meilleur*

*À toute nos familles de près ou de loin*

*A nos collègues de promotion de biochimie appliquée (2019-2020)*

*A tout le personnel des laboratoires biochimie et microbiologie pour leur accueils durant la  
réalisation de ce travail.*

*À tous ceux qui aiment la science.*

*Nous dédions ce modeste travail.*

*Amina et Wafa.*

# ***Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits de l'espèce Ephedra alata.***

## **Résumé**

La présente étude s'inscrit dans le cadre de la contribution à la valorisation d'une plante médicinale du sud-est de l'Algérie, poussant dans la région de Ouargla, *Ephedra alata alenda* (Ephedraceae), dotée d'une grande importance pharmacologique dans le monde et réputée par sa résistance à la sécheresse.

Dans ce mémoire, *Ephedra alata alenda* fera l'objet d'une étude phytochimique, d'une enquête ethnobotanique et d'une synthèse comparative de son effet antioxydant.

L'étude est entamée par une enquête ethnobotanique réalisée sur un effectif de 200 sujets de la population de Ghardaïa (94 femmes et 106 hommes). Les informations recueillies à l'aide du questionnaire montrent, à l'instar de ce qui est cité dans la littérature, la diversité des maladies traitables par cette plante.

Le screening phytochimique a montré la présence de divers métabolites secondaires dans les extraits de la plante tels que les alcaloïdes, les polyphénols (tanins et flavonoïdes), et les composés réducteurs.

A la fin, notre étude bibliographique comparative a montré que la plante médicinale *Ephedra alata* présente une bonne activité antioxydante, ce qui pourrait être dû à sa richesse en molécules bioactives (spécialement les composés phénoliques). Les espèces des régions arides et semi-arides ont montré les niveaux les plus élevés de métabolites secondaires et d'activités.

**Mots clés:** *Ephedra alata alenda*, enquête ethnobotanique, DPPH, métabolites secondaire, alcaloïdes.

## Liste de figures

FIGURE 1 : REPARTITION GEOGRAPHIQUE DE L'EPHEDRA DANS LE MONDE.....	5
FIGURE 2: <i>EPHEDRA ALATA ALENDA</i> (N'GOUSSA "NOVEMBRE 2014") .....	6
FIGURE 3: STRUCTURES CHIMIQUES DES VITAMINES E (DESMIER 2016). ....	15
FIGURE 4: STRUCTURE CHIMIQUE DE LA VITAMINE C (DESMIER 2016).....	15
FIGURE 5: STRUCTURE CHIMIQUE DE LA VITAMINE A.....	16
FIGURE 6 : STRUCTURE CHIMIQUE DU B –CAROTENE.....	16
FIGURE 7: STRUCTURE DE BASE D'UN FLAVONOÏDE (DI CARLO ET AL. 1999) .....	17
FIGURE 8: STRUCTURE DE BASE DE FLAVONE ET FLAVONOL (BEZZAZ 2013).....	18
FIGURE 9: STRUCTURE DE BASE DE FLAVANONE ET DIHYDROFLAVONOL (BEZZAZ 2013) (BENGUERBA 2008) .....	18
FIGURE 10: STRUCTURE DE BASE DE FLAVAN-3-OLS ET FLAVAN-3,4-DIOLS (BEZZAZ 2013).	19
FIGURE 11: STRUCTURE DE BASE DE CHALCONE ET AURONE (BEZZAZ 2013). ....	19
FIGURE 12: CONDENSATION ENTRE LA VOIE DE L'ACETATE MALONATE ET DU SHIKIMATE (RIRA 2006) .....	20
FIGURE 13 : BIOSYNTHESE DES FLAVONOÏDES (BENGUERBA 2008). ....	21
FIGURE 14: PRINCIPALES ETAPES DE LA VOIE METABOLIQUE DES TANINS HYDROLYSABLES .....	24
FIGURE 15: STRUCTURE CHIMIQUE DES TANINS CONDENSES (RHAZI 2015).....	25
FIGURE 16: REPARTITION EN POURCENTAGE DE L'ECHANTILLON ENQUETE SELON LA CONNAISSANCE DE LA PLANTE ET DE SES UTILISATIONS. ....	37
FIGURE 17: FREQUENCES DE DIFFERENTES UTILISATIONS DE <i>EPHEDRA ALATA ALENDA</i> SELON L'ENQUETE ETHNOBOTANIQUE. ....	38

## Liste des tableaux

TABLEAU 1: PRINCIPAUX ALCALOÏDES ISOLES DU GENRE EPHEDRA AUTRES QUE L'EPHEDRINE. .	9
TABLEAU 2: LISTE DE QUELQUES ESPECES CHIMIQUES REACTIVES (HALLIWELL 2006).....	11
TABLEAU 3: RENDEMENT EN EXTRAIT SEC DE LA PARTIE AERIENNE ET SOUTERRAINE DE L'ESPECE <i>EPHEDRA ALATA</i> DE LA REGION DE OUARGLA.....	41
TABLEAU 4 : RESULTATS DES DIFFERENTS TESTS PHYTOCHIMIQUES PRELIMINAIRES DETECTANT LA PRESENCE OU L'ABSENCE DE CERTAINS METABOLITES SECONDAIRES DANS <i>EPHEDRA ALATA ALENDA</i> .....	45
TABLEAU 5: TENEURS EN POLYPHENOLS, EN FLAVONOÏDES ET EN ALCALOÏDES DANS DIFFERENTS EXTRAITS DE DIFFERENTES ESPECES DE EPHEDRA. ....	47
TABLEAU 6: RESULTATS DES TESTS DPPH, FRAP ET H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> DE DIFFERENTS EXTRAITS DE DIFFERENTES ESPECES DE EPHEDRA .....	49

## Liste des abréviations

AA : Activité antioxydante

$\alpha$ -TocH : Alpha-tocophérol

BHA : Butylhydroxyanisole

BHT : Butylhydroxytoluène

CPT : composés phénoliques totaux

DCM : Extrait dichlorométhane

E : Ephédrine

EAA : Acide ascorbique

EAG : Equivalent d'acide gallique

EC : Equivalent de catéchine

EQ : Equivalent de querceting

ERN : Espèces réactives du nitrogène

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

EtOH : Extrait éthanolique

FeCl<sub>3</sub>: Chlorure de fer

FDA: Food and Drug Administration

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

GPx : Glutathion peroxydase

IC50 : Concentration inhibitrice de 50 %

MeOH : Extrait méthanolique

MTC : Médecine traditionnelle chinoise

NaOH: Hydroxyde de sodium

OHDG : Hydroxy-desoxyguanosine

PEP : Phosphoenol pyruvique

PG : Gallate propylée

Se: Sélénium

SOD: Superoxyde dismutases

TBHQ : Tétrabutylhydroquinone

## Table des matières

<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I: Etude bibliographique</b>	
<b>I-1 Généralités sur la plante .....</b>	<b>4</b>
<b>I-1-1-Genre Ephedra .....</b>	<b>4</b>
<b>I-1-2-1-Position systématique.....</b>	<b>4</b>
<b>I-1-2-2-Répartition géographique.....</b>	<b>4</b>
<b>I-1-2-3-Description botanique.....</b>	<b>5</b>
<b>I-1-2-4-Utilisation .....</b>	<b>6</b>
<b>I-1-2-5-Pharmacologie .....</b>	<b>7</b>
<b>I-1-2-6-Toxicologie .....</b>	<b>7</b>
<b>I-1-2-7-Travaux antérieurs .....</b>	<b>8</b>
<b>I-2- Activité antioxydante .....</b>	<b>10</b>
<b>I-2-1-Radicaux libres .....</b>	<b>10</b>
<b>I-2-2-Stress oxydatif .....</b>	<b>12</b>
<b>I-2-3- Les antioxydants.....</b>	<b>12</b>
<b>I-2-4- Système de défense antioxydante.....</b>	<b>12</b>
<b>I-2-4-1- Systèmes de défenses endogènes .....</b>	<b>13</b>
<b>I-2-4-2- Système de défense exogène.....</b>	<b>14</b>
<b>I-3-Métabolites secondaires .....</b>	<b>17</b>
<b>I-3-1-Polyphénols totaux .....</b>	<b>17</b>
<b>I-3-1-1-Flavonoïdes .....</b>	<b>17</b>
<b>I-3-1-2-Structure .....</b>	<b>17</b>
<b>I-3-1-3-Classification des flavonoïdes.....</b>	<b>18</b>
<b>I-3-1-4-Biosynthèse .....</b>	<b>20</b>
<b>I-3-1-5-Localisation et distribution des flavonoïdes dans les plantes.....</b>	<b>21</b>
<b>I-3-1-6- Rôle des flavonoïdes dans les plantes .....</b>	<b>22</b>
<b>I-3-1-7-Activités biologiques des flavonoïdes.....</b>	<b>22</b>
<b>I-3-1-2-Les Tanins.....</b>	<b>23</b>
<b>I-3-1-2-1-Classification .....</b>	<b>23</b>
<b>I-3-1-2-2-Localisation des tannins dans la plante.....</b>	<b>25</b>

I-3-1-2-3- Rôle des tannins dans la plante.....	25
I-3-1-2-4- Propriétés physico-chimiques .....	26
I-3-1-2-5- Propriétés pharmacologiques des tanins .....	26
I-3-2-Alcaloïdes .....	26
I-3-2-1- Classification.....	26
I-3-2-2- Origine biosynthétique .....	27
I-3-2-3- Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes .....	27
I-3-2-4- Distribution et localisation .....	28
I-3-2-5- Intérêt des alcaloïdes.....	28
Matériels et.....	17
II-1-Matériel végétal .....	29
II-2-Présentation du site de collecte.....	29
II-3-Enquête ethnobotanique .....	29
II-4-Extraction .....	29
II-5-Tests phytochimiques préliminaires .....	30
II-6- Activités antioxydante .....	32
II-6-1-Test du piégeage du radical libre DPPH.....	32
II-6-2-Test de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	33
II-6-3-Test d'activité de piégeage du peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).....	33
II-7-Analyse quantitatif des composées phénoliques .....	34
II-7-1-Détermination de la teneur en composés phénoliques totaux (CPT).....	34
II-7-2-Dosage des Flavonoïdes .....	34
III-1-Enquête ethnobotanique.....	37
III-2- Rendements de l'extraction.....	41
III-3- Tests phytochimiques préliminaires.....	42
III-4-Résultats comparatifs de teneurs en polyphénols, flavonoïdes et alcaloïdes de différents extraits de <i>Ephedra alata alenda</i> et d'autres espèces du même genre .....	42
III-5-Evaluation comparative de l'activité antioxydante de différents extraits de <i>Ephedra alata alenda</i> et d'autres espèces du même genre.....	43
Conclusion.....	52
Références bibliographiques .....	54

Annexe

# **Introduction**

## Introduction

---

L'Homme et les plantes ont vécu côte à côte pendant des milliers d'années. L'Homme a l'habitude de consommer et de digérer différents types de plantes, souvent appréciées pour leurs qualités médicinales et nutritives (Iserin et al. 2001). Les plantes ont servi de pharmacothèque naturelle pour l'Homme. C'était un fait incontesté et qui paraissait magique. En effet, il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir ou tout au moins soulager un état pathologique ou des troubles organique (Schauenberg and Paris 2005).

En général, le corps humain est plus adapté au traitement à base de plantes que la chimiothérapie exclusive (Iserin et al. 2001). De l'aspirine au taxol, cette source semble inépuisable puisque seule une petite partie de plus de 500000 espèces végétales connues ont été investiguées sur les plans phytochimique et pharmacologique, et que chaque espèce peut contenir jusqu'à plusieurs constituants différents (Boullard 1997). Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains (Elqaj et al. 2007).

Même actuellement au 21<sup>ème</sup> siècle, plus de 80 % de la population africaine ont recours aux drogues faites essentiellement de matières végétales qui poussent à leurs environnements. En plus dans le monde, près de 25% des prescriptions sont à base de plantes et 60 à 70% des médicaments antibactériens et anticancéreux sont des substances d'origine naturelle (Rates 2001).

Les plantes ont la capacité de produire des substances naturelles très diversifiées. A côté des métabolites primaires, elles accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires qui représentent une source importante de molécules utilisables en particulier dans le domaine thérapeutique (Marouf and Reynaud 2007).

Certains métabolites secondaires ont un rôle antioxydant protecteur pour les végétaux contre les agressions de l'environnement (température, lumière) ou de pathogènes. Ils assurent d'ailleurs aussi ce rôle dans le corps humain (Mehinagic et al. 2011). Parmi lesquelles ; Les polyphénols ou composés phénoliques, qui sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement (Bruneton 2009). Ils sont divisés en plusieurs catégories parmi lesquelles les flavonoïdes qui désigne une très large gamme de composés naturels. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux (Middleton Jr 1993). On trouve aussi les tanins qui sont des substances phénoliques capables de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et certaines protéines (Saha Tchinda 2015). Les alcaloïdes, classe

## Introduction

---

importante de métabolites secondaires représentée par des molécules organiques mono ou polycycliques d'origine naturelle (le plus souvent végétale), ont de propriétés pharmacologiques et toxique marquées (Muniz 2006).

Les avancées de la médecine ont permis de mieux comprendre la physiologie du corps humain et les réactions chimiques permettant son bon fonctionnement. Dès lors, un bon nombre de pathologies ont vu leurs mécanismes de survenue identifiés. L'oxydation, si elle est nécessaire à la vie, peut aussi avoir un effet délétère : le stress oxydant peut causer de sévères dommages cellulaires qui peuvent s'aggraver jusqu'à un effet cancérigène. Pour se protéger de ce type d'agression, notre organisme produit ou fait appel à une source exogène d'antioxydants. L'équilibre entre pro-oxydants et antioxydants est indispensable. Pour maintenir cet équilibre, une alimentation variée est nécessaire. On trouve de nombreux antioxydants dans l'alimentation, que ce soit dans les fruits, les légumes ou les boissons (Desmier 2016). A côté de l'alimentation, les plantes médicinales peuvent présenter selon leur composition chimique plusieurs actions thérapeutiques, y compris un pouvoir antioxydant (Yossi et al. 2006).

*Ephedra*, arbustes adaptés aux zones arides et semi-arides, est le seul genre de la famille des Ephedraceae (Price 1996). C'est l'une des plus anciennes plantes médicinales connues, source de précieux métabolites secondaires (Hegazi and El-Lamey 2011). Elle est utilisée en médecine folklorique pour traiter de nombreuses maladies et connue pour avoir des effets antibactériens et antioxydants (Al-Rimawi et al. 2017).

*Ephedra alata alenda*, l'une de ses espèces poussant dans le Sahara de l'Algérie, est supposée selon la population avoir une activité anticancéreuse. L'une des moyens de lutte contre le développement d'une maladie cancéreuse est la prévention du stress oxydant. Ainsi, Dans ce mémoire, la plante fera l'objet d'une enquête ethnobotanique, étude phytochimique, et d'une synthèse comparative de son effet antioxydant et de ses teneurs en composés phénoliques.

# **Etude Bibliographique**

## I-1 Généralités sur la plante

### I-1-1-Genre *Ephedra*

L'*Ephedra* est une plante médicinale appartenant à la famille des Ephedraceae. Il existe de nombreuses espèces d'*Ephedra* dans le monde, parmi lesquelles *Ephedra alata*, *Ephedra Lristanica*, *Ephedra Sarcocarpa*, *Ephedra strobiliacea*, *Ephedra procera* et *Ephedra pachyclada* (Rustaiyan et al. 2011b). Le genre distinctif de gymnospermes *Ephedra* est parfois considéré comme étant né il y a plus de 200 millions d'années sur la base du pollen fossile «éphédroïde» (Huang and Price 2003).

Ces espèces sont réputées pour leur grande tolérance à la carence en eau dans les régions sahariennes (Derbel et al. 2010).

De nombreux membres du genre ont été utilisés en médecine. Ils ont une longue histoire d'utilisation comme stimulant et pour la gestion des troubles bronchiques. Ces plantes sont utilisées par les Chinois depuis plus de milliers d'années pour traiter l'asthme (Abdel-Kader et al. 2003).

### I-1-2- Sous espèce *Ephedra alata alenda*

#### I-1-2-1-Position systématique

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement: Gymnospermes

Classe : Gnetopsida

Ordre : Ephedrales

Famille : Ephedraceae

Genre : *Ephedra*

Sous espèce: *Ephedra alata alenda* (Ozenda 1991).

#### I-1-2-2-Répartition géographique

*Ephedra* (Ephedraceae) est un genre de gymnospermes d'environ 50 à 60 espèces largement réparties dans les régions tempérées et subtropicales du monde, sauf en Afrique australe et en Australie. Ainsi, ses espèces sont largement réparties sur le continent eurasiatique, en Afrique du Nord et en Amérique du Nord et du Sud. Ils poussent dans des habitats ouverts et arides, tels que les déserts et les pentes rocheuses. Bien que des habitats appropriés similaires soient répandus en Afrique australe et en Australie, aucune espèce

## Etude bibliographique

existante ne se trouve dans ces zones et aucun fossile bien authentifié n'est connu (Huang and Price 2003).

*Ephedra alata* est distribuée en Afrique à l'Algérie, Egypte, Libye, Maroc, Tunisie, Mauritanie, Tchad et Mali.

En Asie, l'espèce se trouve en Arabie saoudite, Irak, Iran, Palestine, Liban, Jordanie et Syrie (Al-Snafi 2017). (Figure 01).

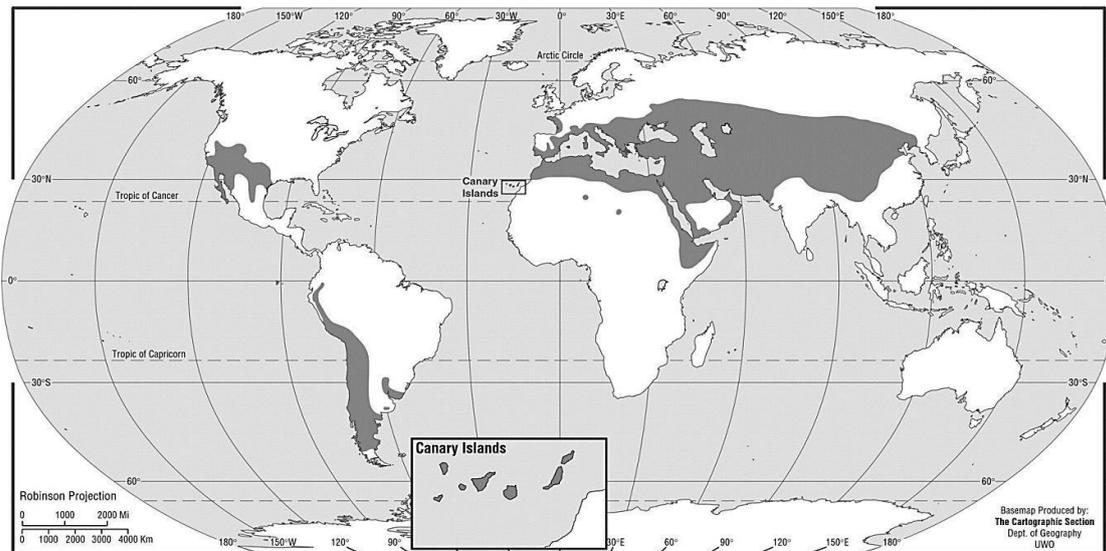


Figure 1 : Répartition géographique de l'Ephedra dans le monde (Caveney et al. 2001).

### I-1-2-3-Description botanique

*Ephedra alata* Decne, nom arabe alenda (Ziani et al. 2018) (Figure 02), est une espèce vivace présentée par un arbuste dioïque à 1 m (AL-Rimawi et al. 2017), où il pousse à l'état sauvage sur le sol gravement rocheux, sablonneux et argileux dans des environnements arides souvent près de dunes de sable mouvantes (Jaradat et al. 2015).

Les tiges sont vertes, minces, dressées ou inclinées, petit nervurées et cannelées, d'environ 1,5 mm de diamètre et se terminent généralement en pointe. Les nœuds sont de 4 à 6 cm de distance, et de petites feuilles triangulaires, apparaissent aux nœuds de tige, sont typiquement rougeâtres brun (Al-Snafi 2017). Au printemps, Elles portent de minuscules fleurs en petits cônes blanchâtres, dioïques (Ozenda 2009), ensuite de fruits jaune-vert et émettent une forte odeur de pin et goût astringent (Al-Snafi 2017). Elle présente un système de racines latérales extrêmement puissant (Huang and Price 2003).



Figure 2: *Ephedra alata alenda* (N'Goussa "Novembre 2014")  
(Kebili 2016).

### **I-1-2-4-Utilisation**

Ephedra a été utilisée en médecine traditionnelle chinoise pour traiter les allergies, l'asthme, les frissons, le rhume, le rhume des foins, la toux, l'œdème, la fièvre, la grippe, les maux de tête et la congestion nasale (Al-Rimawi et al. 2017).

En Japon, Ephedra est utilisée comme antitussif, expectorant, analgésique, antipyrétique et agent bronchodilatateur (Amakura et al. 2013).

La plante était également traditionnellement utilisée en Russie pour les troubles respiratoires et les rhumatismes pendant de nombreux siècles.

De nombreuses espèces d'Ephedra eurasiennes contenant de l'éphédrine et de la pseudoéphédrine sont utilisées pour traiter la toux, l'asthme et la bronchite (Caveney et al. 2001).

Les Amérindiens et les Espagnols du sud-ouest des États-Unis utilisaient l'Ephedra à diverses fins médicinales, en particulier dans le traitement des maladies vénériennes (Al-Snafi 2017).

*Ephedra alata* pousse largement en Palestine. Elle est utilisée en médecine traditionnelle locale pour les mêmes fins qu'en médecine traditionnelle chinoise. Cette plante montre également des activités antimicrobiennes et anticancéreuses (Al-Rimawi et al. 2017)

## Etude bibliographique

---

Le feuillage d'*Ephedra alata* a un arôme acceptable. Il est utilisé comme pâturage pendant le pâturage des animaux en Arabie Saoudite (Nawwar et al. 1984).

En Egypte, les espèces d'*Ephedra* sont utilisées comme agent stimulant et pour la prise en charge des troubles bronchiques (Abdel-Kader et al. 2003).

En Algérie, la macération ou l'inhalation des feuilles ou des rameaux d'*Ephedra alata* s'utilisent pour soulager ou traiter le rhume, la grippe et les troubles respiratoires (OULD et al. 2003).

### **I-1-2-5-Pharmacologie**

La signification médicinale de l'*Ephedra* est basée en grande partie sur les propriétés sympathomimétiques de son principal ingrédient actif ; les alcaloïdes de type éphédrine, tels que l'éphédrine, la pseudoéphédrine, la noréphédrine (Amakura et al. 2013), norpseudoéphédrine, méthyléphédrine et méthyl pseudoéphédrine (Ibragic and Sofić 2015).

Les alcaloïdes de type éphédrine montrent à la fois un agonisme direct au niveau des récepteurs adrénergiques  $\alpha$  et  $\beta$  (stimulant ces récepteurs) et un agonisme indirect en augmentant la libération de norépinéphrine par les neurones présynaptiques, il est un agent sympathomimétique (Chen et al. 2010). L'*Ephedra* est très similaire en action à l'épinéphrine (adrénaline), ils augmentent tous les deux la fréquence cardiaque, la pression artérielle et le débit cardiaque, mais l'éphédrine dure environ dix fois plus longtemps. La structure moléculaire de l'éphédrine est similaire aux méthamphétamines, et peut donc produire un test d'urine positif pour les amphétamines (Blumenthal et al. 1998; Chevallier 1996).

### **I-1-2-6-Toxicologie**

Selon l'évaluation de la Food and Drug Administration (FDA) en 2004, les compléments alimentaires contenant des alcaloïdes d'*Ephedra* représentaient un risque sanitaire remarquable, compte tenu des conditions d'utilisation. Par conséquent, la FDA a interdit partout les médicaments en vente libre contenant de l'éphédrine (Additives and Food 2013). Les effets secondaires connus d'*Ephedra* comprennent l'insomnie, une légère élévation de la pression artérielle, une augmentation du pouls, de l'anxiété, une sécheresse de la bouche et des maux de tête. L'*Ephedra* ainsi a de multiples effets indésirables, en particulier à fortes doses. L'éphédrine a été utilisée comme alternative à "l'ecstasy", une drogue illégale de la rue (Blumenthal et al. 1998 ; Chevallier 1996).

## Etude bibliographique

---

Les examens de cas humains ont décrit des événements cardiovasculaires et cérébrovasculaires indésirables comme pouvant être associés à l'utilisation de préparations de compléments alimentaires contenant des alcaloïdes de type éphédrine (Additives and food 2013).

### **I-1-2-7-Travaux antérieurs**

#### **I-1-2-7-1- Activité biologique de la plante**

La plante a montré un large éventail d'activités pharmacologiques, notamment antimicrobiennes, antioxydants, anticancéreuses, antidiabétiques, cardiovasculaires, nerveuses, respiratoires, immunologiques, anti-inflammatoires, antipyrétique, analgésique et de nombreux autres effets pharmacologiques (Al-Snafi 2017).

##### **- Activité antioxydante**

L'extrait méthanolique d'*Ephedra alata* a montré une activité antioxydante élevée et de puissantes capacités de piégeage des radicaux libres d'oxygène (Jaradat et al. 2015).

##### **- Activité antimicrobienne**

L'activité antimicrobienne de différents extraits de tiges d'*Ephedra alata* a été étudiée contre des bactéries pathogènes GRAM<sup>+</sup> et GRAM<sup>-</sup>. L'activité était associée à une concentration élevée, avec un diamètre variable de zones d'inhibition de croissance (Chebouat et al. 2014).

##### **- Effet hypoglycémiant**

L'extrait alcoolique d'*Ephedra alata* présente un effet hypoglycémiant après une heure de son administration à des rats à jeun. Le même extrait n'a pas réussi à réduire la glycémie chez les rats alloxanisés par rapport au contrôle positif, le glibenclamide (Shabana et al. 1990).

##### **- Bronchodilatation et décongestion nasale**

Les muscles lisses de l'arbre bronchique se détendent sous l'effet de l'éphédrine. Il a également prévenu la broncho-constriction induite par l'histamine chez les patients asthmatiques (Ebadi 2007). L'éphédrine s'utilise aussi comme solution décongestionnante appliquée localement sur les muqueuses du nez (Abula et al. 2004).

## Etude bibliographique

### - Effets cardiovasculaires

L'éphédrine augmente la pression artérielle à la fois par vasoconstriction périphérique et par stimulation cardiaque (Ebadi 2007; Abula et al. 2004).

### - Perte de poids

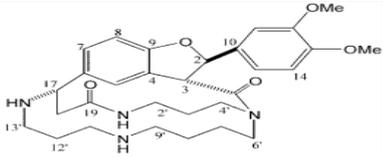
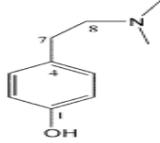
*Ephedra* a été appliquée pour améliorer les performances, la suppression de l'appétit et la perte de poids (Barnes et al. 2007). L'effet stimulant de l'éphédrine provoque une augmentation du taux métabolique basal ce qui contribue à la perte de poids (Shekelle et al. 2003)

### I-1-2-7-2-Chimie de la plante

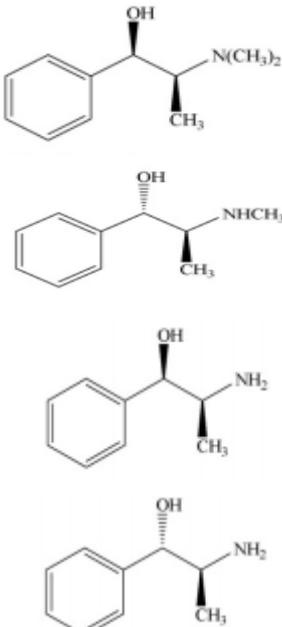
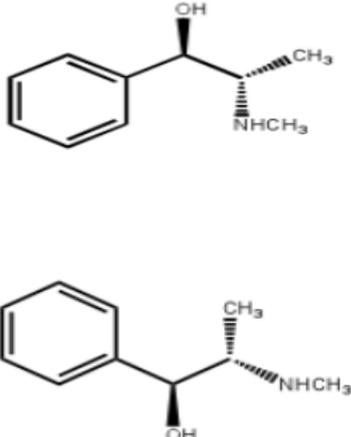
L'analyse phytochimique préliminaire des extraits de la plante *Ephedra alata* a indiqué la présence de glycosides cardiaques, de sucres réducteurs, de flavonoïdes, de composés phénoliques et d'alcaloïdes (Jaradat et al. 2015). Comme l'effet pharmacologique et toxicologique de la plante est attribuable en grande partie à ses alcaloïdes, nous ciblons ici les composés alcaloïdiques isolés et identifiés de la plante.

Les principaux alcaloïdes contenant aux espèces d'*Ephedra* sont l'éphédrine et ses dérivés ; pseudoéphédrine, noréphédrine, norpseudoéphédrine, méthyléphédrine et méthylpseudoéphédrine. À côté des alcaloïdes de type E, l'éphédroxane et les spermidines macrocycliques appelées Ephedradine A-D ont été isolés de certaines espèces d'*Ephedra* (Abourashed et al. 2003).(Tableau 01).

Tableau 1: Principaux alcaloïdes isolés du genre *Ephedra* autres que l'éphédrine.

Alcaloïde	Structure chimique	Source	Référence
Ephedradine C		<i>Ephedra aphylla</i> d'Egypte	(Abdel-Kader et al. 2003)
Hordenine (N, N-dimethyltyramine)			
éphédrine		<i>Ephedra vulgaris</i> <i>Ephedra sinica</i>	(Pellati and Benvenuti)

## Etude bibliographique

<p>methylephedrine</p> <p>pseudoephedrine</p> <p>norephedrine, norpseudoephedrine</p>		<p>De Germany</p>	<p>2008)</p>
<p>ephedrine</p> <p>pseudoephedrine</p>		<p><i>Ephedra procera</i> en Iran</p>	<p>(Castro et al. 2010; Parsaeimehr 2010)</p>

### I-2- Activité antioxydante

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Mais, nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques : les radicaux libres organiques (Descheemaeker 2004)

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation (Popovici et al. 2010).

#### I-2-1-Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique (Delattre et al. 2005). A notre organisme les radicaux libres sont produits dans le cadre de processus métaboliques normaux (Sies 1997).

## Etude bibliographique

Parmi ces composés, on trouve principalement les espèces réactives de l'oxygène (ERO) dont l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), le radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ). D'autres entités non radicalaires de l'oxygène peuvent être produites, comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ou l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) (Pincemail et al. 2001).

A côté des ERO, il existe des ERN (espèces réactives du nitrogène). L'oxyde nitrique ( $NO^{\bullet}$ ) est un radical réactif abondant qui agit comme une molécule de signalisation biologique importante dans une grande variété de processus physiologiques y compris la neurotransmission, la régulation de la pression artérielle, les mécanismes de déf la régulation de la pression artérielle en se la relaxation des muscles lisses et la régulation immunitaire (Valko et al. 2007). La toxicité de l'oxyde nitrique est une conséquence de sa réactivité avec l'anion radicalaire superoxyde pour former du peroxyde nitrite. Pendant les processus inflammatoires, le système immunitaire produit à la fois le radical anion superoxyde et l'oxyde nitrique (Valko et al. 2007). (Tableau 02)

Tableau 2: Liste de quelques espèces chimiques réactives (Halliwell 2006).

<i>Espèces radicalaires</i>		<i>Espèces non radicalaires</i>	
$O_2^{\bullet-}$	Superoxyde	$H_2O_2$	Peroxyde d'hydrogène
$OH^{\bullet}$	Hydroxyle	$ROOH$	Peroxyde Organique
$ROO^{\bullet}$	Peroxyle	$ONOO^-$	Peroxyde nitrite
$RO^{\bullet}$	Alcoxyle	$O_2NOO^-$	Peroxyde nitrate
$NO^{\bullet}$	Oxyde nitrique	$NO_2Cl$	Chlorure de nitrile
$NOO^{\bullet}$	Dioxyde de nitrogène	$HNO_2$	Acide nitreux
$NO_3^{\bullet}$	Nitrate	$ClO_2$	Dioxyde de chlore
$CO_3^{\bullet-}$	Carbonate		

Les radicaux libres ne sont pas toujours néfastes. En fait, ils permettent au corps de contrôler la tonicité des muscles lisses, de combattre les inflammations et de lutter contre les bactéries (Descheemaeker 2004). Plus récemment encore, il est apparu que les espèces

## Etude bibliographique

---

oxydantes jouaient un rôle important dans l'orientation d'une cellule vers l'apoptose, la prolifération ou la différenciation (Vamecq et al. 2004)

Cependant, l'opération bénéfique des radicaux libres dépend d'un équilibre délicat qui peut être détruit par de nombreux facteurs, notamment les polluants présents dans l'air que nous respirons (la fumée du tabac par exemple) et dans l'eau et les aliments que nous consommons. Les rayons ultraviolets du soleil, l'exercice excessif et le stress sont également des facteurs qui augmentent considérablement la présence des radicaux libres dans notre système (Descheemaeker 2004).

### **I-2-2-Stress oxydatif**

Le stress oxydant ainsi est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire. Cette situation peut être due à une diminution des défenses antioxydantes ou à une augmentation de production des radicaux libres (Orban 2011). Ce processus peut causer des dommages aux structures cellulaires, y compris les lipides, les membranes, les protéines et l'ADN, impliquant le développement de plus de 200 pathologies (maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives et inflammatoires, cancer, diabète ...etc.) (Pincemail et al. 2001; Valko et al. 2007). Donc le soutien des défenses antioxydantes de l'organisme est intéressant (Pastre 2005).

### **I-2-3- Les antioxydants**

Les antioxydants sont définis comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat ». Ils peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (Pastre 2005). Ces antioxydants sont surtout connus pour leur capacité à réagir directement avec les radicaux libres en les « neutralisant » par réaction de réduction (Desmier 2016).

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

### **I-2-4- Système de défense antioxydante**

Sous les conditions physiologiques, la production des radicaux libres au niveau cellulaire est étroitement contrôlée par un énorme système de défense dit système antioxydant endogènes, enzymatique et non enzymatique (Sies 1997). Cependant, cette ligne de défense est facilement saturée. De nombreux antioxydants exogènes présents dans

## Etude bibliographique

---

L'alimentation sont ainsi nécessaires en apportant un soutien significatif dans la lutte antioxydante. Ils se trouvent dans les fruits (pommes, poires, fruits rouges...), les légumes (brocoli, oignon...), les boissons (café, thé, vin...) ainsi que dans les épices, le cacao ou encore les céréales (Desmier 2016). Le régime méditerranéen riche en ces composés a démontré ses effets bénéfiques sur le système cardiovasculaire, et de prévenir l'apparition de nombreuses pathologies (Guillouty 2016).

### **I-2-4-1- Systèmes de défenses endogènes**

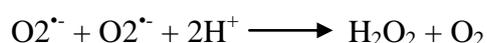
#### **I-2-4-1-1- Système de défense endogène enzymatique**

##### **Catalase**

C'est une enzyme que l'on retrouve principalement au sein des peroxysomes, dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales (Desmier 2016), sa cible principale est le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Cet emplacement est stratégique, puisque c'est ici que des enzymes comme les flavines, l'urate oxydase, le glucose oxydase et les D-amino-oxydases produisent de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. L'activité de la catalase est coordonnée avec la concentration en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Lehucher-Michel et al. 2001).

##### **Superoxyde dismutases**

Les SOD sont des métalloenzymes qui catalysent la dismutation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène (Huang 2001 ; Guillouty 2016). Il représentent la première ligne de défense pour éliminer les ERO (Higashi et al. 2009).

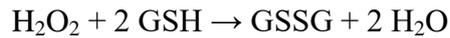


##### **Glutathion peroxydase**

La GPx est une enzyme qui dépend du micronutriment sélénium (Se). Il joue un rôle essentiel dans la réduction des lipides et des peroxydes d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Il existe quatre iso-enzymes de GPx qui catalysent la réduction des peroxydes d'hydrogène dans des emplacements tissulaires spécifiques. GPx1 est omniprésent et se trouve dans le cytosol de la plupart des cellules, y compris les globules rouges. GPx2 est également cytotologique mais se limite au tractus gastro-intestinal. GPx3 se produit dans le plasma sous forme de glycoprotéine, et GPx4 qui interagit avec des lipides complexes, tels que le cholestérol et les lipoprotéines endommagés par les radicaux libres, et se trouve dans les mitochondries.

## Etude bibliographique

---



La glutathion peroxydase réduit le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques en eau et alcools lipidiques (Espinoza et al. 2008).

### **I-2-4-1-2- Systèmes de défense endogène non enzymatique**

On peut citer principalement mais non exclusivement, le glutathion. C'est un tripeptide constitué d'acide glutamique, de cystéine et de glycine ( $\gamma$ -L-Glutamyl-L-cystéinyglycine) que l'on trouve dans de nombreux compartiments intracellulaires (cytosol, noyau, mitochondries) soit sous forme réduite (GSH), soit sous forme oxydée (GS-SG). La fonction thiol de la cystéine porte les principales propriétés de ce peptide. Le rapport de concentration entre ces deux formes est en faveur de la forme réduite, ce qui est nécessaire à l'action antioxydant (Desmier 2016).

### **I-2-4-2- Système de défense exogène**

Les défenses exogènes semblent les plus faciles à conforter puisqu'elles pourraient être renforcées par des apports de compléments alimentaires (molécules antioxydants), mais chez l'individu vieillissant qui est plus sensible au stress oxydant, la capacité d'absorption intestinale de ces molécules est moins efficace (Pastre 2005).

### **I-2-4-2-1- Antioxydants naturels**

#### **I-2-4-2-1-1- Polyphénols**

Les polyphénols sont des substances chimiques ayant au moins un cycle aromatique portant une ou plusieurs fonctions OH. Ils présentent une activité antioxydante importante (Richard 2013). Les extraits bruts des fruits, herbes, légumes, céréales et autres matières végétales riches en phénols sont de plus en plus intéressants dans l'industrie alimentaire, car ils retardent la dégradation oxydative des lipides et améliorent ainsi la qualité et la valeur nutritionnelle des aliments (Javanmardi et al. 2003).

#### **I-2-4-2-1-2- Vitamines**

##### **- Vitamine E**

La vitamine E est considérée comme l'antioxydant liposoluble le plus important. Sa forme naturelle inclut quatre isomères de tocophérols  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ , avec une activité antioxydant variable dont l'alphatocophérol ( $\alpha$ -TocH) est la forme la plus active. La vitamine E est un

## Etude bibliographique

bon protecteur des lipides contre la peroxydation lipidique. En effet, elle réagit très rapidement avec les radicaux peroxydes lipidiques (Halliwell 2006). (Figure 03).

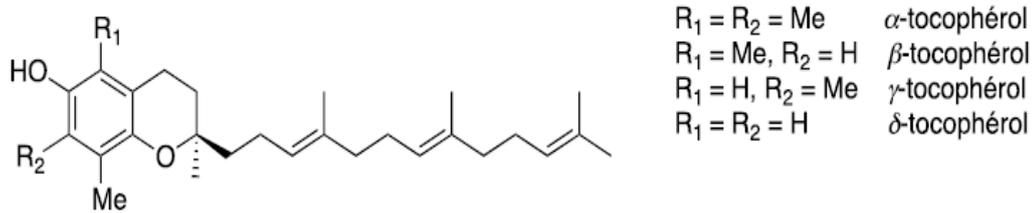


Figure 3: Structures chimiques des vitamines E (Desmier 2016).

### - Vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique est le plus important antioxydant hydrosoluble : son rôle est essentiel dans les compartiments intra- et extra- cellulaires. Il fait intervenir des réactions d'oxydoréduction entre la forme réduite de l'acide ascorbique et sa forme oxydée (deshydroascorbate). L'ascorbate capte les anions superoxydes, hypochlorite, hydroxyle et l'oxygène singulet, participe à la régénération de la vitamine E et protège les membranes vis à vis de l'attaque peroxydative, en piégeant efficacement les radicaux peroxydes  $\text{ROO}^\circ$  dans la phase aqueuse, avant qu'ils puissent initialiser les peroxydations (Pastre 2005). (Figure 04).

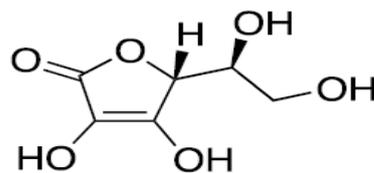


Figure 4: Structure chimique de la vitamine C (Desmier 2016)

### - Caroténoïdes et vitamine A

Parmi les 600 caroténoïdes identifiés, 50 d'entre eux sont reconnus pour être des précurseurs de la vitamine A (Figure 05), le plus connu étant le  $\beta$ -carotène (Figure 06) (Richard 2013).

## Etude bibliographique

---

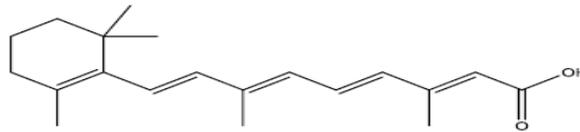


Figure 5: Structure chimique de la vitamine A

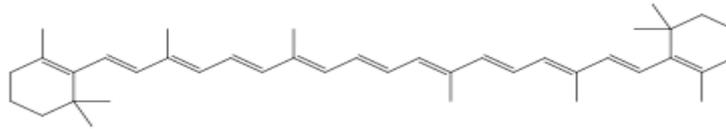


Figure 6 : Structure chimique du  $\beta$ -carotène

La vitamine A et les caroténoïdes réagissent avec l'oxygène singulet  $O_2$  et sont d'excellents piègeurs de radicaux peroxydes  $RO_2\cdot$  et alkyles  $R\cdot$  issus de l'oxydation des lipides. Pour cela ils ont un rôle majeur dans la protection cardiovasculaire et dans la prévention de l'apparition de cellules cancéreuses (Downard et al. 1995) (Gross and Seybold 2000).

### **I-2-4-2-1-3- Oligoéléments**

Le terme oligoélément vient du grec « oligos » signifiant « petit » ou « peu abondant ». Les oligoéléments sont des éléments chimiques présents dans le corps humain en concentration inférieure à 0.01%. Ils doivent être apportés par l'alimentation (Guillouty 2016). On peut citer les oligo-éléments (zinc, sélénium, manganèse...) qui jouent un rôle de cofacteur métallique dans de nombreuses réactions enzymatiques. Ils réagissent également de façon directe avec les ERO, protégeant les protéines et peuvent stopper l'oxydation des lipides (Krishnamoorthy et al. 2004) (Richard, 2013).

### **I-2-4-2-2- Antioxydants synthétiques**

A cause de l'instabilité des antioxydants naturels, on utilise plusieurs antioxydants synthétiques pour stabiliser les matières grasses et les huiles (Hilton 1989).

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels (Wang et al. 2003). Cependant, leur sécurité est très discutée, d'où la nécessité de rechercher des matériaux de substitution provenant de sources naturelles et sûres comme antioxydants alimentaires (Lisu et al. 2003).

## I-3-Métabolites secondaires

On appelle métabolites secondaires des composés biosynthésés naturellement par les végétaux mais qui ne participent pas directement au métabolisme végétal. De nombreux métabolites secondaires possèdent des propriétés thérapeutiques et sont utilisés en médecine humaine (Guillaume and Charrouf 2005).

### I-3-1-Polyphénols totaux

Les polyphénols constituent un groupe important de substances naturelles largement répandues dans le règne végétal (Urquiaga and Leighton 2000). Les scientifiques en ont identifié plus de 8000 allant de molécules simples à des composés hautement complexes (Massaux 2012) Ils regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyles qui peuvent être méthylés, acylés ou glycosylés (Ribéreau 1964 ; (Bamforth 2000).

Cette famille de métabolites secondaires regroupe différentes groupes. On se limite à notre étude aux flavonoïdes et aux tanins, Alcaloïde.

#### I-3-1-1-Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 5000 composés différents identifiés dans le règne végétal (Massaux 2012). Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, et jouent un rôle important dans la protection des plantes. Les flavonoïdes se trouvent également dans plusieurs plantes médicinales (Aissaoui 2010).

#### I-3-1-2-Structure

Les flavonoïdes ont un squelette de base formé par deux cycles en C6 (A et B) reliés entre eux par une chaîne en C3 qui peut évoluer en un hétérocycle (cycle C) (Dacosta 2003) (Figure 07).

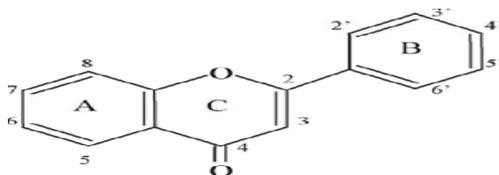


Figure 7: Structure de base d'un flavonoïde (Di Carlo et al. 1999)

## Etude bibliographique

Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme glycosylée (Dacosta 2003).

### I-3-1-3-Classification des flavonoïdes

Les principaux groupes de flavonoïdes peuvent être définis et différenciés comme suit :

#### *Flavones et Flavonols*

Ces molécules se caractérisent par la présence de la double liaison entre le C2 et le C3 du noyau pyranique central et un groupement carbonyle en C4 de ce noyau. Les flavonols se distinguent des flavones par la présence d'un groupement hydroxyl en C3 (Rhazi 2015).(Figure 08).



Figure 8: Structure de base de Flavone et Flavonol (BEZZAZ 2013).

#### *Flavanones et Dihydroflavonols*

Les flavanones et les dihydroflavonols se caractérisent par la présence de centres d'asymétrie et par l'absence de la double liaison C2-C3. Les variations structurales sont de même nature que celles décrites pour les flavones et les flavonols. Les dihydroflavonols se distinguent des flavanones par l'hydroxylation de la position C-3 (Aissaoui 2010).(Figure 09).

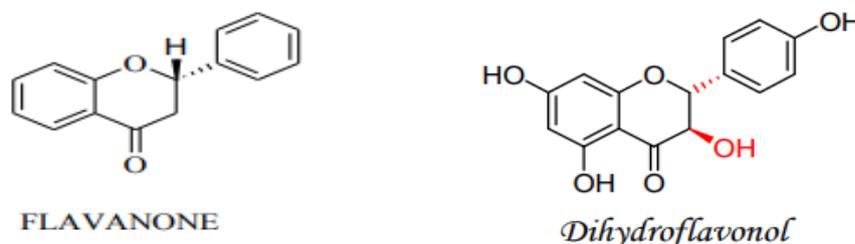


Figure 9: Structure de base de flavanone et dihydroflavonol (BEZZAZ 2013) (Benguerba 2008)

## Etude bibliographique

### *Flavan-3-ols, Flavan-3,4-diols et Anthocyanidols*

Ces trois types de molécules sont toujours hydroxylés en position 3 et se caractérisent par l'absence du groupe carbonyle en C-4. Cette position peut être libre (cas des flavan-3-ols et anthocyanidols) ou hydroxylée (cas des flavan-3,4-diols).

Les flavan-3-ols et les flavan-3,4-diols sont à l'origine des polymères flavaniques appelés proanthocyanidols ou tanins condensés. Les anthocyanosides sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique. Les anthocyanidols les plus fréquents sont le pélargonidol et le cyanidol (Bruneton 2009). (Figure 10).



Figure 10: Structure de base de Flavan-3-ols et Flavan-3,4-diols (BEZZAZ 2013).

### *Chalcones et Aurones*

Les chalcones sont différentes des autres types de flavonoïdes cités ci-dessus. A cause de l'ouverture du noyau pyranique central, elles sont constituées par deux unités aromatiques reliées par une chaîne tricarbonée, cétonique, insaturée. Les substitutions sur le cycle A sont le plus souvent identiques à celles des autres flavonoïdes. Les aurones sont caractérisées par une structure de 2-benzylidènegoumaranone (Aissaoui 2010) (Figure 11).



Figure 11: Structure de base de chalcone et aurone (BEZZAZ 2013).

## Etude bibliographique

### I-3-1-4-Biosynthèse

La biosynthèse des flavonoïdes commence par la condensation de deux voies métaboliques: la voie du shikimate et la voie de l'acétate-malonate, aboutissant à la synthèse de précurseur commun, la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone (Figure 12). Cette chalcone de couleur jaune est métabolisée sous l'action d'enzyme, la chalcone isomérase, en flavanone (1) : naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavone synthase ou la (2*S*)-flavanone-3- hydroxylase pour donner la formation de la flavone (2) : apigénine ou le dihydroflavonol (3) : (2*R*, 3*R*)-dihydrokaempférol, respectivement. Les deux enzymes fonctionnent différemment. La première introduit la double liaison entre les carbones C-2 et C-3, tandis que la deuxième catalyse l'hydroxylation du carbone C-3. Le dihydroflavonol, en présence de la flavonol synthase ou la dihydroflavonol-4-réductase, se métabolise en flavonol (4) : kaempférol ou en flavan-3,4-diol (5) : leucoanthocyanidol, respectivement. Ce dernier semble être le précurseur des flavan-3-ols (6) et anthocyanidols (7). Cependant, les étapes ultimes de leur formation ne sont pas encore élucidées. Le pélargonidol (7), sous l'action de la 3-*O*-glycosyltransférase, se transforme en anthocyanoside (8) : pélargonidol-3-glucoside. Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B et la chaîne en C3 intermédiaire. A l'état naturel, on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylées. La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone (Bruneton 2009).(Figure 13).

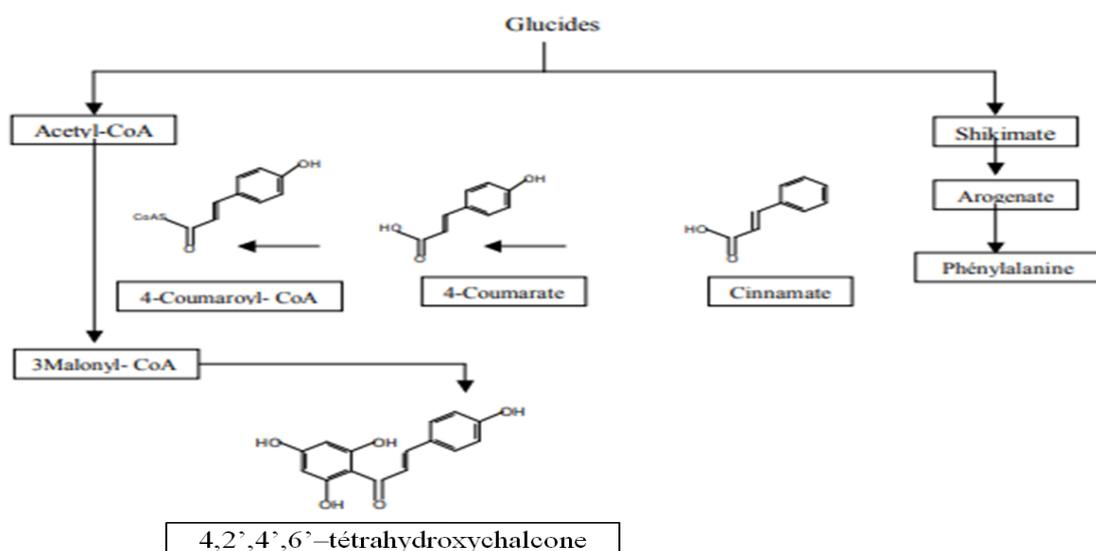


Figure 12: Condensation entre la voie de l'acétate malonate et du shikimate (Rira 2006)

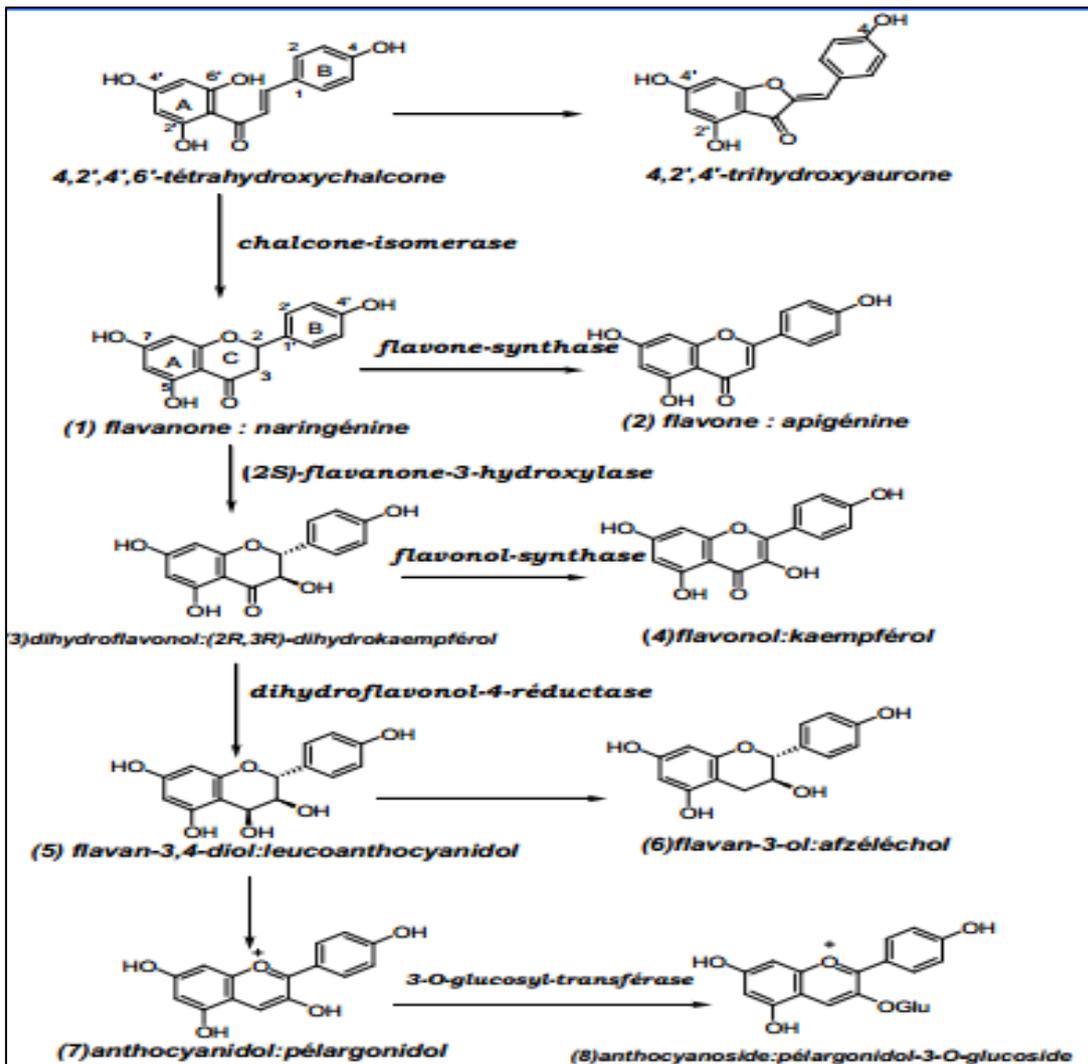


Figure 13 : Biosynthèse des flavonoïdes (Benguerba 2008).

### I-3-1-5-Localisation et distribution des flavonoïdes dans les plantes

Les flavonoïdes sont impliqués dans de nombreuses interactions des plantes avec les conditions biotiques et abiotiques de leur environnement (Hutzler et al. 1998). Sur le plan cellulaire, les flavonoïdes sont synthétisés dans les chloroplastes puis migrent et se dissolvent dans les vacuoles. Les flavonoïdes qui ont une localisation épidermique ont un rôle d'écran vis-à-vis des rayonnements solaires, tandis que ceux qui sont impliqués dans les mécanismes de défense ont plutôt une localisation sous épidermique. On trouvera par exemple, les flavanones dans les agrumes, les isoflavones dans le soja, les anthocyanes et les flavonols ont eu une large distribution dans les fruits et les légumes tandis que les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs (Zeghad 2009).

### **I-3-1-6- Rôle des flavonoïdes dans les plantes**

Les flavonoïdes jouent un rôle important dans les pathogénèses comme dans les symbioses (nodules des légumineuses), dans les interactions avec les insectes (attraction et rôle dans la pollinisation entomophile et la dispersion des graines), et agissent dans les systèmes de défense des cellules végétales en réponses à certains stress tels que les radiations ultraviolettes. Ce sont également des inhibiteurs d'enzymes, des agents chélatants des métaux nocifs aux plantes (Harborne 1979). De plus, les flavonoïdes sont impliqués dans la photosensibilisation et les transferts d'énergie, la morphogénèse et la détermination sexuelle et la régulation des hormones de croissance des plantes (Di Carlo et al. 1999).

Les flavonoïdes sont les pigments colorés des fleurs, ils jouent un rôle important dans les interactions avec les insectes (attraction et rôle dans la pollinisation entomophile et la dispersion des graines), dans les pathogénèses comme dans les symbioses (nodules des légumineuses) et agissent dans les systèmes de défense des cellules végétales en réponses à certains stress tels que les radiations ultraviolettes. Ce sont également des inhibiteurs d'enzymes, des agents chélatants des métaux nocifs aux plantes. Les flavonoïdes sont impliqués dans la photosensibilisation et les transferts d'énergie, la morphogénèse et la détermination sexuelle et la régulation des hormones de croissance des plantes (Di Carlo et al. 1999).

### **I-3-1-7-Activités biologiques des flavonoïdes**

#### **-Activité antioxydante**

Les flavonoïdes sont considérés comme des agents antioxydants très puissants en raison de leur structure (Akroum 2011), particulièrement grâce à la position des groupements hydroxyles sur les noyaux aromatiques. Ils ont la capacité de piéger directement les radicaux libres et de chélater les ions métalliques impliqués dans la production des espèces oxygénées réactives (Cillard and Cillard 2006)

#### **-Activité anti-cancéreuses**

La quercétine et la catéchine qui sont présentes fortement dans les aliments, les flavonoïdes les plus actifs sur les cellules tumorales.

La quercétine prévient la cancérogenèse, surtout la cancer de la peau et du colin, y prévient l'apparition des cellules anormales. Le mécanisme suggéré est que la quercétine joue le rôle d'un antagoniste des topoisomérases I et II produites par les cellules tumorales. La

## Etude bibliographique

---

catéchine, quant à elle, est un inhibiteur de certaines réactions d'oxydation donnant un ADN anormal, elle inhibe surtout la formation du 8-hydroxydesoxyguanosine (8-OHDG), un marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN (Pietta 2000; Tomofuji et al. 2009).

### **-Activité antivirales**

Les flavonoïdes sont aussi connus pour leur activité antivirale, principalement contre le rétrovirus HIV responsable du symptôme d'immunodéficience acquise (SIDA), le virus d'influenza, le virus de l'herpes (HV), l'adénovirus (ADV) et le virus de la grippe A (A/WS/33) (Choi et al. 2009; Spedding et al. 1989).

### **-Activité antibactérienne**

L'action des flavonoïdes sur les microorganismes est très reconnue grâce à leur toxicité. Les cibles probables dans la cellule microbienne sont les adhésines exposées en surface des cellules, les polypeptides muraux et les enzymes liées à la membrane et l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases). Les quinones peuvent également rendre les substrats indisponibles pour le micro-organisme (Cowan 1999).

### **I-3-1-2-Les Tanins**

Les tanins peuvent être actuellement définis comme des composés phénoliques (ou polyphénols) de masse moléculaire allant jusqu'à 20 000 Daltons. Ces derniers forment une vaste famille de molécules caractérisées par la présence d'au moins un noyau aromatique associé à un ou plusieurs groupements hydroxyles phénoliques (Lecasble 2012). Le terme «tanin» dérive du mot «tan», qui se réfère à l'utilisation de tanins du bois de chêne dans le tannage des peaux d'animaux en cuir. Le tannage des peaux consiste à traiter des peaux fraîches avec des extraits végétaux ou des métaux qui jouent le même rôle (Zeng 2015). Ils sont capables de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et certaines protéines (Tarascou 2005).

#### **I-3-1-2-1-Classification**

On trouve deux types de tanins dans les bois qui se différencient à la fois par leur réactivité chimique et par leurs compositions: les tanins hydrolysables et les tanins condensés ou proanthocyanidines condensés (Rhazi 2015).

## Etude bibliographique

### *Tanins hydrolysables*

Ils possèdent un poids moléculaire plus faible et précipitent les protéines beaucoup moins que les tanins condensés. Ils sont présents dans certaines dicotylédones, et surtout dans les jeunes feuilles d'arbres ou d'arbustes. Ils sont caractérisés par une partie centrale de polyol (dans la plupart des cas,  $\beta$ -D-glucose) dont les fonctions hydroxyles sont estérifiées avec un nombre variable de molécules d'acide-phénol. L'acide -phénol est soit l'acide gallique dans les tannins galliques, soit l'acide hexahydroxydiphénique et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tanins éllagiques. Le 1, 2, 3, 4,6- pentagalloyl glucose occupe une place centrale dans la biosynthèse des tannins hydrolysables (Gross 1992) (Figure 14).

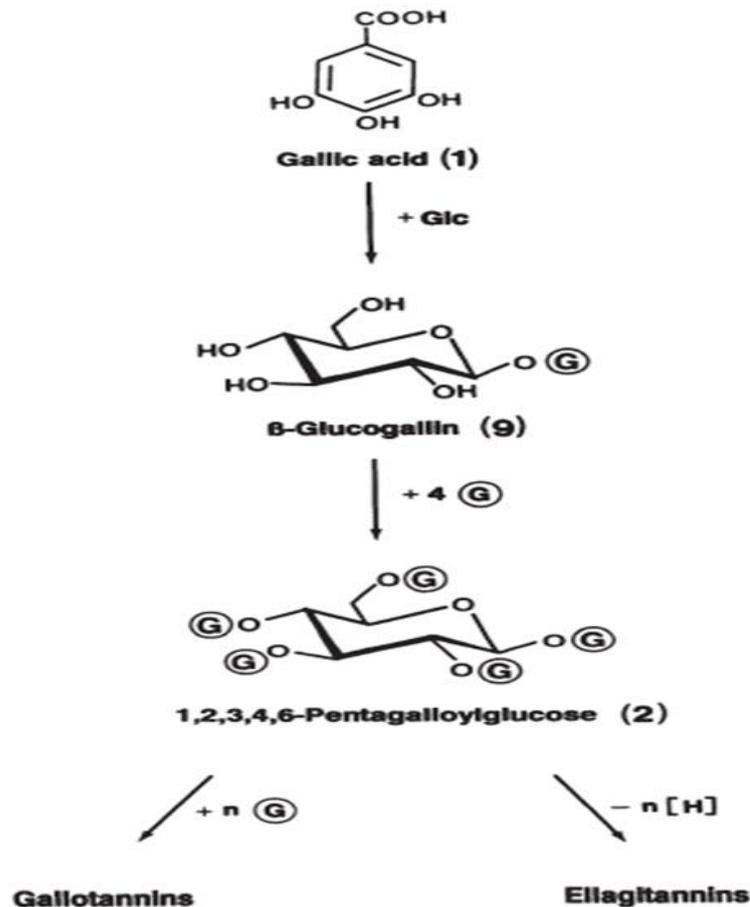


Figure 14: Principales étapes de la voie métabolique des tanins hydrolysables (Gross 1992).

### *Tanins condensés*

Les tanins condensés, également nommés proanthocyanidines ou tanins catéchiques. Ces composés qui correspondent à des polymères de flavan-3-ols, peuvent être répertoriés en différentes classes : les monomères, les dimères, les oligomères et les polymères (Tarascou 2005) (Figure 16).

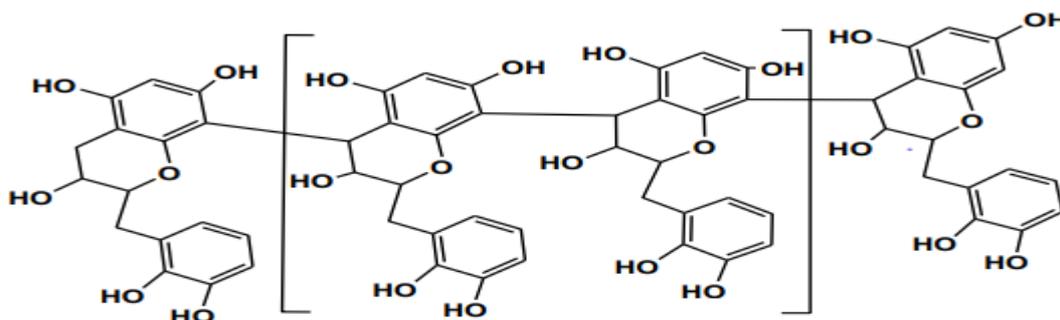


Figure 15: Structure chimique des tanins condensés (Rhazi 2015).

#### **I-3-1-2-2-Localisation des tannins dans la plante**

Chez les végétaux, tous les organes comme les racines, rhizomes, écorce, bois, feuilles, graines, fleurs, fruits et cynorrhodons (faux-fruits des rosacées) peuvent contenir des tannins. Ils sont majoritairement stockés dans les tissus épidermiques et subépidermiques, mais peuvent être aussi présents dans le péricarpe des fruits et des racines (Jean-Antoine 2017).

#### **I-3-1-2-3- Rôle des tannins dans la plante**

Les tanins sont parmi les métabolites secondaires les plus importants chez les plantes. Ils jouent un rôle de protection des végétaux contre les insectes, les champignons et les bactéries, et leur confèrent une astringence qui peut être répulsive pour les herbivores. Ils participent également à plusieurs réactions chimiques dans le métabolisme des plantes (Hassanpour et al. 2011; Hernes and Hedges 2004).

Les tanins se forment dans les feuilles, sous l'action de la lumière solaire et en présence de l'acide carbonique. Ils se dirigent ensuite vers les organes persistants de la plante : écorces, rhizomes, etc., où ils s'accumulent, mais ils ne serviraient pas par la suite à la formation de nouveaux tissus : ils seraient seulement une substance de protection, principalement contre la pourriture (Lutz 1928).

## Etude bibliographique

---

### **I-3-1-2-4- Propriétés physico-chimiques**

Le poids moléculaire et le degré de polymérisation détermine la solubilité des tanins dans l'eau. Ils sont également solubles dans l'acétone et les alcools, pour cela le rendement de leur extraction est généralement obtenu par des solutions acétone-eau ou méthanol-eau (Lecasble 2012).

### **I-3-1-2-5- Propriétés pharmacologiques des tanins**

Les applications des drogues à tannins sont restreintes, et sont dues à leur affinité pour les molécules protéiques. Par voie interne, ils ont un effet antidiarrhétic. Par usage externe, ils imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuse, protégeant ainsi les sous-jacentes et en empêchant les agressions externes (C ATIER et ROUX 2007).

Les tanins favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlures. Ils ont un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels (CATIER and ROUX 2007).

De plus, les tanins présentent des propriétés de piégeage des radicaux libres et une activité antioxydante, un effet antiseptique (antibactérien, antifongique, antiviral), un pouvoir d'inhibition enzymatiques et de prévention des maladies cardio-vasculaires (Lecasble 2012).

### **I-3-2-Alcaloïdes**

Le terme « alcaloïde » a été introduit par W.MEISNER au début de XIX<sup>ème</sup> siècle pour désigner les substances naturelles réagissant comme des bases, comme des alcalis. Un alcaloïde est un composé organique d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique, de distribution restreinte et doté, à faible dose de propriétés pharmacologiques marquées (Bruneton 2009). Selon Dunet (2009), plus de 15 000 alcaloïdes différents ont été isolés. En règle générale, le nom dérive de la plante dont l'alcaloïde a été extrait (Ex : la cocaïne est extraite de la coca). Le suffixe "-ine" est le plus utilisé, les suffixe "-idine", "-anine", "-aline" ou "- inine" sont utilisés en cas de présence de plusieurs alcaloïdes isolés d'une même plante. Pour les alcaloïdes dérivant du règne animal ou de champignons, le même type de règles de nomenclature est appliqué (Dunet 2009).

#### **I-3-2-1- Classification**

La classification des alcaloïdes tient compte de deux paramètres distincts : la position de l'atome d'azote au sein de la structure et les différentes fonctions qui en découlent (Dunet

## Etude bibliographique

---

2009). En suivant, on se limite à la classification générale basant sur la structure et l'origine de l'atome de l'azote. On distingue :

**Les alcaloïdes vrais :** Ils représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes, disposent d'un large spectre d'activités biologiques, ils dérivent d'acides aminés et leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique (Ghedjati 2018).

**Les pseudo-alcaloïdes :** Ce sont des composés qui présentent presque les mêmes propriétés que les alcaloïdes vrais mais contrairement à ceux derniers, ils ne sont pas des dérivés d'acides aminés. Ce sont des dérivés d'isoprénoides (alcaloïdes terpénique) et métabolisme de l'acétate (Bruneton 2009).

**Les proto-alcaloïdes :** Ce sont des dérivés d'acides aminés dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle. Ils sont appelés amines biologique et sont soluble dans l'eau (Bruneton 2009).

### **I-3-2-2- Origine biosynthétique**

La formation de l'alcaloïde peut nécessiter l'intervention d'une seule molécule d'acide aminé (hygrine), de deux molécules de même acide aminé (quinolizidines), plus rarement de deux acides aminés différents (tubulosine) ou de plusieurs molécules du même acide aminé (spartéine). Les réactions d'oxydation, d'alkylation, d'estérification, d'éthérifications, etc., justifient la diversité structurale des alcaloïdes. Dans le cas particulier des alcaloïdes terpéniques, les précurseurs ont une origine strictement terpénique (Bruneton 2009).

### **I-3-2-3- Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes**

La masse moléculaire des alcaloïdes varie entre 100 et 900 g/mol. Les alcaloïdes et leurs sels purs (organiques ou non organiques formé par action des acides) sont en général des produits solides cristallisés, caractérisés par un point d'ébullition propre. Certains alcaloïdes sont amorphes, se trouvant sous forme de cires. D'autres alcaloïdes de faibles points d'ébullitions sont à l'état liquide sous forme d'huiles dont la viscosité est variée. Signalons enfin que les alcaloïdes ont un goût amer (Kalla 2012). Les alcaloïdes sont en général des bases grâce à la présence d'un doublet électronique libre de l'atome d'azote (Bruneton 2009).

## Etude bibliographique

---

### **I-3-2-4- Distribution et localisation**

Les alcaloïdes sont rarement libres dans les plantes. Ils existent sous forme de glycosides ou de sels d'acide citriques, malique, tartrique... etc, ou sont combinés avec les tanins (Badiaga 2011). Les alcaloïdes sont très répandus chez les dicotylédones. Ils se rencontrent surtout chez les angiospermes. Les monocotylédones, à l'exception des liliacées, en sont pauvres. La répartition des alcaloïdes dans les plantes, ce fait différemment suivant les espèces; par exemple: racine (Ipéca), feuille (Coca), fruit (Pavot), écorce (Quinquinas), graine (Colchique) ...etc. Ils se rencontrent surtout au niveau des épidermes, des laticifères et de façon générale dans tous les tissus en voie de croissance et ils s'accumulent surtout dans les vacuoles(Ghedjati 2018). Les alcaloïdes sont exceptionnels chez les bactéries et assez rares chez les champignons (Bruneton 2009).

### **I-3-2-5- Intérêt des alcaloïdes**

Chez les plantes, ces composés agissent soit comme agent protecteur contre les champignons, les insectes ou encore les herbivores, soit comme source d'azote nécessaire au développement de la plante, ou encore comme agents de régulation de la croissance similaires aux hormones, ou encore comme agents protecteurs du rayonnement UV (Ceccon 2006).

Plusieurs alcaloïdes naturels sont utilisés en médecine. Ils affectent chez l'être humain le système nerveux, particulièrement les transmetteurs chimiques tels l'acétylcholine, épinephrine, norépinephrine, acide  $\gamma$  aminobutyrique (GABA), dopamine et la sérotonine.

Les alcaloïdes présentent plusieurs activités pharmacologiques : Analgésique (cocaïne), anti-cholinergique (atropine, scopolamine, galanthamine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (réserpine), antitussive (codéine), détressant cardiaque, stimulant centrale (caféine), diurétique, anesthésiant local (cocaïne), narcotique (morphine), anti-tumeur, sympathomimétique (éphédrine), etc.... (Badiaga 2011).

# **Matériels et Méthodes**

### **II-1-Matériel végétal**

Le matériel végétal utilisé correspond à la partie aérienne, composée des rameaux de l'espèce *Ephedra alata alenda*, et la partie souterraine de la plante réduites en en poudre. La collecte s'est effectuée le mois de Mars 2018, au niveau de la localité de N'Goussa (Wilaya de Ouargla).

Pour éviter la dégradation des principes actifs et le développement des moisissures, le séchage s'est fait à l'air libre, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Après séchage, les deux parties de la plante ont été broyées séparément et stockées soigneusement dans un endroit bien sec en vue de leurs analyses (CATIER and ROUX 2007).

### **II-2-Présentation du site de collecte**

Ouargla est située au Sud- Est de l'Algérie, elle est à 780 Km au Sud- Est d'Alger. Ses coordonnées géographiques sont : Altitude moyenne : 157 m, Latitude : 31°58' Nord, Longitude : 5°20' Est. Elle est limitée au Nord par les Wilayas : Djelfa, El-Oued et Biskra. A l'Est par la Tunisie, au Sud par la Wilaya de Tamanrasset et la Wilaya d'Illizi, à l'Ouest par la Wilaya de Ghardaïa. La Wilaya couvre une superficie de 163.323 km<sup>2</sup>, Elle comporte actuellement 21 communes regroupées en 10 daïrâs (Chaouki and Zeddouri 2015).

### **II-3-Enquête ethnobotanique**

Afin de s'enquérir de l'importance thérapeutique de cette plante, représentée dans la région de Ghardaïa par l'espèce *E.alata*, une enquête ethnobotanique est lancée auprès de notre population dans différentes daïras de Ghardaïa (Ghardaïa, Metlili, Daia), et quelques sujets de la wilaya de Laghouat ont été questionnés, sur un période s'étalant de Février à Juillet 2020. (La fiche d'enquête est présentée en Annexe 1).

### **II-4-Extraction**

Au cours de ces dernières années, c'est convenu entre les membres de la population l'utilisation de la plante principalement pour le traitement du cancer. La méthode la plus adoptée c'est l'ébullition de 350 g de la plante dans 7 litres d'eau, pendant deux heures.

Ainsi, dans le but de vérifier la persistance de différents métabolites secondaires dans un tel extrait, malgré le temps de l'extraction qui dure 2 heures à haute température, nous

avons décidé de suivre le même protocole de l'extraction adopté par la population à fin d'une analyse ultérieure.

Ainsi, une quantité de 10 g de la matière végétale réduite en poudre est rajoutée à 200 ml d'eau bouillant pendant 2 heures. Après un refroidissement de 15 min, les deux extraits (partie aérienne et souterraine) sont répartis sur des boites Petri sous forme de couches minces et placés dans le lyophilisateur pendant 24 heures pour passer à la phase solide (poudre).

Le rendement de l'extraction est le rapport entre le poids de chaque extrait et le poids de la matière sèche. Le rendement en pourcentage (%) est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \text{PE} / \text{PP} \times 100$$

**PE** : poids sec de l'extrait en g

**PP** : poids sec de la plante en g

Les extraits des parties aérienne et souterraine de *Ephedra alata alenda* ont subi différents tests chimiques pour mettre en évidence la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires.

### **II-5-Tests phytochimiques préliminaires**

#### **Alcaloïdes**

1 ml d'extrait aqueux est divisé en 2 volumes égaux : le tube 1 est traité par 0,5 ml du réactif de Mayer et le tube 2 est traité par 0,5 ml du réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc et marron respectivement indique la présence des alcaloïdes (Mojab et al. 2010).

#### **Flavonoïdes**

La présence des flavonoïdes à la plante a été vérifiée par la réaction à la cyanidine : à 1 ml de chaque extrait mélangé à 1 ml d'alcool chlorhydrique, on a ajout 2 à 3 copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration orangée ou violacée indique la présence des flavonoïdes (N'Guessan et al. 2009).

### **Anthocyane**

1 ml de l'extrait et 1 ml de l'acide sulfurique à 10% et l'ajout de quelque goutte de  $\text{NH}_4\text{OH}$ . L'apparition de Coloration bleu-violacé indique la présence d'anthocyanes (Daoudi et al. 2016).

### **Tanin**

A 1 ml d'extrait, 0,25 ml de  $\text{FeCl}_3$  (1%) est ajouté. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre (tanins catéchiques) ou bleu-noirâtre (tanins gallique) (Karumi 2004).

### **Anthraquinones**

A 1 ml d'extrait on ajoute 1 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (10 %), après agitation, la présence des anthraquinones est indiquée par une coloration violette (Oloyede 2005) ou rouge (N'Guessan et al. 2009).

### **Terpénoïdes**

Test de Slakowski : À 1 ml d'extrait, on ajoute 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Le test positif est indiqué par l'apparition d'une couleur marron à l'interphase des deux phases (Khan et al. 2011).

### **Composées réductrices**

Dans un tube à essai, 2 ml de liqueur de Fehling (1 ml de réactif A et 1 ml de réactif B) sont ajoutés à 2 ml d'extrait et incubés pendant 8 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (AZZI 2013).

## **II-6- Activités antioxydante**

### **II-6-1-Test du piégeage du radical libre DPPH**

#### **II-6-1-1-Principe du test**

Le DPPH (2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyl) est un radical instable qui possède un électron célibataire sur l'atome d'azote (Popovici, Saykova and Tylkowski 2010). Le test DPPH est un test colorimétrique qui repose sur la mesure par spectrophotomètre de la capacité d'une substance antioxydante à réduire le radical DPPH de couleur violette en solution de couleur jaunâtre, ceci lorsque son électron célibataire est apparié avec un hydrogène provenant d'un antioxydant (Bougatef et al. 2009). Ce radical est un oxydant qui peut être réduit par l'antioxydant (AH) selon la réaction suivante :



L'absorbance sera mesurée par spectrophotomètre à 517 nm. Une faible absorbance indique une meilleure activité anti-radicalaire (Bougatef et al. 2009).

#### **II-6-1-2-Protocole de l'activité anti-radicalaire par le test DPPH**

Un volume de 2 ml de différentes concentrations de l'extrait sera ajouté à 2 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,078 g/l) fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 2ml du méthanol avec 2 ml d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante la lecture de l'absorbance sera mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible (Suja et al. 2005)

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance est mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration. L'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\text{Activité antiradicalaire \%} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

Les valeurs de l'EC50 ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire (Talbi et al. 2015).

Les résultats sont exprimés en mg de DPPH par ml d'extrait.

### **II-6-2-Test de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)**

#### **II-6-2-1-Principe du test**

À pH bas, le complexe de tripyridyltriazine ferrique (Fem-TPTZ) est réduit à la forme ferreuse, qui a une couleur bleu intense, peut être surveillée par mesure du changement d'absorption à 593 nm. Le changement d'absorbance, par conséquent, est directement lié au pouvoir réducteur combiné au «total» des antioxydants donneurs d'électron présents dans le mélange réactionnel (Benzie and Strain 1999).

#### **II-6-2-2-Protocole du test de l'activité antioxydante via le test FRAP**

Le réactif de FRAP comprend 25ml de tampon acétate (pH 3,6) et 2,5 ml de solution TPTZ (10 mmol / litre) préparé dans 2ml HCl (40 mmol / litre de HCl ; 20 mmol / litre de FeCl<sub>3</sub>-3H<sub>2</sub>O) (Benzie and Strain 1996).

Le test FRAP sera réalisé selon la méthode de Benzie et Strain (1999) avec un peu de modifications : Une quantité de 200 µl d'échantillons à différentes concentrations sera mélangés avec 3 ml de réactif FRAP dans des tubes à essai. Les échantillons et le blanc sont incubés dans un bain-marie pendant 30 minutes à 37 ° C et l'absorbance des échantillons est déterminés par rapport au blanc à 593 nm. Le blanc comprend 200 µl de méthanol et 3ml réactif de FRAP.

Le potentiel antioxydant sera déterminé à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique ou de la quercétine. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide ascorbique/ g d'extrait (mg EAA/ g d'extrait) et mg équivalent en quercétine/ g d'extrait (EQ/ g d'extrait).

#### **II-6-3-Test d'activité de piégeage du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

La capacité des extraits d'Ephedra à récupérer le peroxyde d'hydrogène sera déterminée selon la méthode de Ruch et al (1989). Pour ce test, une solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (43Mm) est préparée dans un tampon phosphate (0,1 ; Ph = 7,4). Pour l'extrait d'Ephedra, 3,4 ml des dilutions de (10 et 20µg/ml) préparées dans du tampon phosphate sont ajoutés à 0,6ml d'une solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,6 ml, 43Mm). Après 10 minutes plus tard, la concentration de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est mesurée à 230 nm à température de 20 °C. La valeur de l'absorbance du mélange réactionnel est enregistrée à λ= 230 nm contre une solution à blanc contenant le tampon phosphate sans hydrogène peroxyde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Le pourcentage de réduction du peroxyde d'hydrogène (scavenging %) est déterminée à partir d'une équation de régression linéaire

déduite de la courbe d'étalonnage et exprimé en  $\mu\text{g}$  équivalent d'acide ascorbique par ml d'extrait. Il est calculés en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Scavenging \%} = [(1 - A_e)/A_c] \times 100$$

Où  $A_c$  est l'absorbance du contrôle et  $A_e$  est l'absorbance dans la présence de l'échantillon d'extraits ou de standards d'acide ascorbique (Ruch et al. 1989).

Un standard de référence utilisé comme contrôle positif (acide ascorbique) est également analysés en respectant les mêmes étapes précédent (Al-Awaida et al. 2018)

### **II-7-Analyse quantitatif des composées phénoliques**

#### **II-7-1-Détermination de la teneur en composés phénoliques totaux (CPT)**

Le réactif Folin Ciocalteu constitué par un mélange d'Acide phosphotungstique ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) et d'Acide phosphomolybdique ( $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ ), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène ( $\text{W}_8\text{O}_{23}$ ) et de molybdène ( $\text{Mo}_8\text{O}_{23}$ ). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximale aux environs de 750 -765 nm (Muller et al. 2010).

200 $\mu\text{l}$  de chaque extrait (dissous dans le méthanol) sont ajoutés à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Les solutions sont mélangées et incubées pendant 4 minutes. Après incubation, 800  $\mu\text{l}$  de la solution de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (75g /l) sont ajoutée. Le mélange final est incubé pendant 2h dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance sera mesurée à 765 nm contre un blanc. La concentration des composés phénolique dans l'extrait est exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g) grâce à une courbe d'étalonnage obtenue avec différents concentration d'acide gallique (Wong et al. 2006).

#### **II-7-2-Dosage des Flavonoïdes**

La concentration des flavonoïdes totaux sera déterminée par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$  (Donzo et al. 2015). Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes qui absorbe dans le visible à 430 nm (Hireche, 2013). 1ml de chaque solution fille (méthanol/eau) et de catéchine ou rutine (standards) sera mélangé avec 1 ml d ' $\text{ALCL}_3$  à 2%. Après incubation pendant 15 min à température ambiante, l'absorbance de l'échantillon sera mesuré à 430 nm).

## Matériels et méthodes

---

La teneur en flavonoïdes est déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage et exprimé en mg équivalent de catéchine ou de rutine par 100 gramme de matière sèche (Djeridane et al 2006).

# **Résultats et discussion**

### III-1-Enquête ethnobotanique

Après avoir interrogé un échantillon de la population de Ghardaïa et quelques sujets de la wilaya de Laghouat sur la connaissance de la plante et ses utilisations, nous avons obtenu les résultats suivants:

Au cours de cette enquête 200 sujets de 24 à 90 ans (106 hommes et 94 femmes) ont été enquêtée (La fiche d'enquête est présentée en Annexe 1).

31.5% des personnes enquêtés ignorent la plante ; 9.5% des personnes connaissent le nom de la plante mais ils ne savent pas son mode d'utilisation; 59% des personnes connaissent au moins l'une des utilisations de la plantes (Figure 16).

Cette connaissance des plantes passe par le transfert d'expériences et d'usages différents d'une génération à l'autre (Iserin et al. 2001).

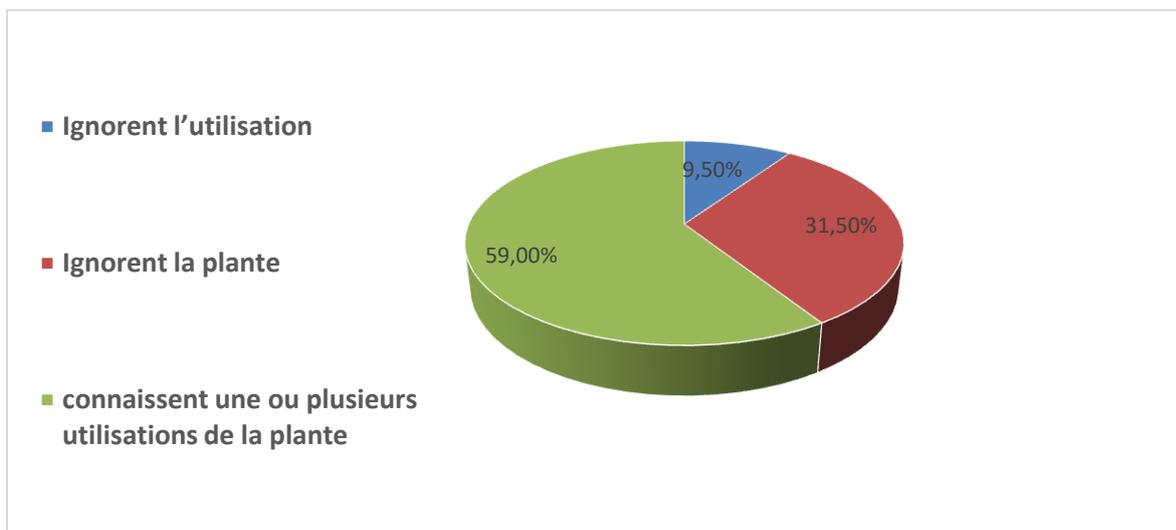


Figure 16: Répartition en pourcentage de l'échantillon enquêté selon la connaissance de la plante et de ses utilisations.

Un grand nombre de personnes supposent l'efficacité de la plante principalement pour le traitement de cancer. Elle présente aussi un effet sur les glandes (Problème de l'utérus, Prostate, Thyroïde, Production de lait pour les femmes qui allaitent...etc.), un effet antidiabétique, antimicrobien et antiasthmatique (Figure 17). Ces utilisations sont en accord par rapport à la majorité des utilisations cités pour l'Ephedra dans différentes régions du

## Résultat et discussion

monde (Jaradat et al. 2015 ; Al-Rimawi et al. 2017 ; (Bellakhdar 1997; Ghourri et al. 2013; Ma et al. 2007).

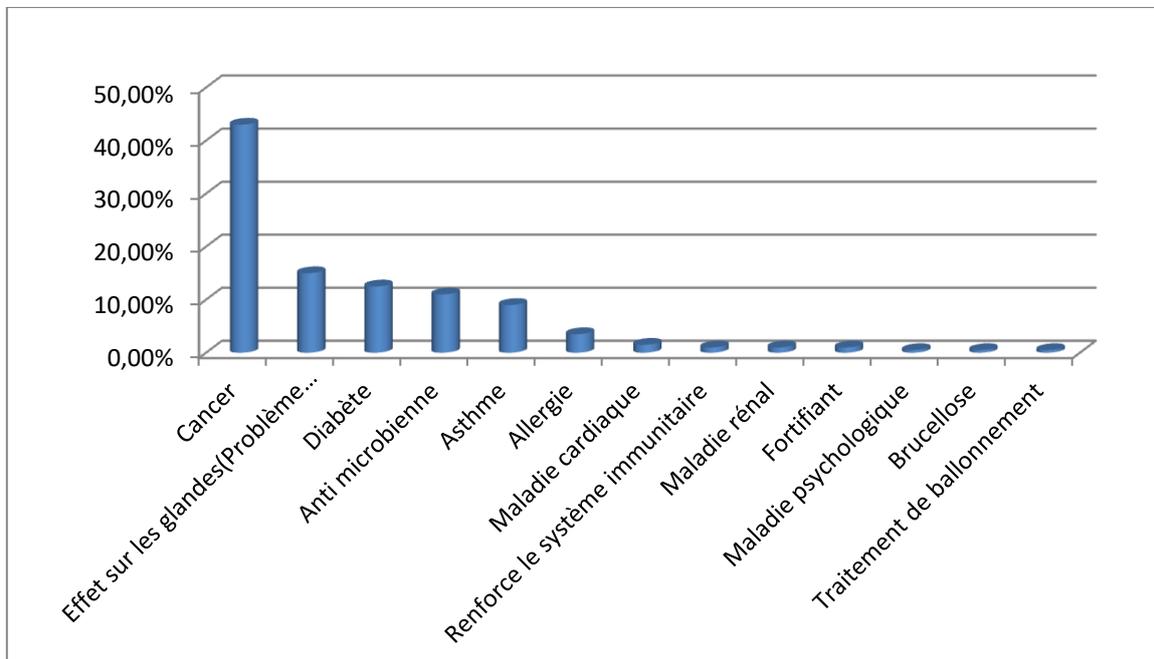


Figure 17: Fréquences de différentes utilisations de *Ephedra alata alenda* selon l'enquête ethnobotanique.

### ***À propos de période préférée de collecte***

29 personnes collectent la plante dans n'importe quelle saison vue sa disponibilité à n'importe quel moment de l'année. 14 personnes préfèrent la collecte de la plante dans le printemps et 04 personnes ont utilisé l'*Ephedra alata* collectée dans l'hiver.

Le printemps est considéré comme une saison de verdure et de fraîcheur des plantes car cette saison bénéficie d'un climat favorable pour toutes les plantes. De plus, les racines peuvent commencer à pousser et régénérer, c'est pour cela peut être que les 14 personnes pensent qu'il est préférable de collecter la plante à cette saison.

### ***Selon la voie d'administration***

Concernant la méthode de l'utilisation ;

## Résultat et discussion

---

Le macérât ou le bouillât de la plante est administré par voie orale pour 108 sujets ; Les chinois aussi boivent un thé contenant de l'Ephedra pour traiter différents maladies (Parsaeimehr 2013).

Le macérât ou le bouillât de la plante est inhalée selon 7 autres pour traiter surtout les problèmes asthmatiques ; Les alcaloïdes de l'Ephedra sont utilisés pharmacologiquement pour traiter l'asthme. Ceci justifié l'utilisation de la plante de cette manière (Parsaeimehr 2013).

La fumée de la plante peut être utilisée dans le cas d'une infection vaginale selon un seul sujet. La fumigation est l'utilisation de vapeurs chargées des principes actifs de la plante (Benhamza and Hamdi 2008). La fumée traite l'infection par effet anti microbienne de la plante.

Selon 2 sujets, la poudre après séchage et broyage est mélangée avec de miel pour traiter le cancer. Le miel est utilisé pour renforcer l'activité de la plante puisque il possède une activité antioxydante importante (Bouyahya et al. 2018).

### ***Selon l'état de la plante***

103 personnes ont privilégié l'état sec pour l'utilisation de la plante, alors que 13 n'ont pas mis un choix entre l'état frais ou sec (les deux états sont convenables pour l'utilisation).

Selon (Makkar et al. 2009), les conditions sévères de la saison sèche peuvent être un milieu favorable pour la production des métabolites secondaires de la plantes, qui sont dotés de nombreuses activités biologiques.

### ***Selon la partie utilisée***

81 personnes utilisent les tiges de la plante, alors que 36 personnes préfèrent l'utilisation des tiges à l'état florissant. Selon l'enquête ethnobotanique fait par Belgacemi et Dou (2019) sur la population d'El Oued, 98,1% parmi 56 personnes utilisent la partie aérienne de la plante. Selon Ibragic Sofić (2015) c'est la partie aérienne de différent Ephedra qui est aussi utilisée.

### ***Selon le mode de préparation***

90 personnes font la bouillir dans de l'eau et 25 personnes privilégient sa macération dans le même solvant.

## Résultat et discussion

---

### *Selon la dose*

Pour la dose de préparation de l'extrait à administrer par voie orale, 42 sujets indiquent le protocole de préparation suivant :

350 g+ 7 litre bouillée pendant deux heures.

Ce protocole est proposé aux cas de traitement de cancer.

### *Selon la période d'utilisation*

La période d'utilisation de la plante se diffère selon la pathologie à traiter, mais la majorité des sujets enquêtés ont convenu que la période d'utilisation s'étend entre 1 mois jusqu'à guérison, avec la fréquence d'utilisation régulière suivant :

*1 - Pour les enfants, selon* : 43 personnes, la plante peut être donnée à l'enfant une fois par jour ;

01 personne, la plante peut être donnée à l'enfant deux fois par jour ;

02 personnes, la plante peut être substituée à l'eau;

02 personnes, la plante peut être substituée à l'eau, pour les enfants de plus de 05 ans, et pour les enfants de plus de 01 année selon 01 autre sujet enquêté ;

07 personnes disent que c'est interdit à donner aux enfants.

Ephedra est approuvé par la Commission européenne pour les problèmes respiratoires avec bronchospasme chez l'adulte et l'enfant de plus de 6 ans (Soares 2011).

*2 – Pour les adultes* : 67 personnes utilisent la plante une fois par jours ;

34 personnes utilisent la plante deux fois par jours ;

02 personnes utilisent la plante à des doses de trois ou quatre fois par jours ;

05 personnes proposent la substitution de l'eau de boisson par un extrait aqueux de la plante.

## Résultat et discussion

---

Dans notre enquête ainsi, la majorité utilise la plante une fois par jour.

### *Précautions et toxicité de la plante*

Selon les sujets de l'échantillon enquêté, 08 personnes ne pensent pas que la plante présente des effets secondaires ou un danger. 04 personnes refusent l'utilisation de la plante pour les gens souffrant des problèmes de la tension artérielle. Une pense que c'est dangereux de bouillir la plante pendant une long durée à cause de la sensibilité de la plante à la chaleur. Une autre, par contre, pense que c'est autorisé de bouillir même deux fois le marc de la plante. 03 sujets

insistent sur le respect de la dose et la durée de traitement qui ne doit pas dépasser 01 seul mois, à raison de 2 verres de bouillât par jour.

Selon Ali Parsaeimehr et Sargsyan (2013) Ephedra est susceptible d'affecter les nerfs, les muscles, la pression artérielle et le cœur.

29.60 % de l'échantillon enquêté à l'Oued (56 sujets) signale que la plante entraîne une intoxication (BELGACEMI and DOU 2019).

Cette plante médicinale n'est pas toujours bénéfique et a des effets secondaires: frissons de palpitations, tremblements physiques et sensoriels généralisés, agitation, insomnie, nausée, perte d'appétit (Becherucci et al.).

### **III-2- Rendements de l'extraction**

Le tableau suivant montre le rendement de l'opération de l'extraction.

Tableau 3: Rendement en extrait sec de la partie aérienne et souterraine de l'espèce *Ephedra alata* de la région de Ouargla

<b>Plante</b>	<b>Aspect des extraits</b>	<b>Rendement %</b>
<b>Partie aérienne</b>	Extrait sec	13.1 %
<b>Partie souterraine</b>	Extrait sec	8.4 %

### III-3- Tests phytochimiques préliminaires

Nous avons réalesé des tests phytochimiques préliminaires au laboratoire de l'université de Ghardaïa sur la plante médicinale *Ephedra alata alenda* collectée de la région d'Ouargla. Les résultats ont montré la présence de différents métabolites secondaires et sont présentés dans le (Tableau 04) avec une comparaison de notre travail avec d'autres travaux antérieurs.

Différents extraits de la partie aérienne de *Ephedra alata* d'Oum el Bouaghi est caractérisée par l'abondance en métabolite secondaire. *Ephedra alata alenda* de Ouargla dont nous avons testée est aussi riche en métabolite secondaire tels que les flavonoïdes, Tanins, Alcaloïdes, composés réducteurs qui se trouvent en particulier dans la partie aérienne. Notons que d'autres tests de détection de métabolites secondaires ont été programmés mais la réalisation a été empêchée par l'évènement surprenant de Covid-19, ce qui n'a pas permet de juger la richesse ou la pauvreté de notre extrait aqueux en différentes classes de métabolites secondaires.

### III-4-Résultats comparatifs de teneurs en polyphénols, flavonoïdes et alcaloïdes de différents extraits de *Ephedra alata alenda* et d'autres espèces du même genre

Nous avons exploré les résultats obtenus dans les travaux antérieurs de dosage de polyphénols, de flavonoïdes et des alcaloïdes de différents extraits obtenus de différentes espèces *Ephedra* autour du monde. Les principaux résultats sont présentés dans le Tableau 04.

La partie aérienne de *Ephedra alata* de Ouargla, de Sétif, de Palestine et de Pakistan ont montré des teneurs élevées en polyphénols totaux. L'extrait dichlorométhane de *Ephedra alata* de Ouargla se caractérise par une quantité abondante en flavonoïdes. *Ephedra distachya* et *Ephedra major* sont les plus riches en alcaloïdes par rapport à d'autres *Ephedra* collecté de l'Allemagne.

Les trois types précédents de métabolites secondaires dont le dosage est suivi, sont connus pour leur importance biologique, pharmacologique et toxicologique (Ibragic and Sofić 2015).

A partir du tableau; *Ephedra* originaire des régions arides est plus riche en métabolites secondaires. Selon Jaradat (2015), ce climat peut être favorable pour la production de ces métabolites.

### **III-5-Evaluation comparative de l'activité antioxydante de différents extraits de *Ephedra alata alenda* et d'autres espèces du même genre**

Nous avons réalisé une étude comparative de l'activité antioxydante de *Ephedra alata alenda* de différentes régions du monde évaluée par différents tests (DPPH, FRAP, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Le résultat de cette synthèse est montré dans le tableau 05 ci-après.

Selon les résultats montrés par le test DPPH, les extraits MeOH et EtOH de *Ephedra alata* de Palestine, l'extrait BuOH de *E. alata* de Jordanie et les extraits aqueux de *Ephedra pachycla* et EtOH de *Ephedra Procera* de Iran sont bien plus puissantes en terme pouvoir antioxydant que d'autres espèce d'Ephedra.

Les résultats des précédents tests reflètent la richesse de la plante en composés antioxydants. L'activité exprimée par ces différentes espèces peut être due principalement à la classe de métabolites secondaires, polyphénols, qui ont des propriétés redox permettant d'agir comme étant agents réducteurs et/ou donneurs d'électrons (Djeridane et al. 2006).

L'activité réductrice puissante observée pour les espèces de certaines régions par rapport à d'autres peut être due à la différence de conditions climatiques et surtout édaphiques (Schmid and Bosser 1970), ou bien par la différence du génotype de l'espèce elle-même (Brancourt-Hulmel et al. 1997).



## Résultat et discussion

Tableau 4 : Résultats des différents tests phytochimiques préliminaires détectant la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires dans *Ephedra alata alenda*.

Plante	<i>Ephedra alata alenda</i> Ouargla		<i>Ephedra alata</i> Batna		<i>Ephedra alata</i> El'Oeud	<i>Ephedra alata</i> Oum el Bouaghi	<i>Ephedra alata</i> Sétif	<i>Ephedra alata</i> Palestine	<i>Ephedra aphylla</i> Jordanie	<i>Ephedra alata</i> Jordanie	<i>Ephedra campylopoda</i> Liban
	Partie aérienne	Partie souterraine	Partie aérienne	Partie souterraine	Partie aérienne	Partie aérienne	Partie aérienne	Partie aérienne	Partie aérienne	Partie aérienne	Partie aérienne
Extrait	Aqueux		Organique		Méthanolique	Différents extraits	Différents extraits	Éthanolique	Méthanolique	Butanolique	Méthanolique
Flavonoïdes	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Anthocyanes	-	-	-	-	/	+	/	/	/	/	-
Tanin	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
(catéchiques)											
Anthraquinone	-	-	-	+	/	/	/	/	/	/	-
Alcaloïdes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Composé réducteur	+	+	/	/	/	/	/	+	/	/	+
Terpénoïdes	-	-	+	+	/	+	/	/	+	/	+
Stéroïde	/	/	+	+	+	+	-	-	-	/	+
Cardinolides	/	/	/	/	/	+	/	/	/	/	/

## Résultat et discussion

Saponoside	/	/	/	/	/	/	+	-	-	+	+
Coumarines	/	/	/	/	/	-	/	/	/	/	/
Glycoside	/	/	/	/	/	/	+	/	/	+	/
Références	<b>NOS RESULTATS</b>		(AMINA et al. 2009)	(Digheche et al. 2019)	(Yahiaoui et al. 2018)	(Benkezim et Derradji 2017)	(Jaradat et al. 2015)	(Al Awaida et al. 2016)	(Al-Trad et al. 2018)	(Sabbah et al. 2019)	

+ : Présence.

- : Absence.

/ : Non testé.

## Résultat et discussion

Tableau 5: Teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en alcaloïdes dans différents extraits de différentes espèces de Ephedra.

Espèce	<i>Ephedra alata</i> Ouargla	<i>Ephedra alata</i> Ouargla	<i>Ephedra alata</i> Sétif	<i>Ephedra alata</i> Palestine	<i>Ephedra alata</i> Palestine	<i>Ephedra procera</i> Pakistan	<i>Ephedra alata</i> Allemagne	<i>Ephedra foliata</i> Allemagne	<i>Ephedra major</i> Allemagne	<i>Ephedra altissima</i> Allemagne	<i>Ephedra fragilis</i> Allemagne	<i>Ephedra foeminea</i> Allemagne	<i>Ephedra distachya</i> Allemagne
Partie utilisée	Aérienne	Aérienne	Aérienne	Aérienne	Pas mentionnée	Aérienne	Aérienne	Aérienne	Aérienne	Aérienne	Aérienne	Aérienne	Aérienne
Extrait	MeOH/DCM	Aqueux	MeOH	MeOH	EtOH	Aqueux	MeOH/ H <sub>2</sub> O/ Acide Acétique (4/4/1.5)						
Polyphénols	291.45±4.37 mg EAG/g (MeOH)	69.01 mg EAG/g	105,12 mg EAG/g	47.62 ±0.94 mg EAG/g	101.2 ±0.9 mg EAG/g EtOH (80%)	117.01 ± 0.78 µg EAG/mg	53.3±0.1 mg EAG/g	52.6±0.1 mg EAG/g	26.2±0.4 mg EAG/g	16.4±0.1 mg EAG/g	7.7±0.1 mg EAG/g	6.8±0.4 mg EAG/g	27.0±0.4 mg EAG/g
Flavonoïdes	128.69±2.38 mg ER/g (DCM)	124.23 mg QE/g	1,03 mg QE/g	54.66 ±0.12 mg RU/g	19.5 ±0.3 mg EC/g EtOH (95%)	20.7 ±0.21 µg QE/mg	2.8±0.0 mg QE/g	2.5±0.0 mg QE/g	1.3±0.2 mg QE/g	2.0±0.0 mg QE/g	0.5±0.2 mg QE/g	0.6±0.2 mg QE/g	2.1±0.3 mg QE/g
Alcaloïdes	/	/	/	/	/	/	/	/	14.8±1.9 mg /g	/	0.2±0.0 mg /g	0.1±0.0 mg /g	15.8±2.0 mg /g
Référence	(Kebili. 2016)	(Amani and Loubna 2018)	(Benkezim et Derradji 2017)	(Jaradat et al. 2015)	(Al-Rimawi et al. 2017)	(Nasar et al. 2019)	(Ibragic and Sofić 2015)	(Ibragic and Sofić 2015)	(Ibragic and Sofić 2015)	(Ibragic and Sofić 2015)	(Ibragic and Sofić 2015)	(Ibragic and Sofić 2015)	(Ibragic and Sofić 2015)

EQ : Equivalent quercétine / EC : Equivalent catéchine / EAG : Equivalent Acide gallique

## Résultat et discussion

---

MeOH : Extrait méthanolique / EtOH : Extrait éthanolique / DCM : Extrait dichlorométhane.

## Résultat et discussion

Tableau 6: Résultats des tests DPPH, FRAP et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de différents extraits de différentes espèces de Ephedra

Espèce	<i>Ephedra alata</i> Ouargla	<i>Ephedra alata</i> Oum el Bouaghi	<i>Ephedra alata</i> Palestine	<i>Ephedra alata</i> Palestine	<i>Ephedra alata</i> Jordanie	<i>Ephedra aphylla</i> Jordanie	<i>Ephedra pachyclada</i> Iran	<i>Ephedra strobilacea</i> Iran	<i>Ephedra procera</i> Iran	<i>Ephedra sarcocarpa</i> Iran	<i>Ephedra laristanica</i> Iran	<i>Ephedra pachycla</i> Iran	<i>Ephedra Procera</i> Iran
Partie utilisée	Aérienne	Aérienne	aérienne	Pas mentionnée	Aérienne	aérienne	aérienne	aérienne	aérienne	aérienne	Pas mentionnée	aérienne	Aérienne
Extrait	MeOH	MeOH	MeOH	EtOH (80%)	BuOH	MeOH	MeOH	MeOH	MeOH	MeOH	MeOH	Aqueux	EtOH
DPPH (IC50)	0.26±0.013 mg/ml	30,304 mg/ml	16.03 µg/ml	78 µg/ml	66.4±0.55 µg/ml	/	/	/	/	5.3±0.027 mg/ml	4.6±0.019 mg/ml	55.53 ±0.5 µg/ml	0.056 mg/ml
FRAP	419,12 mg EAA/g	/	/	21.3 ±0.4 mmol Fe <sup>2+</sup> /g (éthanol 80%)	/	/	1.56 ± 0.05 mmol QE/g	1.61 ± 0.08 mmol QE/g	1.6 ± 0.09 mmol QE/g	6.7 ± 0.16 µM QE/g	2.1±0.07 mmol QE/g	/	/
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	/	/	/	/	/	251µg/ml	/	/	/	/	/	/	/
Référence	(Kebili 2016)	(Yahaiou et al. 2018)	(Jaradat et al. 2015)	(Al-Rimawi et al. 2017)	(Al-Trad et al. 2018)	(Al Awaida et al. 2016)	(Parsaeimehr et al. 2010)	(Parsaeimehr et al. 2010)	(Parsaeimehr et al. 2010)	(Rustaiyan et al. 2011a)	(Rustaiyan et al. 2011)	(Ghasemi et al. 2014)	(Dehkordi et al. 2015)

QE : Equivalent querceting.

EAA : Equivalent Acide ascorbique

# Conclusion

## Conclusion

---

Le présent travail vise à estimer la connaissance d'une plante médicinale, *Ephedra alata alenda*, par la population de Ghardaïa. Selon les résultats de l'enquête ethnobotanique, 31.5% de l'échantillon de 200 sujets enquêtés ignorent totalement la plante, 9.5% connaissent la plante mais ignorent ses utilisations et 59% connaissent au moins l'une de ses utilisations. Les membres de l'échantillon enquêté se mettent globalement en accord sur l'administration par voie orale d'un bouillât de tiges à l'état sec, collectées à n'importe quelle saison, avec certaines précautions d'utilisation. La plupart des utilisations de la plante citées par les sujets questionnés sont cohérentes avec ce qui est mentionné dans la littérature. On cite principalement, un effet supposé pour le traitement du cancer (43%), un effet sur les glandes (Problème de l'utérus, Prostate, Thyroïde, Production de lait pour les femmes qui allaitent...etc.), un effet antidiabétique, antimicrobien et antiasthmatique.

Le screening phytochimique a mis en évidence la présence de diverses classes de métabolites secondaires: les alcaloïdes et les composés réducteurs dans les deux parties de la plante, les flavonoïdes et les tanins sont uniquement indiqués dans la partie aérienne.

Après avoir étudié et examiné de nombreuses études précédentes pour leurs travaux de dosage de composés phénoliques totaux et de flavonoïdes, et d'estimation de l'activité antioxydante de ses extraits, nous avons pu conclure que l'*Ephedra alata* représente une source naturelle abondante en métabolites secondaires et agents antioxydants et peut ainsi prévenir le stress oxydatif, tout en signalant sa toxicité à fortes doses.

La pandémie internationale inattendue de covid-19, correspondante à notre année universitaire 2019-2020, suivie de ses séquelles, nous ont empêchés de tester pratiquement le pouvoir antioxydant et les teneurs en métabolites secondaires (polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins...) de nos propres extraits aqueux obtenu de l'espèce *Ephedra alata alenda* d'une région aride de l'Algérie (Ouargla), préparés selon un protocole proposé par la population pour le traitement d'une maladies ( cancer) qui peut être guérie grâce à la richesse de l'espèce en métabolites secondaires selon une mécanisme connue pour le combat de ce type de maladies ; le pouvoir antioxydant. Ainsi, comme perspectives, on suggère la réalisation ultérieure de cette partie pratique tout en améliorant l'étude phytochimique avec des analyses chromatographiques (HPLC, CCM ...).

# **Références**

## **Bibliographiques**

- 01- ABDEL-KADER, M. S., F. F. KASSEM AND R. M. ABDALLAH Two alkaloids from *Ephedra aphylla* growing in Egypt. *Natural Product Sciences*, 2003, 9(2), 52-55.
- 02- ABOURASHED, E. A., A. T. EL-ALFY, I. A. KHAN AND L. WALKER *Ephedra* in perspective—a current review. *Phytotherapy research*, 2003, 17(7), 703-712.
- 03- ABULA, T., S. RAO, A. MENGISTU, S. WORKU, et al. *Dawit*. Pharmacology-Lecture notes for Health Science Students. Ethiopia Public Health Training Initiative, The Carter Center, 2004.
- 04- ADDITIVES, E. P. O. F. AND N. S. A. T. FOOD Scientific Opinion on safety evaluation of *Ephedra* species for use in food. *EFSA Journal*, 2013, 11(11), 3467.
- 05- AISSAOUI, H. Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de type flavonique d'une espèce de la famille des Verbenacées. Département de chimie. Constantine: Université Mentouri Constantine, faculté des sciences exactes, 2010, 115.
- 06- AKROUM, S. Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels 2011.
- 07- AL-AWAIDA, W., B. J. AL-HOURANI, M. AKASH, W. H. TALIB, et al. In vitro anticancer, anti-inflammatory, and antioxidant potentials of *Ephedra aphylla*. *Journal of cancer research and therapeutics*, 2018, 14(6), 1350.
- 08- AL-RIMAWI, F., S. ABU-LAFI, J. ABBADI, A. A. ALAMARNEH, et al. Analysis of phenolic and flavonoids of wild *Ephedra alata* plant extracts by LC/PDA and LC/MS and their antioxidant activity. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 2017, 14(2), 130-141.
- 09- AL-SNAFI, A. E. Therapeutic importance of *Ephedra alata* and *Ephedra foliata*-A review. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017, 4(2), 399-406.
- 10- AL-TRAD, B., M. A. AL-QUDAH, M. AL-ZOUBI, R. MUHAIDAT, et al. In-vitro and in-vivo antioxidant activity of the butanolic extract from the stem of *Ephedra alata*. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 2018, 11(3), 1239-1245.
- 11- AMAKURA, Y., M. YOSHIMURA, S. YAMAKAMI, T. YOSHIDA, et al. Characterization of phenolic constituents from *Ephedra* herb extract. *Molecules*, 2013, 18(5), 5326-5334.
- 12- AMANI, A. AND B. LOUBNA Etude phytochimique et Evaluation de l'activité anti-inflammatoire d'une plante médicinale: *Ephedra alata* alenda 2018.
- 13- AMINA, S. T., R. MERGHEM AND L. DEHIMAT Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée: *Thymus hirtus*. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 2009, 25-29.

- 14- AZZI, R. Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien: enquête ethnopharmacologique; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar. 2013.
- 15- BAMFORTH, C. Perceptions of beer foam. *Journal of the Institute of Brewing*, 2000, 106(4), 229-238.
- 16- BARNES, J., L. ANDERSON AND D. PHILLIPSON Sage. *Herbal medicines* 2007.
- 17- BECHERUCCI, S., E. MORELLI, C. CECCHI AND M. MENABUONI ADOLESCENZA E SOSTANZE PSICOTROPE.
- 18- BELGACEMI, M. AND A. DOU Etude des effets secondaires au cours d'un traitement ethnobotanique par *Ephedra alata* DC 2019.
- 19- BELLAKHDAR, J. La pharmacopée marocaine traditionnelle. *Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*, 1997, 189.
- 20- BENGUERBA, A. Etude phytochimique et de la phase butanolique de l'espèce *Inula crithmoides* L 2008.
- 21- BENHAMZA, L. AND P. Y. HAMDY Effets biologiques de la petite centaurée *Erythraea centaurium* (L.) Pers 2008.
- 22- BENZIE, I. F. AND J. STRAIN. [2] Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. In *Methods in enzymology*. Elsevier, 1999, vol. 299, p. 15-27.
- 23- BENZIE, I. F. AND J. J. STRAIN The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 1996, 239(1), 70-76.
- 24- BEZZAZ, N. Détermination structural des métabolites secondaires et extraction des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia*. Université de M'Sila-Mohamed Boudiaf, 2013.
- 25- BLUMENTHAL, M., W. BUSSE, A. GOLDBERG, J. GRUENWALD, et al. The complete german commission E. *Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicine*. Austin, TX: American Botanical Council, 1998.
- 26- BOUGATEF, A., M. HAJJI, R. BALTI, I. LASSOUED, et al. Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food chemistry*, 2009, 114(4), 1198-1205.

- 27- BOULLARD, B. *Plantes & champignons: dictionnaire*. Edition ed.: De Boeck Secundair, 1997. ISBN 2909455998.
- 28- BOUYAHYA, A., J. ABRINI, A. ET-TOUYS, F. LAGROUH, et al. Analyse phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des échantillons du miel marocain. *Phytothérapie*, 2018, 16(S1), S220-S224.
- 29-BRANCOURT-HULMEL, M., V. BIARNÈS-DUMOULIN AND J. DENIS Points de repère dans l'analyse de la stabilité et de l'interaction génotype-milieu en amélioration des plantes 1997.
- 30- BRUNETON, J. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Tec & Doc/Lavoisier, Paris, 2009, 279-281.
- 31- CASTRO, J., B. KRISHNA AND R. K. MARCUS Liquid Chromatography-Particle Beam Electron Ionization Mass Spectrometry Method for Analysis of Botanical Extracts: Evaluation of Ephedrine Alkaloids in Standard Reference Materials. *Journal of AOAC International*, 2010, 93(6), 1788-1797.
- 32- CATIER, O. AND D. ROUX *Botanique pharmacognosie phytothérapie*. Cahiers du préparateur en pharmacie. Groupe Liaisons, 2007.
- 33- CAVENEY, S., D. A. CHARLET, H. FREITAG, M. MAIER-STOLTE, et al. New observations on the secondary chemistry of world Ephedra (Ephedraceae). *American journal of botany*, 2001, 88(7), 1199-1208.
- 34- CECCON, J. *Synthèse Totale d'Alcaloïdes Polyhydroxylés: la (-)-Swainsonine, la (+)-6-Épicastanospermine, la (+)-Castanospermine et la (-)-Détoxinine*. 2006.
- 35- CELIKTAS, O. Y., E. BEDIR AND F. V. SUKAN In vitro antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide. *Food Chemistry*, 2007, 101(4), 1457-1464.
- 36- CHAOUKI, M. AND A. ZEDDOURI *Etude de la Vulnérabilité à la Pollution Chimique des Eaux Souterraines (ZNS) de la Région d'Ouargla, Sud-Est Algérien*. *Ḥawliyāt al-'Ulūm wa-al-Tiknūlijyā*, 2015, 281(5389), 1-11.
- 37- CHEBOUAT, E., B. DADAMOUSA, S. GHARABLI, N. GHERRAF, et al. Assessment of antimicrobial activity of flavonoids extract from *Ephedra alata*. *Der Pharmacia Lettre*, 2014, 6(3), 27-30.
- 38- CHEN, W.-L., T.-H. TSAI, C. C. YANG AND T. B. KUO Effects of ephedra on autonomic nervous modulation in healthy young adults. *Journal of ethnopharmacology*, 2010, 130(3), 563-568.

- 39- CHEVALLIER, A. *The encyclopedia of medicinal plants*. Edition ed., 1996. ISBN 0789410672.
- 40- CHOI, H. J., J. H. SONG, K. S. PARK AND D. H. KWON Inhibitory effects of quercetin 3-rhamnoside on influenza A virus replication. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2009, 37(3-4), 329-333.
- 41- CILLARD, J. AND P. CILLARD Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oleagineux, corps gras, lipides*, 2006, 13(1), 24-29.
- 42- COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 1999, 12(4), 564-582.
- 43- DACOSTA, Y. *Les phytonutriments bioactifs: 669 références bibliographiques*. Edition ed.: Ed. Yves Dacosta, 2003. ISBN 2951822006.
- 44- DAOUDI, A., H. HROUK, R. BELAIDI, I. SLIMANI, et al. Valorisation de *Ruta montana* et *Ruta chalepensis*: étude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *J Mater Environ Sci*, 2016, 7, 926-935.
- 45- DEHKORDI, N. V., M. A. KACHOUIE, A. G. PIRBALOUTI, F. MALEKPOOR, et al. Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of the extract of *Ephedra procera* fisch. et meyer. *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*, 2015, 72, 341-345.
- 46- DELATTRE, J., J.-L. BEAUDEUX AND D. BONNEFONT-ROUSSELOT Radicaux libres et stress oxydant(aspects biologiques et pathologiques) 2005.
- 47- DERBEL, S., B. TOUZARD, M. A. TRIKI AND M. CHAIEB Seed germination responses of the Saharan plant species *Ephedra alata* ssp. *alenda* to fungicide seed treatments in the laboratory and the field. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 2010, 205(7), 471-474.
- 48- DESCHEEMAEEKER, K. *Nutri-et phytothérapie. Dveloppements rcents-1*. Edition ed.: Garant, 2004. ISBN 9044110586.
- 49- DESMIER, T. *Les antioxydants de nos jours: définition et applications*. éditeur inconnu, 2016.
- 50- DI CARLO, G., N. MASCOLO, A. A. IZZO AND F. CAPASSO Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life sciences*, 1999, 65(4), 337-353.
- 51- DONZO, M., A. SARR, M. DIOP, B. SAM, et al. Dosage des flavonoïdes totaux et Détermination du pouvoir antioxydant de l'extrait brut des écorces de tronc de *Uapaca*

- togoensis (Aub. et Lean.). Pax. Revue Elwihat pour les Recherches et Etudes, 2015, 8(1), 11-18.
- 52- DOWNARD, A. J., A. D. RODDICK AND A. M. BOND Covalent modification of carbon electrodes for voltammetric differentiation of dopamine and ascorbic acid. *Analytica Chimica Acta*, 1995, 317(1-3), 303-310.
- 53- DUNET, J. Réaction de Michael et de Mannich appliquées à des arylcyclohexa-2, 5-diènes en vue de la synthèse d'alcaloïdes de type aspidosperma et morphinanes. Bordeaux 1, 2009.
- 54- EBADI, M. Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine, Florida. In.: Taylor & Francis, 2007.
- 55- ELQAJ, M., A. AHAMI AND D. BELGHYTI La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique" ressources naturelles et antibiotiques". Maroc, 2007.
- 56- ESPINOZA, S. E., H. GUO, N. FEDARKO, A. DEZERN, et al. Glutathione peroxidase enzyme activity in aging. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 2008, 63(5), 505-509.
- 57- GHASEMI, M., M. AZARNIA, M. JAMALI, G. MIRABOLGHASEMI, et al. Protective effects of Ephedra pachyclada extract on mouse models of carbon tetrachloride-induced chronic and acute liver failure. *Tissue and Cell*, 2014, 46(1), 78-85.
- 58- GHEDJATI, N. Toxicité aiguë et subaiguë des alcaloïdes naturels et synthétiques des graines du datura stramonium. 2018.
- 59- GHOURRI, M., L. ZIDANE AND A. DOUIRA Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 2013, 17(1), 2388-2411.
- 60-GODE, J. Les cancers en Afrique francophone. ALIAM contre le cancer [www.aliamorg](http://www.aliamorg), 2013, 113.
- 61- GROSS, G. G. Enzymes in the biosynthesis of hydrolyzable tannins. In *Plant polyphenols*. Springer, 1992, p. 43-60.
- 62- GROSS, K. C. AND P. G. SEYBOLD Substituent effects on the physical properties and pKa of aniline. *International Journal of Quantum Chemistry*, 2000, 80(4-5), 1107-1115.
- 63- GUILLAUME, D. AND Z. CHARROUF Saponines et métabolites secondaires de l'arganier (*Argania spinosa*). *Cahiers Agricultures*, 2005, 14(6), 509-516 (501).
- 64- GUILLOUTY, A. Plantes médicinales et antioxydants. Université Toulouse III-Paul Sabatier, 2016.

- 65- HALLIWELL, B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *Journal of neurochemistry*, 2006, 97(6), 1634-1658.
- 66- HARBORNE, J. Flavonoid pigments, \_in:“Herbivores, Their Interaction with Secondary Plant Metabolites”, GA Rosenthal and DH Janzen, eds 1979.
- 67- HASSANPOUR, S., N. MAHERISIS AND B. ESHRATKHAH Plants and secondary metabolites (Tannins): A Review 2011.
- 68- HEGAZI, G. AND T. EL-LAMEY Callus induction and extraction of ephedrine from *Ephedra alata* Decne. cultures. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 2011, 11(1), 19-25.
- 69- HERNES, P. J. AND J. I. HEDGES Tannin signatures of barks, needles, leaves, cones, and wood at the molecular level. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2004, 68(6), 1293-1307.
- 70- HIGASHI, Y., K. NOMA, M. YOSHIZUMI AND Y. KIHARA Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circulation journal*, 2009, 73(3), 411-418.
- 71- HILTON, J. W. Les antioxydants: rôles, types et nécessités dans les aliments pour animaux de compagnie. *The Canadian Veterinary Journal*, 1989, 30(10), 834.
- 72- HUANG, J. AND R. A. PRICE Estimation of the age of extant *Ephedra* using chloroplast rbc L sequence data. *Molecular Biology and Evolution*, 2003, 20(3), 435-440.
- 73- HUTZLER, P., R. FISCHBACH, W. HELLER, T. P. JUNGBLUT, et al. Tissue localization of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy. *Journal of Experimental Botany*, 1998, 49(323), 953-965.
- 74- IBRAGIC, S. AND E. SOFIĆ Chemical composition of various *Ephedra* species. *Bosnian journal of basic medical sciences*, 2015, 15(3), 21.
- 75- ISERIN, P., M. MASSON, J. RESTELLINI, E. YBERT, et al. *Larousse des plantes médicinales identification, préparation, soins*. Editions Larousse, Paris, 2001, 15.
- 76- JARADAT, N., F. HUSSEN AND A. AL ALI Preliminary phytochemical screening, quantitative estimation of total flavonoids, total phenols and antioxidant activity of *Ephedra alata* Decne. *J. Mater. Environ. Sci*, 2015, 6(6), 1771-1778.
- 77- JAVANMARDI, J., C. STUSHNOFF, E. LOCKE AND J. VIVANCO Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food chemistry*, 2003, 83(4), 547-550.
- 78- JEAN-ANTOINE, A. Consommation de tanins par le chevreuil et niveau d'infestation par des strongles gastro-intestinaux. 2017.

- 79- KARUMI, Y. Identification of Active Principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ogugbuaja. *J. Med. Sci*, 2004, 4(3), 179-182.
- 80- KEBILI, Z. Contribution à l'étude de quelques activités biologiques des extraits de *Ephedra alata* de la région de Ouargla. 2016.
- 81- KHAN, A. M., R. A. QURESHI, F. ULLAH, S. A. GILANI, et al. Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. *Journal of medicinal plants research*, 2011, 5(25), 6055-6060.
- 82- KRISHNAMOORTHY, K., R. S. GOKHALE, A. Q. CONTRACTOR AND A. KUMAR Novel label-free DNA sensors based on poly (3, 4-ethylenedioxythiophene). *Chemical Communications*, 2004, (7), 820-821.
- 83- LECASBLE, C. Le marc de café comme source atypique de tanins condensés dans le contrôle intégré des nématodes gastro-intestinaux chez les petits ruminants du Yucatan, MEXIQUE. 2012.
- 84- LEHUCHER-MICHEL, M., J. LESGARDS, O. DELUBAC, P. STOCKER, et al. Stress oxydant et pathologies humaines: Bilan et perspectives préventives. *La Presse médicale* (1983), 2001, 30(21), 1076-1081.
- 85- LUTZ, L. Sur le role biologique du tanin dans la cellule vegetale. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 1928, 75(1), 9-18.
- 86- MA, G., S. A. BAVADEKAR, Y. M. DAVIS, S. G. LALCHANDANI, et al. Pharmacological effects of ephedrine alkaloids on human  $\alpha$ 1-and  $\alpha$ 2-adrenergic receptor subtypes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2007, 322(1), 214-221.
- 87- MAROUF, A. AND J. REYNAUD *La botanique de A à Z: 1 662 définitions*. Edition ed.: Dunod, 2007. ISBN 2100528300.
- 88- MASSAUX, C. Polyphénols: des alliés pour la santé. Abeilles & Cie, 2012, 149, 4.
- 89- MEHINAGIC, E., E. BOURLES AND F. JOURJON Composés des fruits d'intérêt nutritionnel: impact des procédés de transformation sur les polyphénols. *Revue Suisse de Viticulture Arboriculture etHorticulture*, 2011, 43(6), 364.
- 90- MIDDLETON JR, E. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. *The flavonoids: advances in research since 1986*, 1993, 337-370.
- 91- MOJAB, F., M. KAMALINEJAD, N. GHADERI AND H. R. VAHIDIPOUR Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2010, (2), 77-82.

- 92- MUNIZ, M. N. Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs: la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine. 2006.
- 93- N'GUESSAN, K., B. KADJA, G. ZIRIHI, D. TRAORÉ, et al. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 2009, 6(1).
- 94- NASAR, M. Q., A. T. KHALIL, M. ALI, M. SHAH, et al. Phytochemical analysis, *Ephedra Procera* CA Mey. Mediated green synthesis of silver nanoparticles, their cytotoxic and antimicrobial potentials. *Medicina*, 2019, 55(7), 369.
- 95- NAWWAR, M. A., H. I. EL-SISSI AND H. H. BARAKAT Flavonoid constituents of *Ephedra alata*. *Phytochemistry*, 1984, 23(12), 2937-2939.
- 96- OLOYEDE, O. Chemical profile of unripe pulp of *Carica papaya*. *Pakistan journal of nutrition*, 2005, 4(6), 379-381.
- 97- ORBAN, J.-C. Oxygène, stress oxydant. In *Désordres métaboliques et réanimation*. Springer, 2011, p. 427-437.
- 98- OULD EL HADJ M., M. HADJ-MAHAMMED AND H. ZABEIROU Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional est). *Courrier du savoir* vol3, 2003, 47-51.
- 99- OZENDA, P. *Flora and vegetation of the Sahara*. Edition ed.: CNRS, 1991. ISBN 2222046149.
- 100- PARSAEIMEHR, A. L-Phenylalanine increased Ephedrine and Pseudoephedrine production in *E. procera* suspension culture. IXI International Symposium "Non-traditional Plant Cultivation Selection and Genetics Ecology and Health" Alushta, Ukraine, 2010, 519-525.
- 101- PARSAEIMEHR, A. Ephedra alkaloids-Alkaloids derived by amination reaction: phenylalanine derived. Parsaeimehr A, Sargsyan E. Ephedra alkaloids-Alkaloids derived by amination reaction: phenylalanine derived. In *Natural Products*, 2013, 909-922.
- 102- PARSAEIMEHR, A., E. SARGSYAN AND K. JAVIDNIA A comparative study of the antibacterial, antifungal and antioxidant activity and total content of phenolic compounds of cell cultures and wild plants of three endemic species of *Ephedra*. *Molecules*, 2010, 15(3), 1668-1678.
- 103- PASTRE, J. Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. 2005.

- 104- PELLATI, F. AND S. BENVENUTI Determination of ephedrine alkaloids in Ephedra natural products using HPLC on a pentafluorophenylpropyl stationary phase. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 2008, 48(2), 254-263.
- 105- PIETTA, P.-G. Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 2000, 63(7), 1035-1042.
- 106- PINCEMAIL, J., C. HEUSELE, F. BONTÉ, R. LIMET, et al. Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. *Act Med Int*, 2001, 4, 18-23.
- 107- POPOVICI, C., I. SAYKOVA AND B. TYLKOWSKI Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH 2010.
- 108- PRICE, R. A. Systematics of the Gnetales: a review of morphological and molecular evidence. *International Journal of Plant Sciences*, 1996, 157(S6), S40-S49.
- 109- RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. *Toxicon*, 2001, 39(5), 603-613.
- 110- RHAZI, N. Mise au point de mélanges collants écologiques à partir des écorces d'Acacia mollissima du Maroc. Pau, 2015.
- 111- RICHARD, W. Nouvelle stratégie de fonctionnalisation de surfaces d'électrodes à base de sels de diazonium: application aux capteurs à antioxydants. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier, 2013.
- 112- RIRA, M. Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins 2006.
- 113- RUCH, R. J., S.-J. CHENG AND J. E. KLAUNIG Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*, 1989, 10(6), 1003-1008.
- 114- RUSTAIYAN, A., K. JAVIDNIA, M. H. FARJAM, F. ABOEE-MEHRIZI, et al. Antimicrobial and antioxidant activity of the Ephedra sarcocarpa growing in Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2011a, 5(17), 4251-4255.
- 115- RUSTAIYAN, A., K. JAVIDNIA, M. H. FARJAM, M. K. MOHAMMADI, et al. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of the methanolic extracts of Ephedra laristanica. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2011b, 5(24), 5713-5717.
- 116- SAHA TCHINDA, J.-B. Caractérisation et valorisation des substances extractibles de cinq essences camerounaises majeures de l'industrie du bois: Ayous, Moabi, Movingui, Padouk et Tali. Université de Lorraine, 2015.
- 117- SCHAUENBERG, P. AND F. PARIS *Guide des plantes médicinales: analyse, description et utilisation de 400 plantes*. Edition ed.: Delachaux et Niestlé, 2005. ISBN 2603019945.

- 118- SCHMID, M. AND J. BOSSER La végétation et les conditions édaphiques 1970.
- 119- SELLES, C. Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen: *Anacyclus pyrethrum* L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5 M. 2012.
- 120- SHABANA, M., Y. MIRHOM, A. GENENAH, E. ABOUTABL, et al. Study into wild Egyptian plants of potential medicinal activity. Ninth communication: hypoglycaemic activity of some selected plants in normal fasting and alloxanised rats. *Archiv fur experimentelle Veterinarmedizin*, 1990, 44(3), 389-394.
- 121- SHEKELLE, P. G., M. L. HARDY, S. C. MORTON, M. MAGLIONE, et al. Efficacy and safety of ephedra and ephedrine for weight loss and athletic performance: a meta-analysis. *Jama*, 2003, 289(12), 1537-1545.
- 122- SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology: Translation and Integration*, 1997, 82(2), 291-295.
- 123- SOARES, H. C. M. " The Chinese Phytotherapy: Oriental and Western Pathophysiological Aspects and Perspectives-The Example of *Ephedrae Decotum*" 2011.
- 124- SPEDDING, G., A. RATTY AND E. MIDDLETON JR Inhibition of reverse transcriptases by flavonoids. *Antiviral research*, 1989, 12(2), 99-110.
- 125- SUJA, K., A. JAYALEKSHMY AND C. ARUMUGHAN Antioxidant activity of sesame cake extract. *Food chemistry*, 2005, 91(2), 213-219.
- 126- TALBI, H., A. BOUMAZA, K. EL-MOSTAFA, J. TALBI, et al. Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Journal of Materials and Environmental Science*, 2015, 6(4), 1111-1117.
- 127- TARASCOU, I. Synthèse et caractérisation de procyanidines oligomères pour l'identification de tanins du raisin et du vin. Bordeaux 1, 2005.
- 128- TOMOFUJI, T., D. EKUNI, K. IRIE, T. AZUMA, et al. Preventive effects of a cocoa-enriched diet on gingival oxidative stress in experimental periodontitis. *Journal of periodontology*, 2009, 80(11), 1799-1808.
- 129- URQUIAGA, I. AND F. LEIGHTON Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological research*, 2000, 33(2), 55-64.
- 130- VALKO, M., D. LEIBFRITZ, J. MONCOL, M. T. CRONIN, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 2007, 39(1), 44-84.

- 131- VAMECQ, J., L. VALLÉE, L. STORME, P. GELÉ, et al. Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *La Lettre du pharmacologue* (Boulogne), 2004, 18(1), 16-23.
- 132- WANG, L., J.-H. YEN, H.-L. LIANG AND M.-J. WU Antioxidant effect of methanol extracts from lotus plumule and blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn.). *Journal of food and drug Analysis*, 2003, 11(1), 3.
- 133- WONG, C.-C., H.-B. LI, K.-W. CHENG AND F. CHEN A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food chemistry*, 2006, 97(4), 705-711.
- 134- YAHIAOUI, A., L. SILET AND W. MAZOUZ Contribution à l'étude des extraits de l'espèce *Ephédra alata* Alanda de la région de Sigus 2018.
- 135- YOSSSI, H., B. KAYA, C. TRAORÉ, A. NIANG, et al. *Les haies vives au Sahel: état des connaissances et recommandations pour la recherche et le développement*. Edition ed.: World Agroforestry Centre, 2006. ISBN 9290591951.
- 136- ZEGHAD, N. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Constantine: université Mentouri, 2009.
- 137- ZENG, L. Étude de la composition macromoléculaire du raisin et des vins: impact sur la qualité sensorielle. Bordeaux, 2015.



# **Annexes**

# Annexes

---

## Annexe 1

### Fiche d'enquête

Nom et prénom:                      Age:                      Sexe:                      Résidence:

Nom de la plante : Alenda :

Parties utilisées :                      Plante fraîche :                      plante sèche :

Période de cueillette :

Traitement :

Administration :

Mode de préparation traditionnelle :

Poids de drogues :                      Quantité d'eau :

Plante ou produits ajoutés:

Doses (adulte, enfant) :

Durée du traitement :

Prévention :

Toxicité :

# Annexes

---

## Annexe 2

### Réactifs utilisés dans le criblage phytochimique :

#### Réactif de Mayer :

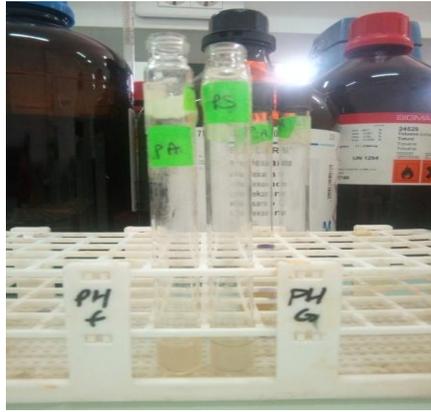
Iodure de potassium .....	25 g
Chlorure mercurique.....	6.77 g
Eau distillée .....	250 mL (Selles 2012)

#### Réactif de Wagner :

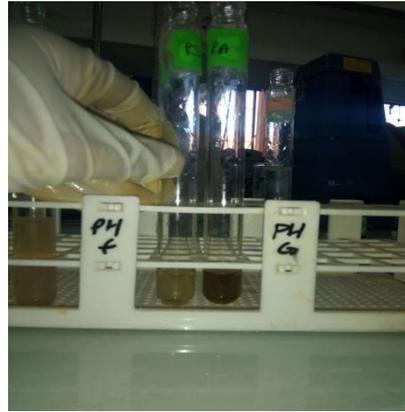
Iodure de potassium .....	2 g
Iode.....	1.27 g
Eau distillée .....	100 mL (Selles 2012)

# Annexes

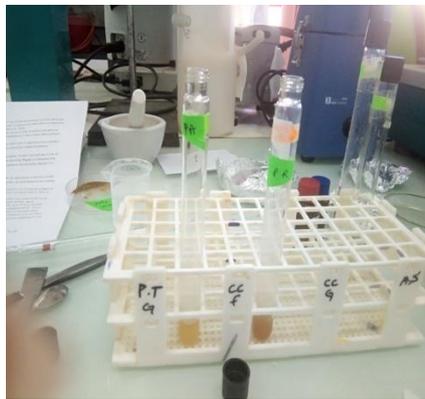
## Annexe 3



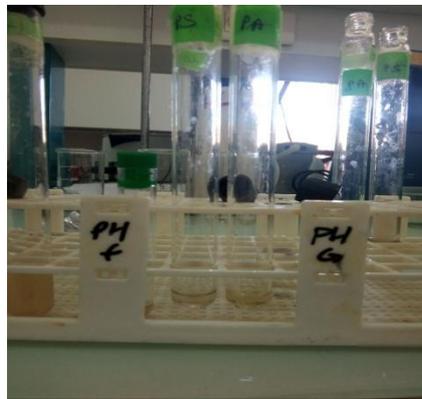
Anthocyane



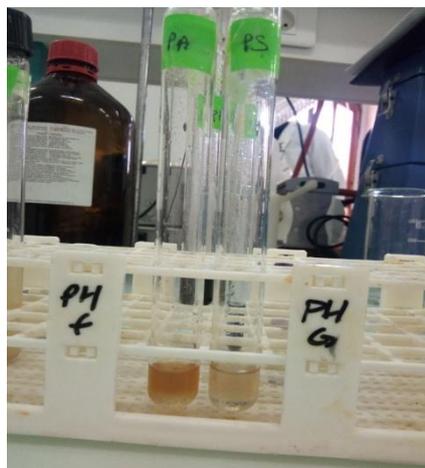
Antraquinone



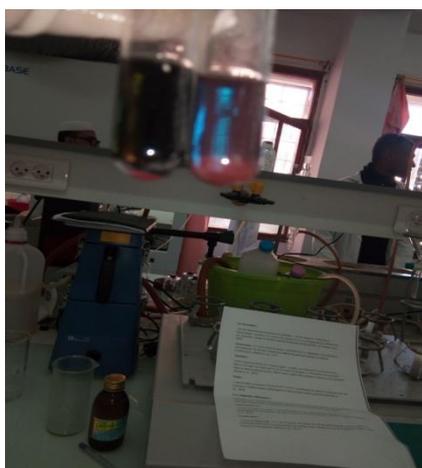
Flavonoïde



Alcaloïde



Terpénoïde



Composée réducteur

Figure 18 : Résultats des différents tests phytochimiques préliminaires.

## Annexes

---

## دراسة كيميائية نباتية ونشاط مضادات الأكسدة لمستخلصات الأنواع الإيفيدرا الألاتا

### ملخص

الدراسة الحالية هي جزء من المساهمة في تثمين نبات طبي من جنوب شرق الجزائر ، ينمو في منطقة ورقلة ، الإيفيدرا ألاتا علندة (الإيفيدرا) ، التي تيمتص بأهمية دوائية كبيرة في جميع أنحاء العالم وتشتهر بمقاومتها للجفاف. في هذه المذكرة ، تمثل الإيفيدرا ألاتا محل دراسة كيميائية نباتية و استقصاء نباتي عرقي بالاضافة إلى توليف مقارن لتأثيرها المضاد للأكسدة. بدأت الدراسة باستقصاء عرقي نباتي تم إجراؤه على 200 شخص من سكان غرداية (94 امرأة و 106 رجال). تُظهر المعلومات التي تم جمعها باستخدام الاستبيان ، على غرار ما ورد في الدراسات السابقة ، تنوع الأمراض التي يمكن علاجها بواسطة هذا النبات. أظهر الفحص الكيميائي النباتي وجود مستقلبات ثانوية عديدة في مستخلصات النبتة مثل القلويدات ، البوليفينول (التانينات والفلانويدات) ، والمركبات المرجعة. في النهاية ، أظهرت دراستنا الأدبية المقارنة أن نبات الإيفيدرا ألاتا الطبي له نشاط جيد مضاد للأكسدة ، والذي يمكن أن يكون بسبب ثرائه بالجزئيات النشطة بيولوجيًا (خاصة المركبات الفينولية). أظهرت الأنواع من المناطق القاحلة وشبه القاحلة أعلى مستويات المستقلبات الثانوية و النشاط. الكلمات الدالة: الإيفيدرا ألاتا علندة ، المسح العرقي النباتي ، DPPH ، مستقلبات ثانوية ، قلويدات.

### *Phytochemical study and antioxidant activity of extracts from the species Ephedra alata.*

#### Abstract

The present study is part of the contribution to the valorization of a medicinal plant from south-eastern Algeria, growing in the region of Ouargla, *Ephedra alata alenda* (Ephedraceae), of great pharmacological importance in the world and renowned for its resistance to drought.

In this thesis, *Ephedra alata alenda* will be the subject of a phytochemical study, an ethnobotanical survey and a comparative synthesis of its antioxidant effect.

The study began with an ethnobotanical survey carried out on a number of 200 subjects from the population of Ghardaïa (94 women and 106 men). The information collected using the questionnaire shows, like what is cited in the literature, the diversity of diseases treatable by this plant.

The phytochemical screening showed the presence of various secondary metabolites in plant extracts such as alkaloids, polyphenols (tannins and flavonoids), and reducing compounds.

In the end, our comparative literature study showed that the medicinal plant *Ephedra alata* has good antioxidant activity, which could be due to its richness in bioactive molecules (especially phenolic compounds). Species from arid and semi-arid regions showed the highest levels of secondary metabolites and activity.

**Key words:** *Ephedra alata alenda*, ethnobotanical survey, DPPH, secondary metabolites, alkaloids.