

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE &

BIOCHIMIEN°:



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA

VIEFILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE

OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUEE

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par : Salah Bochra Ahlam

Aid Safia

Djenidi Dounia

Intitulé

**Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de la
plante *Ephedra alata alenda* par le test de DPPH**

Soutenu devant le jury composé de :

Dr. DEHIMI Khadīdja

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Présidente

Dr. GUESMIA Khaoukha

Université Mohamed Boudiaf M'sila

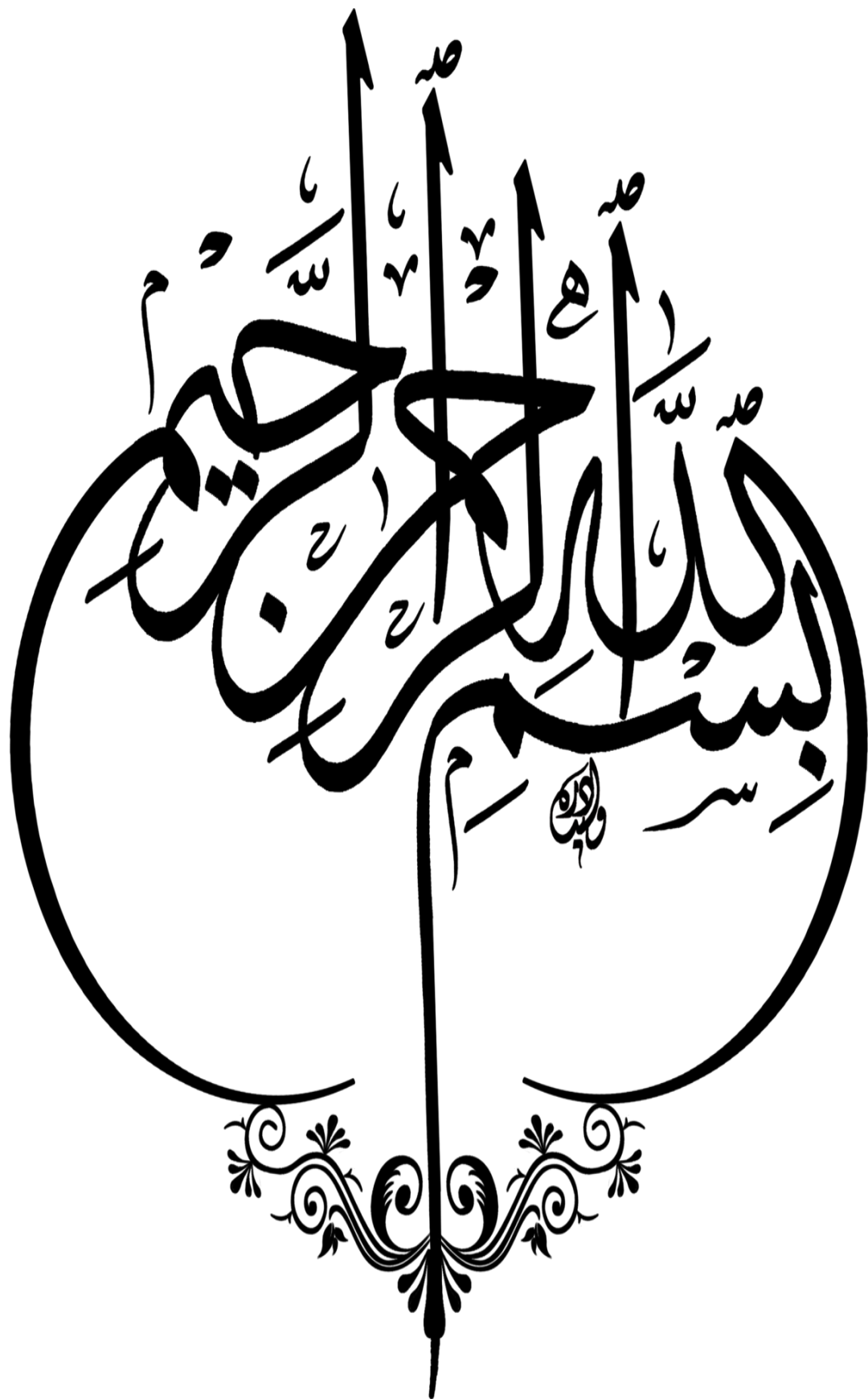
Rapporteuse

Dr. BENCHIKH Dalila

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Examinatrice

Année universitaire : 2021 /2022



Remercîment

Nous tenons tout d'abord à remercier le bon Dieu tout puissant et miséricordieux, qui nous adonné 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 GUESMIA KHAWKHA ,MAA à l'université de M sila qui a guidé et suivi le déroulement et l'exécution d travail de ce mémoire

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

*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 msila
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

الملخص

كجزء من تقييم النباتات الطبية الجزائرية، انتبهنا في هذه الدراسة إلى نبات إيفيدرا. كان الغرض من هذه الدراسة هو معرفة

البوليفينول الموجود فيها، ومقارنة النسبة المئوية للفلافونويد بالبوليفينول وتقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات التي يتم الحصول عليها

عن طريق النقع والغلي كشفت أن سيقان الإيفيدرا غنية بالبوليفينول والفلافونويد بنسبة $0.069 \pm 0.098; 93.69 \pm 2,998.85 \pm 205,53 \pm 3,61$

232,34 تم الحصول على أفضل النتائج في مستخلص الميثانول.

تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص من خلال اختبار DPPH الذي أظهر لنا نشاطاً جيداً لمستخلص الميثانول متبوعاً بمستخلص الماء.

كلمات مفتاحية: البوليفينول والفلافونويد و DPPH والنشاط المضاد للأكسدة وطرق الاستخراج.

Résumé

Dans le cadre de l'évaluation des plantes médicinales algériennes, nous avons prêté attention dans cette étude à la plante *Ephedra*. Le but de cette étude était de étudier ses polyphenols , de comparer le pourcentage de flavonoïdes avec les polyphénols et d'évaluer l'activité antioxydante des extraits que nous avons obtenus par macération et décoction.

Les analyses ont révélé que les tiges d'éphédra sont riches en polyphénols à $232,34 \pm 3,61$; $205,53 \pm 2,9$ $\mu\text{g EAG/mg}$ et en flavonoïdes à $98,85 \pm 0,098$; $93,69 \pm 0,069$ $\mu\text{g EAG/mg}$. Les meilleurs résultats ont été obtenus en extrait de méthanol.

L'évaluation de l'activité antioxydants de l'extrait d *Ephédra* par le test DPPH qui nous a montré une bonne activité de l'extrait de méthanol suivi de l'extrait d'eau.

Mots clé. polyphénol, flavonoïde, DPPH, activité antioxydante et méthodes d'extraction.

Abstract

As part of the evaluation of Algerian medicinal plants, we paid attention in this study to the *Ephedra* plant. The purpose of this study was to know the polyphenols in it, to compare the percentage of flavonoids with polyphenols and to evaluate the antioxidant activity of the extracts obtained by maceration and decoction

The analyses revealed that the *Ephedra* stems are rich in polyphenols at 232.34 ± 3.61 ; 205.53 ± 2.9 $\mu\text{g EAG/mg}$ and flavonoids at 98.85 ± 0.098 ; 93.69 ± 0.069 $\mu\text{g EAG/mg}$. The best results were obtained in methanol extract.

Evaluation of the antioxidant activity of the extract with the DPPH test which showed us a good activity of the méthanol extract followed by the water extract.

Key words. polyphenol, flavonoid, DPPH, antioxidant activity and extraction methods

Liste des abréviations

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

µl : Microlitre

Ac : Absorbance control

At : Absorbance test

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

BHT : Hydroxytoluènebutylé

CAT : Catalase

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH : 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

EAG : Equivalents de l'acide gallique E *Ephedra alata alanda*

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

E Met : Extrait méthanolique

EQ : Equivalents de quercétine

FeCl₃ : Chlorure ferrique

Fig : Figure

GPX : Glutathion peroxydase

H₂O : Eau distillée

H₂SO₄ : Acide sulfurique

HCl : Acide chlorhydrique

H₃PW₁₂O₄₀ : acide phosphotungstique

H₃OMo₁₂O₄₀ : acide phosphomolybdique

IC₅₀ : Concentration d'inhibition 50%

Mg EAG : Milligramme équivalent acide gallique

Mé : Masse de l'échantillon en gramme

Me : Masse de l'extrait sec en gramme

Met : Méthanol

MeOH : Méthanol

M : Molaire

MS : Matière Sèche

N : Normalité

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

R (%) : Rendement en pourcentage

SOD : Superoxyde dismutases

Tpm : Tour par minute

UV : Ultra-violet

V / V : volume par volume

µg EAG/mg d'extrait : microgramme d'équivalent en acide gallique par un milligramme
D'extraits sec

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I <i>Ephedra alata alenda</i>	2
Généralités sur la plante <i>Ephedra alata</i>	2
<i>Ephedra alata alenda</i>	2
Position systématique	2
Nom vernaculaire d' <i>Ephedra alata alenda</i>	2
Description botanique	2
Répartition géographique	3
Chimie de la plante	4
Utilisation traditionnelle	4
Pharmacologie	5
Toxicologie.....	6
Chapitre II Métabolites secondaires	7
Définition	7
Classification.....	7
Les polyphénols	7
Définition	7
Classification	8
a. Acides phénoliques	8
b. Flavonoïdes.....	8
c. Tannins	8
d. Coumarines	9
Terpénoides	9
Définition	9
Classification	9
Les alcaloïdes.....	9
Définition	9
Classification	10
a. Les pseudo-alcaloïdes	10
b. Les proto-alcaloïdes	10
c. Les alcaloïdes vrais.....	10
Chapitre III Le stress oxydatif	11
Définition des radicaux libres	11

Les Antioxydants	11
Types des Antioxydants	11
Antioxydants enzymatiques	11
CAT	11
Glutathion peroxydase (GPx)	12
Antioxydants Non Enzymatiques	12
Antioxydants non enzymatiques endogènes.	12
Antioxydants non enzymatiques exogènes	13
Les vitamines	13
Polyphénols	13
Chapitre IV Matériel et Méthodes.....	14
Matériel.....	14
Matériel végétal.....	14
Présentation du site de récolte	14
Méthodes	15
Préparation des extraits	15
Screening phytochimique.....	15
Dosage des polyphénols	17
Principe de dosage	17
Protocole de dosage	17
Dosage des flavonoïdes	17
Principe de dosage	17
Protocole de dosage	18
Evolution de l'activité anti radicalaire (DPPH).....	18
Chapitre V Résultat et Discussion.....	20
Rendement des extraits.....	20
Screening phytochimique.....	20
Dosage des poly phénols totaux	21
Dosage des flavonoïdes	23
Activité anti oxydante par le test DPPH.....	25
Conclusion	28

Liste des figures

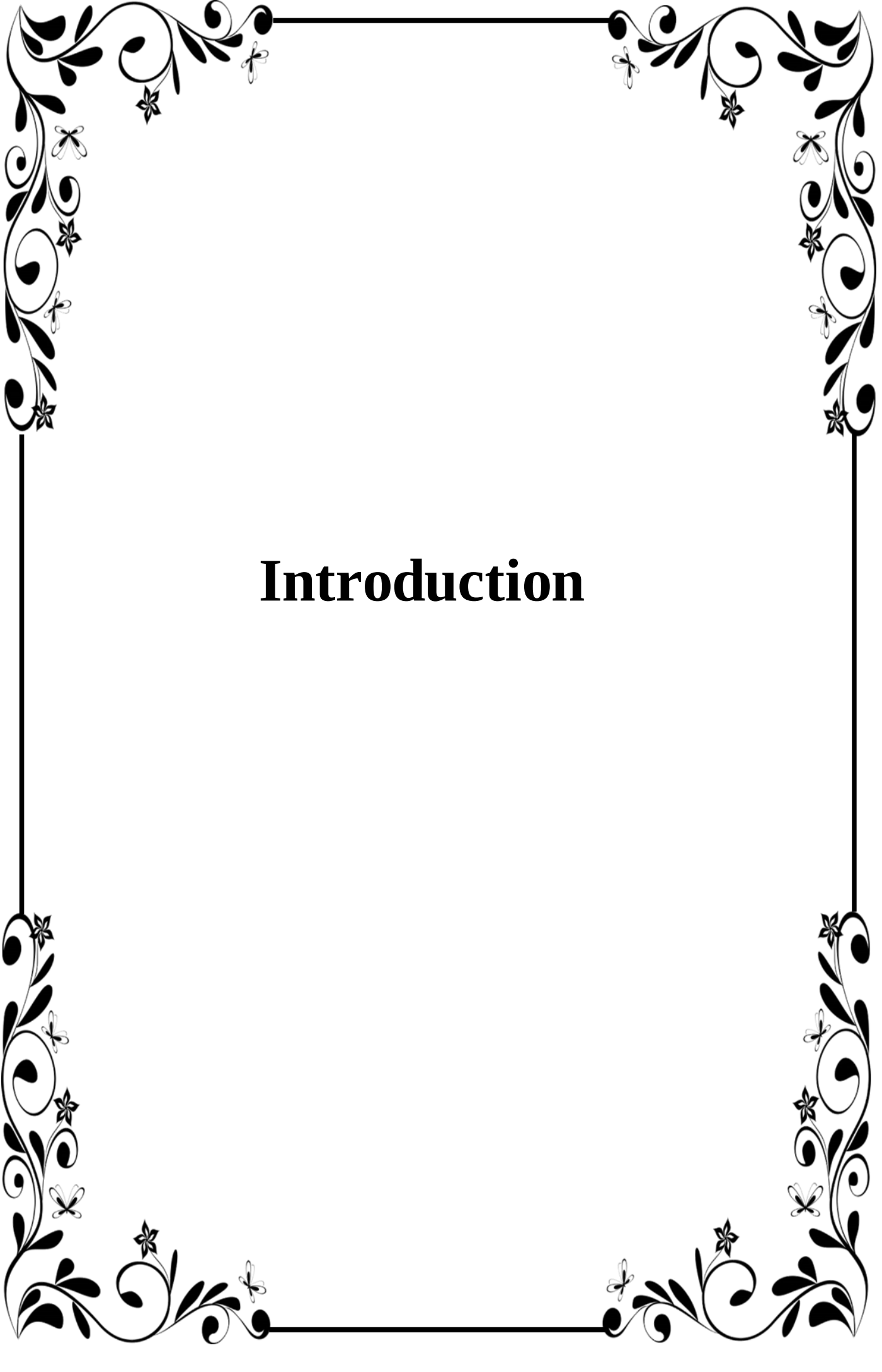
Figure 1 : Arbuste d'Ephedra alata	3
Figure 2 : Distribution de l'Ephédra dans le monde.....	4
Figure 3 : structure chimique des flavonoïdes.....	8
Figure 4 : Structure chimique de quelques alcaloïdes	10
Figure 5 : Localisation géographique du canton El Haourane (Carte touristique. ONAT).La zone d'étude Echelle : 1/1 000 00.....	14
Figure 6: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH•entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH)	18
Figure 7 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols.....	22
Figure 8 : Teneur en polyphénols d'extrait d'E-alata-alenda.....	22
Figure 9 : Courbe d'étalonnage de la quercitine pour le dosage des flavonoïdes	24
Figure 10 : Teneur en flavonoïdes d'extrait d'E-alata-alenda	24
Figure 11 : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire de l'extrait aqueux.....	25
Figure 12 : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire de l'EM	26
Figure 13 : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire de standard (BHT)	26
Figure 14 : IC 50 des différents standards et extraits d'E. alata.....	27

Listes Des Tableau

Tableau 1. Classification d'Ephedra alata alenda selon 2

Tableau 2 : rendement aspects des extrait de la plante E.alata.....

Tableau 3 : Résultats des différents tests phytochimiques préliminaires détectant la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires dans E.alataalenda 21

A decorative rectangular border with ornate floral and scrollwork patterns in each corner, connected by straight lines.

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'Antiquité pour soulager et traiter certaines maladies infectieuses chez l'homme. Parce qu'ils sont une source commune de médicaments sous forme de formulations traditionnelles ou d'ingrédients actifs pur. Les produits naturels des plantes fournissent de nouvelles sources d'activité biologique importante À propos de la maladie et de la santé humaine. (Xavier, 2019). et plusieurs plantes peuvent traiter de nombreux maux du quotidien, des simples affections digestives aux traitement des maladies chroniques comme le cancer, les ulcères, le diabète, etc.

Aujourd'hui encore au 21ème siècle, plus de 80% de la population africaine utilise des médicaments fabriqués principalement à partir de matériel végétal cultivé dans son environnement. Exister à l'échelle mondiale, près de 25 % des prescriptions sont à base de plantes, 60 à 70 % des médicaments antibactériens et anticancéreux sont des substances naturelles (Rates 2001). L'Algérie, par la richesse et la diversité de sa flore, constitue un véritable réservoir phylogénétique, avec environ 4000 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires (Hamel, 2018) 'éphédra est l'une des plantes médicinales trouvées en Algérie qui fera l'objet de ce mémoire, Nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antioxydante de l'ephedraalata et à la réalisation de tests phytochimiques .

Notre recherche sera divisée en deux grandes parties, la première est consacrée à un résumé bibliographique contenant des informations générales sur la plante, sa composition phytochimiques et activité antioxydante .

La deuxième partie explique matériel et méthodes utilisés aux différentes étapes de nos travaux expérimentaux. On commence cette partie par la préparation des extraits de plantes, puis analyse phytochimique préliminaire des plantes dans la troisième étape est le dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux, et enfin l'évaluation de l'activité anti-oxydantes, Enfin nous présenter nos résultats de discussions.

A decorative rectangular border with ornate floral and scrollwork patterns in each corner, connected by thin horizontal and vertical lines.

Chapitre I

Ephedra alata alenda

I. *Ephedra alata alenda*

Généralités sur la plante *Ephedra alata*

Le genre *Ephedra* est le seul genre représenté par la famille des Ephedraceae, il inclut environ 40 espèces dans le monde (Evans, 2009). L'espèce *Ephedra alata* Decne est une plante médicinale originaire d'Asie, y compris l'Arabie Saoudite (Al-Qarawi et al., 2011). Elle est commune dans le Sahara du Maroc à la Libye jusqu'à l'Égypte et l'Arabie Saoudite (Caveney et al., 2001). En Algérie, *E. alata* se trouve dans le Sahara septentrional et occidental au niveau des terrains sableux, des regs et les lits sablonneux des oueds. Elle est même rencontrée dans le sable de l'étage tropical et la Hamada de Tinghert (Ozenda, 1991). Elle se développe habituellement dans les pentes sèches et des côtés de montagnes (Limberger et al., 2013).

Position systématique

La systématique d'*Ephedra alata*, est donnée dans le tableau 1.

Tableau 1. Classification d'*Ephedra alata alenda* selon (Ozenda, 19)

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Gymnospermes
Classe	Gnetopsida
Ordre	Ephedrales
Famille	Ephedraceae
Genre	<i>Ephedra</i>
Espèce	<i>Ephedra alata</i>
Sous espèce	<i>Ephedra alata alenda</i>

Nom vernaculaire d'*Ephedra alata alenda*

En arabe : العنزة, en français : Ephédre et Ephedra en anglais.

Description botanique

Il s'agit de l'un des rares arbustes des zones sahariennes (fig01), également considéré comme nano phanérophyte au sens de (Raunkiaer 1934). C'est un arbuste vivace, rigide, jaune-vert, densément ramifié, de 40 à 100 cm de hauteur et souvent plus large que haut (Palici, 2016).

Les rameaux sont articulés et portent au niveau des nœuds des feuilles réduites en écailles et opposées. Les fleurs unisexuées sont groupées en petits cônes (**fig 1**). Les fleurs mâles et femelles sont généralement sur des pieds différents (Palici, 2016). Toutefois, on peut dans certains cas observer des individus portant les deux types de fleurs.

Sur le plan écologique, cette plante est une excellente sandale à vent. Cependant, la qualité de son charbon de bois, prisée par les peuple du sahara, laisse penser qu'elle est en danger de déforestation (Abdallah et Chaieb, 2007 ; Palici, 2016 ; Danciet *al.*, 2019).



Figure 1 : Arbuste d'*Ephedra alata* (Chaiebet *al.*, 2008)

Répartition géographique

L'espèce *E. alata* est une plante médicinale appartenant au genre *Ephedra* originaire D'Asie, y compris l'Arabie Saoudite (Al-Qarawie *et al.*, 2011). Elle est commune dans le Sahara du Maroc à la Libye jusqu'à l'Egypte et l'Arabie (Ozenda, 1991). En Algérie, *E. alata* se trouve dans le Sahara et septentrional occidental au niveau des terrains sableux, des regs et du lit sablonneux des oueds. Elle est même rencontrée dans le sable de l'étage tropical et la Hamada de Tinghert (Ozenda, 1991).

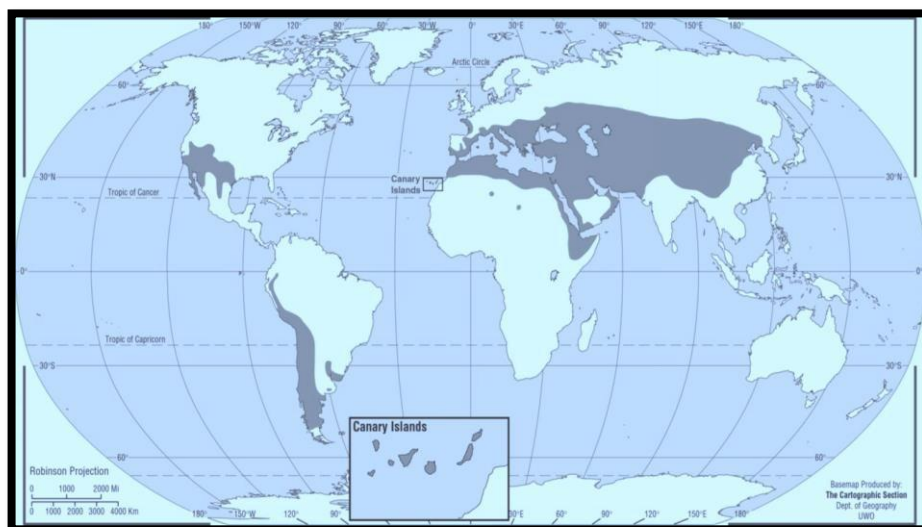


Figure 2 : Distribution de l'Ephédra dans le monde (Cavaney et al., 2001)

Chimie de la plante

Les espèces de l'*Ephedra* sont des sources naturelles de nombreux phyto constituants Incluant des alcaloïdes, des tanins, des saponines, des proanthocyanidines, des acides Phénoliques, des flavonoïdes et des huiles essentielles (Hegazi et El-Lamey, 2011).

Il est bien connu dans la littérature que les propriétés biologiques traditionnelles de l'*Ephedra* sont attribuables en grande partie aux alcaloïdes de type éphédrine, proto-alcaloïdes dérivés de la phénylalanine (Cavaney et al., 2001). Notons que l'éphédrine et la pseudo éphédrine sont généralement les plus abondantes, ils représentent environ 80% de la teneur en alcaloïdes dans la plante séchée (Caveney et al., 2001 ; Soniet al., 2004 ; Phinney et al., 2005).

Utilisations traditionnelle

Cette espèce est bien utilisée dans le pays domaine médecine traditionnelle, parle notamment dans l'utilisation des jeunes tiges (Abourashed et al., 2003). Ces tiges sont généralement bouillies environ 30 minutes dans l'eau et la décoction est consommée par voie orale comme thé chaud à une dose de 1,5 à 9 g d'herbe (Jaradat et al., 2015).

Les troncs d'*E.alata* sont utilisés pour traiter les troubles rénaux, bronchiques, du système circulaire, du système digestif et pour soulager et traiter le cancer (Jaradat et al., 2015) Les tiges sont ainsi mâchées afin de traiter les infections bactériennes et fongiques (Al-Qarawiet al., 2011), et pour le traitement de la toux à cause de son effet décongestionnant (Abourashed et al., 2003).

En Algérie, *E.alata* s'utilise contre la grippe, la coqueluche, la faiblesse générale entisane et par inhalation ainsi sous forme de gouttes nasales contre les rhumes (Ould El Hadj *et al.*, 2013).

La poudre d'*Ephedra alata* est utilisé comme un traitement contre le diabète en Maroc (Ghourri *et al.*, 2013).

En Asie, les chinois donnent le terme Ma-huang à la partie aérienne de l'espèce *Ephedra alata* est destinée à combattre l'asthme bronchique, le rhume, la grippe, la fièvre, les frissons, le nez bouché, les oedèmes, les maux de tête, les douleurs articulaires et comme diaphorétique, anti allergique et antitussif (Abourashed *et al.*, 2003 ; Soni *et al.*, 2004 ; Ma *et al.*, 2007), et à fabriquer clandestine d'une drogue de rue, de la méthamphétamine (d-desoxy-éphédrine) (Caveneyet *al.*, 2001).

En Egypte, *E.alata* est utilisée en médecine traditionnelle comme hypotensive, antiasthmatic et agent astringent (Nawwaret *al.*, 1984).

En Arabie Saoudite, *Ephedra* est l'une des plantes de les plus qualifiées. Elle a été utilisée comme pâturage pour de nombreux constituants par son arôme acceptable (AL-Qarawi *et al.*, 2012).

En Palestine, Il est utilisé en médecine traditionnelle pour les allergies, l'asthme bronchique, les frissons, le rhume, là l'œdème, la fièvre, le grip et les maux de tête (Al-Rimawi *et al.*, 2017).

Les parties utilisés dans la médecine traditionnelle sont les feuilles et les rameaux (Ould Elhadj *et al.*, 2003) et aussi les tiges vertes séchées, qui sont usuellement bouillies dans de l'eau pendant environ trente minutes et administrées comme thé chaud (Abourashed *et al.*, 2003).

Pharmacologie

Les effets pharmacologiques et toxicologiques de cet arbuste semblent être attribuable à ses alcaloïdes de types éphédrine, principalement (-) -éphédrine et (+) - pseudoéphédrine.

L'Éphédrine, malgré l'absence de groupement phénolique caractéristique des catécholamines, est un sympathomimétique, agoniste à la fois des récepteurs adrénergiques α et β . Elle présente aussi un effet indirect sur le système sympathique via l'augmentation de la libération de noradrénaline à partir des vésicules de stockage dans les neurones sympathiques vers la zone synaptique où il se fixe sur les récepteur post-synaptiques α et β (Ma *et al.*, 2007 ; Chen *et al.*, 2010 ; Limbergeret *al.*, 2013;).

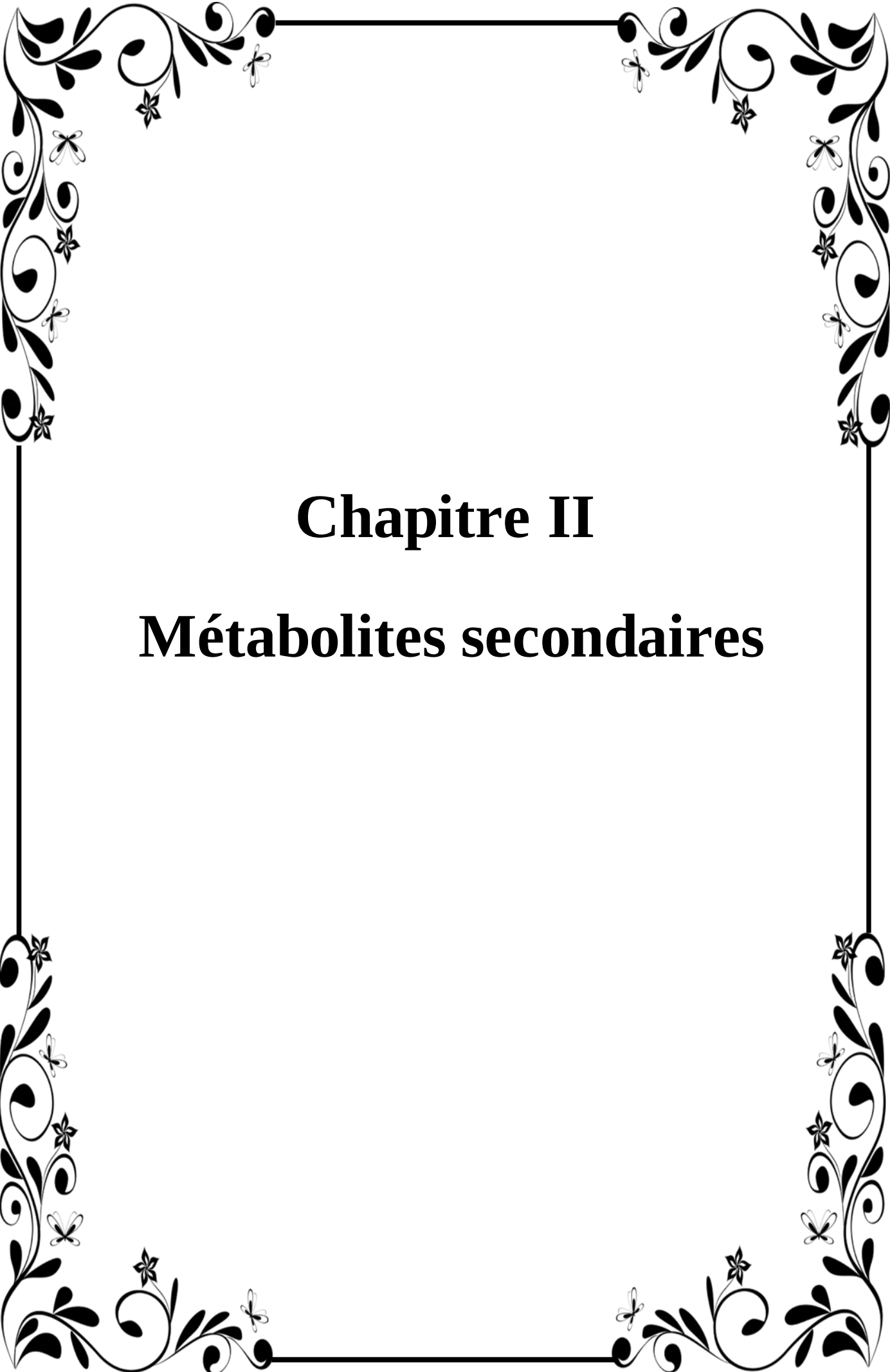
Principaux effets de la stimulation des récepteurs adrénergiques et comprennent une augmentation de la fréquence cardiaque et des contractions. Elle favorise également la vasoconstriction périphérique due à la pseudoéphédrine, la bronchodilatation, ce qui explique son utilisation traditionnelle décongestionnant nasal et antiasthmatique, ainsi que la stimulation du système nerveuse central (Abourashedet *al.*, 2003 ; Phinneyet *al.*, 2005).Cependant, les effets hypertenseurs et vasoconstricteurs liés à l'éphédrine, sont moins rapides et moins puissants, mais plus durables et plus stables dans les conditions du métabolisme contrairement à l'adrénaline (Chopra et *al.*, 1960). C'est pour cela que l'administration de l'éphédrine, qui semble le majeur principe actif de la plupart des espèces *Ephedra*, est contre indiqué chez les patients atteint d'hypertension ou toute autre maladies cardio-vasculaires, de glaucome, ou de l'hyperthyroïdie (Soniet *al.*, 2004 ; Chen et *al.*, 2010).

Toutefois, la phytothérapie n'a pas que des effets bénéfiques. Comme tout produit actif, elle peut avoir des effets indésirables, toxiques et allergiques.

Toxicologie

D'*Ephedraalata* semble être attribué à ses alcaloïdes de type éphédrine, principalement et pseudoéphédrine (Chen et *al.*, 2010 ; Limberger et *al.*, 2013). A doses fortes, l'éphédrine provoque une hépatotoxicité avec une nécrose massive visible lors de l'examen histologique (Zheng et Navarro, 2016), elle induit aussi la nervosité, nausées et vomissements, parfois des douleurs aigue quelquefois des dermatites (Peters et *al.*, 2005).

Étant donné que l'éphédrine induit la libération de noradrénaline, l'éphédrine chez les patients recevant des inhibiteurs de l'oxydase, qui diminue la dégradation et augmente le stockage de la noradrénaline, peut entraîner une hypertension sévère. Cette interaction peut être mortelle (Blumenthal et King, 1995). Étant donné que l'éphédrine induit la libération de noradrénaline.

A decorative border with floral and scrollwork motifs surrounds the text. The border is composed of black lines forming a rectangular frame, with ornate floral designs at each corner and along the sides.

Chapitre II

Métabolites secondaires

II. Métabolites secondaires

Définition :

Les métabolites secondaires (MS) sont des molécules organiques complexes synthétisées par Les plantes autotrophes (Boudjouref, 2011), Les métabolites secondaires des plantes ont été défini pour la première fois par Albrecht Kossel, lauréat du prix Nobel de physiologie ou de médecine en 1910 (Isela García-Ríos et *al.*, 2020). Ce sont généralement caractérisés par une faible concentration dans les tissus végétaux. (Newman et Cragg, 2012). Ils sont de plus en plus considérés comme des moteurs importants de la diversification et de l'évolution des plantes (hatcher et *al.*, 2020). Ce sont des molécules de faible poids moléculaire avec diverses structures chimiques et activités biologiques (Mosunova et *al.*, 2021).

Les métabolites secondaires jouent un rôle important dans : Les mécanismes de défense contre les agressions extérieures. Dont certains métabolites tels que les anthraquinones, pourraient agir comme pigments accessoires, permettant en condition De faible luminosité de capter l'énergie solaire ou à l'opposé, de protéger l'organisme contre les effets nocifs induits par les radiations solaires (Greathead, 2003).

Classification :

Les métabolites secondaires sont composés de 4 principales catégories qui sont : les polyphénols, terpénoïdes, stéroïdes et alcaloïdes (Hennebelle et *al.*, 2004).

Les polyphénols :

Définition :

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires (Lin et *al.*, 2016) qui proviennent de deux voies métaboliques : la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acide acétique (Reis Giada, 2013). Ils se composent d'un ou plusieurs cycles aromatiques à savoir en C6 (les composés phénoliques les plus simples), en C6-C1 (acides hydroxybenzoïques et leur dérivés), en C6-C3 (phenylpropanoïdes, acides hydroxycinnamiques, umbelliferone et lignins) en C6-C3-C6 (flavonoïdes y compris flavonones ; flavones ; flavonoles, catéchols, leuco antocyanidines, anthocyanines, anthraquinones, etc.) et de composés phénoliques polymériques (les tannins) (Laid, 2016).

Classification :**a. Acides phénoliques :**

Le terme « acides phénoliques » décrit généralement les composés phénoliques ayant un groupe acide carboxylique (Kumar et Goel, 2019).

b. Flavonoïdes :

Le terme flavonoïde (de flavus, « jaune » en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des poly phénols (Bouakaz, 2006). Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Havasteen, 2002.).

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 (figure 03). 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)

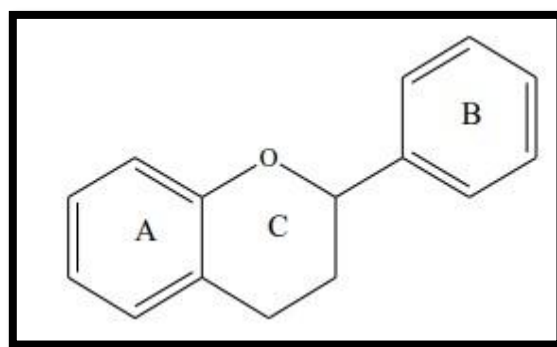


Figure 3 : structure chimique des flavonoïdes (Belloum, 2007).

c. Tannins :

Les tannins sont une famille complexe de composés polyphénoliques hydrolysables Synthétisés comme métabolites secondaires par de nombreuses plantes (Feng et *al.*, 2020). 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)

d. Coumarines :

Le nom de la coumarine a été tiré d'un mot français « coumarou » qui désigne la fève tonka, dont la dénomination botanique était à l'époque « coumarounadorata » (Al-warhi et *al.*, 2020). Les coumarines constituent une large famille de métabolites secondaires que l'on trouve dans diverses espèces de plantes, champignons et des microorganismes (Annunziata et *al.*, 2020).

Terpénoides**Définition :**

Les terpénoides constituent une classe importante de plus de 10000 composés qui déterminent également l'activité pharmacologique des plantes médicinales. (Zian, 2016) Ce sont des produits naturels, formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités isopréniques (Merghem, 2009).

Classification :

Selon le nombre d'unités isoprénoides sous lequel ils sont parfois distingue :

- Les terpènes proprement dits ou mono terpènes (C10).
- Les sesquiterpènes (C15).
- Les diterpènes (C20).
- Les triterpènes (C30).
- Les tétraterpènes (C40).
- Les polyterpènes (4000)

Les stéroïdes rentrent dans le groupe des terpénoides et les caroténoïdes sont des tétra terpènes (Merghem, 2009).

Les alcaloïdes :**Définition :**

La première définition des alcaloïdes a été introduite par W. Meissner en 1818 (KukulaKoch et Widelski, 2017). Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés (Debnath et *al.*, 2018). Ils ont une structure complexe, leurs atomes d'azote sont inclus dans un système hétérocyclique. Ils sont localisés dans les tissus périphériques : assises externes des écorces de tige et de racine, tégument des graines, et ils sont également stockés dans les vacuoles cellulaires

(Bruneton, 2009). 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 (Ceccon 2006). CECCON, J. Synthèse Totale d'Alcaloïdes Polyhydroxylés : la (-) -Swainsonine, la (+) -6- Épicastanospermine, la (+) -Castanospermine et la (-) -Détoxinine. 2006.

Classification :

Selon l'origine biosynthétique, On distingue trois types d'alcaloïdes :

a. Les pseudo-alcaloïdes :

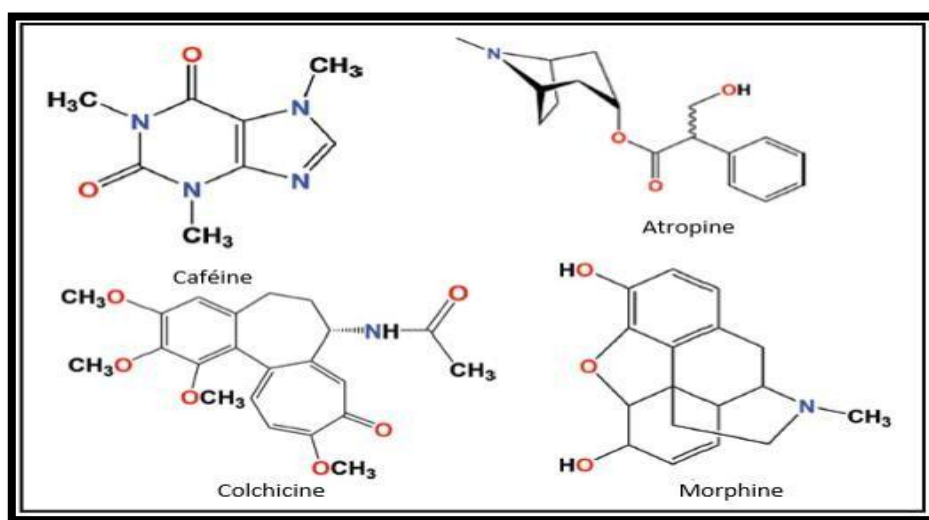
Ne possèdent pas d'azote intra cyclique et l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale : exemple la conine.

b. Les proto-alcaloïdes :

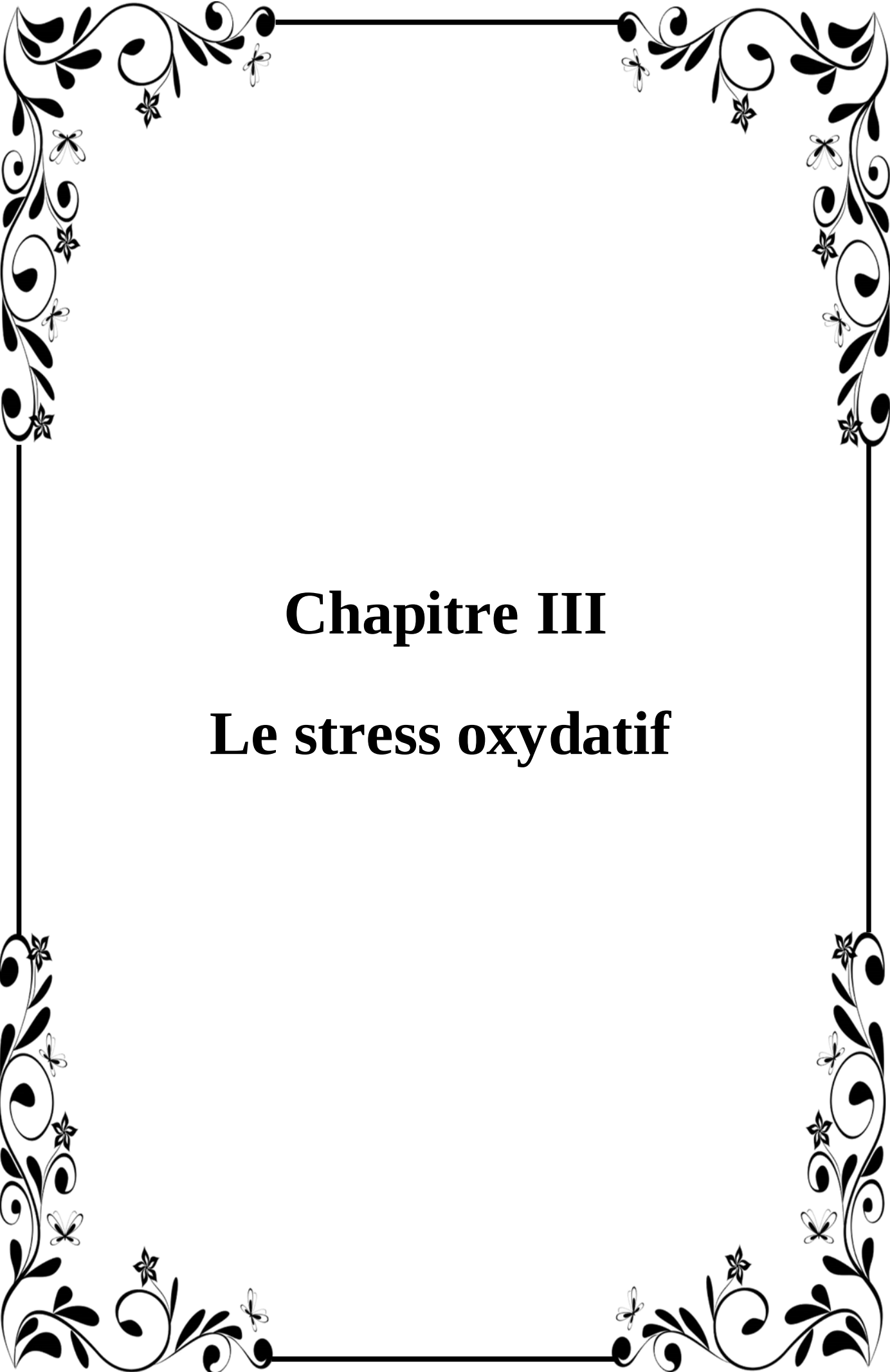
L'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Ils sont élaborés à partir d'acides aminés

c. Les alcaloïdes vrais :

Que l'on classe suivant la nature de leur cycle. L'atome d'azote est inclus dans un hétérocycle ; Bio synthétiquement formés à partir d'acides aminés ; possèdent une activité pharmacologique marquée (Merghem, 2009).



La figure 4 représente quelques exemples important d'alcaloïdes

A decorative border with black floral and scrollwork patterns framing the page.

Chapitre III

Le stress oxydatif

III. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre sévère de l'équilibre entre la production de radicaux libres et les défenses antioxydantes de l'organisme, entraînant de graves dommages à la structure cellulaire et au métabolisme de nombreuses cibles telles que : les protéines, les lipides et les acides nucléiques (soars,2005).

Définition des radicaux libres

Un radical libre (RL) est une espèce chimique (atome ou molécule) qui contient des électrons non appariés (Figure 1). Ce déséquilibre n'est que temporaire et se comble en acceptant un autre électron ou en transférant cet électron libre vers une autre molécule (Afonso et *al.*, 2007). En effet, ce radical a toujours tendance à remplir son orbitale pour se stabiliser en piégeant des électrons : il va donc se réduire à oxyder un autre composé. (Goudabl et Favier, 1997).

Les Antioxydants

Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible (Halliwell et Gutteridge, 2007). Ces antioxydants permettent de minimiser le dommage oxydatif (Tang et Halliwell, 2010). Les antioxydants sont composés de systèmes antioxydants endogènes et exogènes (Desmier, 2016).

Les types des antioxydants

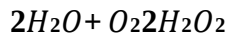
Il y a deux types des antioxydants

Antioxydants enzymatiques

Plusieurs enzymes empêchent la formation de radicaux libres, dont certaines agissent directement dans la récupération des ROS (enzymes primaires), alors que « enzymes secondaires » jouent un rôle indirect en soutenant d'autres antioxydants endogènes (Banafsheh et Sirous, 2016)

CAT

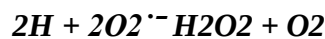
L'enzyme est caractérisée qu'il est l'une des enzymes connues de leur taux de conversion élevé, il est essentiel de retirer le peroxyde d'hydrogène, produit par peroxyde par oxydation des acides gras, des voies respiratoires légères, et démolition purine (Gill ET Tuteja, 2010)



Glutathion peroxydase (GPx)

GPx est une oxydoréductase dépendante du sélénium, se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Il agit en conjonction avec le tripeptide glutathion (GSH), le substrat pour la réaction catalytique de GPx est H₂O₂ ou un peroxyde organique ROOH comme montre dans la réaction (4). GPx décompose les peroxydes en eau tout en oxydant simultanément le GSH (donneur d'électrons) (Cardoso et *al.*, 2017).

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde O₂•⁻ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène.



Chez l'homme, on décrit 3 isoenzymes : la Cu/Zn-SOD 1 cytosolique, la Mn-SOD2 mitochondriale et la Cu/Zn-SOD 3. (Haleng, Jet al 2007)

Antioxydants Non Enzymatiques

Des composés chimiques de faible poids moléculaire peuvent également être utilisés. Dans ce cas, leurs actions ne sont pas appropriées. Catalytique, nécessitant une régénération ou un approvisionnement constant en antioxydants En conséquence, des antioxydants non enzymatiques peuvent être utilisés. Divisé en endogène (si la cellule eucaryote est capable de la synthétiser) et exogène (si la cellule eucaryote est capable de) exogène (si l'antioxydant doit être consommée régulièrement dans le cadre de son alimentation) (Sharifi-Rad et *al.*, 2020)

Antioxydants non enzymatiques endogènes.

Ils existent plusieurs réducteurs endogènes capable de protéger l'organisme contre les ROS, les plus importants étant le glutathion, la bilirubine, l'acide urique, le coenzyme Q, la mélatonine et l'acide lipoiq (Sharifi-Rad et *al.*, 2020)

Antioxydants non enzymatiques exogènes

Les antioxydants exogènes doivent être complétés en permanence par le régime alimentaire puisque leurs voies synthétiques sont généralement présentes uniquement dans les cellules microbiennes ou végétales. Vitamines, dont deux présenter des effets antioxydants importants, comme les vitamines C et E, appartiennent à la classe essentielle des molécules (Sharifi-Rad *et al.*, 2020)

Les vitamines

- **La vitamine A :** Ce terme groupe de rétinoïdes et fournissent de la vitamine A sont appelés caroténoïdes. (Valko *et al.* 2006).
- Dans les aliments, les caroténoïdes se trouvent dans les carottes et les melons, tandis que les rétinoïdes se trouvent dans les aliments d'origine animale (lait, jaunes d'œuf).
- **La vitamine C :** La vitamine C ou l'acide ascorbique est soluble dans l'eau et l'antioxydant naturel le plus puissant. Présent sous forme d'ascorbate, il piège les radicaux dans la phase aqueuse avant qu'ils n'amorcent des réactions lipidiques, protégeant ainsi les membranes et les lipoprotéines

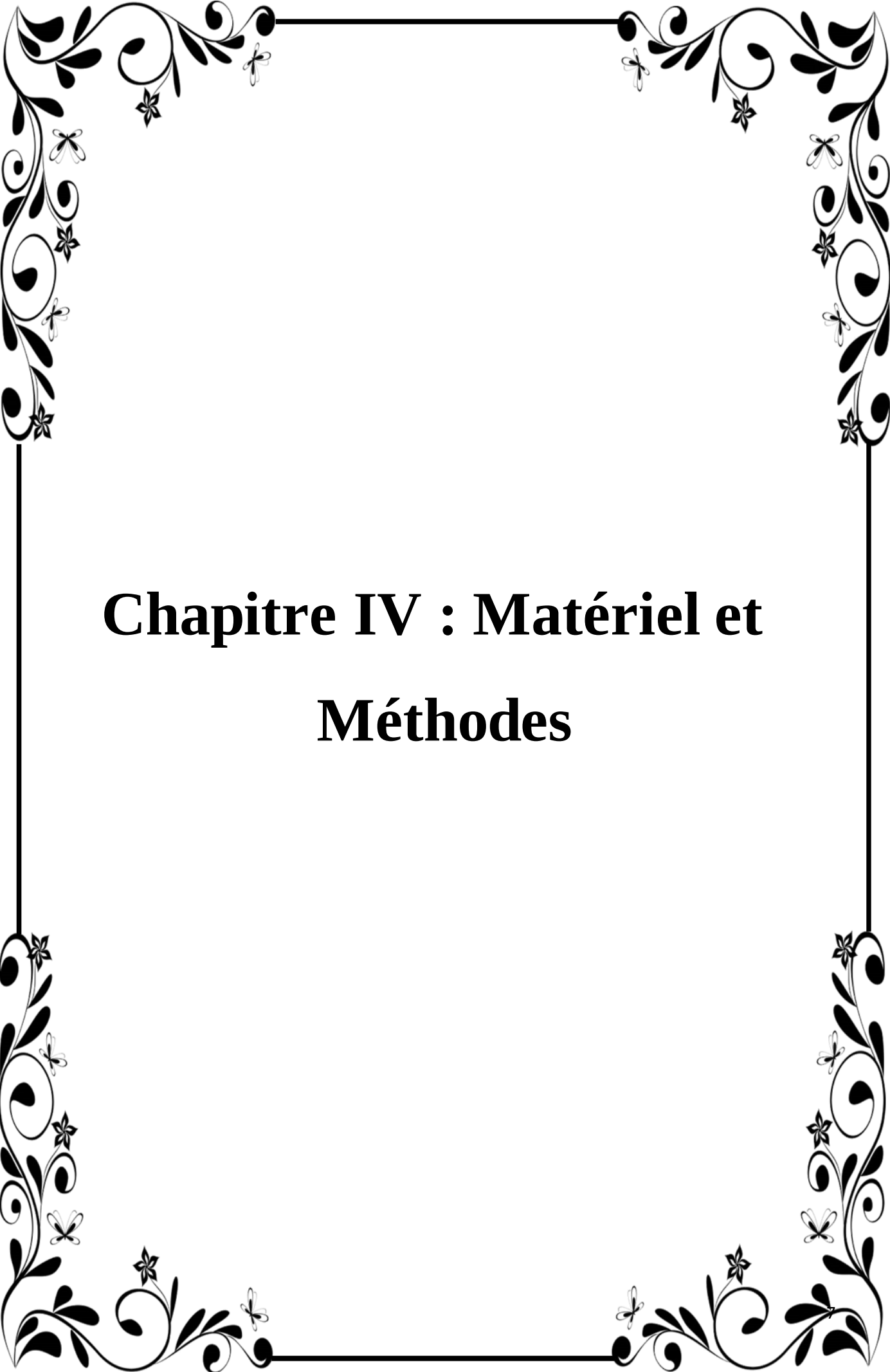
Les aliments les plus riches en vitamine C sont les agrumes, les kiwis et les légumes.

(Brocolis, chou-fleur, Gulcin 2012)

- **La vitamine E :** Le terme "vitamine E" comprend deux classes, les tocophérols et les tocotriénols. Le composé principal est l' β -tocophérol qui est synthétisé par les plantes. En revanche, l'homme ne peut donc l'ingérer que par la nourriture.
- La vitamine E est retrouvée dans les huiles végétales, les noix, les graines (Brigelius-Flohe *et.al.* 1999)

Polyphénols

Les polyphénols sont des composés phytochimiques polyhydroxylés qui sont synthétisés par les plantes et qui ont de nombreux avantages pour la santé humaine. Les polyphénols ont la capacité de piéger et de récupérer les radicaux libres en faisant don d'ions hydrogène pour stabiliser les radicaux libres. (Arts et Hollman, 2005; Yazaki, Sasaki et Tsurumaru, 2009).

A decorative rectangular border with ornate floral and scrollwork patterns in each corner, framing the central text.

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

IV. Matériel et Méthodes

Matériel

Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé correspond à la partie aérienne composée des jeunes tiges de l'espèce *Ephedra alata alenda*. La récolte s'est effectuée le 08/03/2022.

Après récolte, le matériel végétal est séché dans une étuve à 40° environ trois jours. Les tiges sont broyées finement et conservées dans des boîtes fermées hermétiquement.

Présentation du site de récolte

La zone d'étude s'étend sur une superficie de 994,56 ha, soit 5.9% de la superficie totale de la forêt domaniale de Dréat et Elle est localisée au Nord de la commune de Hammam Dalaa à environ 15Km (Figure 1); limitée au Nord par le canton d'Ogribissa, à l'Est par Douar Dréat, à l'Ouest par le canton de Sidi Amar et le canton de Mechrarine, et au Sud par le canton Boustéila. El-Haourane et ses environs sont formées par un cadre montagneux composant la partie Nord-Est de la carte géologique du Tarmount (N°140, 1963-1964)

.La zone d'étude El Haourane se trouve dans une ambiance bioclimatique semi-aride frais (Emberger, 1955).

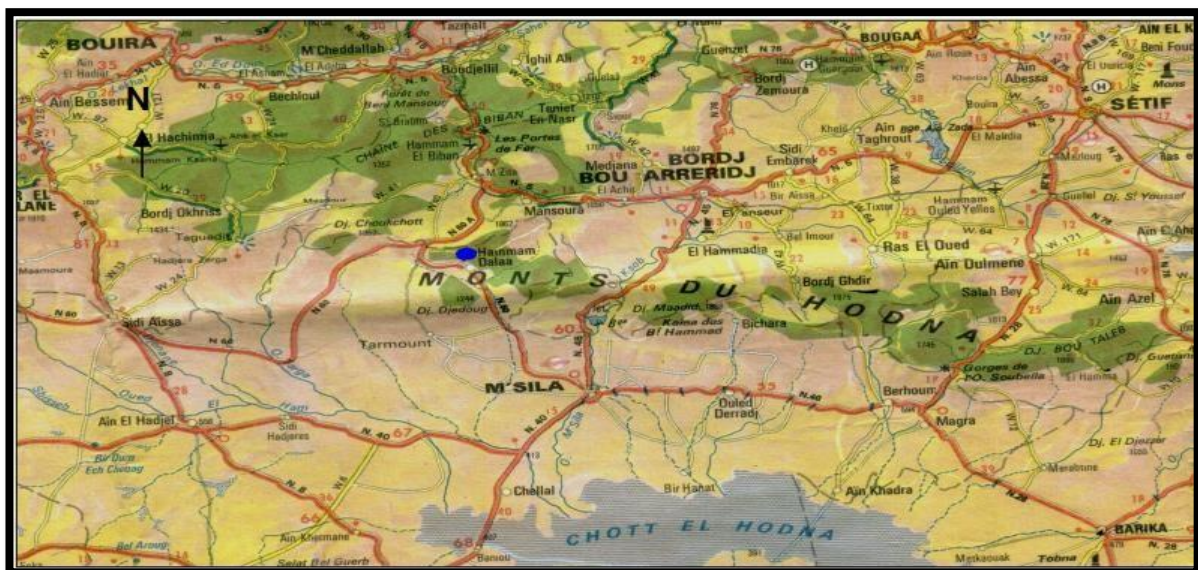


Figure 5 : Localisation géographique du canton El Haourane (Carte touristique. ONAT). La zone d'étude Echelle : 1/1 000 00

Méthodes

Préparation des extraits

- Extrait méthanolique

Dans une première étape l'extraction se fait avec le méthanol. 50g de la plante broyée a été soumise à une macération avec 500 ml de méthanol à température ambiante et sous agitation pendant 72 heures, puis l'extrait récupéré est filtré.

Le filtrat obtenu est évaporé dans une rota vapeur (évaporateur rotatif) à 45°C, l'extrait est placé dans une boîte Petré en verre à l'étuve à 40 °C jusqu'à séchage (Boubekri,2014).

- Extrait aqueux

Dans une deuxième étape l'extraction se fait avec l'eau distillée. 50g de la plante broyée a été soumise à une décoction avec 500 ml de l'eau distillé à température élevée 80°C avec l'agitation pendant 15 min jusqu'à l'évaporation, puis l'extrait récupéré est filtré.

L'extrait est placé dans une boîte pétré en verre à l'étuve à 40 °C jusqu'à séchage.

Le rendement des extractions (méthanoïques, aqueux) sont calculés suivants la formule ci-dessous (Boubekri,2014).

$$R\% = Me / Mé * 100$$

R% : rendement en pourcentage.

Me : masse de l'extrait sec en gramme.

Mé : masse de l'échantillon en gramme.

Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un moyen pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques dans une drogue végétale donnée.

La partie aérienne d'*E. alata* réduite en poudre a subi différents tests chimiques afin de mettre en évidence la présence ou l'absence des principales familles de métabolites secondaires.

- **Caractérisation des polyphénols et des tanins**

Deux millilitres de solution à 2% de FeCl_3 mélangés avec 1ml de l'extrait aqueux ou méthanolique. La couleur noire ou bleu-verte indique la présence des tanins et les polyphénols.

- **Caractérisation des flavonoïdes**

La présence des flavonoïdes dans les extraits peut être mise en évidence par un test simple et rapide appelé « réaction de Shinoda » (Lock et al., 2006). Le test consiste à ajouter à 2ml de l'extrait, quelques gouttes d'HCl concentré (2N) et environ 0,5g de magnésium métallique. Laisser agir 3 min et regarder le changement de couleur (Malec et Pamelio, 2003)

- **Caractérisation des saponines**

Cinq millilitres d'eau distillée ont été ajoutés à 1 ml pour les deux extraits végétaux dans un tube à essai et ils ont été secoué vigoureusement. La formation de la mousse indique la présence de saponines.

- **Caractérisation des stéroïdes**

2 ml de chloroforme et de 2 ml de H_2SO_4 concentré ont été mixés puis mélangés avec 1ml de l'un des deux extraits. Dans le bas la couche de chloroforme a produit une couleur rouge indiquant la présence de stéroïdes. Un autre test a été réalisé en mélangeant 2 ml de chacun de l'acide acétique avec du H_2SO_4 concentré et de l'extrait brut avec 2 ml de chloroforme. La couleur verte indique la présence des stéroïdes.

- **Caractérisation des coumarines**

Evaporer 5ml d'extrait méthanolique (macération pendant 24h) dans une capsule à l'air libre. Ajouter au résidu 2ml d'eau chaude. Partager la solution entre 02 tubes et ajouter au contenu de l'un des tube 0,5ml de NH_4OH à 25%, mélanger et observer la fluorescence sous UV à 366 nm une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté du NH_4OH indique la présence de coumarines, l'autre tube sert de témoin.

Dosage des polyphénols

Principe de dosage

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins. Le dosage de polyphénol totaux par le réactif de Folin – ciocalteu (singleton et Rossi 1965).

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon ,1968).la coloration produit, Dont l'absorption maximale est comprise entre 725et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006).

Protocole de dosage

Un volume de 200µl de l'extrait méthanolique ou aqueux de la plante est introduit dans des tubes essai, le mélange de 1ml de réactif de Folin-ciocalteu dilué 10fois et de 0,8 ml de carbonate de sodium à 7,5% est additionné. Les sont agites et conservés durant 2 heures à la température ambiante et à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (Shimadzu-UV-2401PC, UV-VIS). Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique comme standard.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g).

Dosage des flavonoïdes

Principe de dosage

La détermination quantitative des flavonoïdes est effectuée selon la méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ (Bahorun et *al.*,1996). Ce dernier forme un complexe très stable avec les groupements hydroxyles des flavonoïdes. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde de 430nm. Les flavonoïdes sont estimés par la lecture de la densité optique, dont la quercitine est utilisée comme standard. Les résultats sont exprimés en exprimés en milligramme équivalent de quercitine par gamme de matière sèche (mg EQ/g).

Protocole de dosage

La concentration quantitative des flavonoïdes totaux est mesurée par la méthode colorimétrique de l' AlCl_3 . Cette méthode sert à ajouter 1ml d'extrait (aqueux ou méthanolique) ou de solution standard de quercétine à 1ml d' AlCl_3 (2%). La solution est bien agitée et l'absorbance est mesurée à 430 nm avec spectrophotomètre UV-Visible après incubation pendant 30 minute.

Evolution de l'activité anti radicalaire (DPPH)

Principe

Ce dosage est basé sur la mesure de la capacité réductrice des antioxydantes vis-à-vis du DPPH (2,2 diphényl-1-picryl-hydrazyl). Le DPPH est un radical libre stable à température ambiante, de couleur violette foncé, il est réduit en présence d'une molécule antioxydantes dont la couleur passe du violet foncé au jaune (Huang *et al.*, 2005).



Forme radicalaire DPPH•

Forme non radicalaire DPPH

Figure 6: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH•entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH) (Molyneux, 2004).

Protocole

Le 2 diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) est déterminé par spectrophotométrie en se référant au protocole de Itaeduok. (2017) modifié, Un volume de 1 ml de chaque extrait à différentes concentrations est ajouté à 1 ml d'une solution méthanolique de DPPH 0.004% de 4 mg de DPPH dans 100ml de méthanol.

Après une incubation 30 min à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance du mélange réactionnelle est mesuré à 517 nm. Le BHT est utilisé comme un standard antioxydant.

Le pourcentage d'inhibition (I %) du radical DPPH par l'extrait méthanolique ou aqueux est calculé selon la formule suivante : $I \% = [1 - (Abs_{Echantillon} / Abs_{Contrôle})] \times 100$ où :

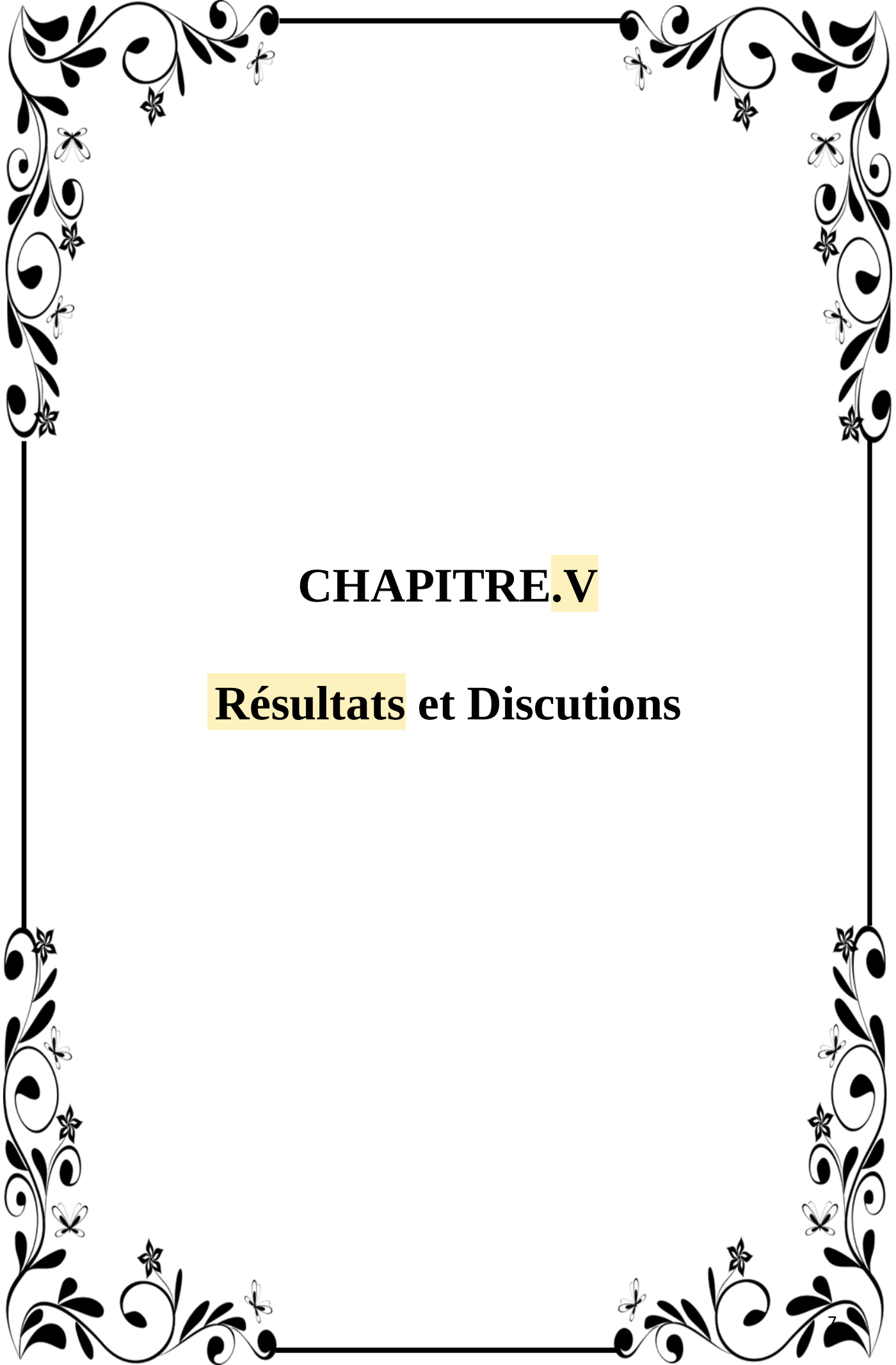
I % : pourcentage d'inhibition du radical DPPH.

Abs_{Echantillon} : Absorbance de l'échantillon.

Abs_{Control} : Absorbance du contrôle.

L'activité antioxydante des extraits est exprimé en IC₅₀ ; Toutes les opérations sont effectuées trois fois.

Concernant le contrôle contient seulement la solution de DPPH et le méthanol.

A decorative border with black floral and scrollwork patterns framing the page.

CHAPITRE.V

Résultats et Discussions

V. Résultat et Discussion

Rendement des extraits

Les rendements et les différents aspects des extraits obtenus sont rapportés dans le tableau (02)

Tableau (02): représente le rendement des deux extraits

Type d'extrait	Aspect	Couleur	Rendement %
E Met	Poudreux	Vert	14,74
E aq	Poudreux	brune	5.15

- **E Met** : extrait méthanolique

- **E AQ** : extrait aqueux

Après l'analyse des différents extraits d'*Ephedra alata* on note que l'E Met a un rendement (14,74%) Plus élevé que l'extrait aqueux (5,15%).

En général, le rendement varie selon la variété de la plante, organes utilisés pour l'extraction, conditions de séchage, abondance de chaque substance, la conversion des espèces en métabolites dépend également du type de solvant utilisé, de la polarité et solubilité des composés phénoliques dans les solvants d'extraction (Daoudi et al., 2015). Le lieu et le moment de la récolte sont également des déterminants du rendement (Keskes et al., 2014).

Screening phytochimique

Nous avons réalisé des tests phytochimiques préliminaires au laboratoire de l'université de M'silasur la plante médicinale *E.alata alenda* collectée de la région de Hammam Dalaa (El haouran).

Les résultats ont montré la présence de différents métabolites secondaires :(polyphénols, flavonoides, tannins, stéroïdes, coumarines). Ils Sont présentés dans le tableau 03 avec une comparaison d'autres travaux antérieurs.

Tableau 03 : Résultats des différents tests phytochimiques préliminaires détectant la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires dans *E.alataalenda*

Plante	<i>E.alata</i> «M'sila »		<i>Ephedraalata</i> El'Oeud	<i>Ephedraalataalenda</i> Ouargla
Partie utilisée	Partie aérienne		Partie aérienne	Partie aérienne
Extrait	AQ	Met	Met	AQ
Flavonoïdes	+	++	+	+
Tanin	+	++	+	+
Stéroïde	+	+	+	/
Saponoside	-	-	/	/
Coumarines	+	+	/	/
Références	Nos Resultats	Nos Resultats	Digheche et <i>al.</i> 2019)	Chenini et <i>al</i> 2019

+ : Présence.

- : Absence.

/ : Non testé

Dosage des poly phénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux des deux extraits de l'*E. alata*, obtenus par macération et décoction, en utilisant la méthode de Folin - ciocalteu.

La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par un standard étalon (acide gallique) à différents concentrations et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG} / \text{mg}$ d'extrait).

Les quantités des polyphénols correspondantes de nos extraits ont été déterminées par l'équation : $Y = 0,0067X + 0,0309$

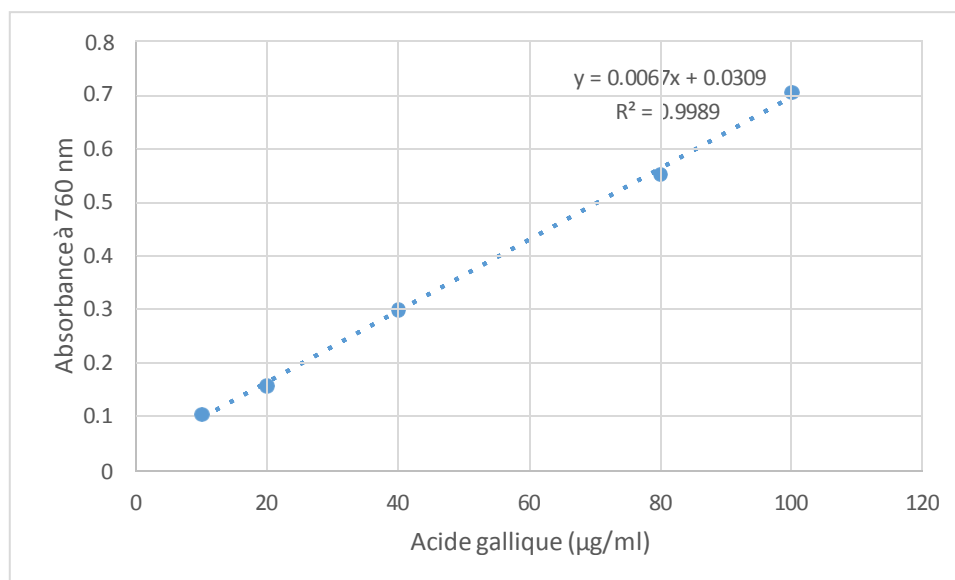


Figure 7: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols

Les résultats de détermination des polyphénols totaux des deux extraits (figure 08) montrent que la teneur la plus élevée dans l'extrait méthanolique qui contient $232,34 \pm 3,61$ mg EAG/g d'extrait par rapport l'extrait aqueux qui contient $205,53 \pm 2,9$ mg μ g EAG /mg d'extrait). Ces résultats montrent que la plantes *E-alata-alenda* est riche en polyphénols.

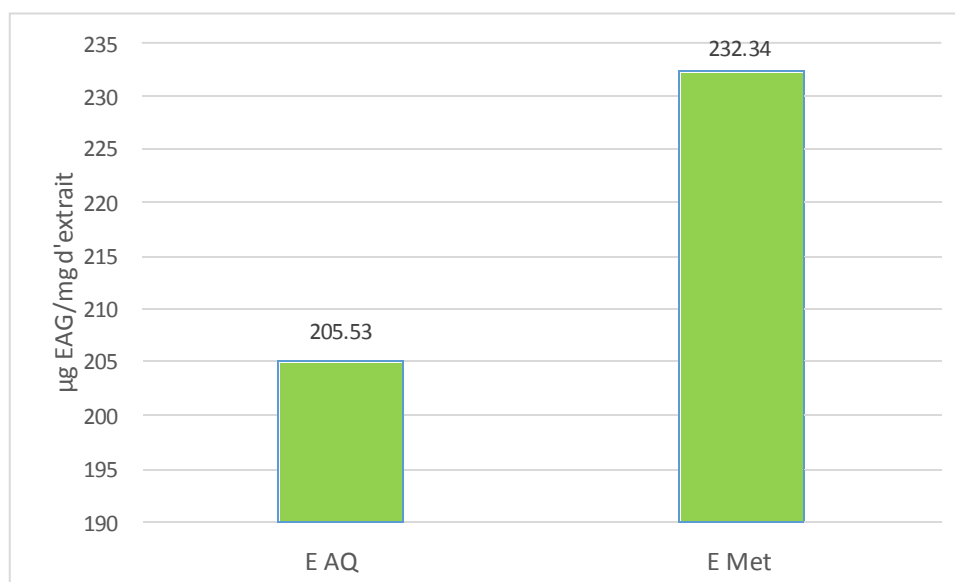


Figure 8 : Teneur en polyphénols d'extrait d'E-alata-alenda

La teneur en polyphénols de l'*Ephedra alata* rapportée par Benarba et al. (2021) est très faible par rapport à nos résultats avec une valeur de $8,66 \pm 0,092$ μ g EAG/mg d'extrait. Au contraire la teneur des flavonoides est très élevé $248,04 \pm 01,47$ μ g EAG/mg d'extrait

Les résultats trouvés dans l'étude réalisée par Dighishe et *al.* (2019) avec l'espèce *E. alata* ont montré que la teneur en polyphénols dans l'extrait méthanolique est $60,36 \pm 7,60 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait, qui est inférieure à nos résultats.

L'étude menée par Dighishe et *al.* (2019) a montré que, l'extrait de l'hexane est plus riche en polyphénols totaux ($67,07 \pm 8,6 \mu\text{g EAG/mg}$) par rapport à l'extrait Méthanolique qui est de $60,36 \pm 7,60 \mu\text{g EAG/mg}$.

En comparant les résultats de l'espèce *E. alata* avec autre étude, on remarque que l'*E. Met* possède une teneur en polyphénols totaux faible à celle enregistrée par Kebili, (2016), qui est de $291,45 \pm 4,37 \mu\text{g d'équivalents d'acide galliques par milligramme d'extrait sèche. (EAG/mg d'extrait)}$, qui est inférieure à nos résultats.

Des études ont montré que les facteurs environnementaux tels que les précipitations et la température, ainsi que la composition du sol, la saison de culture et de récolte, la localisation géographique, la maturité de la plante et la durée de conservation, peuvent modifier la teneur en composés phénoliques. Ainsi que les méthodes d'extraction et des dosages différents (Borges et *al.*, 2013).

Dosage des flavonoïdes

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux est réalisée par la méthode spectrophotométrique au trichlorure d'aluminium (AlCl_3). La quantité des flavonoïdes dans les deux extraits méthanolique et aqueux a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine exprimée en $\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$

Les quantités des flavonoïdes correspondantes de nos extraits ont été déterminées par l'équation : $Y = 0,0376X - 0,0315$ $R^2 = 0,991$ (figure 07)

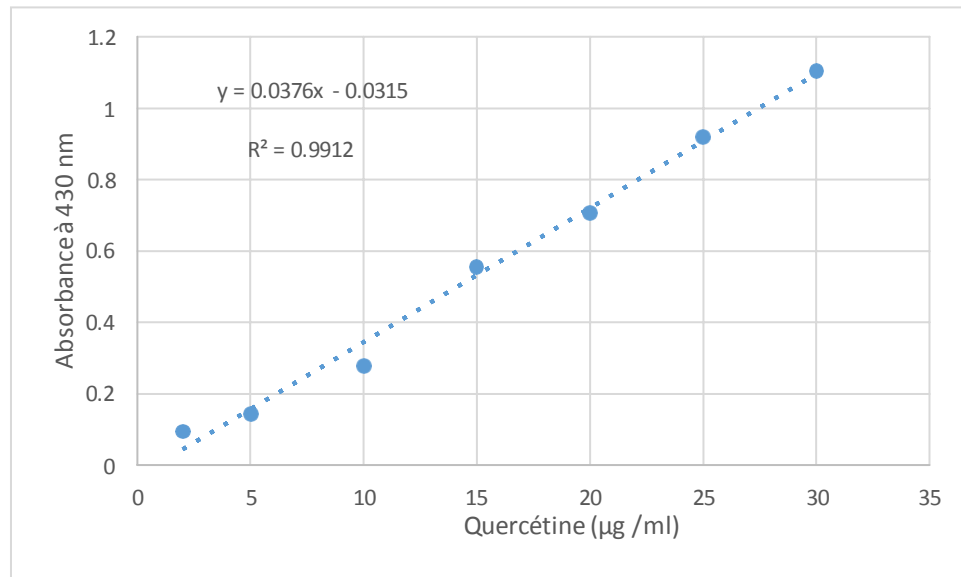


Figure 9: Courbe d'étalonnage de la quercitrine pour le dosage des flavonoïdes

À partir de la courbe d'étalonnage de la quercitrine et de la figure 10. Les résultats obtenus indiquent que la quantité des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique est plus élevée

($98,85 \pm 0,098 \mu\text{g EQ} / \text{mg d'extrait}$) que l'extrait aqueux ($93,69 \pm 0,069 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$).

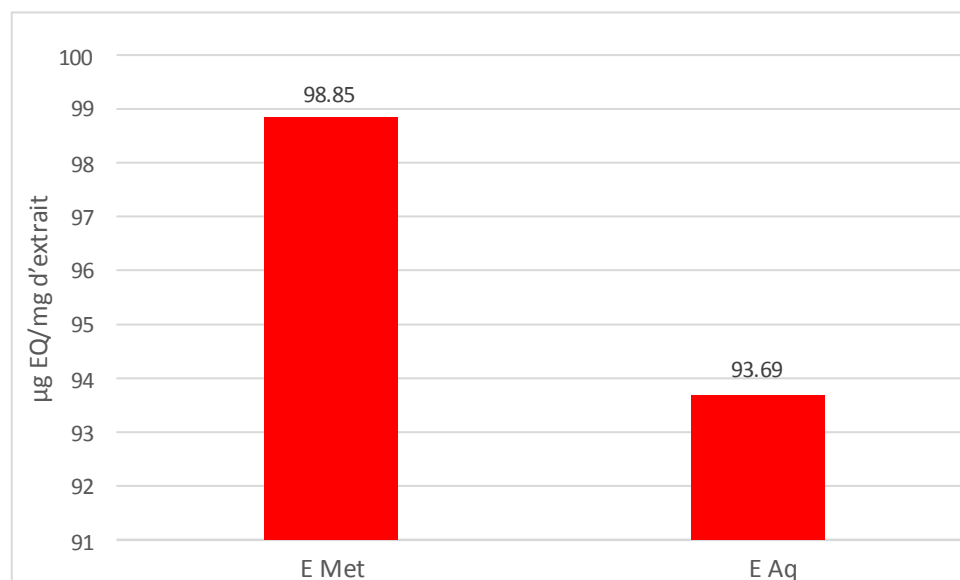


Figure 10 : Teneur en flavonoïde d'extrait d'E-alata-alenda

La plante *E. alata* présente une teneur nettement supérieure en flavonoïdes dans l'E Met qui égale à $98,85 \pm 0,098 \mu\text{g EQ/mg}$ comparé au résultat de Kebili, (2016) qui a obtenue $11.29 \pm 0.12 \mu\text{g EQ/mg}$ pour l'extrait méthanolique

L'étude de Dighishe (2013), montre que l'E Hex est plus riche en flavonoïdes totaux et contient une teneur de $32,9 \pm 8.66 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait sec par rapport à l'EM et qui est de $21,72 \pm 7.60 \mu\text{g EQ/mg}$.

Le facteur principal influençant sur la solubilité des flavonoïdes est leurs capacités à former des liaisons hydrogènes avec le solvant. Les flavonoïdes sont des substances moins solubles dans l'eau et dans des solvants très apolaires, mais solubles dans les solvant polaires (alcools) (Calias et al., 1996).

Activité anti oxydante par le test DPPH :

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire de nos extraits via le test DPPH, a conduit aux résultats illustrés par les figures 11, 12 et 13

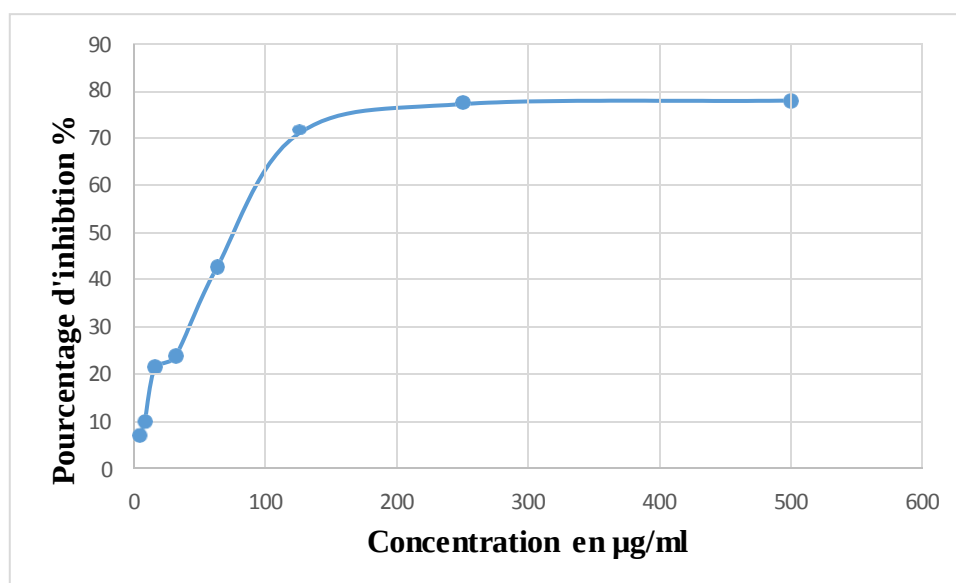


Figure 11 : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire de l'extrait aqueux

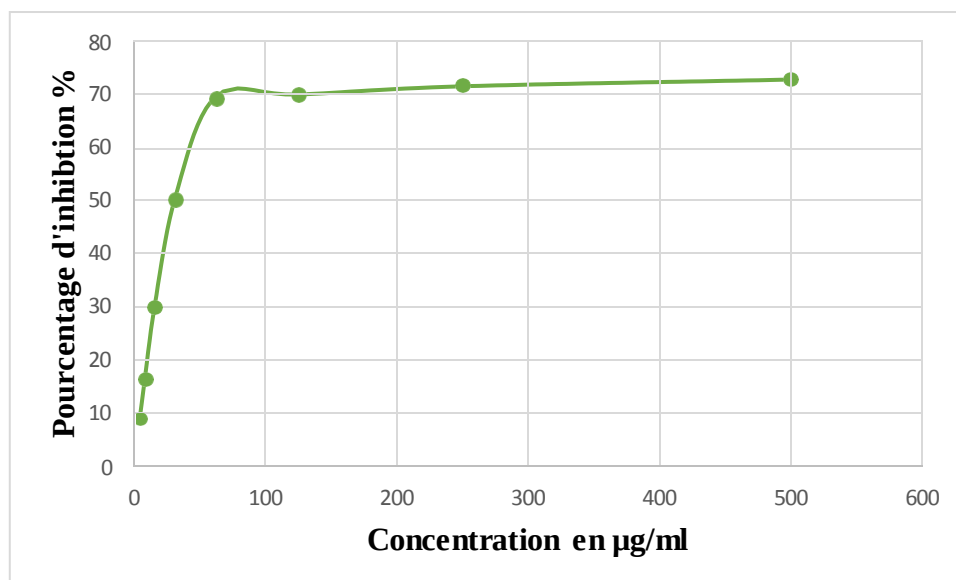


Figure 12 : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire de l'EM

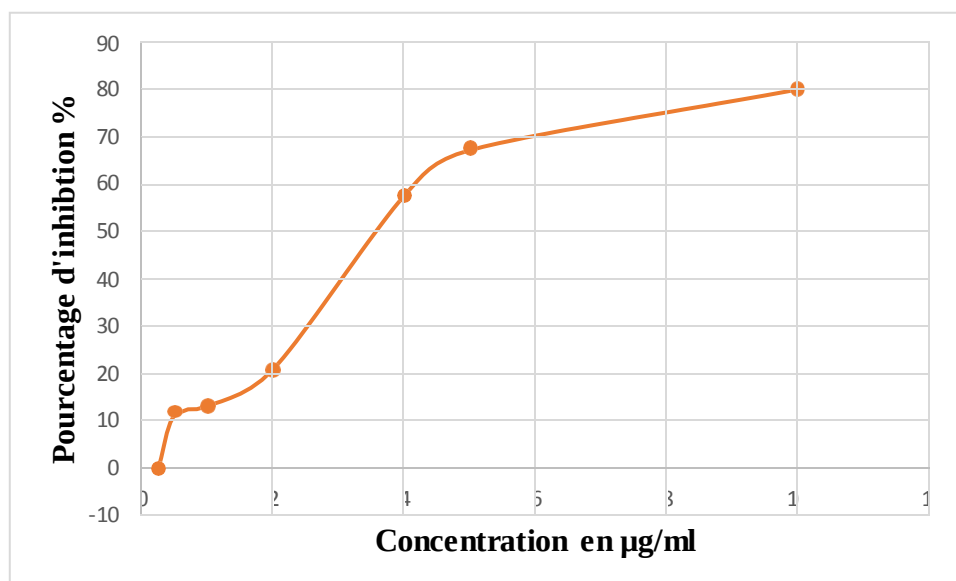


Figure 13 : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire de standard (BHT)

D'après ces résultats, on constate que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration.

Les résultats obtenus montrent une activité anti radicalaire considérables dans des deux extraits *Ephedra alata* avec des IC₅₀ de l'ordre de $26.19 \pm 26.76 \mu\text{g/ml}$, et $38.68 \pm 30.22 \mu\text{g/ml}$, pour l'extrait méthanolique et aqueux respectivement. En comparaison avec l'antioxydant standard (BHT) qui démontre une $\text{IC}_{50} = 4.37 \pm 31.78 \mu\text{g/ml}$, les deux extraits de *Ephedra alata* s'avèrent moins actifs. L'extrait méthanolique possède une activité antioxydante plus élevée quel'extrait aqueux (figure 14).

Cette divergence de l'activité, malgré la présence de teneur proche en composés phénoliques dans les deux extraits est probablement attribuée à la présence d'autres composés non phénoliques responsables de l'activité antioxydante d'*Ephedra alata* ; ainsi que le méthanol possède une grande capacité d'extraire ces composés. Ceci est en accord avec les résultats obtenus par (Benarba et al. (2021) qui montre que l'extrait méthanolique exerce une activité antioxydante plus élevée que l'extrait aqueux

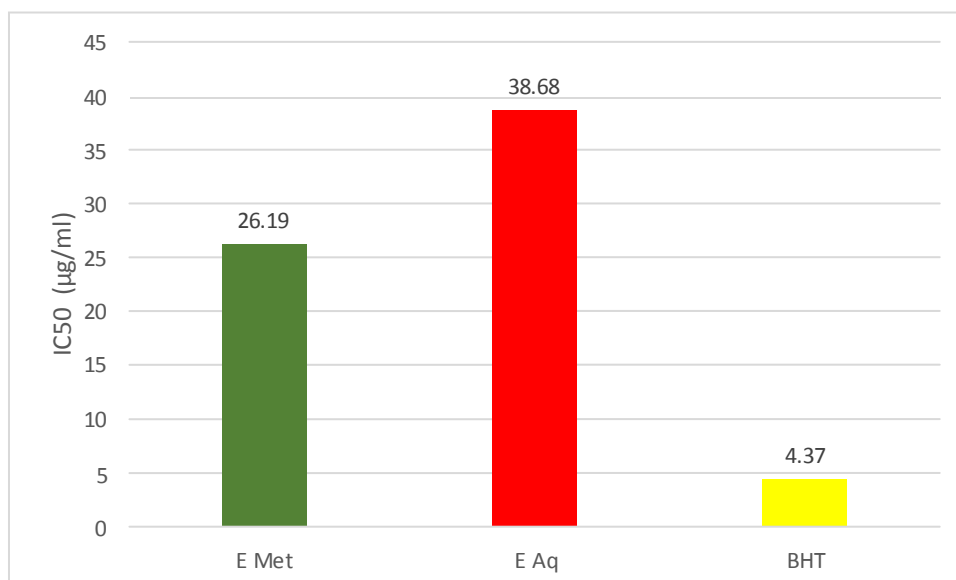
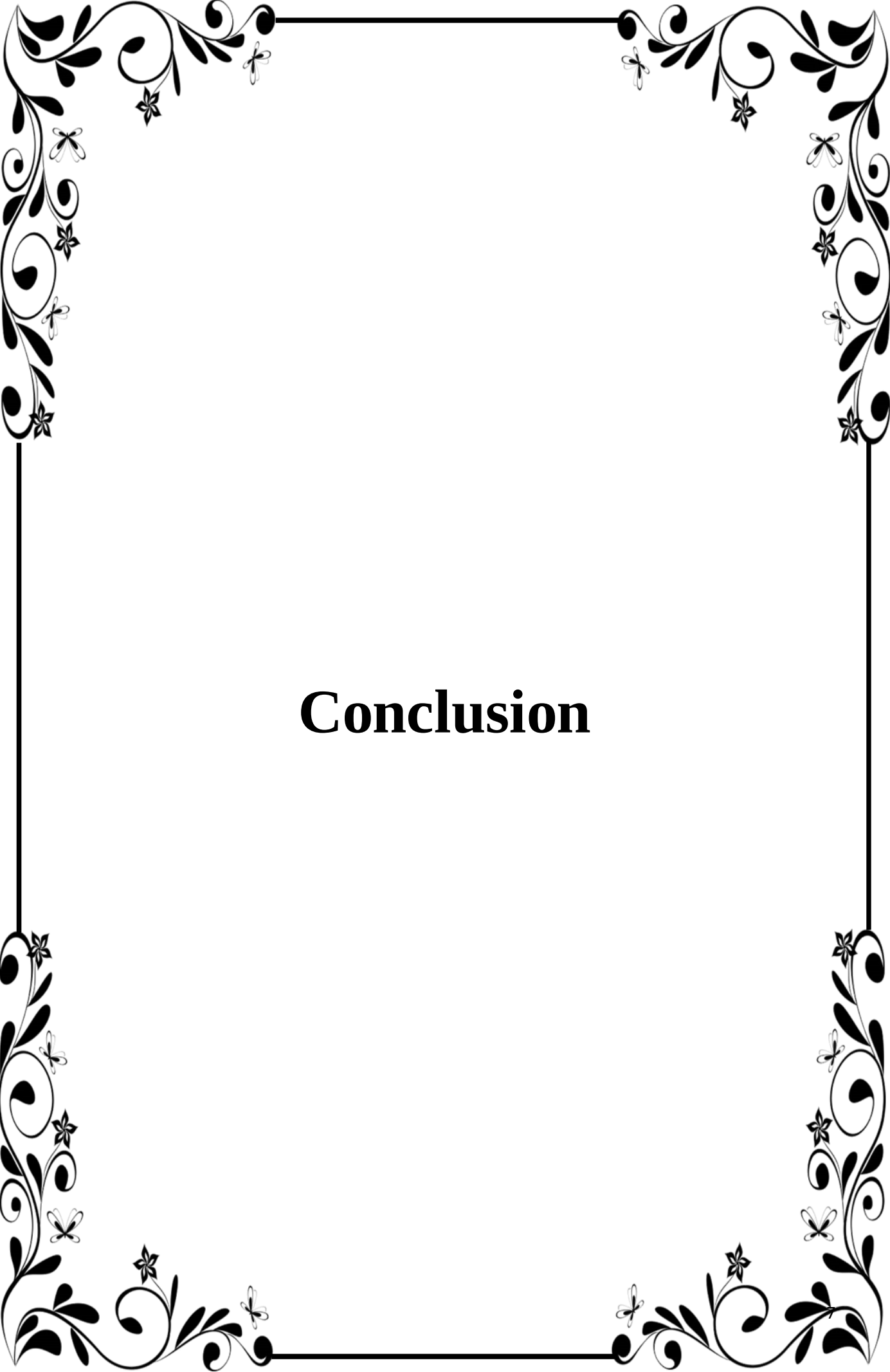


Figure 14 : IC 50 des différents standards et extraits d'E. alata

Les résultats obtenus par Deghiche et al (2019) ont montré que leur extrait méthanolique avait une activité anti-radicalaire plus faible ($63,83 \pm 6,56 \mu\text{g/ml}$) par rapport à notre extrait ($26.19 \pm 26.76 \mu\text{g/ml}$).

Les travaux de Benarba et al (2021) ont montré que l'extrait aqueux avait une capacité anti-radicalaire de ($7,53 \pm 0,12 \mu\text{g/ml}$) et celle de l'extrait méthanolique est de ($1,81 \pm 0,00 \mu\text{g/ml}$). Ce qui indique que leurs extraits possèdent une activité anti-radicalaire plus élevée par rapport à nos extraits.

A decorative rectangular border with ornate floral and scrollwork patterns in each corner, framing the central text.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales sont utilisées pour la préparation de plusieurs médicaments contre diverses maladies.

Dans le présent travail on s'est intéressé aux propriétés biologiques des *Ephedra-alata*. Pour cela deux extraits ont été préparés : extrait méthanolique et l'extrait aqueux.

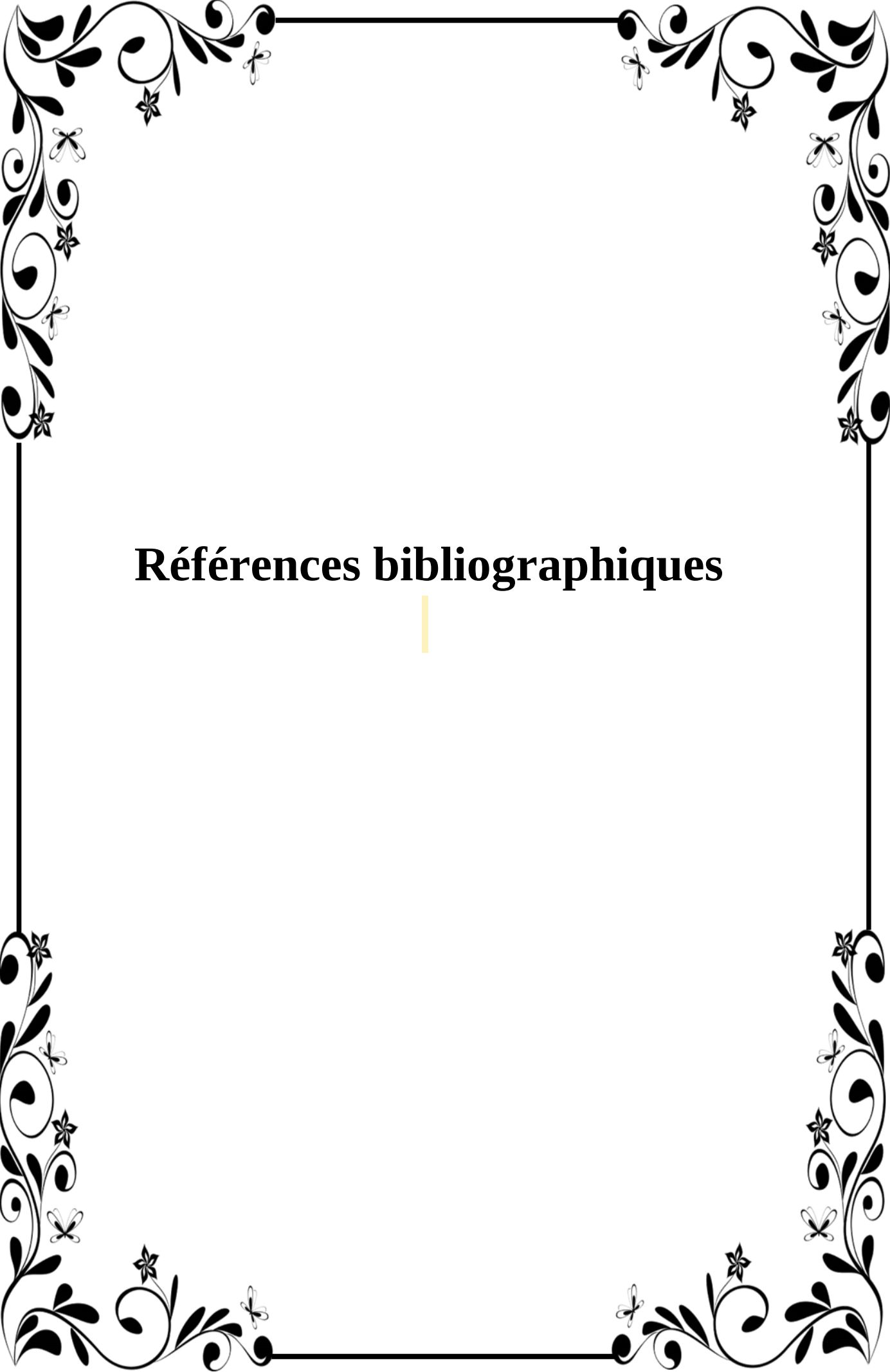
L'extraction de la partie aérienne de la plante a permis d'obtenir des rendements et des aspects qui diffèrent en fonction des solvants utilisés, l'extrait de méthanol représente un meilleur rendement par rapport l'extrait aqueux avec un pourcentage 14,74 %.

Le screening phytochimique a mis en évidence la présence de diverses classes de métabolites secondaires : les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, polyphénol, coumarine, stéroïde

La quantification en polyphénols et en flavonoïdes totaux des différents extraits nous a permis de déduire que la plante testée est une source prometteuse en polyphénols et en flavonoïdes. Les résultats obtenus nous ont révélé que l'extrait le plus riche en polyphénols et flavonoïdes est l'extrait méthanolique.

L'activité antioxydante a été testée par le radical libre DPPH, qui montre que les extraits testés ont une activité antioxydante variable, l'extrait méthanolique noté comme le plus actif ($IC_{50} = 63,83 \pm 6,56 \mu\text{g/ml}$) puis l'extrait aqueux.

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux et des composés phénoliques totaux et du DPPH a montré que la plante a une activité antioxydante puissante, ce qui en fait un excellent choix pour l'analyse biologique et chimique et l'isolement de composés thérapeutiquement actifs avec une puissance anticancéreuse.

A decorative border with black floral and scrollwork patterns framing the page.

Références bibliographiques

A small yellow vertical bar located below the title.

Référence et Bibliographie

- **Abourashed EA., El-AlfyAT., Khan IA. et Walker L., 2003.** *Ephedra* in perspective—a current review. *Phytother. Res.*17:703-712p.
- **Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7), 636-643.
- **Akroum, S. 2011** Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels 2011
- **Annunziata, F., Pinna, C., Dallavalle, S., Tamborini, L. and Pinto, A. (2020).** An Overview of Coumarin as a Versatile and Readily Accessible Scaffold with Broad-Ranging Biological Activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(13), 4618.
- **AL-Qarawi A.A., Abd_Allah E.F. et Abeer H., (2011).** *Ephedra alata* as biologically-based strategy inhibit aflatoxigenic seedborne mold. *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 5, N°16, pp. 2297-2303
- **Al-qaraawi m., bdulazizA., 2011,** vegetation, analysis in the Rawdh at Om al-khefas, central Saudi Arabia. *Australian journal of Basic and Applied Sciences* 5(12):3264-3269.
- **Al-Rimawi F., Abu-Lafi S., Abbadi J., Alamarneh A., Sawahreh RA., Odeh I., 2017.** 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: AJTCAM*, 14(2), 130–141p.
- **Al-Qarawi, A. A., Abd Allah, E. F., & Hashem, A. (2012).** Effect of *Ephedra alata* on nucleic acids and nitrogen metabolism of seedborne *Aspergillus flavus*. *Pakistan Journal Of Botany*.
- **Arts, I. C. W., & Hollman, P. C. H. (2005).** Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 317S–325S.
- **Aslani, B. A., & Ghobadi, S. (2016).** Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life sciences*, 146, 163-173.

- **Bachir Benarba, Ouafae Douad¹, Chaimaa Gadoum, Khadija Belhouala, Soumicha Mahdjou²** ¹Laboratory Research on Biological Systems and Geomatics, University of Mascara, Mascara 29000, Algeria ; bachirsb@yahoo.fr ²Department of Biology, University of Mascara, Mascara 29000, Algeria ³Higher School of Biological Sciences, Oran 31000, Algeria Correspondence: bachirsb@yahoo.fr # BB, OD and GC contributed equally and share first authorship
- **Benarba, B., Douad, O., Gadoum, C., Belhouala, K., & Mahdjour, S. (2021).** Phytochemical profile, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Ephedra alata* Decne growing in south Algeria.
- **Belloum Z ; 2007-**Etude phytochimique des plantes médicinales Algérienne, cas de l'espèce *Inula Crithmoides* L. mémoire pour l'obtention de diplôme de magister en chimie organique p89.
- **Brigelius-Flohe R., Traber M.G. (1999).** Vitamin E: function and metabolism. *Faseb j.* 13 : 1145-1155
- **Blumenthal M., King P., 1995.** Ma huang: ancient herb, modern medicine, regulatory dilemma; a review of the botany, chemistry, medicinal uses, safety concerns, and legal status of ephedra and its alkaloids. *American botanical council*, 34 :22–27p.
- **Borges, L. L., Alves, S. F., Sampaio, B. L., Conceição, E. C., F. Bara, M. T. and Paula, J. R. (2013).** Environmental factors affecting the concentration of phenolic compounds in *Myrcia tomentosa* leaves. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(2), 230-238
- **Boudjouref M, 2011-**Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extrait d'*Artemisia Campestris* L. thèse de magister en biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. p99.
- **Bouakaz, I., (2006).** Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna.
- **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Lavoisier Tec & Doc : 4^{ème} édition, 1268.
- **Caveney, S., Charlet, D. A., Freitag, H., Maier-Stolte, M., & Starratt, A. N. (2001).** New observations on the secondary chemistry of world *Ephedra* (Ephedraceae). *American journal of botany*, 88(7), 1199-1208.

- **Calias P., Galanopoulus T., Maxwell M., Khayat A., Graves D., Antoniadis H. N., Dalarcao M. 1996.** Synthesis of inositol-2-phosphate- cuercetin conjugates. Carbohydr Res 292 : 83–90.
- **Ceccon, J., 2006.** Synthèse Totale d'Alcaloïdes Polyhydroxylés: la (–)-Swainsonine, la (+)-6- Épicastanospermine, la (+)-Castanospermine et la (–)-Détoxinine.
- **Chaieb, M., Delaigue, M., Guittonneau, G., Aurousseau, R.P. (2008).** Voyage botanique en Tunisie méridionale, faculté des sciences de Sfax.
- **Chen w.L., Tsai T.H., Yang C.C.H., kuo T. B.J., 2010.** Effects of Ephedra on autonomic nervous modulation in healthy young adults . journal of ethnopharmacology 130:563-568.
- **Chaieb, M., Delaigue, M., Guittonneau, G., Aurousseau, R.P. (2008).** Voyage botanique en Tunisie méridionale, faculté des sciences de Sfax.
- **Chopra C., Abrol B. K. et Handa K. L., (1960).** Les plantes médicinales des régions arides considérées sur tout du point de vue botanique : 1^{ière} partie. Recherche sur les zones arides XIII. Ed. UNESCO, Rome, 97 p.
- **Cillard, J. AND P. CILLARD, 2006,** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des antioxydations. Oleagineux, corps gras, lipides, 2006, 13(1), 24-29.)
- **Dancuic., Muntean D ., Alexa., Farcas M ., Oprean C ., Zupko I., Bor A., Minda D., PROKS M., BUDA V., Hancianu M., CIOANCA O., SOICA C., POPESCU S., DEHELEAN C.A., 2019.** Phytochemical characterization and evaluation of the antimicrobial, antiproliferative and pro-apoptotic potential of Ephedra alata Decne .Hydro alcoholic Extract against the MCF-7 Breast cancer cell Line. Molecules 24(13) :1-15.
- **Debnath, B., Singh, W. S., Das, M., Goswami, S., Singh, M. K., Maiti, D., and Manna, K. (2018).** Role of plant alkaloids on human health: A review of biological activities. Materials Today Chemistry, 9 :56-72.
- **DESMIER, T.** Les antioxydants de nos jours : définition et applications. éditeur inconnu, 2016.
- **Emberger, L.** Une classification biogéographique des climats. Nat Monspl Série Bot 1955, 7 : 3-42

- **Evans, W. C. (2009).** *Trease and Evans' pharmacognosy*. Elsevier Health Sciences.
- **Feng, D., Zhang, A., Yang, Y. and Yang, P. (2020).** Coumarin containing hybrids and their antibacterial activities. *Archiv Der Pharmazie*, 353(6).
- **Ghourri, M., Zidane, L., & Douira, A. (2013).** Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). *JAPS*, 17(1), 2388-2411.
- **Gill, S.S. and Tuteja, N. (2010).** Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Physiol and Bioch.*, 48 :909 – 930
- **Gulcin** 2012
- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 2007 628-38.
- **Hamel, T., Sadou, S., Seridi, R., Boukhdir, S., & Boulemtafes, A. (2018).** Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'edough (nord-est algérien). *Ethnopharmacologia*, 59, 65-70.
- **Halliwell B., Gutteridge J M C. 2007.** *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, Oxford 4ème édition
-
- **Hatcher, C. R., Ryves, D. B. and Millett, J. (2020).** The function of secondary metabolites in plant carnivory. *Annals of Botany*, 125(3), 399-411.
- **Havsteen, B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut.* p96, 67– 202.
- **Hamel, 2018.** Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'Edough (nord-est algérien). *Ethnopharmacologia*, 59, 65-70.
- **Hassanpour, S., N. Maherisis and B. Eshratkhah** *Plants and secondary metabolites (Tannins): A Review* 2011.)
- **Hatcher, C. R., Ryves, D. B. and Millett, J. (2020).** The function of secondary metabolites in plant carnivory. *Annals of Botany*, 125(3), 399-411.
- **Havsteen, B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut.* p96, 67– 202.
- **Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. p1, 3-6.

- **Hernes, P. J. AND J. I. Hedges., 2004**, Tannin signatures of barks, needles, leaves, cones, and wood at the molecular level. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 68(6), 1293- 1307
- **Hegazi, G. A. E. M., & El-Lamey, T. M. (2011)**. In vitro Production of Some Phenolic Compounds from *Ephedra alata* Decne. *J. Appl. Environ. Biol. Sci*, 1(8), 158-163.
- **Isela García-Ríos, R., Mora-Pérez, A., Raquel Ramos-Molina, A. and Soria-Fregozo, C. (2020)**. Neuropharmacology of Secondary Metabolites from Plants with Anxiolytic and Antidepressant Properties. In: J. Francisco Rodríguez-Landa & J. Cueto-Escobedo (eds.), *Behavioral Pharmacology—From Basic to Clinical Research*. 39.
- **Jaradat, N., Hussen, F., & Al Ali, A. (2015)**. Preliminary Phytochemical Screening, Quantitative Estimation of Total Flavonoids, Total Phenols and Antioxidant Activity of *Ephedra alata* Decne. *J Mater Environ Sci*, 6(6), 1771-8.
- **Kebili Z, 2016**. Contribution à l'étude de quelques activités biologiques des extraits de *Ephedra alata* de la région de Ouargla. Thèse de magistère, Université Kasdi Merbah-Ouargla, 102 pages.
- **Kumar, N. and Goel, N. (2019)**. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 24, e00370.
- **Kukulakoch, W.A., Widelski, J. (2017)**. Alkaloids In: Badal, S., Delgoda, R. (Eds), *Pharmacognosy Fundamentals, Applications and Strategies*, Poland. 163-198.
- **Kurek, J. (2019)**. Introductory Chapter: Alkaloids - Their Importance in Nature and for Human Life. In J. Kurek (Éd.), *Alkaloids—Their Importance in Nature and Human Life*. 1-7.
- **Limberger, R. P., Jacques, A. L. B., Schmitt, G. C., & Arbo, M. D. (2013)**. Pharmacological effects of ephedrine. In *Natural Products* (pp. 1217-1237). Springer Berlin Heidelberg.
- **Lin, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., Kong, M., Li, L., Zhang, Q., Liu, Y., Chen, H., Qin, W., Wu, H. and Chen, S. (2016)**. An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. *Molecules*, 21(10), 1374.
- **Laid Z ; 2016**-Etude phytochimique et Evaluation biologique des extraits organiques des différentes parties de *LIMONASTRIUM*. Thèse de doctorat en chimie organique p 27-28.

- **Ma, G., Bavadekar, S. A., Davis, Y. M., Lalchandani, S. G., Nagmani, R., Schaneberg, B. T., ... & Feller, D. R. (2007).** Pharmacological effects of ephedrine alkaloids on human $\alpha 1$ -and $\alpha 2$ -adrenergic receptor subtypes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 322(1), 214-221.
- **Mosunova, O., Navarro-Muñoz, J. C. and Collemare, J. (2021).** The Biosynthesis of Fungal Secondary Metabolites: From Fundamentals to Biotechnological Applications. In: Zaragoza, O., Casadevall, A. (Eds), *Encyclopedia of Mycology*. 458-476.
- **Merghem R ; 2009**-livre des éléments de biochimie végétale p23-98-107-111-112-113-115-11
- **Nawwar, M. A., El-Sissi, H. A. I., & Barakat, H. H. (1984).** Flavonoid constituents of *Ephedra alata*. *Phytochemistry*, 23(12), 2937-2939. 6-118-120-121-124-127-135-137-143-144-152-153-157-158
- **Newman DJ; Cragg GM; 2012**-Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* Vol. (75):311-335.
- **Ould El Hadj, M., Hadj-Mahammed, M., & Zabeirou, H. (2013).** Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional est). n°3, pp.47-51
- **Ozenda, P. (1991).** *Flora and vegetation of the Sahara*. CNRS. Paris (3ème Ed.). 662p
- **Palicij, F., 2016.** Valorisation des activités biologiques de certaines espèces végétales sahariennes Nord-africaines. Thèse de doctorat en sciences agronomiques, biotechnologies Agro-alimentaires, Université de Bordeaux, France, 156 p.
- **Peters c.m., O'Neill j .O., young j.B., 2005** .is there an association between Ephedra and heart failure ? A case serie . *journal of cardiac failure* 11(1) :1-9
- **Phinney, K. W., Ihara, T., & Sander, L. C. (2005).** Determination of ephedrine alkaloid stereoisomers in dietary supplements by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1077(1), 90-97.
- **Rates, S. M. K. (2001).** Plants as source of drugs. *Toxicon*, 39(5), 603-613.
- **Raunkiaer, C., 1934.** The life form of plants and statistical plant geography. Oxford: Clarendon Press.
- **Safa DIGHECHE, Meriem KHALFALLAH. (2019).** Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits et des alcaloïdes totaux de l'*Ephedra alata*

alenda de la région d'Oued Souf. Page-33. Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie.

- **Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., ... & Sharifi-Rad, J. (2020).** Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in physiology*, 11, 694.
- **Soni, M. G., Carabin, I. G., Griffiths, J. C., & Burdock, G. A. (2004).** Safety of Ephedra: lessons learned. *Toxicology letters*, 150(1), 97-110.
- **Soares, A. F. (2005).** *Effets du stress oxydant sur le fonctionnement des adipocytes : adiponectine et prostaglandines* (Doctoral dissertation, Lyon, INSA).
- **Tang S Y., Halliwell B. 2010.** Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies? *Biochemical and Biophysical Research Communications* 394 : 1-5.
- **Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Int*
- **Yazaki, K., Sasaki, K., & Tsurumaru, Y. (2009).** *Prenylation of aromatic compounds, a key diversification of plant secondary metabolites*. *Phytochemistry*, 70, 1739–1745a
- **Zheng E., Navarro, 2016.** Liver injury due to herbal and dietary supplements: A review of individual ingredients, *clinical liver disease* 7: 81 p.
- **Xavier, W., Ernest, L. Y., Armel-Frédéric, N., Firmin, B. P., Marinette, S., Jean-Laurent, S. M., & Boniface, K. (2019).** ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DE L'EXTRAIT METHANOLIQUE DES ECORCES DE MANILKARA MABOKEENSIS. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 25(2), 785