



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la  
vie  
Département des sciences de la nature et de la vie

# MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

Réf: .....

---

Présenté et soutenu par :  
**Fatima zohra KALACHE**  
**Imene ATMANE**

## Thème

**Étude des activités biologiques de la plante *Ephédra alata* de la région des Aurès**

---

### Jury:

M.	Tarek Benmeddour	MCA	Université Biskra	Président
Mme.	Nassima Beameur	MCB	Université Biskra	Rapporteur
M.	Laiadi Ziane	Pr	Université Biskra	Examineur

Année universitaire : 2021 – 2022



# Remerciements

Nos remerciements, avant tout, à DIEU tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il nous 'a données durant toutes ces années d'études afin que nous puissions d'accomplir ce projet de fin d'étude.

Nous n'arrivons pas à trouver de mots suffisamment forts pour exprimer la reconnaissance que nous avons à l'égard du à notre promotrice Dr.

**BENAMEUR Nassima,**

pour avoir acceptée d'encadrer la lourde tâche de lire l'intégralité de ce manuscrit et d'examiner ce travail.

Merci pour votre confiance et votre patience. La confiance que nous 'a témoigné la professeure **BENAMEUR Nassima**, le soutien et les conseils qu'il nous 'a prodiguée tout au long de ce parcours de recherche, nous 'ont permis de réaliser cette mémoire dans des conditions intellectuelles favorables.

Travailler avec elle est une expérience passionnante,  
C'est une femme que j'estime pour son honnêteté et son humanisme.

*Merci infiniment*

## Dédicace

À mes très chers parents, ma mère Hayat Hamidi Ben Hamida, mon papa Djamel et ma grande mère Hocine Baya qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite, et pour leur soutien.

Que dieu les gardes Eternellement heureux.

J'espère que vous êtes fière de moi.

À mes frères et sœurs Nesrine, Nardjes, Maria, à Abdelhalim & Zoubir. Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'amour que je porte pour vous. Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais. Que dieu vous garde

À ma famille, À toute personne qui porte le nom Kalache, Hamidi Ben Hamida, À ma grand-père et grand-mère, Mes tantes Meriem, Raja, Nassima, Radhia et ses maris. À mon oncle Boualem, mes adorables cousines et cousins, pour l'amour qu'ils ont témoigné à mon égard.

Merci pour votre soutien. Que dieu vous préserve.

À Ma binôme et ma chère amie Atmane Imene

Grâce à qui j'ai obtenu de magnifiques souvenirs et moments. Elle m'a soutenu, tout au long de mon parcours étudiant, dans les moments les plus difficiles, Merci infiniment, Que dieu te protège.

À mes amis

À mes meilleures amis Maroua, Imene et surtout ma cousine Assala. Merci pour le courage, les sourires et les bons moments ensemble. Je vous aime et je vous souhaite une vie pleine de réussite, de santé et de bonheur. Que dieu vous protège.

À toute personne qui occupe une place dans mon cœur

**Zahra**

À mon idole, à mon amour éternel à celui qui m'a marqué mes premiers pas et qui ma portée sur son dos et me porte toujours avec son cœur... À mon seul héro, mon cher papa Abderrahmane.

À mon ange, mon paradis, à celle qui m'a donnée la vie et éclairée mes jours qui m'a amené là où je suis... À ma vie, ma chère maman Fatiha Azri.

J'espère que vous êtes fière de moi.

À mes chers frères Zakaria, Ayoub, Ziad et Mehdi. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de réussite. Que tous vos rêves soient exaucés.

À mon oncle Abdelmadjid, mon deuxième père et ma tante Fadhila et ses enfants Haroun, Serine, Haithem et Tesnime. Qu'ALLAH le Plus Haut vous garde en bonne santé et vous prête une longue vie pleine de bonheur et de prospérité.

À mes chères grandes mères, l'exemple de l'amour et le sacrifice. Que dieu vous garde pour moi.

À toute les membres de ma famille.

À mon binôme et ma meilleure amie, Zahra; qui a partagé avec moi les moments heureux et difficiles de ce travail. Ces mots ne suffiront pas à exprimer tout ce que j'ai sur le cœur et toute la gratitude que je porte. Merci pour ta positivité, ton soutien et ton aide dans les moments durs. Je te souhaite un avenir plein de joie et de prospérité

À mes très chères copines Maroua et Zahra; vous êtes pour moi des sœurs plus que des amies. Soyez toujours comme je vous connais.

**Imene**

## Sommaire

Remerciements.....	
Liste des tableaux.....	I
Liste des figures .....	III
Liste des abréviations.....	IV
Introduction .....	1

## Première partie

### Synthèse bibliographique

#### Chapitre 1

##### Généralités sur *éphedra alata*

1. Généralités sur <i>éphedra alata</i> .....	3
1.1. Famille des Ephedraceae.....	3
1.2. Genre Ephedra .....	3
1.3. L'espèce <i>éphedra alata</i> .....	4
1.3.1. Position systématique.....	4
1.3.2. Description botanique.....	4
1.3.3. Répartition géographique.....	5
1.3.4. Propriétés et utilisation de la plante <i>éphedra alata</i> .....	6

#### Chapitre 2

##### Métabolites secondaires

2. Métabolites secondaires.....	7
2.1. Métabolites secondaires.....	7
2.1.1. Polyphénols.....	7
2.2.2. Flavonoides.....	7
2.2.3. Tannins.....	8
2.2.4. Alcaloides.....	8
2.2. Activités biologique .....	9
2.2.1. Activité antioxydant.....	9
2.2.2. Activité antiinflammatoire.....	9
2.2.3. Activité antibactérienne.....	10

## **Deuxième partie**

### **Partie expérimentale**

#### **Chapitre 3**

##### **Matériel et Méthodes**

3.1. Matériel.....	11
3.1.1. Appareillages.....	11
3.1.2. Matériel végétal.....	11
3.1.3. Matériel biologique.....	12
3.2. Méthode.....	12
3.2.1. Préparation des extraits.....	12
3.2.2. Extraction des alcaloïdes.....	14
3.2.3. Screening phytochimique.....	16
3.2.3.1. Caractérisation des alcaloïdes.....	16
3.2.3.2. Caractérisation des tannins.....	17
3.2.3.3. Caractérisation des flavonoïdes.....	17
3.2.3.4. Caractérisation des stéroïdes.....	18
3.2.4. Dosages des métabolites secondaires.....	18
3.2.4.1. Dosages des polyphénols totaux.....	18
3.2.4.2. Dosages des flavonoïdes totaux.....	20
3.3.1. Évaluation de l'activité antioxydant.....	21
3.3.2. Évaluation de l'activité antiinflammatoire.....	22
3.3.3. Évaluation de l'activité antibactérienne.....	24

#### **Chapitre 4**

##### **Résultats et discussion**

4. Résultats et discussion.....	24
4.1. Résultats.....	25
4.1.1. Rendement d'extraction.....	25
4.1.1.1. Rendement d'extraction des molécules d'intérêt.....	25
4.1.1.2. Rendement d'extraction des alcaloïdes.....	25
4.1.2. Screening phytochimique.....	26
4.1.3. Résultats du dosage des métabolites secondaires.....	27
4.1.3.1. Polyphénols et flavonoïdes totaux.....	27
4.1.4. Résultats du l'évaluation de l'activité antioxydant.....	28

4.1.4.1. Activité de piégeage des radicaux DPPH.....	28
4.1.4.2. Activité antioxydant totale.....	31
4.1.5. Résultats du l'évaluation de l'activité anti-inflammatoires.....	31
4.1.5.1. Stabilisation de la membrane HRBC.....	32
4.1.5.2. Activités d'inhibition de la dénaturation des protéines.....	34
4.1.5.2.1. Inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine.....	34
4.1.6. Résultats du l'évaluation de l'activité antibactérienne.....	35
4.2. Discussion.....	37
Conclusion.....	41
Références Bibliographiques.....	42
Annexe.....	
Résumé .....	



## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Classification d' <i>Ephedra alata alenda</i> .....	4
<b>Tableau 2:</b> Rendement d'extraction des extraits d' <i>Éphedra alata</i> .....	25
<b>Tableau 3:</b> Tests phytochimiques de dépistage des extraits aqueux, méthanolique, acétonique et éthanolique d' <i>Ephedra alata</i> .....	26
<b>Tableau 4:</b> teste phytochimique de dépistage des extrais aqueux et methanolique de <i>éphédra alata</i> .....	27
<b>Tableau 5:</b> %d'inhibition des radicaux libres DPPH par différentes solvants d'extraits de plante <i>Ephedra alata</i> .....	29
<b>Tableau 6:</b> %d'inhibition des radicaux libres DPPH par différentes solvants d'extraits de plante <i>Ephedra alata</i> .....	30
<b>Tableau 7:</b> Activité de piégeage des radicaux des extraits d' <i>Éphedra alata</i> .....	30
<b>Tableau 8:</b> Activité de stabilisation de la membrane HRBC des déférents extraits .....	33

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Généralités sur la famille des Ephédracea.....	3
<b>Figure 2.</b> Photo d'Ephédra alata.....	5
<b>Figure 3.</b> Répartition géographique de l'Ephédra dans le monde.....	6
<b>Figure 4.</b> Structure de base des flavonoïdes (C6-C3-C6).....	8
<b>Figure 5.</b> Classification des tanins .....	8
<b>Figure 6:</b> Acteivité de piégeage des radicaux des extraits d' <i>Éphedra alata</i> .....	28
<b>Figure 7:</b> Activité d'inhibition de l'étalon trolox et de l'extrait d' <i>éphédra alata</i> .....	29
<b>Figure 8:</b> Capacité antioxydant totale des extraits d' <i>Éphedra alata</i> .....	31
<b>Figure 9:</b> Activité de stabilisation de la membrane HRBC des extraits d' <i>Éphedra alata</i> .....	32
<b>Figure 10:</b> Activité de stabilisation de membrane HRBC.....	33
<b>Figure 11:</b> Activité d'inhibition de la dénaturation des protéines de l'albumine sérique bovine des extraits d' <i>Éphedra alata</i> .....	34
<b>Figure 14:</b> Activité d'inhibition de la dénaturation des protéines de l'albumine sérique bovine .....	35

## Liste des abréviations

**CAT:** capacité antioxydante totale

**HRBC:** la membrane des globules rouges humains

**BSA:** Albumine sérum bovin

**AG:** Acide galique

**RU:** Rutine

**ERO:** Espèces réactives de l'oxygène

**Etoac:** L'acétate d'éthyle

**N-Buoh:** Butanol

**CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:** Le chlorure méthyle

**EA:** Extrait d'alcaloïdes

**AT:** Alcaloïdes totale

**E:** Ephedrine

**PE:** Pseudoephedrine

**EAA:** Extrait d'acide ascorbique

**TPC:** Contenu phénolique totale

**AlCl<sub>3</sub>:** Trichlorure d'aluminium

**UV:** Ultraviolet

**CFT:** contenu flavonoïde totale

**MRSA:** Methicillin-resistant Staphylococcus aureus

**RMN:** Résonance Magnétique Nucléaire

**NaHCO<sub>3</sub>:** Bicarbonate de sodium

**NaNO<sub>3</sub>:** Le nitrate de sodium

**DPPH:** Le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle est un radical libre

**IC<sub>50</sub>:** concentration inhibitrice demi-maximale

**PBS:** Le tampon phosphate salin (phosphate-buffered saline)

**AINS:** Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

**CFU:** Colony Forming Units. (Cellules souches médullaires)

**NaCl:** Le chlorure de sodium

**HCl:** L'acide chlorhydrique

**Fe Cl<sub>3</sub>:** chlorure de fer

**DMSO:** le diméthylsulfoxyd

# **Introduction**

### Introduction

De nos jours les plantes médicinales reçoivent beaucoup d'attention de nos jours pour répondre à la préoccupation du public de remplacer la médecine de synthèse par celles d'origine naturelle ont l'aptitude de synthétiser de nombreux composés appelés métabolites secondaires. Le problème croissant de la résistance aux antibiotiques ainsi que l'apparition de nouvelles maladies infectieuses soulève la nécessité de trouver des substituts d'origine naturelle. Affirment **Austin et al., (1999); Mothana et Lindequist., (2005).**

Parmi les plantes les plus répandues dans la région des Aurès algérien l'espèce *Ephedra alata* est connue pour son usage en médecine traditionnelle (**Hadjadj et al., 2020**). *Ephedra alata* Decne. (Le nom arabe est Alanda, famille Ephedraceae) est un genre vivace d'herbe à graines non florifère appartenant à la plante Gnetales, le parent vivant le plus proche de l'angiosperme (**Friedman et al., 1996**)

Les terres natales de cette espèce sont l'Algérie, l'Iran, l'Irak, le Tchad, l'Égypte, la Palestine, le Liban, la Jordanie, l'Arabie saoudite, le Maroc, la République arabe syrienne, la Libye, la Mauritanie, le Mali, la Somalie et la Tunisie (**Abourashed et al., 2003; Alqarawi et al., 2014**).

La plante *Ephedra alata* est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement et/ou la prévention des divers cas (**Hadjadj et al., 2020**), telles que: soulager les crises l'asthme, la congestion nasale et l'hypotension, l'incontinence urinaire, la toux, les bronches, le système circulatoire, les troubles du système digestif ainsi que pour le traitement du cancer et traitement des infections bactériennes et fongiques (**Al-Qarawiet all., 2012; Gupta et all., 2008**). Aujourd'hui, il y a un intérêt croissant pour l'application de l'éphédra dans l'amélioration des performances et la suppression de l'appétit. (**Abourashed et al., 2003**)

Contrairement à la plupart des autres suppléments à base de plantes, les produits à base d'éphédra comportent un risque remarquable pour la santé, qui est aggravé par leur mauvaise utilisation. Une meilleure sensibilisation par la reconnaissance de la toxicité des plantes est nécessaire pour minimiser les dangers de l'utilisation des produits à base de plantes. À la lumière de ce fait, le dépistage des plantes médicinales potentielles, la détermination de ses principes actifs et l'évaluation de ses activités biologiques sont récemment devenus la compétence de certains chercheurs. (**Jaccot et Campillo., 2003**)

L'objectif de ce travail synthétique est d'isoler, purifier et évaluer des agents antioxydants, antiinflammatoires et antibactériens de l'*Ephedra alata* afin d'analyser et discuter des articles publiés dans des journaux scientifiques.

L'étude menée sur l'*Ephedra alata* se déroule comme suit:

1. Partie bibliographiques: comporte deux chapitres. Le 1<sup>ère</sup> est consacré à une synthèse bibliographique rappelant des généralités sur l'*Ephedra alata* incluant la classification botanique de la plante, la distribution géographique, la description botanique, usages traditionnels et enfin sa composition phytochimique. Le 2<sup>ème</sup> porte essentiellement sur les différents métabolites secondaires et leurs activités biologique (antioxydant, antiinflammatoire et antibactérienne).
2. Partie expérimentale : elle est subdivisée en 2 chapitres : le premier présente la partie matériel et méthodes : comporte les détails sur les différentes étapes de l'extraction et de dosage des métabolites secondaires d'*Ephedra alata* et l'évaluation de l'activité antioxydant, antiinflammatoire et antibactérienne de l'extrait d'*Ephedra alata*. le second présente la partie résultats et discussion qui sera une synthèse de recherche discutant les résultats des articles scientifiques.

# **Partie bibliographique**

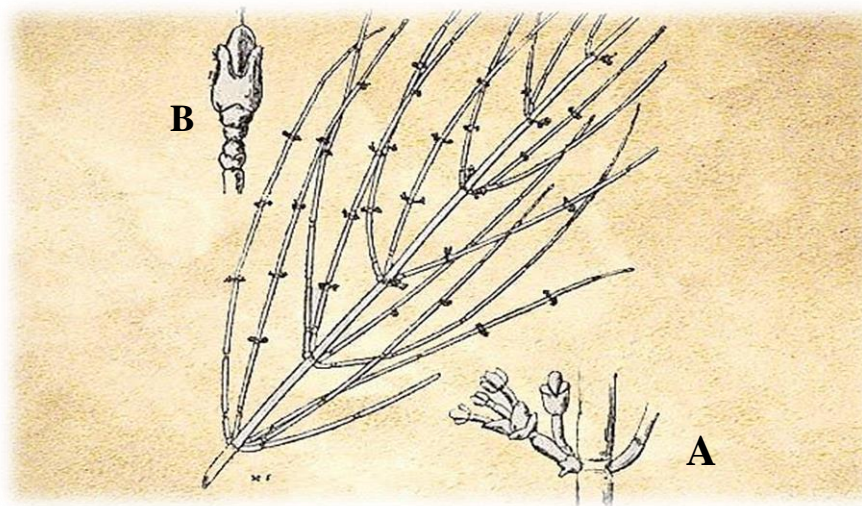


**Chapitre 1**  
**Généralité sur la plante**  
***(Ephedra alata alenda)***

## 1.1. Généralités sur la famille Ephedraceae

Selon **lee. (2011)** Les Ephedraceae sont des plantes phylogénétiquement très anciennes appartenant au groupe des gymnospermes « graines nues ». Ce sont des petits arbres à branches minces, anguleuses et striées dont les feuilles sont réduites à des écailles membraneuses. Arbustes ligneux, leurs branches longues restent vertes, ressemblant à des tiges de prêles. Elles ne possèdent ni feuilles vertes, ni aiguilles, des organes contenant de la chlorophylle participent à la formation de la plante, la tige à l'élaboration et à la circulation des aliments. **anonyme. (2020)**

Depuis des siècles Ephédra est une plante médicinale recherchée pour ses effets sur les affections des voies respiratoires, employée sous le nom d'éphédrine dans les médicaments Européens. Leurs baies sont utilisées comme médicament (**Maryvonne., 2011**) (voir figure 01).



**Figure .01** : figure de la famille des Ephédraceae (A; fruit, B; fleur) (**anonyme., 2020**)

## 1.2. Présentation du genre Ephédra

La famille des Ephedraceae possède un seul genre Ephédra composé près de 40 espèces dans le monde selon (**Evans., 2009**). Elle est des arbustes dioïques vivaces à rameaux articulés, avec de minces tiges dressées, verts jaunâtres, intersectées et légèrement nervurées et qui se terminent par une pointe souvent acérée. Au niveau des nœuds, qui sont écartés de 4 à 6 cm, les feuilles réduites en écailles apparaissent triangulaires. (**Limberger et al., 2013; Ozenda, 1991; Abourashed et al., 2003**).

Les espèces de ce genre peuvent pousser dans des conditions semi-arides et désertiques et caillouteuses autour de la Méditerranée, ce qui rend les six continents appropriés pour la croissance de ce genre. Ce dernier se développe habituellement dans des sols sableux, des pentes sèches et des côtés secs de montagnes selon aussi (**Limberger et al., 2013**).

### 1.3. L'espèce *éphédra alata alenda*

#### 1.3.1. Position systématique

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

**Tableau 1.** Classification d'*Ephedra alata alenda* selon (**Ozenda., 1991**).

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

#### 1.3.2. Description botanique de l'espèce *Ephédra alata*

Cette espèce, qui est réputée pour sa tolérance élevée à la carence en eau dans les régions sahariennes.

- ✓ Un arbuste de 1 à 3 mètres de haut.
- ✓ Rameaux articulés et très ramifiés d'une couleur vert-jaunâtre.
- ✓ Portant au niveau des nœuds de petites feuilles opposées, alternant d'un nœud à l'autre.
- ✓ Les fleurs sont en petits cônes blanchâtres, dioïques (fleurs mâles et femelles sur des pieds différents).
- ✓ Les fruits entourés de bractées largement membraneuses.
- ✓ Elle présente un système de racines latérales extrêmement puissant (**Ozenda., 1991; Derbel et al., 2010**).
- ✓ Floraison: hiver, printemps.

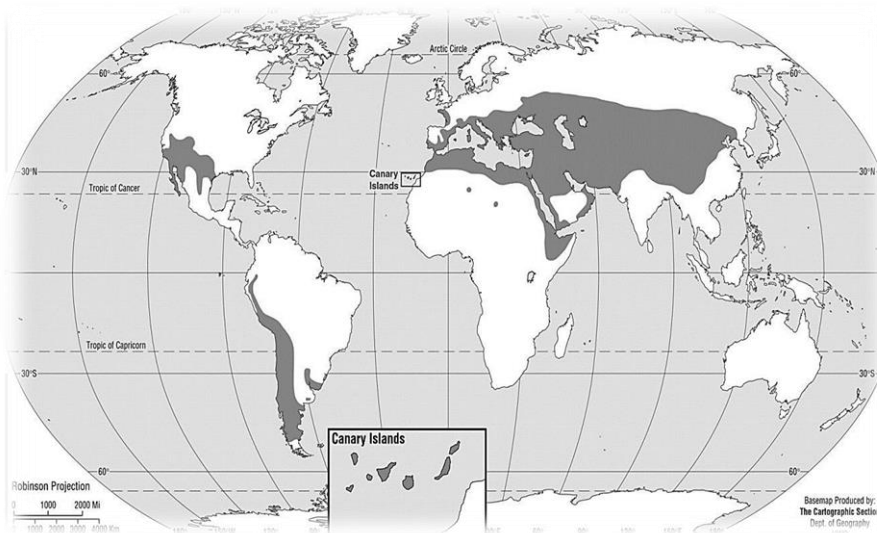


**Figure .02 :** Photo d'*Ephédra alata* (BOULBERHANE,2017)

### 1.3.3. Répartition géographique

L'espèce *Ephédra alata* est une plante originaire d'Asie, tandis que l'Arabie Saoudite (Al-Qarawi et al., 2011). Elle est propagée dans le Maroc à la Libye jusqu'à l'Egypte et l'Arabie (Ozenda., 1991).

En Algérie, *Ephédra alata* se trouve dans le sud septentrional et occidental au niveau des sables, des regs et les lits sablonneux des oueds, et dans le sable de l'étage tropical et la Hamada de Tinghert (Ozenda., 1991).



**Figure.03:** Répartition géographique de l'*Ephédra* dans le monde (Caveney et al., 2001)

### 1.3.4. Propriétés et utilisation de la plante *Ephedra alata*

La plante *Ephedra alata* qui pousse en Palestine est utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement des maladies allergiques, l'asthme bronchique, les frissons, le rhume, la toux, l'œdème, la fièvre, la grippe et les maux de tête (O'Dowd et al., 1998).

Au Maroc, *Ephedra alata* est utilisée contre le diabète (Ghourri et al., 2013), Ainsi, les tiges broyées d'*Ephedra alata* et cuites dans du beurre, seraient ingérées par les femmes du Sahara pour avorter (Bellakhdar., 1997).

En Algérie, elle est appliquée sous forme de tisane et par inhalation contre la grippe, la coqueluche, la faiblesse générale (Ould El Hadj et al., 2003) et pour le traitement du cancer (Miara et al., 2019 ; Bouafia et al., 2021).

Les organes utilisés dans la médecine traditionnelle sont 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).

D'après Cavaney et al. (2001) les espèces *Ephedra* d'Asie ont été récemment utilisées dans la fabrication clandestine d'une drogue de rue, de la méthamphétamine (d-desoxy-éphédrine).

En Egypte, *Ephedra alata* est utilisée en médecine traditionnelle comme dépurative, hypotensive, antiasthmatique et agent astringent (Nawwar et al., 1984).

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

### 1.3.5. Compositions phytochimiques

Les espèces de l'*Ephedra* sont des sources naturelles de nombreux phytoconstituants 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 que les propriétés biologiques traditionnelles de l'*Ephedra* sont riche en grande partie aux alcaloïdes de type éphédrine, proto-alcaloïdes dérivés de la phénylalanine (Cavaney et al., 2001). de plus l'éphédrine et la pseudoéphédrine sont les plus abondantes, ils donnent près de 80% des alcaloïdes dans la plante (Cavaney et al., 2001; Soni et al., 2004; Phinny et al. (2005)

**Chapitre 2**  
**Métabolites secondaires**  
**et l'activité biologique**

## 2.1. Métabolites secondaires

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**jean-jacques macheix.et al., 2005**).

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés (alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques *etc.*) qui sont très inégalement distribués chez les végétaux mais dont le niveau d'accumulation peut arriver des valeurs élevées (**jean-jacques macheix.et al., 2005**).

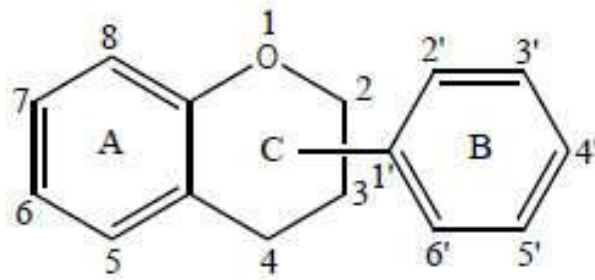
### 2.1.1. Les polyphénols

Les composés phénoliques constituent l'une des classes de produits naturels les plus répandus dans le règne végétal. Les de classification est basée sur l'origine et la structure chimique (**Tsao, 2010**).

Les principales classes de composants phénoliques sont: les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les coumarines (**King et Young., 1999 ; Tapiero et al., 2002**).

### 2.1.2. Flavonoïde

Le mot flavonoïde est dérivé du mot latin flavus qui signifie jaune, et de nombreux flavonoïdes sont effectivement de couleur jaune (**Bone et Mills, 2012**). Ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (**Ghestem et al., 2001; Bruneton, 1999**). Les flavonoïdes représentent une large classe de métabolites secondaires avec environ de 5000 produits, qui sont identifiés à partir des plantes. Ces composés partagent un squelette à 15 atomes de carbone (C6 – C3 – C6) de 3 cycles aromatiques (A, B, C). (**Patil et Masand, 2018**).

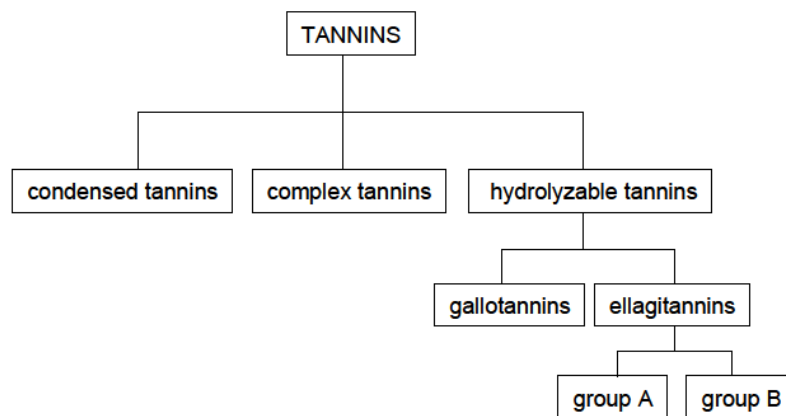


**Figure 4:** Structure de base des flavonoïdes (C6-C3-C6) (Tapas *et al.*, 2008).

### 2.1.3. Tannins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée qui précipite les protéines à partir de leurs solutions aqueuses, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible en se fixant sur les protéines (Paris et Hurabielle, 1981).

En thérapeutique, les tannins sont des activités antiseptique et bactéricides, ils sont la propriétés antioxydant et empêchent le développements de microbes (Biaye Mamadou., 2002).



**Figure 5 :** Classification des tanins (Wilfred et Ralph., 2006).

### 2.1.4. Les alcaloïdes

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).

## 2.2. Activité biologique

### 2.2.1 L'activité antioxydant



L'oxydation fait partie d'une réaction d'oxydo-réduction qui transfère des électrons d'une substance vers un agent oxydant. Cette réaction peut produire des radicaux libres qui entraînent des réactions en chaîne destructrices (**BERRA, 2015**)

### **2.2.1.1. Stress oxydatif**

Des molécules pro-oxydantes appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produites quotidiennement dans l'organisme. Ces dernières sont cependant contrôlées par les antioxydants (**Boubekri, 2014**).

### **2.2.1.2. Les radicaux libres**

Un radical libre est défini comme étant toute espèce qui a un ou plusieurs électrons impaires, qui est difficile à être détecter, identifier et quantifier, aussi leur réactivité est responsable de leur toxicité (**Favier, 1994 ; Packer & Glazer, 1990 ; Minisci, 1997**). La plupart des radicaux libres sont produits par les mitochondries (**Sylvia, 2010**).

### **2.2.1.3. 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**). Ainsi, les antioxydants servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif (**Tang et Halliwell, 2010**).

## **2.2.2. Anti-inflammatoires**

### **2.2.2.1. Notion de l'inflammation**

L'inflammation est une réaction défensive de l'organisme contre les agents pathogènes ou les irritants (**Schwager et Detmar., 2019**). Ces réactions sont induites par les infections microbiennes et virales, l'exposition aux allergènes, les radiations et les produits chimiques toxiques, les maladies auto-immunes et chroniques, l'obésité, la consommation d'alcool, l'utilisation de tabac, et une alimentation riche en calories (**Aggarwal et al., 2009**). La repense inflammatoire est déclenchée par la reconnaissance de l'infection par les mécanismes de l'immunité innée et aussi dans la réponse immunitaire acquise (**Hellal., 2007**).

### **2.2.2.2. Anti-inflammatoires d'origine végétale**

Les composés phytochimiques trouvés dans les végétaux sont très large, et leur activité est aussi grande. Certains ont des propriétés anti inflammatoires. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipoxygénase ainsi que par d'autres mécanismes (**Soeken et al., 2003**).

### **2.2.3. Activité antibactérienne**

Dès la naissance l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutanéomuqueux (**Yakhlef., 2010**). Les pouvoirs antimicrobiens des plantes aromatiques et médicinales sont connus depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20ème siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. (**Abdoune., 2012**)

La thérapie des infections bactériennes se base sur l'utilisation des antibiotiques. Les antimicrobiens d'origine végétale sont efficaces dans le traitement des maladies infectieuses, tout en soulageant ou en évitant les effets secondaires qui sont associés aux agents synthétiques (**Arshad et al., 2010**).

**Chapitre 3**  
**Matériel et méthodes**  
**Synthétiques**

### 3.1. Matériel

Les méthodes utilisées ainsi que les résultats obtenus dans la partie pratique sont une synthèse des travaux de 15 articles qui ont étudié respectivement l'activité antioxydante, antibactérienne et anti-inflammatoire de l'espèce étudiée *Ephedra alata*.

#### 3.1.1. Appareillages et réactifs

Les réactifs et l'appareillage sont présentés dans l'annexe 1.

#### 3.1.2. Matériel végétal

### 3.2. Méthodes

Pour le screening phytochimique et le dosage des métabolites secondaires de la plante, le Dr Nidal Jaradat a collecté la plante d'*Ephedra alata* en juillet 2014 dans les montagnes de la région de Jénine en Cisjordanie / Palestine.

La plante entière a été lavée puis séchée à l'ombre à température ambiante jusqu'à ce que toutes les parties de la plante soient bien sèches. Après séchage, les matières végétales ont ensuite été bien réduites en poudre à l'aide d'un broyeur et placées dans un récipient bien fermé.

Alors que, **Benarba et al. (2021)** pour doser les métabolites secondaires aussi et étudié l'activité antioxydante et l'activité anti-inflammatoire, il a collecté la plante entière d'*Ephedra alata* à Adrar (Sud Algérie) en janvier 2020. Les parties aériennes ont été collectées, nettoyées, séchées dans une zone semi-ombragée pour quelques semaines, puis finement broyées et stockées dans des conteneurs dans l'obscurité.

Pour étudier l'activité antibactérienne de la plante, les fleurs et les feuilles d'*Ephedra alata* ont été récoltées en mars 2011 à Ouargla Algérie par **Chebouat et al. (2014)**.

Pour l'extraction des alcaloïdes de cette plante par **Sioud et al. (2020)**. Elles ont été collectées dans le désert du Sahara de Tataouine, une région située au sud-est de la Tunisie, en février 2017. La partie aérienne du matériel végétal a été séchée à l'ombre, réduite en poudre et stockée dans un récipient hermétiquement fermé pour une utilisation ultérieure.

### 1.3 Matériel biologique

Pour mettre en évidence l'activité antibactérienne des extraits de la plante, un total de neuf souches bactériennes référencées ont été utilisées, il s'agit de : *Serratia marcescens* ATCC 13880, *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 013300, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC10145), *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Acinetobacter lwoffii*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella sonnei*.

Pour l'étude de l'activité anti inflammatoire, des globules rouges humains et le sérum de bœuf ont été utilisés

## 2. Méthodes

### 3.2.1. Préparation des extraits

Afin d'évaluer les activités biologiques de la plante *Ephédra alata*, différents extraits ont été obtenus:

Pour caractériser le screening phytochimique, L'extraction phytochimique a été réalisée en utilisant une extraction par solvant organique ainsi qu'une extraction aqueuse qui fait par **Jaradat et al. (2015)**.

Premièrement, L'extraction organique a été réalisée par la méthode d'extraction Soxhlet, Cette extraction a été réalisée par:

- Prendre 20 g de poudre de plante séchée et a été placé dans un dé à coudre en verre puis extrait avec 250 ml de différents solvants séparément (éthanol, méthanol et acétone);
- Les processus d'extraction se poursuivent jusqu'à ce que le solvant dans le tube siphon de l'appareil Soxhlet devienne incolore;
- Après cela, l'extrait a été chauffé au bain-marie à 35 °C jusqu'à ce que tout le solvant se soit évaporé;
- L'extrait brut de plantes séchées a été conservé au réfrigérateur à 2-8 °C pour leur utilisation future.

Deuxièmement, L'extraction aqueuse a été réalisée par :

- Prendre cinq grammes de poudre de plante et mélanger avec 200 ml d'eau distillée dans un bécher;
- Le mélange a été chauffé sur une plaque chauffante à 30°-40 °C et mélangé sous agitation continue pendant 20 minutes;
- Le mélange a été filtré à l'aide d'un filtre en papier filtre Whatman et le filtrat a été utilisé pour une analyse phytochimique plus poussée.

Pour l'étude de l'activité antioxydante et l'activité antiinflammatoire, **Benarba et al. (2021)** ont préparé aussi deux extractions, une extraction méthanolique ainsi qu'une extraction aqueuse.

Premièrement, L'extrait méthanolique de parties aériennes d'*Éphedra alata* a été préparé comme suit :

- 20g de poudre de plante séchée ont été macérés dans 200 ml de méthanol pendant une semaine à température ambiante;
- Après filtration, le méthanol a été évaporé;
- l'extrait méthanolique obtenu a été conservé à +4°C jusqu'à utilisation.

Le rendement d'extraction (%) a été calculé à l'aide de la formule suivante:

Le rendement d'extraction (P/P %) = (poids de l'extrait brut séché)/poids de poudre de nèfle

Deuxièmement, L'extrait aqueux de parties aériennes d'*Éphedra alata* a été préparé comme suit :

- 20g de poudre de plante séchée ont été décoctés dans 200 ml d'eau à 100°C pendant 10 min;
- Refroidis à température ambiante
- Puis filtré. Cette procédure a été répétée deux fois;
- Après concentration, l'extrait aqueux brut a été stocké à +4°C jusqu'à son utilisation.

Pour l'activité antibactérienne, **Chebouat et al. (2014)** ont suivi les étapes suivantes:

- Ont été macérées les fleurs et des feuilles d'*Ephedra alata* (1400 g) quatre fois avec une solution d'éthanol (EtOH) à 70 % en remplaçant le solvant tous les jours avec du solvant frais;
- Les solutions hydro-alcooliques ont été concentrées sous pression réduite pour siccité et le résidu a été dissous dans de l'eau;
- conservé au froid pendant une nuit;

- Après filtration, la solution aqueuse est extraite successivement avec chlorure de méthylène ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), L'acétate d'éthyle (EtOAc) et 1-Butanol (n-BuOH) trois fois pour chaque solvant;
- Puis le chlorure de méthylène ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), l'acétate d'éthyle (EtOAc) et les extraits de 1-butanol n-BuOH ont été concentrés à sec.

### 3.2.2. Extraction des alcaloïdes

On peut trouver un certain nombre de méthodes d'extraction des alcaloïdes. Nous avons choisi l'extraction selon les méthodes de **Sioud et al. (2020)**; **Al-khateeb et al. (2014)**; **Ibragic1 et Sofić. (2015)**; **Caveney et al. (2001)**; **Danciu et al. (2018)**.

Les alcaloïdes ont été extraits selon la méthode de Cui et coll par **Sioud et al. (2020)**; Brièvement,

- 200 mg de poudre d'*Ephedra alata* et 8 mL d'acide sulfurique (0,5 M) ont été agités et soniqués pendant 1 h ;
- Puis centrifugé 20 min à 3000 rpm;
- L'extraction des alcaloïdes du surnageant a été réalisée avec 5 mL d'éther diéthylique;
- Après addition de 1,4 mL de solution d'hydroxyde de potassium (5M) et 2,4 g de chlorure de sodium;
- Le mélange a été agité pendant 15 min puis centrifugé pendant 20 min à 3000 rpm;
- L'extraction avec de l'éther d'éthylique a été répétée deux fois;
- Les couches d'éther d'éthylique combinées ont été évaporées après addition d'étalon interne;
- Le rendement de l'extrait d'alcaloïdes (AE) était de 1,2 %. L'échantillon séché a été dissous dans 1 ml de CDC13 et utilisé pour la mesure RMN 1H.

**Ibargic et sofic. (2015)**; **Danciu et al. (2018)** ont adopté la même méthode d'extraction qui est la détermination des alcaloïdes (AT) par la réaction à la ninhydrine. La ninhydrine réagit avec les groupes d'acides aminés et donne un composé bleu-violet avec une absorbance maximale à 570 nm.

Les alcaloïdes ont été extraits en ajoutant le dichlorométhane au résidu solide d'*éphédra alata*. La couche inférieure a été recueillie et évaporée. Le jour suivant, le résidu a été dissous dans le méthanol. Procédure Tout d'abord, une quantité de la solution d'échantillon méthanolique (dans différentes dilutions pour s'adapter à la courbe standard) ont été mélangés

avec la solution de ninhydrine et l'absorbance a été mesurée à 570 nm. Après ont été séparé les alcaloïdes de type Ephédrine et quantification de E et PE par UPLC-UV par une Préparation standard de chlorhydrate.

Tandis que, **Caveney et al. (2001)** a adopté une différente méthode d'extraction des alcaloïdes qui fais Isolement et identification de l'éphédrine et de la pseudoéphédrine—Acide par application d'aliqotes d'extraits de plantes sur des cartouches Accell Plus QMA Sep-Pak (Waters) après dilution avec un volume égal d'eau. Les niveaux d'éphédrine et de pseudoéphédrine dans l'éluant aqueux ont été déterminés par HPLC en utilisant une méthode basée sur celle décrite par **Barkan, Weber et Smith (1981)**.

Les échantillons étaient chromatographie sur une colonne m Bondapak C18 en utilisant l'acétonitrile dans le phosphate de sodium monobasique à 1 mL/min. Les substances responsables des pics détectés à 210 nm ont été identifiées par comparaison des temps de rétention et des spectres UV, avec ceux de composés authentiques. Temps de rétention : éphédrine, 11,2 min ; pseudoéphédrine, 13,5 min.

**Al-khateeb et al. (2014)** aussi extrait les alcaloïdes d'*Ephedra alata* par une autre méthode d'extraction qui a effectuée avec différents solvants, puis le contrôle des extraits par CCM à l'aide de différents systèmes de développement, Brièvement:

Le résidu de chaque extrait végétal d'*Ephedra alata* ont été dissous séparément dans un minimum de chloroforme et appliqué avec l'étalon référencer l'éphédrine sur un certain nombre de CCM préparatives plaques .Une bande majeure a été observée sous la lumière UV (254nm). Cette bande a été éliminée puis éluée avec méthanol et filtré. Le filtrat s'est évaporé siccité sous vide pour donner un produit jaunâtre pour les espèces *alata*. Le produit représente mélange d'alcaloïdes.

Un autre système de développement S7 a été utilisé et pour montrer la présence des composés dans l'extrait brut. Deux des composés séparés ont la même couleur et les valeurs Rf de l'éphédrine et de la pseudoéphédrine. Une quantité de ce résidu a été séparée par plaques de CCM préparatives de gel de silice en utilisant dans ce cas l'éphédrine de référence standard (R1) et la pseudoéphédrine (R2) et développé dans le système solvant (S7). Deux grands groupes (I & II) ont été observés sous lumière UV (254nm). Chaque bande a été retirée et éluée séparément avec méthanol et filtré. Le filtrat a été évaporé à séchage sous vide pour obtenir un résidu jaunâtre de chaque base alcaloïde (22%).



### 3.2.3. Screening phytochimiques

Les extraits d'*Ephedra alata* ont subi différents tests chimiques afin de mettre en évidence la présence ou l'absence des principales familles de métabolites secondaires selon les tests.

#### 3.2.3.1. Caractérisation des alcaloïdes

Sur la plaque chauffante faire bouillir 2 ml de réactif de ninhydrine à 0,2 % avec l'extrait brut de plante entière. La présence des alcaloïdes est révélée par l'apparition de la couleur violette avec le réactif de ninhydrine **Jaradat et al. (2015)**

Tandis que, **Abubakar1, Haque. (2020)** ont adopté d'autres méthodes pour détecter les alcaloïdes

- ✓ Test de Dragendorff: 1 ml d'extrait a été prélevé et placé dans un tube à essai. Puis 1mL de bismuth de potassium une solution d'iodure (réactif de Dragendorff) a été ajoutée et secoué. Un précipité rouge orangé formé indique la présence d'alcaloïdes.
- ✓ Test de Wagner. 1mL d'extrait a été prélevé et placé dans un tube à essai. Alors 1 ml d'iodure de potassium (réactif de Wagner) a été ajouté et secoué. Apparition d'un précipité brun rougeâtre signifie l'existence d'alcaloïdes.
- ✓ Mayer test: 1 ml d'extrait a été prélevé et placé dans un test tube. Puis 1mL de solution d'iodure mercurique de potassium (réactif de Mayer) a été ajouté et secoué. Émergence d'un précipité blanchâtre ou crème implique la présence d'alcaloïdes
- ✓ Test de Hager: 1mL de solution de un extrait a été prélevé et placé dans un tube à essai. Alors 1mL de solution ferrique saturée (réactif de Hager) a été ajouté et secoué. Formation de couleur jaune précipité indique l'existence d'alcaloïdes.

#### 3.2.3.2. Caractérisation des flavonoïdes

Il y a deux tests pour detecter la présence des flavonoïdes qui adopté par **Jaradat et al. (2015); Abubakar1, Haque. (2020)**

- ✓ Test de Shinoda : des morceaux de ruban de magnésium et de HCl concentré ont été mélangés avec de l'extrait de plante brut après quelques minutes. Une couleur rose écarlate est apparue indiquant la présence de flavonoïdes.
- ✓ Test de réactif alcalin: 2 ml de solution de NaOH à 2% ont été mélangés avec de l'extrait brut de plante. Une couleur jaune intense s'est formée, qui est devenu incolore lorsqu'on a

ajouté 2 gouttes d'acide dilué à la solution, ce résultat a indiqué la présence de flavonoïdes.

Plus que, **Abubakar, Haque. (2020)** ont adopté une 3<sup>ème</sup> méthode pour la caractérisation

- ✓ Test à l'acétate de plomb: Pour détecter la présence de flavonoïdes, 1 ml d'extrait a été prélevé et placé dans un tube à essai. Puis quelques gouttes d'acétate de plomb ajoutées et secouées. La formation d'un précipité jaune signifie la présence de flavonoïdes

### 3.2.3.3. Caractérisation des tanins

La réaction au chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) permet de caractériser les polyphénols selon **Jaradat et al. (2015)**. A 2 ml de l'extrait, une goutte de solution aqueuse de chlorure ferrique à 2% est ajoutée. L'apparition d'une coloration noire ou bleu-vert, indique la présence de tanins.

Mais selon **Caveney et al. (2001)** La teneur en tanin condensé dans les tiges a été classée en fonction de la vitesse et de l'étendue de la réaction colorée développée lorsque trois gouttes d'acide acétique à 5 % et de nitrite de sodium à 5 % ont été ajoutées à 0,5 ml d'une tige d'acide alcoolique extrait. La réaction colorée développée a fourni une estimation grossière de la teneur en polyphénols du tissu.

### 3.2.3.4. Caractérisation des stéroïdes

Il y a deux tests pour détecter la présence des flavonoïdes qui ont été utilisé par **Jaradat et al. (2015)**

- ✓ A 2 mL de chloroforme et de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré ont été mélangés avec l'extrait brut de plante entière. Dans la basse couche de chloroforme a produit. Une couleur rouge indiquant la présence de stéroïdes.
- ✓ L'autre test a été réalisé en mélangeant 2 ml de chacun de l'acide acétique avec du  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré et de l'extrait brut avec 2 ml de chloroforme. La couleur verte indique l'entité des stéroïdes.

Il y a un autre test selon **Abubakar, Haque. (2020)** pour la détection

- ✓ Test de Libermann Burchard: Cette méthode est utilisée pour un extrait alcoolique. L'extrait doit d'abord sécher évaporation, puis extraire à nouveau au chloroforme. Ajouter

quelques gouttes d'anhydrites acétiques suivies d'acide sulfurique acide du côté du tube à essai. Formation de violette à l'anneau de couleur bleue à la jonction des deux liquides ont indiqué la présence de stéroïdes.

### 3.2.4. Dosage des métabolites secondaires

#### 3.2.4.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur phénolique totale a été déterminée à l'aide du test de Folin-Ciocalteu par méthode spectrophotométrie.

**Benarba et al. (2021)** ont utilisées les extraits méthanolique et aqueuse de la plante. par suivante:

- 100 µl de chaque extrait et 500 µl de réactif Folin-Ciocalteu 1%;
- Ont été ajoutés à 400 µl d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 % (p/v);
- Mélangé à l'aide d'un agitateur vortex, puis incubé 10 min à l'obscurité à température ambiante;
- L'absorbance a ensuite été mesurée à 760 nm<sup>32</sup>;
- Les valeurs ont été déterminées en triple.

Par contre, (**Jaradat et al., 2015**) utilisé des extraits méthanoliques et éthanoliques (organique) d'*E alata* pour déterminer le contenu phénolique total (TPC). Des solutions aqueuses à 1 mg/ml ont été dosées pour les deux extraits méthanoliques et éthanoliques ont été préparées dans l'analyse et utilisé un standard (acide gallique).

Le mélange réactionnel a été préparé comme suite:

- En mélangeant 0,5 ml de solution d'extrait végétal, 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu à 10 % dissous dans de l'eau et 2,5 ml de solution aqueuse de NaHCO<sub>3</sub> à 7,5 %;
- Les échantillons ont ensuite été incubés dans un thermostat à 45 °C pendant 45 min;
- L'absorbance a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde = 765 nm;
- Les échantillons ont été préparés en triple pour chaque analyse et la valeur moyenne de l'absorbance a été obtenue.
- La même procédure a été répétée pour la solution standard d'acide gallique et la ligne d'étalonnage a été interprétée.

La teneur en composés phénoliques dans l'expérience de (**Jaradat et al., &2015**) a été calculée en équivalents d'acide gallique GAE/g de matière végétale sèche. Par contre, dans

l'expérience de **Benarba et al. (2021)** a été mesurée en la concentration d'équivalent acide gallique mg de GA/g d'extrait de la plante.

#### 3.2.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux

On a deux expériences totalement différentes.

La détermination de la teneur en flavonoïdes totaux des extraits selon **Benarba et al. (2021)** a été réalisée à l'aide de la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium

- 1 ml de l'extrait a été ajouté à 0,3 ml de nitrite de sodium  $\text{NaNO}_3$  et incubé pendant 5 min,
- puis 0,3ml de trichlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$  ont été ajoutés et 2ml de soude  $\text{NaOH}$ ;
- après 6 min. L'absorbance a été mesurée à 510 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible contre un blanc;
- Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle en utilisant différentes concentrations de quercétine dans les mêmes conditions qu'un témoin positif;
- Les valeurs ont été déterminées en triple exemplaire.

Les résultats ont été exprimés en mg de Quercétine/g d'extrait sec.

Par contre, Le dosage total en flavonoïdes (TFC) selon **Jaradat et al. (2015)** a été déterminé à partir de la courbe d'étalonnage de la rutine et exprimée en milligramme d'équivalent rutine par gramme d'extrait (mg RU/g d'extrait).qui déterminée selon la procédure de **Chang et al. (2002)**, validée par **Nugroho (2011)** avec quelques modifications en utilisant la rutine comme étalon de référence.

- La rutine (100 mg) a été dissoute dans 10 ml d'eau distillée et diluée à 100 ml.
- Par la suite, la solution mère a été diluée pour fournir une série de concentrations (5, 10, 20, 40, 100  $\mu\text{g/ml}$ );
- De chaque solution (0,5 ml) a été mélangé avec 3 ml de méthanol, 0,2 ml d' $\text{AlCl}_3$  10%, 0,2 ml d'acétate de potassium 1M et 5 ml d'eau distillée;
- Puis incubé à température ambiante pendant 30 minutes:
- Cette procédure est répétée pour les extraits aqueux, méthanoliques et éthanoliques d'*E. alata*;
- En outre, l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 415 nm et de l'eau distillée avec du méthanol, 10 % d' $\text{AlCl}_3$  et de l'acétate de potassium a été utilisée comme blanc.

Les flavonoïdes totaux dans les extraits ont été exprimés en termes d'équivalents de rutine (mg de RU/g d'extrait d'*Ephedra alata*).

### 3.2.5. Evaluation de l'activité antioxydant

#### 3.2.5.1. Test de réduction du DPPH

Ce test est basé sur la réaction de réduction de radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl). Ce dernier présente une bande d'absorbance à 517 nm qui disparaissent après réduction par un composé anti- radicalaire comme décrit par **Williams et al. (1995)**.

Selon **Benarba et al. (2021)**, quatre concentrations de chaque extrait ont été préparées:

- 2 ml de solution méthanolique de DPPH (4 mg/100 ml) fraîchement préparée;
- Ajoute à 1 ml de l'extrait puis incubé dans l'obscurité à température ambiante pendant 16 min;
- L'absorbance a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible contre la solution méthanolique de DPPH comme témoin, et le solvant d'extraction comme vide. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif (étalon).

L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH est indiquée par le degré de transformation de la couleur du violet au jaune indique ce qui est exprimé en pourcentage de balayage à l'aide de la formule :

$$DPPH \text{ activité d'inhibition (\%)} = \frac{A1-A2}{A1} \times 100$$

A1 : absorbance du témoin (solution DPPH) sans extrait

A2 : absorbance après ajout de l'extrait

Les données d'activité de piégeage des radicaux (%) ont ensuite été tracées en fonction de la concentration dans un graphique et la valeur IC50 (concentration inhibitrice demi-maximale) a été calculée par analyse de régression linéaire.

Tandis que **Jaradat et al. (2015)** ont évalué l'activité antioxydant de l'extrait méthanolique d'*Ephedra alata* par le même principe (test de réduction DPPH) mais ont été utilisé Trolox comme étalon de référence standard.

De plus, **Al-Rimawi et al. (2017)** ont adopté le même test (DPPH) et le même étalon standard (torolox) que **Jaradat et al. (2015)** mais ont changé les extraits, ils ont utilisé éthanol (80%), éthanol (100%) et l'eau.

Par contre, **Bourgou et al. (2020)** ont utilisé le même test qu'**Al-Rimawi et al. (2017)**; **Jaradat et al. (2015)**; **Benarba et al. (2021)** avec le changement de l'étalon standard et les

extraits sachant qu'ont été utilisé BHT comme un étalon standard et les extraits utilisé à l'hexane, à l'acétate d'éthyle et à l'éthanol.

### 3.2.5.2. Dosage de la capacité antioxydante totale (TAC)

Ou bien le dosage du phosphomolybdate qui dosés aussi par **Benarba et al. (2021)**. comme suivante:

- Tubes à essai contenant 200µl d'extrait (1mg/ml) et 2 ml de réactif phosphomolybdate;
- Placé dans un bain-marie à 95°C pendant 90 minutes puis refroidi;
- l'absorbance niveau a été mesuré à 695 nm contre un blanc de méthanol ou d'eau distillée au lieu de échantillon de plante;
- Une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant différentes concentrations (62,125, 250,500, 1000µg/mL) d'acide ascorbique pour calculer l'équivalent en acide ascorbique.

Les valeurs ont été exprimées en mg d'AAE/ml d'extrait.

Tandis que, **Bourgou et al. (2020)** ont évalué l'activité antioxydant total par la même méthode de **Benarba et al. (2021)** avec d'autres extrais (l'hexane, l'acétate d'éthyle et l'éthanol).

### 3.2.6. Evaluation de l'activité antiinflammatoire

Le test de stabilisation de la membrane des globules rouges humains groupant O+ et le test de dénaturation de l'albumine de sérum de bovine (ASB) ont réalisé par **Benarba et al. (2021)** avec l'extrait aqueuse et méthanolique et **Sheikh et al. (2016)** avec l'extrait éthanolique et un témoin Formulation commerciale. Tandis que **Sunmathi et al. (2016)** ont adopté les mêmes principes et les mêmes méthodes pour les deux tests avec un extrait différent qui il l'éthanol.

#### 3.2.6.1. Test de stabilisation des membranes HRBC

- Le sang a été prélevé dans des tubes d'héparine de volontaires sains qui n'avaient pas pris d'AINS au cours des deux dernières semaines ;
- Centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min ;
- Le culot a été lavé trois fois avec un volume égal de PBS (pH = 6,3). Les globules rouges humains ont été remis en suspension dans du PBS (10 % v/v);

- 1 ml de différentes concentrations de extraits (125, 250, 500, 1000µg/ml) ont été ajoutés à 1 ml de tampon phosphate, 2 ml d'hyposolution saline (0,25 % p/v de NaCl) et 0,5 ml de suspension HRBC;
- Le mélange réactionnel était incubé à 37°C pendant 30 min puis centrifugé à 300 rpm pendant 20 min.

La teneur en hémoglobine de la solution surnageant a été estimée par spectrophotométrie 560 nm contre un blanc du véhicule extrait selon la formule suivante :

$$\text{Stabilisation membranaire (\%)} = 100 - \left( \frac{A1-A2}{A1} \times 100 \right)$$

A1 : Absorbance de la solution saline tamponnée hypotonique seule

A2 : Absorbance de l'échantillon d'essai

Différentes concentrations de diclofénac sodique ont été utilisées comme médicament de référence pour ce dosage.

### 3.2.6.2. Activité de dénaturation de l'albumine

La dénaturation de la protéine albumine conduit à la formation d'antigènes qui initient une réaction d'hypersensibilité de type III conduisant à une inflammation. Ainsi, les extraits végétaux capables d'inhiber la dénaturation des protéines sont considérés comme capables d'inhiber l'inflammation. Étant donné que le diclofénac de sodium est aujourd'hui couramment prescrit comme médicament anti-inflammatoire, il a été utilisé comme étalon de référence pour le dosage de cette activité :

#### 3.2.6.2.1. Test de dénaturation de l'albumine de sérum de bovine (ASB)

- Mélangés 0,45 mL de ASB (0,5 % en poids/solution sous vide) avec 50 µl de différentes concentrations de l'extrait (125, 250, 500, 1 000 µg/ml);
- Puis incubé à 37°C pendant 20 min, après chauffé à 57°C pendant 3 min;
- Ajoutés 2,5 ml de PBS (pH = 6,6);
- Mesurée l'absorbance à 255 nm contre un blanc solvant de l'extrait.
  - Le diclofénac de sodium de différentes concentrations a été utilisé comme étalon pour ce dosage.
  - 0,45 mL de solution de ASB à 0,5 % et 50 µL d'eau distillée constituaient la solution témoin.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

inhibition de la dénaturation des protéines(%)=  $100 - \left( \frac{A1-A2}{A1} \times 100 \right)$

A1 : Absorbance de la solution à tester

A2 : Absorbance du témoin

### 3.2.7. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été évaluée avec la technique de diffusion sur disque qui réalisé par **Chebouat et al. (2014)**; **Ghanem et El-Magly. (2008)**; **Palici et al. (2015)** avec des modifications dans les extraits de la plante utilisé entre aux. L'activité antibactérienne a été dosée en mesurant et enregistré le diamètre de la zone d'inhibition produite par les extraits de plantes.

Selon **Chebouat et al. (2014)** l'activité antibactérienne a été testée contre *Serratia marcescens*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* dans trois extraits d'*éphédra alata*. Extrait d'acétate d'éthyle, extrait dichlorométhane et extrait de butanol de les feuilles et fleurs.

Selon **Ghanem et El-Magly. (2008)** l'activité antimicrobienne de l'*Ephedra alata* male la plante a été testée contre certaines bactéries dont *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*. Dans un extrait acetonitrile, méthanolique ainsi que de l'eau et l'eau autoclave.

Selon **Palici et al. (2015)** Les micro-organismes suivants ont été utilisés comme souches d'essai dans l'activité antibactérienne : 8 Souches à Gram positif, nommément *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* et 10 souches Gram-négatives à savoir, *Acinetobacter lwoffii*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella sonnei*. De plus, une souche multirésistante, à savoir *Staphylo coccus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) a également été utilisée comme organisme test. Dans un extrait hydroalcoolique

#### 3.2.7.1. Préparation des milieux de culture bactérienne

- Mélangés 3,7 % d'agar Mueller Hinton avec de l'eau distillée chaude et autoclaves à (121°C, 15 Psi, 15 minutes);
- Après autoclavage, il a été laissé refroidir à 45-50 °C dans un bain-marie;



- Ensuite, le milieu a été versé dans des boîtes de Pétri d'une profondeur uniforme d'environ 5 mm.

### 3.2.7.2. Préparations de disques imprégnés d'extraits végétaux

- Utilisé un papier filtre Whatman N°1 pour préparer des disques de 5 mm de diamètre;
- Les disques ont été stérilisés à l'autoclave et puis séché pendant le cycle d'autoclavage;
- Ensuite ont été imprégnés de l'extrait des plantes dissous dans DMSO.

### 3.2.7.3. Méthode de diffusion du disque

La méthode de diffusion sur disque pour le test de sensibilité aux antimicrobiens a été réalisée selon la méthode standard par Kirby-Bauer pour évaluer la présence d'activités antimicrobiennes d'extraits de plantes.

- Une suspension bactérienne (selon **Chebouat et al. (2014)**; **Ghanem et El-Magly. (2008)**; **Palici et al. (2015)**) ajustée à 0,5 norme McFarland ( $1,5 \times 10^8$  CFU/ml) a été utilisé pour inoculer uniformément des plaques de gélose Mueller Hinton à l'aide d'un écouvillon;
- Les disques imprégnés des extraits de plantes ont été placés individuellement sur la surface de la gélose Mueller Hinton avec des pinces flammées et doucement pressé pour assurer le contact avec la surface de la gélose;
- Les disques étaient très espacés suffisant pour éviter à la fois les ondes de réflexion des bords des boîtes de Pétri et les anneaux d'inhibition qui se chevauchent;
- La plaque a ensuite été incubée à 37°C pendant 18 heures en position inversée pour rechercher des zones d'inhibition.

Zones de les inhibitions produites par les organismes sensibles étaient délimitées par une zone circulaire de dégagement autour de la plante extraire les disques imprégnés.

Le diamètre de la zone d'inhibition passant par le centre du disque a été mesuré au millimètre près.

**Chapitre 4**  
**Résultats et discussion**  
**Synthétiques**

## 4.1 Résultats

### 4.1.1. Rendement d'extraction

#### 4.1.1.1. Rendement d'extraction des molécules d'intérêt

Selon les résultats de **Benarba et al. (2021)** le rendement d'extraction le plus élevé (38 %) a été obtenu avec l'extrait aqueux d'*Éphedra alata* tandis que l'extrait méthanolique avait le rendement d'extraction le plus faible de 15 % (tableau 2). Cette différence pourrait être due aux différences de polarités des solvants qui extraient différents types et quantités de métabolites.

**Tableau 2:** Rendement d'extraction des extraits d'*Éphedra alata*

	Extraction aqueuse	Extraction méthanolique
Poids de poudre de plante (g)	20	20
Solvant (ml)	200(×3)	200
Poids de l'extrait de brute (g)	7.6	3
Rendement d'extraction %	38	15

#### 4.1.1.2. Rendement d'extraction des alcaloïdes

Selon l'étude de **Sioud et al. (2020)**, les résultats montrent que l'*Ephedra alata* contient une quantité relative d'éphédrine plus faible (17 %) que la pseudoéphédrine (69 %). Ces résultats sont compatibles avec ceux rapportés par **caveney et al. (2001)** ephedrine (++) , 0.05–0.19%; pseudoephedrine (++++) plus de 0.5%. (Les quantités de composés azotés sont exprimées en pourcentage de la masse sèche)

L'étude de **Danciuet al. (2018); Ibragic et Sofic (2015)** a trouvé des résultats beaucoup proches concernant le rendement des alcloïdes (0.2\_17,57 mg/g extrait)

Selon L'expérience d'**Al-khateeb et al. (2014)** le total rendement en alcaloïdes isolés sur 250 g pour chaque extrait des espèces *alata* en plus de leur pourcentage est 0.22%

De plus, le matériel végétal d'*Ephedra* étudié dans cette étude est plus riche en alcaloïdes.

#### 4.1.2. Screening phytochimique

Selon **Jaradat et al. (2015)**; **Benarba et al. (2021)** les tests de criblage phytochimique pour différents extraits d'*Ephedra alata* ont montré les classes phytochimiques actives comme les alcaloïdes, les tannins, les flavonoïdes et les stéroïdes comme présenté dans le tableau 3 [les tests de **Jaradat et al. (2015)**] et 4 [les tests de **Benarba et al. (2021)**].

**Tableau 3:** Tests phytochimiques de dépistage des extraits aqueux, méthanolique, acétonique et éthanolique d'*Ephedra alata*.

Composés phytochimique	Extraction aqueuse	Extraction méthanolique	Extraction acétonique	Extraction éthanolique
Alcaloïdes	-	+	+	+
Tannins	-	-	-	-
Flavonoïdes	+	+	-	+
Stéroïdes	-	-	-	-

**Tableau 4:** Tests phytochimiques de dépistage des extraits aqueux et méthanolique d'*Ephedra alata*.

Composés phytochimique	Extraction aqueuse	Extraction méthanolique
Alcaloïdes	-	-
Flavonoïdes	+	+
Stéroïdes	+	++

La teneur en tanin selon **Caveney et al. (2001)** est notée en fonction de l'intensité de la réaction de couleur et donne une forte intensité de couleur (+++)

### 4.1.3. Résultats du dosage des métabolites secondaires

#### 4.1.3.1. Polyphénols et flavonoïdes totaux

Les résultats de **Benarba et al. (2021)**, (voire l'annexe 1) ont révélé que l'extrait aqueux d'*Ephedra alata* avait la teneur totale en phénols et en flavonoïdes la plus élevée de  $8,66 \pm 0,09$  mg GA / g et  $248,04 \pm 1,47$  mg Q / g, respectivement. En revanche, l'extrait méthanolique avait les teneurs en phénols et en flavonoïdes les plus faibles de  $3,16 \pm 0,004$  mg GA/g et  $154,54 \pm 0,53$  mg Q/g, respectivement.

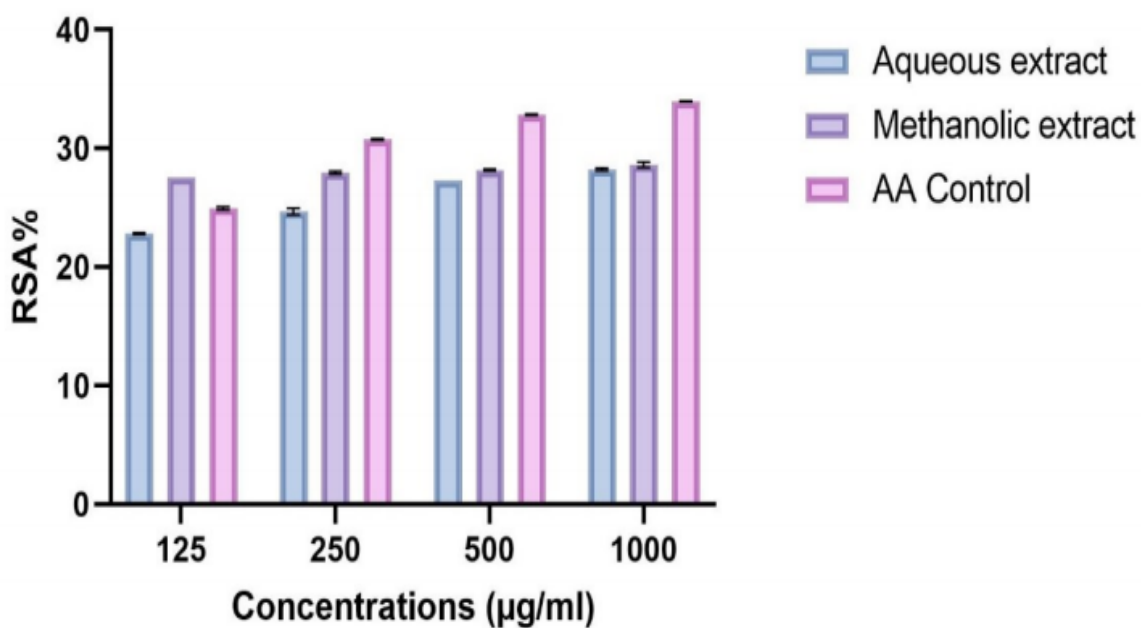
Par contre les résultats de **Jaradat et al. (2015)** ont montré que l'absorbance des polyphénols totaux est plus que l'absorbance du composé standard (acide gallique) à  $\lambda_{\max} = 765$  nm dans *Ephedra alata* présentée dans les Fig. (voir l'annexe 2 et 3).

Le contenu phénolique total de l'extrait aqueux de plante était absent et dans l'extrait éthanolique était de 19,175 mg d'acide gallique alors qu'il était le plus élevé dans l'extrait méthanolique qui était de 47,62 mg équivalent acide gallique/g de poudre d'extrait. La teneur totale en flavonoïdes de la plante était de 0,519 mg RU/g dans l'extrait aqueux et de 5,44 mg RU/g dans l'extrait éthanolique alors qu'il était le plus élevé dans l'extrait méthanolique 54,66 mg RU/g (voir l'annexe 4).

### 4.1.4. Résultats du l'évaluation de l'activité antioxydante

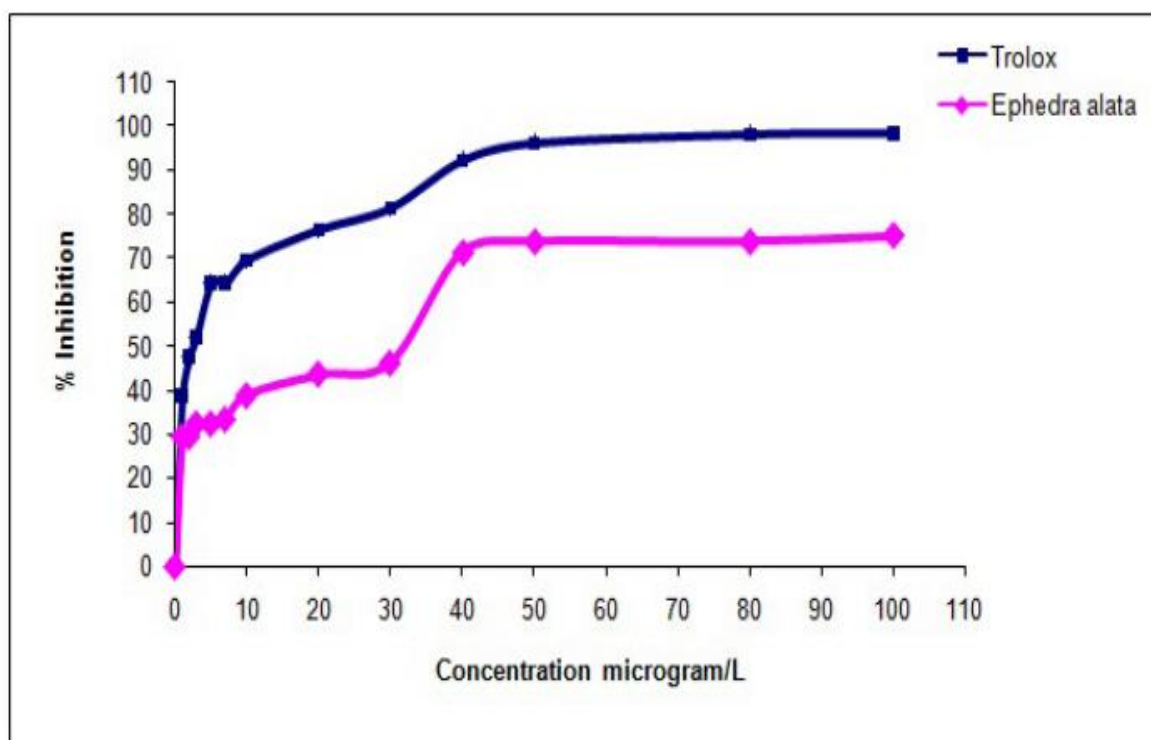
#### 4.1.4.1. Activité de piégeage des radicaux DPPH

Selon les résultats de **Benarba et al. (2021)** dans le Tableau (voir l'annexe 5) et Comme illustré dans la figure 6, l'extrait aqueux avait la meilleure activité de piégeage des radicaux libres avec une IC50 de  $4,638 \pm 0,002$  mg/ml, tandis que l'extrait méthanolique présentait une faible activité de piégeage avec une IC50 élevée de  $20,943 \pm 2,903$  mg/ml. L'IC50 de l'acide ascorbique utilisé comme étalon s'est avéré être de  $2,786 \pm 0,019$  mg/ml.



**Figure 6:** Activité de piégeage des radicaux des extraits d'*Ephedra alata*

Selon les résultats de **Jaradat et al. (2015)**, Les résultats sont présentés dans Tableau (voir l'annexe 6) et les lectures du tableau sont expliquées à la Fig 7.



**Figure 7:** Activité d'inhibition de l'étalon Trolox et de l'extrait d'*Ephedra alata*.

La concentration inhibitrice semi-maximale calculée (IC<sub>50</sub>) était de 16,03 µg/ml pour l'*Ephedra alata* et 3,6 µg/ml pour le Trolox standard.

D'après les résultats d'**El rimawiet al. (2017)**, les extraits ont présenté une activité de piégeage dose-dépendante (une relation linéaire entre le % d'inhibition du DPPH et la concentration de l'extrait brut (de 10 à 150 µg/mL) comme ulistré dans le tableau 5. A partir de cette relation linéaire, IC<sub>50</sub> se sont avérés être de 78 µg/mL.

**Tableau 5:** % d'inhibition des radicaux libres DPPH par différentes concentrations d'extrait de plante *Ephedra Alata*

Concentration De DPPH (µg/mL)	Le % d'inhibition de DPPH
10	7.1 ± 0.5
20	13.6 ± 1.2
40	26.2 ± 1.0
80	53.6 ± 1.4
150	94 ± 2.1

De plus, L'activité antioxydant DPPH des extraits de plantes *Ephedra* utilisant trois solvants différents a été exprimée en µmole Trolox/g, ont montré que l'activité augmentait dans l'ordre suivant : 80 % éthanol > 100% éthanol > eau. (Voir tableau 6)

**Tableau6:** % d'inhibition des radicaux libres DPPH par différents solvants d'extrait de plante *Ephedra Alata*

Solvant	Le % d'inhibition de DPPH
Eau	88.7 ± 0.5
Ethanol 80%	95.3 ± 0.6
Ethanol 100%	91.5 ± 0.6

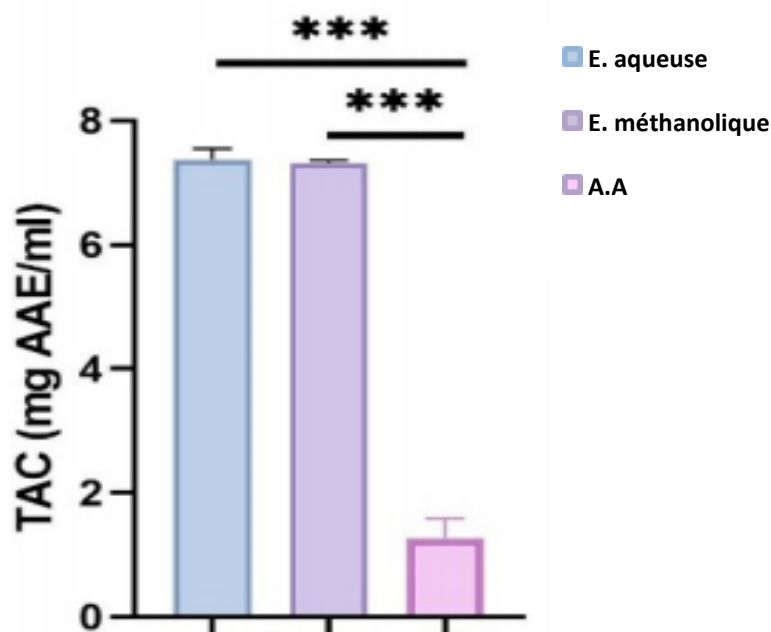
Selon les résultats de **Bourgou et al. (2020)**, l'extrait à l'éthanol d'*Éphedra alata* était le plus actif présentant une forte activité (IC<sub>50</sub> = 3 mg/mL) qui était plus puissante que l'antioxydant synthétique BHT (IC<sub>50</sub> = 11 mg/mL). Les fractions d'éthanol ont montré une activité antiradicalaire plus élevée que celles d'acétate d'éthyle et l' Hexane comme le montre le tableau7.

**Tableau 7:** Activité de piégeage des radicaux des extraits d'*Éphedra alata*

Extrait	DPPH IC50 (mg/mL)
Hexane	>1000
AceAcétateEthyl	83.07 ± 0.2
Ethanol	3.37 ± 0.1
BHT	11 ± 0.1

#### 4.1.4.2. Activité antioxydant totale

les résultats de **Benarba et al. (2021)**, (voir l'annexe 7) ont montré que l'extrait aqueux d'*Éphedra alata* présentait la plus forte capacité antioxydante totale ( $7,35 \pm 0,125$  mg/ml AAE) suivie de l'extrait méthanolique avec juste une légère différence ( $7,3 \pm 0,125$  mg/ml AAE). Statistiquement, il n'y avait pas de différence entre les deux extraits. Fait intéressant, la capacité antioxydante totale des deux *Éphedra alata* était presque six fois plus élevée que celle de l'acide ascorbique (figure 8).



**Figure 8:** Capacité antioxydant totale des extraits d'*Éphedra alata* \*\*\* Significatif à  $p < 0,001$

Tandis que, L'évaluation de l'activité antioxydant totale selon **Bourgou et al. (2020)** a montré que la capacité antioxydant totale dépendait de l'espèce. De plus, le solvant type

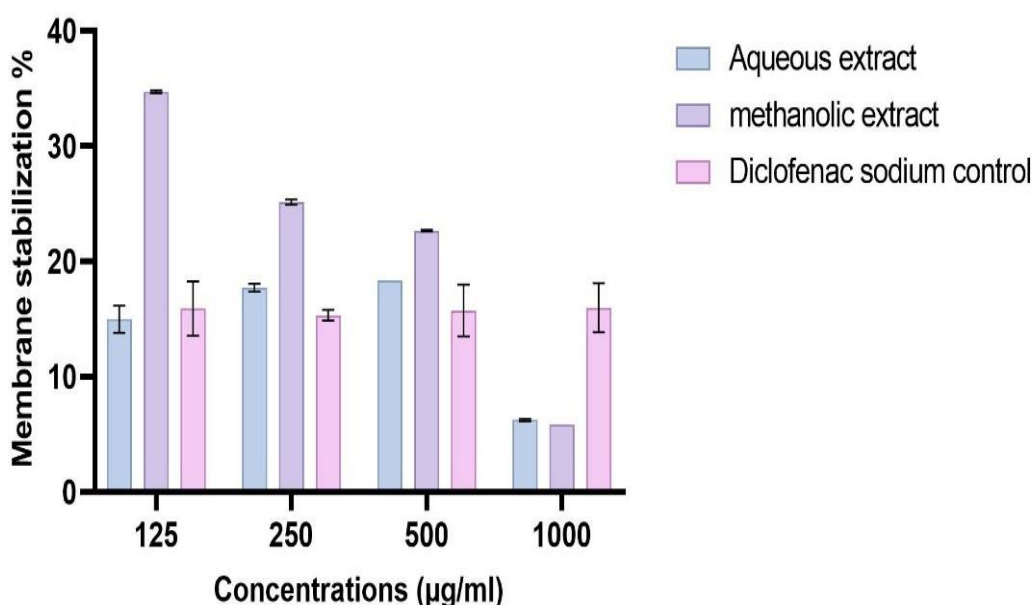


affecté de manière significative l'activité antioxydant. L'éthanol l'extrait d'*Éphedra alata* présentait la capacité antioxydant la plus élevée (280 mg GAE/g DW) suivi de l'extrait à l'acétate d'éthyle d'*Éphedra alata* (94 mg GAE/g DW) et finalement l'extrait de l'hexane (2.30 mg GAE/g DW) (voir l'annexe 8).

#### 4.1.5. Résultats du l'évaluation de l'activité anti-inflammatoires

##### 4.1.5.1. Stabilisation de la membrane HRBC

Selon les résultats de **Benarba et al. (2021)** (figure 9), les deux extraits d'*Éphedra alata* ont présenté une stabilisation significativement plus élevée de la membrane des globules rouges humains par rapport à celle du diclofénac sodique standard. Ce potentiel de stabilisation HRBC n'était pas lié à la dose. En effet, l'extrait méthanolique d'*Éphedra alata* présentait la stabilisation HRBC la plus élevée de  $34,72 \pm 0,08$  % à 125  $\mu\text{g/ml}$  alors que ce potentiel diminuait à  $5,82 \pm 0,00$  % à 1000  $\mu\text{g/ml}$ . En ce qui concerne l'extrait aqueux d'*Éphedra alata*, la stabilisation de membrane HRBC la plus élevée de 18,31 % a été obtenue à 500  $\mu\text{g/ml}$ . Par rapport au diclofénac sodique standard, les deux extraits d'*Éphedra alata* à 125, 250 et 500  $\mu\text{g/ml}$  ont présenté une activité de stabilisation plus élevée. Cependant, à 1000  $\mu\text{g/ml}$ , l'activité de stabilisation du diclofénac sodique était la plus élevée.



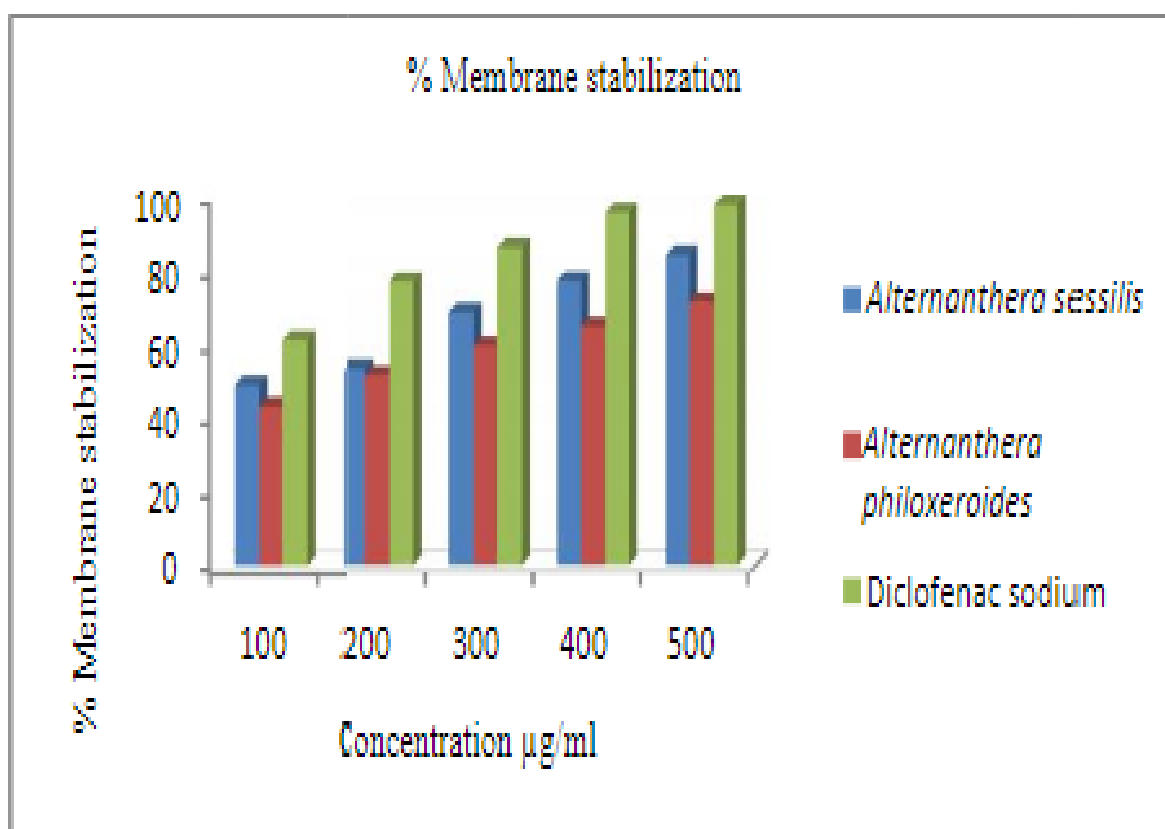
**Figure 9:** Activité de stabilisation de la membrane HRBC des extraits d'*Éphedra alata*

Alors que, les résultats de **Sheikh et al. (2016)**, (tableau 8) ont montrer que l'effet de stabilisation de la membrane s'est avéré être de 88,60 %, 87,03 % et 89,06 % pour l'extrait méthanolique, la formulation commerciale et le diclofénac sodique standard, respectivement.

**Tableau 8:** Activité de stabilisation de la membrane HRBC des différents extraits

Solution de test	stabilisation membranaire %
Méthanol	88.60
Formulation commercial	87.03
Standard diclofinac dodique	89.06

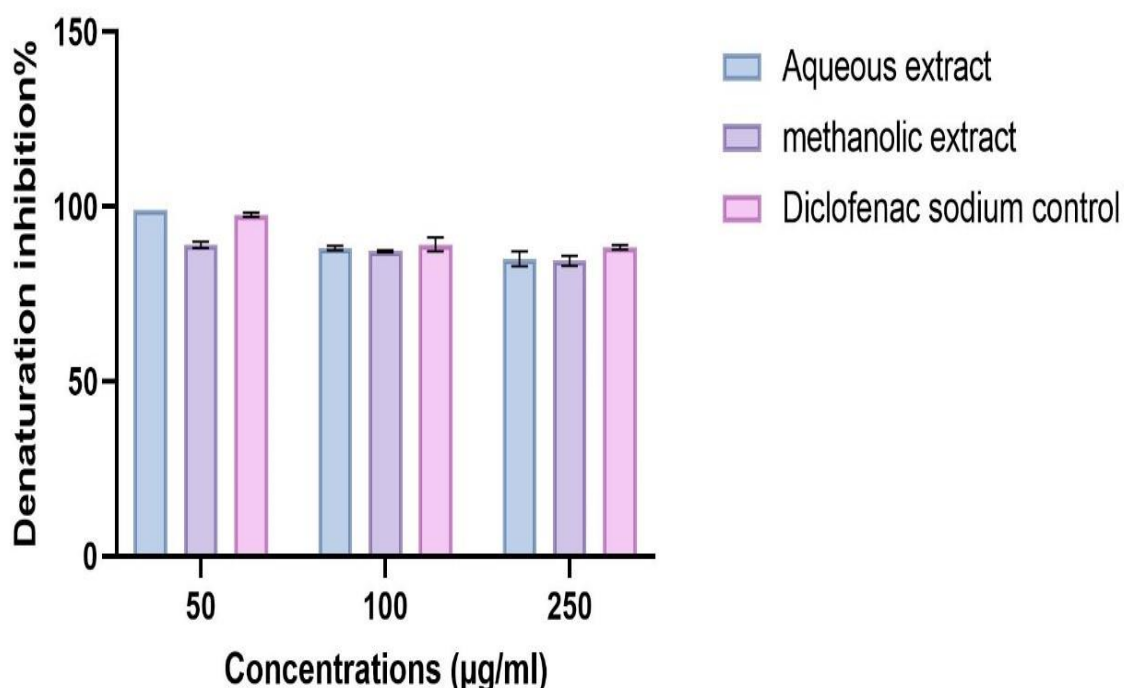
Cependant, les résultats de **sunmathi et al. (2016)** ont montré que les extraits éthanoliques de feuilles d'*A.sessilis* et d'*A.philoxeroides* ont inhibé efficacement l'hémolyse induite par la chaleur de HRBC à différentes concentrations (100-500µg/ml) comme indiqué dans le tableau (voir l'annexe 9). *A.sessilis* a montré l'inhibition maximale de 73,8 % à 500µg/ml alors que *A. philoxeroides* a montré l'inhibition maximale de 62,2 % à 500 µg/ml. Avec l'augmentation de la concentration, l'hémolyse membranaire est diminuée et la stabilisation/protection membranaire est augmentée comme le montrent la figure 10 respectivement. Par conséquent, l'activité anti-inflammatoire des extraits était dépendante de la concentration.

**Figure 10:** Activité de stabilisation de la membrane HRBC

### 4.1.5.2. Activités d'inhibition de la dénaturation des protéines

#### 4.1.5.2.1. Inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine

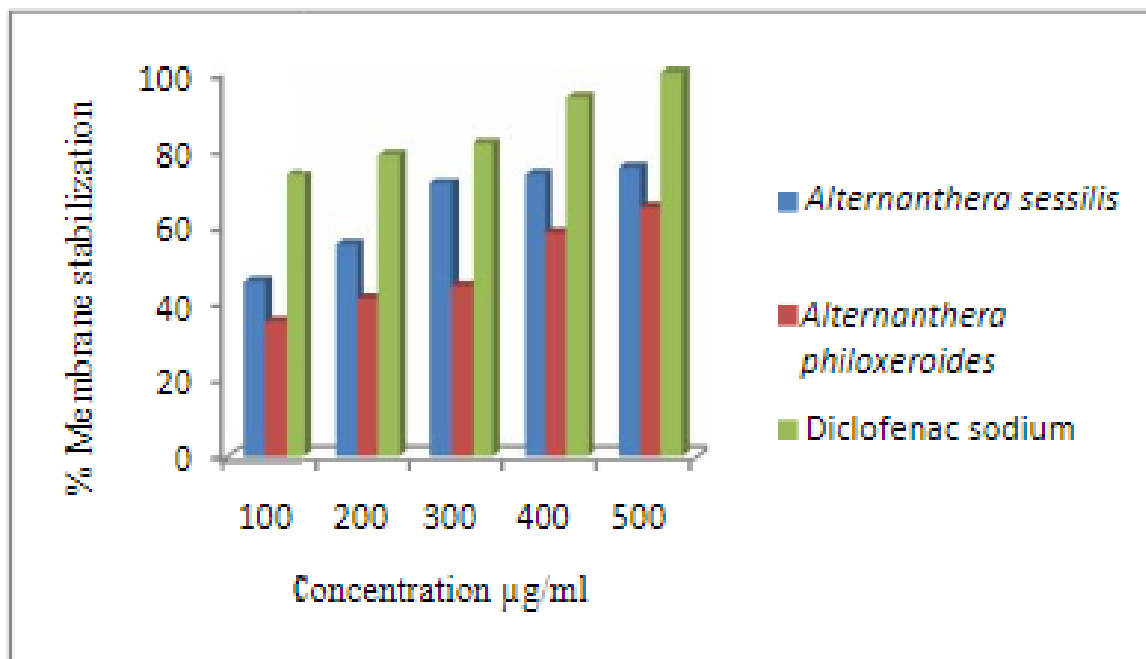
Les résultats du test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (figure 11) selon **Benarba et al. (2021)**, indiquent que l'extrait aqueux d'*Éphedra alata* avait le pourcentage d'inhibition le plus élevé à 50 µg/ml ( $99,22 \pm 0,022$  %) encore plus élevé que le diclofénac sodique standard ( $97,65 \pm 0,440$ ), tandis que l'extrait méthanolique avait une activité d'inhibition de  $89,74 \pm 0,60$  à la même concentration.



**Figure 11:** Activité d'inhibition de la dénaturation des protéines de l'albumine sérique bovine des extraits d'*Éphedra alata*

Alors que les résultats de cet test selon **Sheikh et al. (2016)** ont montré que inhibition de la dénaturation de l'albumine s'est avéré dans l'extrait de feuilles au méthanol.

Tandis que les résultats de **sunmathi et al. (2016)** ont montré que Méthode de dénaturation du sérum bovin à une concentration de 500 µg/ml *A.sessilis* a montré 75,43 % et chez *A.philoxeroides* était de 64,92 % alors que le diclofénac standard était de 100 % (voir l'annexe 10) et figure 14.



**Figure 14:** Activité d'inhibition de la dénaturation des protéines de l'albumine sérique bovine

#### 4.1.6. Résultats du l'évaluation de l'activité antibactérienne

Selon **Chebouat et al. (2014)**, Les résultats du test de diffusion sur disque (les six tableau) (voir l'annexe 11-16) ont montré que l'extrait d'*Ephedra alata*, s'il est correctement traité, pourrait être utilisé pour traiter certains *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et l'infection de *Bacillus cereus* ATCC 11778 au butanol extrait de fleurs, alors qu'il est inefficace contre *Serratia marcescens* ATCC 13880. L'acétate d'éthyle et les extraits de dichlorométhane de fleurs sont efficaces contre la plupart des types de bactéries.

Les extraits de feuilles au butanol sont efficaces contre la plupart des espèces étudiées mais inefficaces contre *Serratia marcescens* ATCC 13880 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Acétate d'éthyle et extraits de feuilles de dichlorométhane sont efficaces uniquement contre *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus cereus* ATCC 11778.

Selon les résultats de **Ghanem et IA El-Magly. (2008)**, (voir l'annexe 17) l'extrait d'acétonitrile a présenté l'activité antimicrobienne la plus élevée. C'était le seul extrait qui a montré une activité élevée contre les bactéries Gram (+ve) et Gram (-ve). *A. fumigatus* était le plus sensible à l'extrait d'acétonitrile même à de faibles concentrations. Les extraits méthanoliques n'ont montré plutôt qu'une activité antibactérienne, *A. fumigatus* et *P. italicum*

étant les plus sensibles. D'autre part l'extrait aqueux autoclavé a montré une certaine activité antibactérienne contre *P. aeruginosa*, *B. subtilis* et *E. coli*. *A. fumigatus* était également sensible aux extraits aqueux autoclaves même à de faibles concentrations.

Tandis que selon **Palici et al. (2015)**, Les résultats obtenus lors du criblage de l'activité antimicrobienne de plante sont présentés dans un tableau (Voir l'annexe 18).

L'*Ephedra alata* a présenté des effets antibactériens. Il a été constaté que l'activité a été montrée principalement contre les souches Gram-positives. Parmi les bactéries Gram-négatives testées, seule *Moraxella catharrhalis* était sensible aux extraits de plante étudié.

Dans la présente étude, aucun des extrait d'*Ephédra alata* n'a inhibé *C. freundii*, *E. faecium*, *S. epidermidis*, *S. agalactiae*, *S. pneumonia*, *S. pyogenes*, *A. lwoffii*, *E. cloacae*, *E. coli*, *H. influenzae*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *S. enteritidis* et *S. sonnei*.

Cependant, des activités antibactériennes avec un potentiel faible à remarquable ont été détectées contre *B. subtilis*, *M. catarrhalis* et *S. aureus*.

De plus les extraits d'*Ephedra alata* var. *alenda* ont démontré une inhibition notable contre *S. aureus* résistant à la méthicilline. Les activités antibactériennes des extraits d'*Ephedra alata* var. *alenda* ont été observées contre les souches bactériennes susmentionnées.

## 4.2. Discussion

Les gènes égoïstes chez les êtres humains et autres organismes vivants luttant tout le temps pour l'existence et survivant à toutes les maladies pour maintenir la santé du genre humain et des autres organismes vivants. La découverte et le dépistage d'agents anticancéreux, antioxydants, anti-inflammatoires et antibactériennes potentiels à partir de produits végétaux naturels sont encore, ces derniers temps, le principal objectif de nombreux scientifiques pharmaceutiques et médicaux. (Jaradat et al., 2015).

L'*Ephédra alata* est une plante médicinale largement utilisée en Asie et en Afrique du Nord pour son potentiel antioxydant, anti-inflammatoire, antimicrobien, antiarthritique et anticancéreux en raison de sa richesse en métabolites secondaires. (Benarba et al., 2021).

L'étude de Sioud et al. (2020), caveney et al. (2001); Danciu et al. (2018); Ibragic et Sofic. (2015); Al khateeb et al. (2014) ont été réalisées pour tester la capacité des alcaloïdes d'éphédra, connus pour leurs propriétés anti inflammatoires, antioxydant et génotoxicité. Tous les auteurs en accord que l'espèce d'*éphédra alata* est plus riche en alcaloïdes, contient une quantité relative des alcaloïdes de type pseudoéphédrine plus fort (élevée) que l'alcaloïde de type éphédrine.

Selon les résultats de Benarba et a. (2021), l'*Ephédra alata* de le Sahara algérienne avait une teneur en flavonoïdes plus élevée et une teneur en phénols plus faible et l'extrait aqueux avait la teneur en phénols et en flavonoïdes la plus élevée.

Alors que les résultats de Jaradat et al (2015), ont montré que la teneur phénolique totale de l'extrait aqueux de l'*Ephédra alata* palestiniens était absente et dans l'extrait éthanolique était présente alors qu'elle était la plus élevée dans l'extrait méthanolique. Alors que La teneur totale en flavonoïdes de la plante a était faible dans l'extrait éthanolique et plus faible dans l'extrait aqueux, alors qu'elle était la plus élevée dans l'extrait méthanolique.

Cette différence peut être due à divers facteurs tels que le lieu et la date de récolte, les propriétés du sol, les précipitations, le stockage des plantes et les méthodes d'extraction. (Ibragic et Sofić., 2015). Ces différences pourraient également expliquées par l'absence de spécifié du réactif du Folin-Ciocalteu pour les composés phénoliques qui réagit avec des protéines (tyrosine et tryptophane), des sucres réducteurs, l'acide tartrique, l'acide ascorbique

et des composés soufrés **Prior et al. (2005)** et par la présence de flavonoïdes. (**wang et al., 2008**)

Les composés phénoliques sont des antioxydants majeurs qui ont été détectés dans les extraits aqueux et méthanoliques de la plante *Ephedra alata* comme dit **Benarba et al. (2021)**. Plusieurs études en accord **Kuskoski et al. (2005)**; **Mahattanatawee et al. (2006)** ; **Thaipong et al. (2006)** ; **Silva et al. (2007)** ; **Reddy et al. (2010)**. Ils ont donc évalué l'activité antioxydant des extraits d'*Éphedra alata* à l'aide de différents dosages (DPPH et TAC).

Selon l'activité de piégeage des radicaux DPPH et les résultats de la capacité antioxydant totale CAT de **Benarba et al. (2021)**, l'extrait aqueux d'*Éphedra alata* avait des potentiels antioxydants plus élevés que l'extrait méthanolique, ce qui pourrait s'expliquer par sa teneur plus élevée en phénols et en flavonoïdes. Par contre, les résultats rapportés par **Jaradat et al. (2015)** dans l'espèce d'*Éphedra alata* ont révélé une meilleure activité antioxydant avec une IC50 plus faible des *Éphedra alata* palestiniens. Ce qui peut être attribué à leur teneur en alcaloïdes, considérés comme des antioxydants importants. Les résultats de **Benarba et al. (2021)** ont révélé que l'*Éphedra alata* algérien ne contenait pas d'alcaloïdes, ce qui peut être associé à un profil toxicologique sûr puisque les alcaloïdes de l'éphédra (éphédrine et pseudoéphédrine) sont responsables de la toxicité. **Sioud et al. (2020)**

Alors que les résultats de **Al Rimawi et al. (2017)** et **Bourgou et al. (2020)** en été accord que l'extrait d'éthanol d'*Éphedra alata* était le plus actif présentant une activité forte qui était plus puissante, L'évaluation de l'activité antioxydant totale a montré que la capacité totale antioxydant était dépendante de l'espèce d'*Ephedra Alala*. De plus, le type de solvant a considérablement affecté l'activité antioxydant.

Ainsi de nombreuses études sont concentrées sur l'activité antioxydant par DPPH sur des espèces du ce genre ont affiché des différences dans leur activités. En effet, les espèces *E. Procera*, *E. pachyclada*, *E. sarcocarpa* et *E. laristanica*. **Ghasemi et al. (2014)** ; **Dehkordi et al. (2015)** ; **Rustaiyan et al. (2011)** ; **Rustaiyan et al. (2011)** ; **AlRimawi et al. (2017)**; **El-Zayat et al. (2021)** ont indiqué des valeurs d'IC50 plus élevées par rapport à celles obtenues dans le présent travail.

La dénaturation des protéines est un processus pathologique qui provoque une inflammation. (**Ingle et Patel., 2011**). Étant donné que la membrane des érythrocytes humains

a une structure similaire à la membrane lysosomale, le test de stabilisation de la membrane HRBC est considéré comme une mesure de l'activité anti-inflammatoire des extraits de plantes.

Les composés phénoliques, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les terpénoïdes et les stéroïdes sont généralement responsables de l'activité anti-inflammatoire des extraits des plantes. L'inhibition de la dénaturation des protéines peut être dû à l'interaction des flavonoïdes, tanins et alcaloïdes avec la région aliphatique autour du résidu de lysine sur la protéine albumine. (**Williams et al., 2008**)

Selon les résultats de **Benarba et al. (2021)**, l'extrait méthanolique d'*Éphedra alata* avait une meilleure activité anti-inflammatoire que le standard largement utilisé Le diclofénac sodique, tandis que l'extrait aqueux présentait une activité de stabilisation de la membrane similaire à cet AINS standard.

Pour confirmer davantage de ses résultats, un test d'activité d'inhibition de la dénaturation des protéines a été effectué en considérant que la dénaturation des protéines est une cause indirecte d'inflammation par destruction ou mutilation cellulaire. Par conséquent, les substances capables d'inhiber la dénaturation des protéines peuvent vraisemblablement inhiber l'inflammation.

Les analyses de dénaturation de l'albumine sérique bovine ont indiqué que l'extrait aqueux présentait le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines le plus élevé, comparable aux potentiels anti-inflammatoires du diclofénac sodique.

Pris ensemble, les résultats de **Benarba et al. (2021)** révèlent que les deux extraits étudiés ont des capacités anti-inflammatoires importantes, en particulier l'extrait méthanolique qui est en corrélation avec les résultats énoncés par **Kmail et al. (2017)**; **Sheikh et al (2016)**; **sunmathi el al. (2016)** et les utilisations traditionnelles des plantes dans le traitement de l'inflammation et des maladies liées à l'inflammation telles que le cancer.

En effet, il a été démontré qu'*Éphedra alata* est capable d'inhiber la libération de médiateurs pro-inflammatoires tels que les cytokines pro-inflammatoires IL-1 $\beta$ , IL-TNF- $\alpha$ , IL- 6, IL 8 et IFN- $\gamma$  en régulant à la baisse Cytokines anti-inflammatoires qui incluent l'antagoniste des récepteurs IL-1, IL-4, IL-6, IL-10, IL-11 et IL-13. (**Kmail et al., 2017**)



La présente étude a montré que les extraits aqueux et méthanoliques des parties aériennes d'*Ephedra alata* contiennent divers composés phytochimiques. De plus, l'extrait aqueux d'*Ephedra alata* possédait la teneur totale en phénols et en flavonoïdes la plus élevée, Fait intéressant que, tous les extraits d'*Ephedra alata* présentaient des propriétés antioxydants et anti-inflammatoires prometteuses.

De nombreuses études relatives à l'utilisation de la plante comme agents thérapeutiques étaient en cours, en particulier celles supposées avoir un effet contre les bactéries résistantes aux antibiotiques.

Dans la présétude de **Chebouat et al. (2014)**, les flavonoïdes bruts d'*Ephedra alata* ont révélé l'importance médicale de cette plante grâce à son potentiel antimicrobien (**Wächter et al., 1999**); (**Dhayakaran et al., 2015**). Les extraits d'*Ealata* se sont avérés efficaces contre plusieurs souches de bactéries car les sites et le nombre de groupes hydroxyle sont supposés être liés à la toxicité contre les bactéries. On pense que l'augmentation accrue de l'hydroxylation entraîne une toxicité accrue.

De nombreux travaux ont rapporté L'activité antibactérienne des flavonoïdes est probablement due à leurs capacités de former des complexes avec des protéines extracellulaires de la paroi cellulaire bactérienne. (**Doss et al., 2011**). Les flavonoïdes peuvent inhiber la croissance bactérienne en utilisant différents mécanismes, dont l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques, en particulier les flavonoïdes avec hydroxylation du cycle B (**Plaper et al., 2003**), et l'inhibition des fonctions de la membrane cytoplasmique, (**Scazzocchio et al., 2006**).

Les résultats de **palici et al (2015)**, L'extrait d'*Ephedra alata* var *alenda* ont montré une activité antibactérienne modérée contre certaines souches bactériennes et fort effet inhibiteur contre les résistants à la méthicilline- résistance *S. aureus*. Dans le cas de cette espèce, le dépistage des résultats de sa capacité antimicrobienne étaient en partie en accord avec les résultats rapportés précédemment. (**Ghanem et El-Magly., 2008**) et (**Chebouat et al., 2014**) ont prouvé l'effet antibactérien de l'extrait acétonitrile d'*Ephedra alata* contre *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* et *E. coli*. Dans leurs étude, l'extrait d'espèces d'Ephédra était inactif contre *P. aeruginosa* et *E. coli*. L'explication probable de cette différence est que, une sous-espèce d'*Ephedra alata* a été incluse dans activités leurs enquête, et les différents solvants, utilisés pour le processus d'extraction peut également être la raison des différentes activités.

L'activité antimicrobienne de certaines espèces du genre *Ephedra* a été également prouvée dans de nombreuses études ; *E. transitorai*, **Al-Khalil. (1998)**, *E. sinicia*, **Kwon et al. (2001)**, *E. breana*, **Feresin et al. (2001)**, *E. intermedia*, **Bonjar et al. (2004)**, *E. nebrodensis*, **Cottiglia et al. (2005)**, *E. pachyclada*, **Motomura et al. (2007)** ; **Lee et Lee, (2009)** ; **Mahdavi et al. (2010)**; **Khalil et al. (2021)**, *E. americana*, **Bussmanna et al. (2008)**; **Bussmanna et al. (2010)**, *E. laristanica*, **Rustaiyan et al. (2011)** et *E. aphylla*. **El-Zayat et al. (2021)**

Les résultats des 15 articles, indiquent que tous les extraits peuvent être utilisés comme futurs antioxydants, anti-inflammatoires et antibactérienne. D'autres études *in vivo* sont nécessaires pour valider leurs propriétés pharmacologiques.

# **Conclusion**

### Conclusion

Les plantes médicinales ou les extraits des plantes sont utilisées dans le traitement de nombreuses maladies, sont aussi utilisées dans les préparations pharmaceutiques.

Notre travail synthétique est consacré à l'étude de l'activité antioxydant, antiinflammatoire et l'activité antibactérienne des différents extraits de la plante *Ephedra alata* et leur métabolites secondaire.

L'extraction de la plante dans plusieurs extraits par différentes méthodes a permis d'obtenir un bon rendement d'extraction, suivie par l'extrait des alcaloïdes qui montre que l'espèce d'*Ephedra alata* est riche en alcaloïdes. Elle contient une quantité relative des alcaloïdes de type pseudoéphédrine et éphédrine.

Notre résultat synthétique obtenu a permis de déduire que l'*Ephedra alata* est riche en polyphénols et flavonoïdes et on peut indiquer que l'extrait méthanolique de plante a les teneurs les plus élevées en flavonoïdes et en phénols.

Le screening phytochimique a mis en évidence diverses classes de métabolites secondaires de plante d'*Ephedra alata* contient un mélange de composés comme, les flavonoïdes, stéroïdes, tannins et les alcaloïdes.

Pour évaluer le potentiel antioxydant des différents extraits ont été évalué par deux méthodes différentes, le test de piégeage du radical libre DPPH, et le test du capacité antioxydant total (CAT).

Nos résultats synthétiques permettent de conclure que la plante d'*Ephedra alata* représente une source naturelle d'agents antioxydants et peut être un excellent choix pour servir comme traitement préventif contre le stress oxydatif.

Les résultats d'évaluation de l'activité anti - inflammatoire (test d'HRBC et ASB) de l'extrait d'*Ephedra alata alenda* ont montré que cette plante possède un forte capacité pharmacologique, ce qui favorise son utilisation en médecin traditionnel pour la prévention de diverses affections inflammatoires.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur des souches bactériennes, par la méthode de diffusion de disque. Les résultats ont montré que l'extrait d'*Ephedra alata alenda* est pourvu d'effet inhibiteur contre la plus part des souches testées.

Cette étude ne présente qu'une étape préliminaire dans la recherche. De ce fait, il est souhaitable d'enrichir ce travail, par des études approfondies tel que des études complémentaires in vivo des activités étudiées pour valider les propriétés pharmacologiques d'*Ephedra alata* ainsi que, l'étude des autres activités.

# Liste des références

---

**Liste des références**
**A**

- Abourashed E.A., El-Alfy A.T., Khan I.A. et Walker L., 2003- Ephedra in perspective—a current review. *Phytother. Res.*, Vol. 17, PP. 703-712
- AL Qarawi A.A., Abd\_Allah E.F. et Abeer H., 2011- *Ephedra alata* as biologically based strategy inhibit aflatoxicogenic seedborne mold. *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 5, N°16, pp. 2297-2303
- Al-Qarawi A.A., Abd Allah E.F. et Hashem A., 2012- Effect of *Ephedra alata* on nucleic acids and nitrogen metabolism of seedborne *Aspergillus flavus* . *Pak. J. Bot.*, Vol. 44, N°1, pp. 425-428
- Alqarawi A., Hashem A., Abd\_Allah E., Alshahrani T., Huqail A., *Acta. Biol. Hung.* 65 (2014) 61.
- Anonym. (2020). *Jornal Se connaître de l'introspection à la culture. Plantes Ephedraceae.*
- Arshad H., Shadma W., Iffat Z., Sarfaraj H. 2010. Antibacterial Activity of the Leaves of *Coccinia indica* (W. and A) Wof India. *Advances in Biological Research* 4(5):241-248.
- Aggarwal .B.B., Vijayalekshmi.R.V., Sung.B. (2009). Targeting Inflammatory Pathways for Prevention and Therapy of Cancer: Short-Term Friend, Long-Term Foe. *Molecular Pathways* 15(2): 425-430
- Abdoun, Y., (2012). Contribution À L'extraction Des Huiles Essentielles De L'inule Visqueuse Algérienne Par Diverses Méthodes, Étude De Ses Propriétés Antimicrobiennes Et Antioxydantes". Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister en génie des procédés . Université des Sciences Et De La Technologie Houari Boumediene.
- Austin J, Kristinsson KG, Anderson RM. The relationship between the volume of antimicrobial consumption in human communities and the frequency of resistance. *Proceed Nat Acad Sci USA* 1999; 96:1152-1156
- Al-khateeb, E., Al-Ani, H., Al-Kadi, K., Al-Obaidi, E.D.F., Shalan, N., Al-Rawi, N., 2014. Investigation of the alkaloids of two *Ephedra* Spp. wildy grown in Iraq. *Biol. Jordan J. Pharm. Sci.* 7, 191–198.
- Al-Rimawi, F., Abu-Lafi, S., Abbadi, J., Alamarneh, A., Sawahreh, R.A., & 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, 14(2), 130-141. Doi: 10.21010/ajtcam.v14i2.14.

- Abubakar, A., Haque, M. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. IP: 197.202.0.57]. DOI: 10.4103/jpbs.JPBS\_175\_19.
- Al-Khalil, S. (1998). Transthorine, a new quinoline alkaloid from *Ephedra transitoria*. *Journal of Natural Products*, 61(2), 262-263. Doi: 10.1021/np9702998.

### **B**

- Bonjar Shahidi, G.H. (2004). Evaluation of antibacterial properties of Iranian medicinal-plants against *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* and *Bordetella bronchoseptica*. *Asian Journal of Plant Sciences*, 3(1), 82-86. Doi: 10.3923/ajps.2004.82.86.
- Bussmanna, R.W., Sharon, D., Perez, F., Diaz, D., Ford, T., Rasheed, T., Barocio Y., & Silva, R. (2008). Antibacterial activity of northern-peruvian medicinal plants. *Arnaldoa*, 15(1), 127-148. Bussmanna, R.W., Malca-Garcia, G., Glenna, A., Sharona, D., Chaitc, G., Diaz, D., Pourmandd, K., Jonatd, B., Somogye, S., Guardadof, G., Aguirref, C., Chanf, R., Meyera, K., Kuhlmana, A., Townesmitha, A., Effio-Carbajalb, J., Frias-Fernandezb, F., & Benitob, M., (2010). Minimum inhibitory concentrations of medicinal plants used in Northern Peru as antibacterial remedies. *Journal of Ethnopharmacology*, 132(1), 101-108. Doi: 10.1016/j.jep.2010.07.048.
- Bourgou, S., Ezzine, Y., Ben Mansour, R., Dakhlaoui, S., Selmi, S., Bachkouel, S., Msaada, K., Aidi-Wannes, W., Hiroko, I., Megdiche-Ksouri, W (2020). Preliminary phytochemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of two Tunisian *Ephedra* species: *Ephedra alata* and *Ephedra fragilis*. *South African Journal of Botany* 135 (2020) 1-8.
- 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. doi:10.20944/preprints202108.0296.v1.
- BARKAN, S., J. D. WEBER, AND E. SMITH. 1981. Determination of cross contamination of the diastereomers ephedrine and pseudoephedrine by high performance liquid chromatography, thin-layer chromatography and carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Chromatography* 219: 81–88.

- **Biaye Mamadou**, Action pharmacologique des tanins, Thèse de doctorat, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, P.57, (2002).
- **Berra ,D.**, (2015). Etude de l'effet du milieu d'extraction sur la composition des feuilles de *Matricaria Pubescens*. Master en génie chimique. Université Echahid Hamma Lakhadr El - oued. P74.
- **Bouafia, M., Amamou, F., Gherib, Mohamed., Benaïssa, M., Azzi, R., Nemmiche, Saïd.** (2021). Ethnobotanical and ethnomedicinal analysis of wild medicinal plants traditionally used in Naâma, southwest Algeria. *Vegetos*, Doi: org/10.1007/s42535-021- 00229-7.
- **Bone, K., & Mills, S.** (2012). Principles and practice of phytotherapy modern herbal medicine, 2nd Ed. Elsevier Health Sciences, p: 17-82.
- **Boulberhane S., Nabti H.** 2017. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et l'activité antifongique des deux plantes : *Artemisia compestris* L. et *Ephédra alata alenda* Staph. Faculté des sciences de la Nature et du Vie Département de Biologie et Ecologie Végétale. Constantine. pp: 24.
- **Bellakhdar Jamal.** 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle: Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ed. Ibis Press, p.764.
- **Bruneton J.**, 2009- Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Lavoisier Tec & Doc (4eme Ed.), 1268 p.
- **Bruneton, J.** (1999). Pharmacognosie, Phytochimie Plantes médicinales .3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
- **Boubekri C.** 2014. Etude de l'activité antioxydant des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat, université Mohamed khider, Biskra, 160 p.
- **Boizot N., and Charpentier .J.P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'Inra. pp 79-82. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).

### C

- **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), 1199-208. Doi: 10.2307/3558330.



- Chebouat, E., Dadamoussa, B., Gharabli, S., Gherraf, N., Allaoui, M., Cheriti, A., Lahham, A., & Zellagui, A. (2014). Assessment of antimicrobial activity of flavonoids extract from *Ephedra alata*. *Der Pharmacia Lettre*, 6(3), 27-30.
- Cottiglia, F., Bonsignore, L., Casu, L., Deidda, D., Pompei, R., Casu, M., & Floris, C. (2005). Phenolic constituents from *Ephedra nebrodensis*. *Natural Product Research*, 19(2), 117-123. Doi: org/10.1080/14786410410001704714.
- Chang C., Yang M., Wen H., Chern J., *J. Food Drug Anal.* 10 (2002) 178.

### D

- Doss, A., Vijayasanthi, M., Parivuguna, V., & Venkataswamy, R. (2011). Antimicrobial effects of the flavonoid fractions of *Mimosa pudica* L. Leaves. *Journal of Pharmacy Research*, 4(5), 1438-1439.
- Dehkordi, N.V., Kachouie, M.A., Pirbalouti, A.G., Malekpoor, F., & Rabei, M. (2015). Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of the extract of *Ephedra procera* fisch. et mey. *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*, 72(2), 341-345.
- Dhayakaran, R.P.A., Neethirajan, S., Xue, J., & Shi, J. (2015). Characterization of antimicrobial efficacy of soy isoflavones against pathogenic biofilms. *LWT-Food Science and Technology*, 63(2), 859-865. Doi: org/10.1016/j.lwt.2015.04.053.
- Danciu, C., Muntean, D., Alexa, E., Farcas, C., Oprean, C., Zupko, I., Bor, A., Minda, D., Proks, M., Buda, V., Hancianu, M., Cioanca, O., Soica, C., Popescu, S., Dehelean, C.A., 2be018. Phytochemical characterization and evaluation of the antimicrobial, antiproliferative and pro-apoptotic potential of *Ephedra alata* Decne. Hydroalcoholic extract against the MCF-7 breast cancer cell line. *Molecules* 24, 1–15.
- Derbel S., Touzard B., Triki MA., Chaieb M. 2010. Seed germination responses of the Saharan plant species *Ephedra alata* ssp. *alenda* to fungicide seed treatments in the laboratory and the field. *Flora* 205: 471–474.

### E

- Evans W.C., 2009- Trease and Evans' Pharmacognosy. Saunders (16eme Ed).46-Ghourri M., Zidane L., Douira A., 2013- Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). *Journal of Animal & Plant Sciences*, Vol.17, pp. 2388-2411.

- El-Zayat, M.M., Eraqi, M.M., Alrefai, H., El-Khateeb, A.Y., Ibrahim, M.A., Aljohani, H.M., Aljohani, M.M., Elshaer, M.M. (2021). The antimicrobial, antioxidant, and anticancer activity of greenly synthesized selenium and zinc composite nanoparticles using *Ephedra aphylla* extract. *Biomolecules*, 11, 470 Doi:org/10.3390/biom11030470.

### F

- Favier, A. E., Nève, J. & Faure, P. (1994). Trace Elements and Free Radicals
- Feresin, G.E., Tapia, A., Lopez, S.N., & Zacchino, S.A. (2001). Antimicrobial activity of plants used in traditional medicine of Sun Juan Province, Argentine. *Journal of Ethnopharmacology*, 78(1), 103-107. Doi: org/10.1016/S0378-8741(01)00322-1.
- Friedman W., *Int. J. Pl. Sci.* 157 (1996) S1.

### G

- Ghanem, S., & El-Magly, U.I.A. (2008). Antimicrobial activity and tentative identification of active compounds from the medicinal *Ephedra alata* male plant. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 3(1), 7-15. Doi: 10.1016/s1658-3612(08)70039-8.
- Gupta M., Mandowara D., Jain S., *Asian Agrihis.* 12 (2008) 321.
- Ghourri M., Zidane L., Douira A. 2013. Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). *Journal of Animal & Plant Sciences* 17: 2388-2411.
- Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M. (2001). Le préparateur en pharmacie dossier 2ème Ed TEC&DOC. Paris. pp275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).

### H

- Hadjadj. K., Daoudi. B., Guerine L. (2020). Importance thérapeutique de la plante *Ephedra alata subsp. Alenda* dans la médecine Traditionnelle pour la population de la Région de guettara (djelfa, algérie). *Lejeunia revue de botanique*.p.3.
- Hegazi G.A.E. et El-Lamey T.M., 2011- *In vitro* Production of Some Phenolic Compounds from *Ephedra alata Decne.* *J. Appl. Environ. Biol. Sci.*, Vol,1, N°8, pp.158-163
- Halliwell B., Gutteridge J M C. 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine.* Oxford University Press, Oxford 4ème édition.

- Hellal, M., (2007). Phtalazinones et 2,3-benzodiazépinones dérivées de l'azélastine: Synthèses et activités anti-cytokine. Thèse de Doctorat. Université Louis Pasteur (Strasbourg). p.15.

### I

- Ingle, P.V., & Patel, D.M. (2011). C-reactive protein in various disease conditions—an overview. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 4(1), 9-13.
- Ibragic, S., & Sofić, E. (2015). Chemical composition of various Ephedra species. *Bosnian journal of basic medical sciences*, 15(3), 21-27. Doi: 10.17305/bjbms.2015.539.

### J

- Jacotot B., Campillo B. 2003. *Nutrition Humaine*. Masson. Paris, p.311.
- 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*. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6(6), 1771-1778.

### K

- Khanbabae K., Ree T.R. 2001. Tannins. Classification and Defenition: *Journal of Royal - Society of Chemistry* 18: 641-649.
- Kmail, A., Lyoussi, B., Imtara, H., Zaid, H. Saad, B. *Pharmacognosy Communications*. 2017, 7,1, 24.
- Kuskoski, E.M., Asuero, A.G., Troncoso, A.M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 726-732. Doi :org/10.1590/S0101-20612005000400016.
- Kwon, Y.B., Lee, J.D., Lee, H.J., Han, H.J., Mar, W.C., Kang, S.K., & Lee, J.H. (2001). Bee venom injection into an acupuncture point reduces arthritis associated edema and nociceptive responses. *Pain*, 90(3), 271-280. Doi: 10.1016/s0304-3959(00)00412-7.
- Khalil, A.M.A., Hassan, S.E.-D., Alsharif, S.M., Eid, A.M., Ewais, E.E.-D., Azab, E., Gobouri, A.A., Elkelish, A., Fouda, A. (2021). Isolation and Characterization of Fungal Endophytes Isolated from Medicinal Plant Ephedra pachyclada as Plant Growth-Promoting. *Biomolecules*, 11, 140. Doi : org/10.3390/ biom11020140.

- King A., and Young G. (1999). Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Jof the American dietetic association*.99:213-218. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008

### L

- Limberger R.P., Jacques ALB, Schmitt GC. et Arbo MD., 2013 - Pharmacological Effects of Ephedrine. *Natural Products*, pp. 1218- 1237.
- Lee, M.R. (2011). The history of Ephedra (Ma-Huang). *The journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh Edinb*, 41(1), 78-84. Doi: 10.4997/JRCPE.2011.116.
- Laamri F. & Mostefaoui C., (2017). Contribution à l'étude de quelques paramètres biochimiques et biologiques (antioxydante et anti bactérienne) de *Oudneya africana* R de la région de Ghardaïa. MEMOIRE DE FIN D'ETUDE En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Biochimie Appliquée. Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED.
- Lee, C.H., & Lee, H.S. (2009). Growth inhibiting activity of quinaldic acid isolated from *Ephedra pachyclada* against intestinal bacteria. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 52(4), 331-335. Doi: org/10.3839/jksabc.2009.059.

### M

- Miara, M.D., Teixidor-Toneu, I., Sahnoun, T., Bendif, H., Ait Hammou, M. (2019). Herbal remedies and traditional knowledge of the Tuareg community in the region of Illizi (Algerian Sahara). *Journal of Arid Environments*, 167, 65-73. Doi: org/ 10. 1016/j. jarid env. 2019. 04. 020.
- Minisci, F., (1997). *Free Radicals in Biology and Environment*. Springer Science
- Macheix J-J., Fleuriet A., Allemand C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, presses polytechnique et universitaires romandes, Italie. p 2-3-12-13-14.
- Mothana RAA and Lindequist U. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqorta. *J Ethnopharmacol* 2005; 96: 177-181.
- Mahattanatawee, K., Manthey, J.A., Luzio, G., Talcott, S.T., Goodner, K., & Baldwin, E.A. (2006). Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-grown tropical fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(19), 7355-7363. Doi: 10.1021/jf060566s.

- Motomura, H., Noshiro, S., & Mikage, M. (2007). Variable wood formation and adaptation to the alpine environment of *Ephedra pachyclada* (Gnetales: Ephedraceae) in the Mustang district, Western Nepal. *Annals of Botany*, 100(2), 315-324. Doi:10.1093/aob/mcm111.
- Mahdavi, M.Z., Moshafi, M.H., & Forotanfar, H. (2010). Antimicrobial effects of methanol extracts of 12 herbal species on 6 bacterial strains using cylinder-plate method. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, 8(3), 227-237.

### N

- Nugroho A., Malik A., Pramono S., *Int. Food Res. J.* 20 (2013) 299.
- Nicolas, J., Cousin, F., & Thivolet, J. (2001). *Immunologie clinique et allergologie. Aspirine et AINS : intolérance et allergie.* John Libbey Eurotext: p. 55-58.
- Nawwar M.A.M, El-Sissi H.I., Barakat H.H., 1984- Flavonoid constituents of *Ephedra alata*. *Phytochemistry*, Vol. 23, N°. 12, pp. 2937-2939

### O

- Ould El Hadj M.D., Hadj-Mahammed M. et Zabeirou H., 2003- place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (sahara septentrional est). *Courrie du savoir.* n°3, pp. 47-51.
- Ozenda P., 1991- Flore et végétation du Sahara. Centre National De La Recherche Scientifique, Paris (3éme Ed.). 662 p.
- O'Dowd, N.A., McCauley, P., Wilson, G., Parnell, J., Kavanagh, T.A.K., & McConnell, D. (1998). *Ephedra species: in vitro Culture, Micropropagation, and the Production of Ephedrine and Other Alkaloids.* *Medicinal and Aromatic Plants X.Biotechnology in Agriculture and Forestry*, (vol 41). Springer, Berlin, Heidelberg. P.154-193. Doi: org/10.1007/978-3-642-58833-4\_10.

### P

- Prior R.L., Wu. X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302. Doi: 10.1021/jf0502698.

- Plaper, A., Golob, M., Hafner, I., Oblak, M., Solmajer, T., & Jerala, R. (2003). Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase. *Biochemical and biophysical research communications*. 306(2), 530-536. Doi: 10.1016/s0006-291x (03)01006-4.
- Palici, F.I., Liktör-Busa, E., Zupkó, I., Touzard, B., Chaieb, M., Hohmann, J. 2015. Study of *in vitro* antimicrobial and antiproliferative activities of selected saharan plants. *Acta Biologica Hungarica* .vol. 66 N°. 4, P. 385-394.
- Packer, L. & Glazer, A. N. (1990). *Methods in Enzymology* Volume 186, Oxygen
- Patil, V.M., & Masand, N. (2018). Anticancer potential of flavonoids: chemistry, biological activities, and future perspectives. *Studies in Natural Products Chemistry*, 59, 401- 430. Doi: org/10.1016/B978-0-444-64179-3.00012-8.
- Paris M et Hurabielle. (1981). *Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris*.pp: 102-103-104-107.
- Phinney K.W., Ihara T. et Sander L.C. 2005. Determination of ephedrine alkaloid stereoisomers in dietary supplements by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography* 1077: 90–97.

### **R**

- Rustaiyan, A., Javidnia, K., Farjam, M.H., Aboee-Mehrizi, F., & Ezzatzadeh, E. (2011a). Antimicrobial and antioxidant activity of the *Ephedra sarcocarpa* growing in Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(17), 4251-4255. Doi: 10.5897/JMPR.9000172.
- Rustaiyan, A., Javidnia, K., Farjam, M.H., Mohammadi, M.K., & Mohammadi, N. (2011b). Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of the methanolic extracts of *Ephedra laristanica*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(24), 5713-5717. Doi: 10.5897/JMPR.9001251.
- Reddy, C.V.K., Sreeramulu, D., & Raghunath, M. (2010). Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India. *Food Research International*, 43(1), 285-288. Doi: 10.1016/j.foodres.2009.10.006.

### **S**

- Sioud, F., Amor, S., Toumia, I.B. Cells. (2020). Alkaloids Isolated from *Ephedra Alata*: Characterization and Protective Affects Against Cisplatin-Induced Liver and Kidney Injuries in Mice. *Biomedical journal of scientific and technical research*. ISSN: 2574 -1241. 9, 2, 362. DOI:10.26717/BJSTR.2021.36.005861.

- Sunmathi, D., Sivakumar, R., Ravikumar, K. (2016). *n vitro* Anti-inflammatory and Antiarthritic activity of ethanolic leaf extract of *Alternanthera sessilis* (L.) R.Br. ex DC and *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. *International journal of advances in pharmacy, biology and chemistry. IJAPBC* – Vol. 5(2). ISSN: 2277 - 4688
- Sheikh, M., Devadigab, N., Hatec, M. (2016). Comparative studies of in-vitro anti-oxidant and antiinflammatory potential of *semecarpus ancardium*. Volume 5, Issue 4, 1759-1768. ISSN 2278 – 4357. DOI: 10.20959/wjpps20164-6486.
- Silva, E.M., Souza, J.N.S., Rogez, H., Rees, J.F., & Larondelle, Y. (2007). Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*, 101(3), 1012-1018. Doi: org/10.1016/j.foodchem.2006.02.055.
- Scazzocchio, F., D’Auria, F.D., Alessandrini, D., & Pantanella, F. (2006). Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. *Microbiological Research*, 161(4), 327-333. Doi: org/10.1016/j.micres.2005.12.003.
- Soni M.G, Carabin I.G., Griffiths J.C., et Burdock G.A., 2004- Safety of ephedra: lessons learned. *Toxicology Lettersn*, Vol. 150, pp. 97–110
- Schwager.S et Detmar.M. (2019). Inflammation and Lymphatic Function. *Frontiers in Immunology* 10: 308.
- Soeken, K.L., Miller, S.A., & Ernst, E. (2003). Herbal Medicines for the treatment of rheumatoid arthritis: a systematic review. *Rheumatology*, 42(5), 652-659. 42(5):652-9. Doi: 10.1093/rheumatology/keg183.
- Sylvia, S.M. (2010). *Biologie humaine*. Bruxelles: Ed. De Boeck & Larcier s.a.

### T

- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D.H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675. Doi: org/10.1016/j.jfca.2006.01.003.
- 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
- Tapas A. R., Sakarkar D. M., Kakde R. B. 2008. Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 7(3): 1089-1099.
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*. 2(12),

1231-1246. Doi: 10.3390/nu2121231.

- Tapiero H., Tew K.D., Nguyen B.G., and Mathé G. (2002). Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? *Biomed.pharmacother.* 56: 200-207. (Cited in DjemaiZoueglache S, 2008).

### W

- Wilfred .V et Ralph .N. (2006). *Phenolic compound biochemistry* Ed Springer .USA. 24p.
- Wang, H., Gao, X.D., Zhou, G.C., Cai, L., & Yao, W.B. (2008). *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. *Food Chemistry.* 106(3), 888-895. Doi: org/10.1016/j.foodchem.2007.05.068.
- Williams, L.A.D., Connar, A.O., Latore, I., Dennis, O., Ringer, S., Whittaker, J.A., Conard, J., Vogler, B., Rosner, H., & Kraus W. (2008). The *in vitro* anti-denaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process. *The West Indian medical journal,* 57(4), 327-331.
- Wächter, G.A., Hoffmann, J.J., Furbacher, T., Blake, M.E., & Timmermann, B.N., (1999). Antibacterial and antifungal flavanones from *Eysenhardtia texana*. *Phytochemistry* 52(8), 1469-1471. Doi: org/10.1016/S0031-9422(99)00221-6.
- Wang, H., Gao, X.D., Zhou, G.C., Cai, L., & Yao, W.B. (2008). *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. *Food Chemistry.* 106(3), 888-895. Doi: org/10.1016/j.foodchem.2007.05.068.

### Y

- Yakhlef G. (2010). Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* l. et *Laurus nobilis* l. Mémoire de magister. Université El Hadj Lakhdar. Batna.



# **Annexe**

## ▪ Appareillages

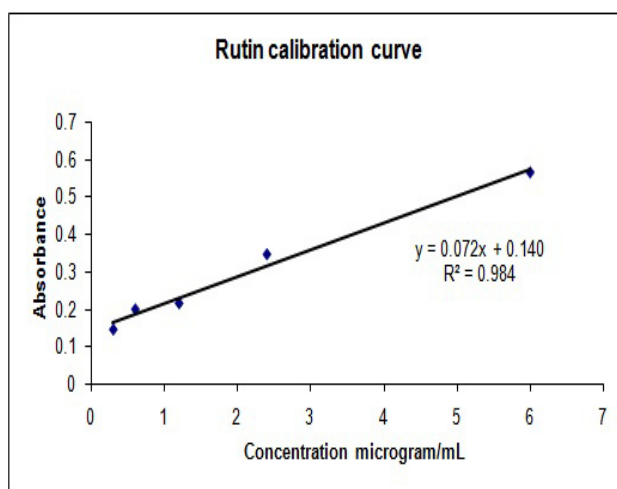
Agitateur magnétique, Vortex, Evaporateur rotatif, Spectrophotomètre, Spectrophotomètre UV-Visible, Lyophilisateur, Balance, Papier filtre, Un stérile, Pince flammée, Incubateur, Bain-marie, Tubes d'héparine, Centrifugeuse, Plaque chauffante, Réfrigérateur, Boîtes de Pétri, Autoclavage

## ▪ Réactif

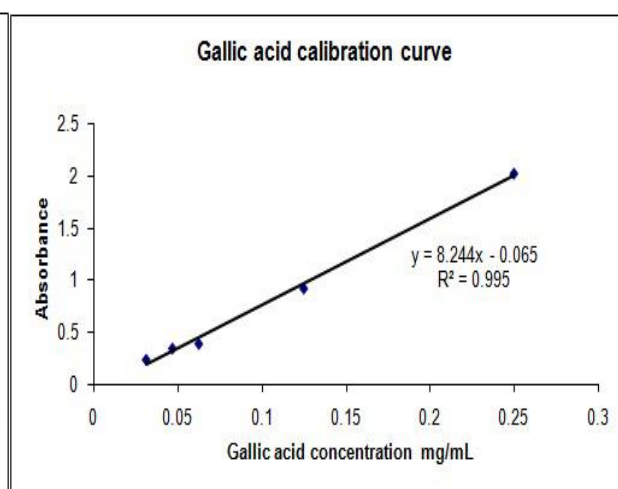
Le méthanol, Le N-hexane, Trolox, Le réactif de Million, Le NaOH, Le réactif de Benedict, La solution de ninhydrine, Le réactif de Molish, le H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, la solution d'iode, Le chloroforme, Le HCl, le ruban de magnésium, L'acide acétique, le FeCl<sub>3</sub>, Le réactif Folin-Ciocalteu été acheté chez MP-Biomédical (USA), Le Solution de carbonate de sodium (p/v), L'acide gallique GAE/g, Le chlorure d'aluminium, Le nitrite de sodium NaNO<sub>3</sub>, Le Trichlorure d'aluminium AlCl<sub>3</sub>, L'hydroxyde de sodium NaOH, Le solution méthanolique de DPPH (4mg/100ml), L'Acide ascorbique, Le phosphomolybdate, Le tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6), L'hexacyanoferrate de potassium (1%), Le Trichloroacétate (10%), Le hyposaline (0,25 % p/v NaCl), Le HRBC, Le diclofénac sodique, L'Albumine de sérum bovin (BSA) (solution aqueuse à 0,5 % p/v), L'eau distillée, L'acide sulfurique (0,5 M), L'éther d'éthylique, Le d'hydroxyde de potassium (5 M), Le chlorure de sodium, Le CDCl<sub>3</sub>, Le EtOH à 70 %, Le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Le EtOAc, Le n-BuOH, Le gélose Mueller Hinton 3,7%, Le diméthylsulfoxyde DMSO Le PBS.

### Annexe 1: Teneur totale en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins des extraits d'*Ephedra alata*

	Contenu phénolique total (mg GA/g) ± ET	Teneur totale en flavonoïdes (mg Q/g) ± ET
Extraction aqueuse	8.66 ± 0.092	248.04 ± 1.471
Extraction méthanolique	3.16 ± 0.004	154.54 ± 0.535



annexe 2: Courbe d'étalonnage standard de la rutine



annexe 3: Courbe d'étalonnage standard de l'acide gallique

**Annexe 4:** Teneur totale en composés phénoliques et flavonoïdes dans différents extraits d'*Éphedra alata*

	Composés de polyphénols totaux(mg AG/g)	Composés de flavonoïdes totaux (mg RU/g) ±SD
Extraction aqueuse	- - -	0.519 ±0.09
Extraction méthanolique	47.62 ±0.94	54.66 ±0.12
Extraction éthanolique	19.175 ±0.625	5.44 ±0.625

**Annexe 5:** CI50 des extraits d'*Éphedra alata* (activité de piégeage des radicaux libres)

Extrait	Extrait aqueuse	Extrait méthanolique	Acide ascorbique
IC50 (mg/ml) ±SD	4.638±0.002	20.943±2.903	2.786±0.019

**Annexe 6:** Pourcentage d'activité d'inhibition pour Trolox et *Ephedra alata*

Concentration µg/ml	% inhibition par Trolox	% inhibition par <i>Ephedra alata</i>
1	38.65 ±1.08	29.14 ±1.11
2	47.55 ±1.34	29.38 ±1.72
3	52.09 ±1.05	32.09 ±1.28
5	64.19 ±1.32	32.09 ±0.96
7	64.19 ±1.83	33.33 ±1.21
10	69.38 ±1.33	38.76 ±1.53
20	76.29 ±2.12	43.46 ±1.65
30	81.23 ±1.43	46.17 ±1.77
40	92.1 ±1.65	71.36 ±1.21
50	96.05 ±1.40	73.83 ±1.43
80	98.02 ±1.87	73.83 ±1.11
100	98.32 ±1.58	75.02 ±1.67

**Annexe 7:** capacité antioxydant d'*Ephedra alata*.

Extraits	Capacité antioxydant total
Hexane	2.30 ± 2.1
Acétate d'éthyle	93.67 ± 2.1
Ethanol	280.50 ± 3.9

**Annexe 8:** Capacité antioxydant totale des extraits d'*Éphedra alata*

Extrait	Extrait aqueuse	Extrait méthanolique	acide ascorbique de contrôle
TAC (mg/ml AAE) ±SD	7.35±0.125	7.3±0.025	1.27±0.23

**Annexe 9:** stabilisation membranaire HRBC de *A. sessilis* et *A. philoxeroides*.

Conc µg/ml	A.sessilis	A.philoxeroides	Diclofénac de sodium
100	31.09	27.15	68.09
200	37.89	33.43	73.31
300	46.07	37.87	85.09
400	58.53	48.5	93.15
500	73.8	62.2	97.05

**Annexe 10:** % inhibition de dénaturation de l'albumine bovine sérum.

Concentration µg/ml	A.sessilis	A.philoxeroides	Diclofénac de sodium
100	45.7	35.13	73.23
200	55.02	40.81	78.54
300	71.2	44.56	81.56
400	73.8	58.56	93.67
500	75.43	64.92	100

**Annexe 11:** Diamètre de la zone d'inhibition à différentes concentrations d'extrait : extrait butanol de fleurs (µg/ml)

Nom de la bactérie cultivée	Diamètre de la zone d'inhibition (cm)				
	1000	666	500	400	333
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	1.3	0	0.8	0	0
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6051	-	1	1.3	1.1	0.7
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1	0.9	0	0	0
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	-	0.7	0.9	0	0.6
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1	0.9	1.3	0.9	1.5
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	1.3	0.8	1	-	1
Methicillin -résistant <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 013300	1.3 *2	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	1	-	-	-	-

**Annexe 12:** Diamètre de la zone d'inhibition à différentes concentrations d'extrait : extrait d'acétate d'éthyle de fleurs (µg/ml)

Nom de la bactérie cultivée	Diamètre de la zone d'inhibition (cm)				
	1000	666	500	400	333
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	1	0.7	0.7	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	0.9	0.8	0.7	0.8	0.7
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6051	1.5	1.5	1.5	1.3	1
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1	0.9	0.8	0.6	0
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	1.5	1.2	1.2	1	1.1
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1.5	1.3	1.5	1.3	1.3
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	1.4	1.2	-	-	-

<i>Methicillin</i> -resistant <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 013300	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	-	-	-	-	-

**Annexe 13:** Diamètre de la zone d'inhibition à différentes concentrations d'extrait : Extrait dichlorométhane de fleurs ( $\mu\text{g/ml}$ )

Nom de la bactérie cultivée	Diamètre de la zone d'inhibition (cm)			
	1000	666	500	400
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	0.7	0.8	0.6	0.8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	0.7	0.7	0.7	0.8
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6051	1.1	1	0.8	1
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0.7	0.8	0.6	0.9
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	0	0.7	0.7	0.7
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1.2	0.8	0.9	0.7
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	1	-	-	-
<i>Methicillin</i> -resistant <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 013300	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	-	-	-	-

**Annexe 14:** Diamètre de la zone d'inhibition à différentes concentrations d'extrait : extrait butanol de feuilles ( $\mu\text{g/ml}$ )

Nom de la bactérie cultivée	Diamètre de la zone d'inhibition (cm)				
	1000	666	500	400	333
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	0	0	0.7	0	0
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6051	1.3	1	0.9	0.9	0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0	0	0.8	0	0
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0.7	0.8	0.8	0	0.8
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	0.8	-	-	-	-
<i>Methicillin</i> -resistant <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 013300	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	-	-	-	-	-

**Annexe 15:** Diamètre de la zone d'inhibition à différentes concentrations d'extrait : extrait d'acétate d'éthyle de feuilles ( $\mu\text{g/ml}$ )

Nom de la bactérie cultivée	Diamètre de la zone d'inhibition (cm)	
	1000	500
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	0	0
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6051	1.7	1.6
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0	0
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1.2	1.4
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	1.2	-

**Annexe 16:** diamètre d'inhibition à différentes concentrations d'extrait : extrait dichlorométhane de feuilles ( $\mu\text{g/ml}$ )

Nom de la bactérie cultivée	Diamètre de la zone d'inhibition (cm)	
	1000	500
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	0.8	0
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6051	1.2	0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0	0
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1.1	1.1
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	1.1	-

**Annexe 17:** L'activité antibactérienne de différents extraits solvants d'*Ephedra alata*

Tests des organismes	Acetonitrile			méthanol			L'eau			L'eau autoclavé			+ve control Chloramphenicol (mg/ml)		
	10-1	10-2	10-3	10-1	10-2	10-3	10-1	10-2	10-3	10-1	10-2	10-3	5	2.5	1
<b>S. aureus</b>	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	++
<b>Pseudomonas</b>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+++	+++	++
<b>B. subtilis</b>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+++	+++	++
<b>E. coli</b>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	++	++	++

**Annexe 18:** Activité antibactérienne de plante étudiée dans la méthode de diffusion sur disque

Plante	Zone d'inhibition (mm)			
	Souche bactérienne			
	<i>B.s</i>	<i>M.c</i>	<i>S.a</i>	MRSA
<i>Éphedra alata v. alenda</i>	9.5	7.5	9.5	14.5

هذه الدراسة هي جزء من المساهمة في تعزيز النبات الطبي ايفيدرا الاتا العلندة ، الذي يتمتع بأهمية علاجية كبيرة في العالم. يعتمد الهدف من دراستنا على تقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للالتهابات والمضاد للبكتيريا لمستخلصات مختلفة من النبتة. أظهر التقدير الكمي لمركبات الفلافونويد والبوليفينول بطرق الكواشف اللونية أن مستخلصات النبتة غنية بهذه المركبات مثل الثانينات والقلويدات والستيرويدات. لتقييم نشاط مضادات الأكسدة باستخدام الاختبارات المعملية (DPPH, CAT) ، يظهر أن مستخلصات الإيفيدرا ألاتا لها نشاط مضاد أكسدة ملحوظ. تشير اختبارات النشاط المضاد للالتهابات (HRBC, ASB) ، إلى أن مستخلصات النبتة لها نشاط هام مضاد للالتهابات. نتائج النشاط المضاد للبكتيريا التي تم اختبارها بطريقة الانتشار على الأقراص في وسط جيلوزي جعلت من الممكن الحصول على نتائج تظهر أن النبات له نشاط مضاد للجراثيم قوي ضد نمو معظم السلالات البكتيرية ، والتي يمكن التوصية بها في علاج مختلف الأمراض من أصل جرثومي. في الواقع ، كشفت الدراسة أن الإيفيدرا ألاتا أليندا هو نبات يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي ، وله بالفعل خصائص مضادة للميكروبات ومضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات.

**الكلمات المفتاحية :** الإيفيدرا ألاتا ، المستقبلات الثانوية ، نشاط مضادات الأكسدة ، نشاط مضاد للالتهابات ، نشاط مضاد للجراثيم.

## Résumé

Notre étude synthétique s'inscrit dans le domaine de la valorisation d'une plante médicinale d'*Ephedra alata*, possédant un grand intérêt pharmacologique dans le monde. L'objectif de notre étude s'appuie sur l'évaluation de l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne de différents extraits de la plante. L'estimation quantitative des flavonoïdes et des polyphénols totaux par méthodes colorimétriques a montré que les extraits de la plante sont riches en ces composés tels que la présence tannins, les alcaloïdes, les stéroïdes. Pour L'évaluation l'activité antioxydante en utilisant les tests *in vitro* (DPPH, CAT) a montré que les extraits d'*Ephedra alata* ont un effet antioxydant remarquable. Les tests sur l'activité anti-inflammatoires (HRBC, ASB) indiquent que les extraits de plante ont une activité anti-inflammatoire importante. Les résultats de l'activité antibactérienne testée par la méthode de diffusion sur disques en milieu gélosé a permis d'obtenir des résultats montrant que la plante a une forte activité antibactérienne contre la croissance de la plus part des souches bactériennes, ce qui pourrait être recommandé dans le traitement de diverses maladies d'origine bactérienne. En effet cette étude a révélé que l'*Ephedra alata alenda* est une plante utilisée en médecine traditionnelle, possède vraiment une capacité antimicrobienne, antioxydante et anti-inflammatoire.

**Les mots clés :** *Ephedra alata*, métabolites secondaires, activité antioxydante, activité antiinflammatoire, activité antibactérienne.

## Abstract

This study is part of the contribution to the valorization of a medicinal plant of *Ephedra alata*, endowed with great pharmacological importance in the world. The objective of our study is based on the evaluation of the antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial activity of different plant extracts. The quantitative estimation of flavonoids and total polyphenols by colorimetric methods showed that the plant extracts are rich in these compounds such as the presence of tannins, alkaloids, steroids. For the evaluation of the antioxidant activity using *in vitro* tests (DPPH, CAT) shows that the extracts of *Ephedra alata* have a remarkable antioxidant activity. Anti-inflammatory activity tests (HRBC, ASB) indicate that plant extracts have significant anti-inflammatory activity. The results of the antibacterial activity tested by the method of diffusion on discs in agar medium made it possible to obtain results showing that the plant has a strong antibacterial activity against the growth of most bacterial strains, which could be recommended. In the treatment of various diseases of bacterial origin. Indeed, the study revealed that *Ephedra alata alenda* is a plant widely used in traditional medicine, indeed has antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory properties.

**Key words:** *Ephedra alata*, secondary metabolites, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, antibacterial activity.