



République Algérienne Démocratique et Populaire  
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Université Ziane Achour –Djelfa  
جامعة زيان عاشور الجلفة  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
Département de des sciences agrovétérinaires  
قسم العلوم الفلاحية والبيطرية



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme de master  
académique

Filière : Sciences Alimentaires

Option: ACQ

Thème :

**Étude phytochimique et activités biologiques de la  
plante *Ephedra alata alenda* de la région Messaad -  
Djelfa**

Présenté par :-Tabi Widad

-Salhi Nadjwa

Soutenu devant le jury composé de :

Président	Dr.Chaib Tayeb	Université de Djelfa
Promotrice	Dr.Gougue Fatna	Université de Djelfa
Examinatrice	Dr.Khreissat Nadjoua	Université de Djelfa

Année Universitaire 2022/2023



## Dédicace

*Je dédie ma graduation et ma joie à ceux qui en sont crédités, à qui la Très Miséricordieuse m'a recommandé, à moi du paradis de Dieu sous ses pieds, à celle qui a passé sa vie pour*

*Qu'elle me voie sous le meilleur jour de santé et de bonheur, même pour elle-même.  
Merci et un petit merci.*

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

*À la fleur qui rehausse et aromatise mes jours, qui garde les nuits pour que je me rendorme, à ma très chère mère (Tri.m) je dédie ce travail et je lui souhaite une longue belle vie.*

*À la bougie qui est la source de la lumière de ma vie, qui se fond toujours pour éclairer ma route, à mon cher père (Mohammed) je dédie ce travail et je lui souhaite une longue belle.*

*À mes sœurs: Iman et Khadîdja racha*

*À mon frère :Adel Yahia*

*À tous ceux qui me connaissent*

*Je dédie ce modeste travail*

*Nadjwa*

## Dédicace

*Les plus belles expressions de gratitude et d'appréciation à mes précieuses gemmes, qui ont rempli ma vie d'amour et de tendresse, me donnant la force, la détermination et la volonté, me soutenant et m'enseignant la patience pour surmonter les difficultés, à mes deux êtres les plus chers, ma mère et mon père, que Dieu prolonge leur vie et les fasse une richesse pour moi.*

*À mes chers professeurs, dont le rôle a été crucial dans la réalisation de ce travail, en particulier à ma tutrice qui a suivi ce projet avec patience et bienveillance.*

*À mes chers frères et sœurs qui m'ont encouragé et ont instillé en moi la confiance.*

*À mes amies et compagnes de route bien-aimées, avec qui j'ai partagé les jours les plus beaux et les plus doux de ma vie.*

*À ma collègue dans ce projet, qui a partagé avec moi les efforts pour mener à bien ce travail*

*Widad*

## Résumé

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales de la flore algérienne on s'est intéressé à l'étude d'une plante médicinale, *Ephedra alata alenda*, dotée d'une grande importance pharmacologique dans le monde et réputée par sa résistance à la sécheresse.

L'objectif de cette recherche est de faire une étude phytochimique et d'évaluer l'activité antioxydante des extraits méthanolique et aqueux.

Le screening phytochimique a montré la présence de divers métabolites secondaires dans la plante tels que les alcaloïdes, les tannins et les flavonoïdes.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanolique et aqueux d'*Ephedra alata* par le test DPPH présente une bonne activité antioxydante de l'extrait méthanolique suivie par l'extrait aqueux.

## summary:

Within the framework of the evaluation of the medicinal plants of the natural Algerian flora, the focus was on studying a medicinal plant of medium name "Ephedra alata", which is characterized by the importance of removing water from the water.

The aim of this research is to conduct a phytochemical study and detect the antioxidant of methanolic and aqueous extracts.

There are a variety of tomato chemical classes of secondary kidney such as alkaloids, tannins and flavonoids.

Antioxidant activity of methanolic and aqueous extracts of *Ephedra alata* using DPPH test showed good antioxidant activity of methanolic extract followed by aqueous extract.

## ملخص

في إطار تقييم النباتات الطبية من النباتات الطبيعية الجزائرية، تم التركيز على دراسة نبات طبي يحمل اسم "*Ephedra alata*" العنقدة، والذي يتمتع بأهمية كبيرة في المجال الصيدلاني على مستوى العالم ويشتهر بمقاومته للجفاف.

الهدف من هذا البحث هو إجراء دراسة فيتوكيميائية وتقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الميثانولية والمائية لهذا النبات.

أظهر الفحص الفيتوكيميائي وجود مجموعة متنوعة من المركبات الثانوية في النبات مثل القلويدات والتانين والفلافونيدات.

تقييم نشاط مضاد للأكسدة للمستخلصات الميثانولية والمائية من نبات *Ephedra alata* باستخدام اختبار DPPH أظهر نشاطاً مضاداً جيداً للأكسدة للمستخلص الميثانولي متبوعاً بالمستخلص المائي.

## Liste des tableaux

<b>TABLEAU 1 : POSITON SYSTEMATIQUE D'EPHEDRA ALATA .ALENDA .....</b>	<b>5</b>
<b>TABLEAU 2 : CERTAINS DES COMPOSANTS D'E.ALATA. ALENDA.....</b>	<b>8</b>
<b>TABLEAU 3 : LISTE DE QUELQUES ESPECES REACTIVES .....</b>	<b>25</b>
<b>TABLEAU 4 : RENDEMENT D'EXTRACTION DE PLANTE EPHEDRA ALATA ALENDA .....</b>	<b>39</b>
<b>TABLEAU 5:LES RESULTATS DE CARACTERISATIONS DES DIFFERENTS METABOLITES SECONDAIRES .....</b>	<b>40</b>
<b>TABLEAU 6 : RENDEMENT D'EXTRACTION DES FLAVONOÏDES .....</b>	<b>41</b>
<b>TABLEAU 7 : RESULTATS D'ABSORBANCE ET D'INHIBITION D'E AQ .....</b>	<b>42</b>
<b>TABLEAU 8 : RESULTATS D'ABSORBANCE ET D'INHIBITION D'E MET .....</b>	<b>42</b>

## Liste des figures

<b>FIGURE1</b> : ARBUSTE D' <i>EPHEDRA ALATA</i> .....	4
<b>FIGURE2</b> : DISTRIBUTION DE L' <i>EPHEDRA</i> DANS LE MONDE .....	6
<b>FIGURE3</b> : STRUCTURE CHIMIQUE DU PHENOL .....	12
<b>FIGURE4</b> : DERIVES DE L'ACIDE BENZOÏQUE .....	<b>ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.</b>
<b>FIGURE5</b> : DERIVES DE L'ACIDE CINNAMIQUE .....	13
<b>FIGURE6</b> : STRUCTURE DE BASE DES FLAVONOÏDES (C6-C3-C6) .....	14
<b>FIGURE7</b> : CLASSIFICATION DES TANINS .....	15
<b>FIGURE8</b> : LA MOLECULE D'ISOPRENE .....	15
<b>FIGURE9</b> : STRESS OXYDANT .....	22
<b>FIGURE10</b> : ORIGINE DES DIFFERENTS RADICAUX LIBRES OXYGENES ET ESPECES REACTIVE DE L'OXYGENE IMPLIQUE EN BIOLOGIE .....	23
<b>FIGURE11</b> : STRUCTURE CHIMIQUE DE VITAMINE E .....	28
<b>FIGURE12</b> :STRUCTURE CHIMIQUE DE VITAMINE C .....	28
<b>FIGURE13</b> :PLANTE <i>EPHEDRA ALATA</i> SECHE. ....	32
<b>FIGURE14</b> :CARTE GEOGRAPHIQUE DE MESSAAD .....	33
<b>FIGURE15</b> :MECANISME REACTIONNEL INTERVENANT LORS DU TEST DPPH•ENTRE L'ESPECE RADICALAIRE DPPH•ET UN ANTIOXYDANT (AH) .....	36
<b>FIGURE16</b> : RENDEMENT D'EXTRACTION DE PLANTE <i>EPHEDRA ALATA</i> ALENDIA .....	39

# SOMMAIRE

Dédicace	
Liste des tableaux	IV
Liste des figures	VI
Liste des abréviations	IX
SOMMAIRE	VII
<i>Introduction générale :</i>	<i>10</i>
<b><i>Chapitre 01 : Etude de l'espèce végétale</i></b>	
1- Généralité sur le genre <i>Ephedra</i> :	4
2- Description morphologique	5
3- Répartition géographique :	5
4- Usage et effets d' <i>Ephedra Alata</i>	6
5- Chimie de la plante :	8
6- Les effets pharmacologiques et toxicologique d' <i>Ephedra</i> :	9
<b><i>Chapitre 02 : Les Métabolites Secondaires</i></b>	
1-Définition de métabolites secondaires	11
2-Classification	11
2-1- Les polyphénols	11
2-1-1- Définition :	11
2-1-2-Classification	12
2-1-3-Polyphénols simples (Non flavonoïdes) :	12
2-1-4-Les Flavonoïdes	14
2-1-5-Polyphénols complexes	14
2-2-Les Terpénoïdes	15
2-2-1-Définition	15
2-2-2-Classification	16
2-3-Les alcaloïdes	18
2-3-1-Définition	18
2-3-2-Classification	19
<b><i>CHAPITRE 03 : Le Stress oxydatif</i></b>	
1-Stress oxydatif	21
1-1-Définition	21
1-2- Radicaux libres :	22
1-2-1-Production des radicaux libres	23
1-2-2-Nature des radicaux libres	24
1-3-Conséquence du stress oxydatif	27
1-4- Les cibles biologiques du stress oxydant	27
1-5-Maladies liées au stress oxydants :	27
2-Antioxydants	27

2-1-Définition _____	27
2-2-Classification des antioxydants _____	28
2-2-1-Antioxydants naturels ou exogènes _____	28
2-2-2-Antioxydants endogènes _____	29

## **CHAPITRE 04 : Matériel et Méthodes**

<b>1- Objectif de travail _____</b>	<b>32</b>
<b>2- Matériel _____</b>	<b>32</b>
2-1- Matériel végétal _____	32
2.2- Présentation du site de récolte _____	33
2-3- Préparation des extraits : _____	33
2-3-1-Décocté (10 %) : _____	33
2-3-2-Infusé (10%) : _____	34
3-3.3-Macérât (10%) : _____	34
<b>3-Etude phytochimique : _____</b>	<b>34</b>
3-1-Réactions en tubes : _____	34
3-1-1-Les polyphénols : _____	34
3-1-2-stérois et triterpène : _____	34
3-1-3-Coumarines : _____	35
3-1-4- les alcaloïdes : _____	35
<b>4-Extraction des flavonoïdes : _____</b>	<b>35</b>
4-1- Extrait méthanolique : _____	35
4-2- Extrait aqueux : _____	36
4-3-Piégeage DPPH : _____	36

## **CHAPITRE 05 : Résultats et discussion**

<b>1- Résultats de rendement des extraits : _____</b>	<b>39</b>
1-1- Discussion des résultats : _____	39
<b>2- Résultats de l'étude phytochimique _____</b>	<b>40</b>
2-2- Discussion des résultats : _____	40
<b>3-Résultat de pouvoir de l'activité anti radicalaire (DPPH) _____</b>	<b>41</b>
3-1- Résultat de rendement d'extrait : _____	41
3-2-1-Discussion des résultats : _____	41
3-2-Résultat de piégeage DPPH : _____	42
3-2-1-Extrait aqueux : _____	42
3-2-2-Extrait méthanolique : _____	42
3-2-3- Discussion des résultats : _____	43
<b>Conclusion générale : _____</b>	<b>45</b>
<b>Références bibliographiques : _____</b>	<b>48</b>

## Liste des abréviations

*E.alata* : *Ephédra alata*

**UV** : Ultraviolet

**Mg** : Milligramme

**g** : Gramme

**g/l** : Gramme par litre

**ml** : millilitre

**min** : Minute

**%** : Pourcentage

**°C** : Degré Celsius

**(-)** : négatif, Absence

**(+)** : positif, Présence

**/** : non testé

**R %** : Rendement en %

**E met** : extrait méthanolique

**E aq** : extrait aqueux

**nm** : nanomètre

**%** : Pourcentage d'inhibition

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice 50

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

**ERN** :Espèces réactives de l'azote

*Introduction générale :*

## Introduction générale

---

Depuis très longtemps, les êtres vivants ont cherché à exploiter les plantes afin d'assurer leur continuité et en bénéficier pour soigner leurs maladies. Depuis toujours, l'homme utilisait les plantes, en donnant au règne végétal toute son importance, connaissant ses caractéristiques et ses bienfaits, ainsi que sa toxicité.

Malgré les progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est répandu dans certains pays du monde, notamment les pays en voie de développement, en raison de l'absence d'un système médical moderne, (**El hafianet al, 2014**), mais aussi parce que les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité. Il est estimé qu'au moins 25 % de tous les médicaments modernes sont issus directement ou indirectement de plantes, grâce à l'application de technologies modernes de savoir traditionnel.

En outre, les utilisateurs expriment des préoccupations quant aux effets secondaires des médicaments, conduisant ainsi à une préférence pour des traitements moins agressifs. (**Adouane, 2016**)

Les plantes médicinales sont des ressources précieuses pour la grande majorité des populations rurales en Afrique, où plus de 80% de la population les utilise pour fournir des soins de santé. (**Sarri et al, 2014**)

L'Algérie regorge d'une importante couverture végétale qui comprend des plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existent spontanément, ainsi que d'un usage courant dans toutes les régions du pays. La richesse de la flore algérienne est incontestable, avec environ 4 300 taxons, 917 genres et 131 familles. (**Belhouala et Benarba, 2021**) Il contient un grand nombre de genres classés par rareté : 289 modérément rares, 647 rares, 640 très rares, 35 extrêmement rares et 168 endémiques. (**Hadjadjet al, 2019**)

L'éphédra est l'une des plantes médicinales découvertes en Algérie qui fera l'objet de cette mémoire. Nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antioxydante de l'*Ephédra alata* et sur la réalisation de tests phytochimiques.

Notre recherche sera divisée en deux principales parties. La première se consacrera à une synthèse bibliographique comprenant des informations générales sur la plante, sa composition phytochimique et son activité antioxydante.

La seconde partie détaillera les matériaux et méthodes utilisés lors des différentes étapes de nos travaux expérimentaux. Nous commencerons cette partie par la préparation des extraits de plantes.

## **Introduction générale**

---

Ensuite, nous procéderons à une analyse phytochimique préliminaire des plantes, suivie par extraction des flavonoïdes et évolution de l'activité antioxydante.

En fin nous présenterons nos résultats et mènerons des discussions approfondies.

Et nous terminons par une conclusion résumant le contenu du mémoire .

*Chapitre 01 :*

*Etude de l'espèce végétale :*

## 1- Généralité sur le genre *Ephédra* :

*Ephédra* est un genre de plantes à graines non florifères appartenant aux Gépétales, les plus proches parents vivants des Angiospermes. La plupart des espèces d'éphédra dans le monde sont des arbustes adaptés aux régions semi-arides et désertique (Caveney *et al*, 2001).

Souvent désigné par son nom chinois, Ma Huang, *éphédra* (les tiges vertes de diverses espèces d'*Ephédra*) a été utilisé en Chine pour la phytothérapie traditionnelle depuis plus de 5000 années. L'*éphédra* a été le premier remède à base de plantes chinoises à produire un actif constituant - dans ce cas, l'éphédrine - largement utilisé dans la médecine occidentale (Dennis, 2009)

*Ephédra alata* est une espèce végétale d'une importance capitale dans les dunes de sable mouvant et semi-stable, constituant ainsi la plante pionnière prédominante dans ces déserts. Ces derniers représentent l'un des environnements les plus extrêmes pour le développement des végétaux à travers la planète. (Gorai *et al*, 2014).

*E. alata* est l'une des plantes médicinales les plus utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies dans plusieurs régions d'Algérie (Hadjadj *et al*,2020).



Figure 1 : Arbuste d'*Ephédra alata* (Chaieb *et al*, 2008)

Selon Ozenda (1991), la position systématique de l'espèce végétale *Ephédra alataalenda* est :

Tableau 1 : Positon systématique d'*Ephedra alata .alenda* (Ozenda ,1991)

Règne	Végétale
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous embranchement</b>	Gymnospermes
<b>Classe</b>	Gnetopsida
<b>Ordre</b>	Ephédras
<b>Famille</b>	Ephedraceae
<b>Genre</b>	<i>Ephédra</i>
<b>Espèce</b>	<i>Ephédra alata</i>
<b>Sous espèce</b>	<i>Ephédra alataalenda.</i>

## 2- Description morphologique

*E. alata* , nom arabe : *Alanda*, est une espèce vivace de graines non florifères (**Borhaneet al,2018**) . *E. alata* pousse à l'état sauvage sur les sols gravemeux rocheux, sablonneux et argileux dans des environnements arides souvent près de dunes de sable mouvantes (**Jaradat et al,2015**).

Cette espèce, connue pour sa remarquable capacité à tolérer la sécheresse dans les régions sahariennes (**Ozenda, 1991 ; Derbel et al, 2010**), est un arbuste mesurant de 1 à 3 mètres de hauteur. Il possède des rameaux articulés et très ramifiés, d'une teinte vert-jaunâtre, avec de petites feuilles opposées se succédant d'un nœud à l'autre. Les fleurs sont de petits cônes blanchâtres, de type dioïque (les fleurs mâles et femelles se trouvent sur des pieds différents), tandis que les fruits sont entourés de bractées largement membraneuses. Ce spécimen présente un système racinaire latéral extrêmement robuste (**Ozenda, 1991 ; Derbel et al, 2010**).

## 3- Répartition géographique :

*Ephédra* est le seul genre de la famille des Ephedraceae . Il comprend environ 40 espèces (**Magedet al, 2003**) indigènes des zones arides et les régions semi-arides d'Afrique du Nord, d'Asie, d'Europe et d'Amérique du Nord et centrale. (**Gorai et al,2014**). Environ 25 espèces d'*éphédra* prospèrent dans les régions les plus arides de l'Ancien Monde, s'étendant vers l'ouest de l'Asie centrale à travers l'Asie du sud-ouest, et dans les régions méditerranéennes de l'Europe et de l'Afrique du Nord. Dans le Nouveau Monde, on dénombre 12 espèces d'*éphédra* qui se trouvent du sud-ouest des États-Unis jusqu'au plateau central du Mexique, ainsi que 12 autres

espèces présentes en Amérique du Sud, depuis l'Équateur jusqu'à la Patagonie. (Caveney *et al*, 2001).

Le territoire d'origine de cette espèce se situe en Iran, en Algérie, en Irak, au Tchad, en Égypte, en Palestine, au Liban, en Jordanie, en Arabie saoudite, au Maroc, en République arabe syrienne, en Libye, en Mauritanie, au Mali, en Somalie et en Tunisie (Jaradat *et al*, 2015) et se trouve en Chine, Nord-Ouest d'Inde et Pakistan (Caveney *et al*, 2001).

En Algérie, *E. alata* se trouve dans le Sahara septentrional et occidental au niveau des terrains sableux (Ozenda, 1991)

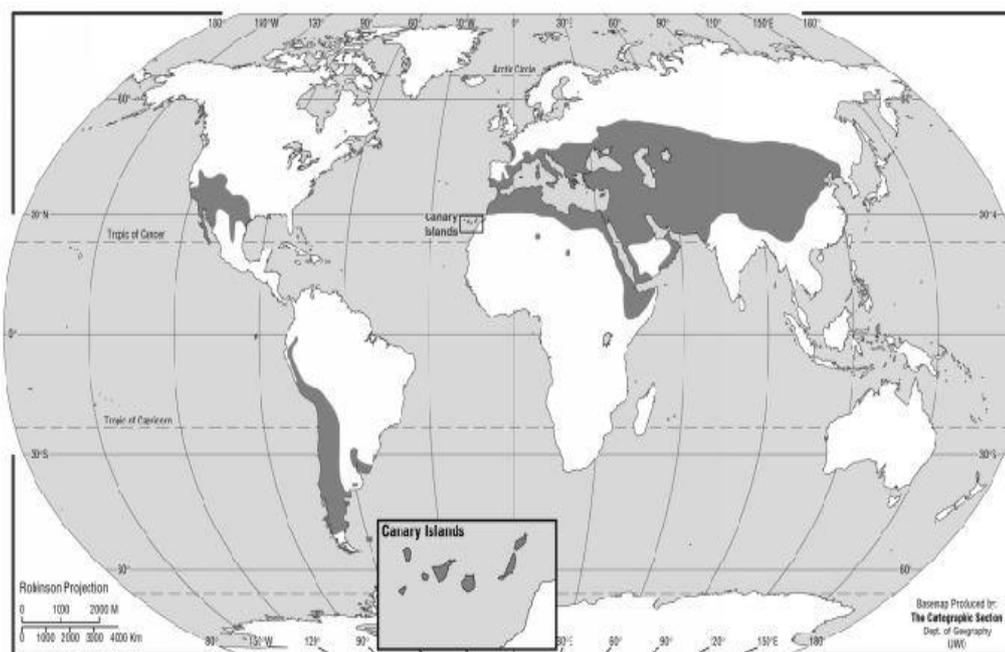


Figure 2 : Distribution de l'*Ephedra* dans le monde (Caveney *et al*, 2001)

#### 4- Usage et effets d'*Ephedra Alata*

Cette espèce est largement utilisée en médecine traditionnelle du pays, notamment pour les jeunes tiges (Abourashed *et al*, 2003). Elles sont bouillies pendant 30 minutes puis consommées en décoction sous forme de thé chaud, à une dose de 1,5 à 9 g (Jaradat *et al*, 2015).

Les troncs d'*E.alata* traitent les troubles rénaux, bronchiques, circulatoires, digestifs, et le cancer (Jaradat *et al*, 2015). Les tiges sont mâchées pour les infections bactériennes et fongiques (Al-Qarawi *et al*, 2011) et la toux grâce à leur effet décongestionnant (Abourashed *et al*, 2003).

*L'Ephedra alata* est utilisée dans plusieurs pays pour ses propriétés médicinales.

En Algérie, elle est utilisée pour traiter la grippe, la coqueluche et la faiblesse générale, ainsi que par inhalation ou en gouttes nasales pour les rhumes (**Ould Al Hadj et al,2013**), et dans les régions sahariennes la plante est utilisée contre les avortements, le cancer ,le diabète, la toux, l'ulcère gastrique, la grippe, les gaz intestinaux, l'obésité et l'insuffisance rénale et cardiaque(**Hadjadj et al, 2020**).

Au Maroc, la poudre d'*Ephédra alata* est utilisée dans le traitement du diabète (**Ghourri et al,2013**)

En Asie, notamment en Chine, la partie aérienne de la plante est utilisée pour traiter l'asthme bronchique, le rhume, la grippe, la fièvre, les frissons, le nez bouché, les œdèmes, les maux de tête, les douleurs articulaires, et elle est également utilisée comme diaphorétique, anti-allergique et antitussif (**Abourashed et al,2003 ; Soni et al,2004 ; Ma et al, 2007**)

Il est important de noter que cette plante est également utilisée illégalement pour fabriquer de la méthamphétamine (d-désoxy éphédrine) (**Caveney et al,2001**)

En Égypte, *Ephédra alata* est utilisée dans la médecine traditionnelle comme agent hypotenseur, anti-asthmatique et astringent q(**Nawwar et al, 1884**)

En Arabie Saoudite, cette plante est très appréciée et utilisée comme pâturage pour divers animaux en raison de son arôme agréable x(**AL Qarawi et al, 2012**)

En Palestine, elle est utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter les allergies, l'asthme bronchique, les frissons, le rhume, les œdèmes, la fièvre, la grippe et les maux de tête a(**Al Rimawi et al,2017**).

Les parties de la plante utilisées dans la médecine traditionnelle sont les feuilles, les rameaux f(**Ould El Hadj et al,2003**)et les tiges vertes séchées, qui sont généralement bouillies dans de l'eau pendant environ trente minutes avant d'être consommées sous forme de thé chaud (**Abourashed et al,2003**)

## 5- Chimie de la plante :

Les espèces d'Ephédra renferment de nombreux composés phytochimiques naturels, parmi lesquels on compte des alcaloïdes, des tanins, des saponines, des proanthocyanidines, des acides phénoliques, des flavonoïdes et des huiles essentielles(Kebili ,2016).Il est largement reconnu en littérature que les caractéristiques biologiques traditionnelles de l'Ephédra sont principalement attribuables aux alcaloïdes de type éphédrine, qui sont des proto-alcaloïdes dérivés de la phénylalanine(Caveney *et al*,2001)

Le genre végétal Ephédra (également connu sous son nom chinois, ma huang) est une source naturelle des alcaloïdes (-)-éphédrine, (+)-pseudoéphédrine, (-)-méthyléphédrine, (+)-norpseudoéphédrine et (-)-noréphédrine(Gurley *et al*,2000).

La concentration des alcaloïdes d'éphédrine peut varier de 0,02 % à 3,40 % selon l'espèce et l'isomère (-)-éphédrine représente de 30 % à 90 % du contenu total des alcaloïdes(Limberger *et al*,2013)

Des études phytochimiques réalisées sur *Ephédra alata* ont révélé la présence d'autres composés tels que des glycosides cardiaques, des sucres réducteurs, des flavonoïdes et des composés phénoliques (Jaradat *et al*, 2015).

Le tableau ci-dessous présente certains alcaloïdes, flavonoïdes et autre composés de la plante *E.alata* (Chebouat ,2013) :

**Tableau 2 : Certains des composants d'E.Alata. Alenda(Chebouat ,2013)**

Les flavonoïdes	Les alcaloïdes	Autres comopés
Herbacetin 7-0-(6''-quinylglucoside)	Ephedrone	(Carboxycyclopropyl)glycines
Lucenin III	(+) - Norpseudoephedrine	3,4-Methanoproline
Kaempferol3-rhamnoside		Cyclopropane amino acids
Quercetin 3-rhamnoside	(-)- Ephedrine	(+) -Syringaresinol
Herbacetin 7-glucoside		
2,3 -digalloylglucopyranose	(+) - Pseudoephedrine	
(+) -syringaresinol		
Nilocitin	(-) - Methylephedrine	
Ephedrannin B	(-) - Synephrine	Carboxylic acid (Nilocitin)

	(+)- Methylpseudoephedrine	
Herbacetin 8-methyl ether 3-0- glucoside-7-0-rutinoside	7-Methoxy-4-quinolone 2-carboxylic acid	
	(-)- Norephedrine	

## **6- Les effets pharmacologiques et toxicologique d'*Ephedra* :**

Les études pharmacologiques ont montré que le (-) - éphédrine est un agoniste sympathomimétique aux récepteurs adrenergiques alpha et bêta, ce qui entraîne une augmentation de la fréquence cardiaque et de la contractilité, une vasoconstriction périphérique, une bronchodilatation et une stimulation du système nerveux central. L'(-)-ephedrine n'est pas le seul alcaloïde utilisé dans les produits, les préparations en vente libre contre la congestion contiennent généralement le (+)-pseudoephedrine

La perte de poids et l'amélioration des performances dans l'entraînement d'endurance et la musculation peuvent être dues à la stimulation du système nerveux central et aux propriétés thermogéniques du (-) - ephedrine. En raison des activités des alcaloïdes de l'éphédrine indiquées dans les études précédentes, des contre-indications sont données pour les personnes atteintes d'hypertension ou d'autres maladies cardiovasculaires, de glaucome de diabète et d'hyperthyroïdie (**Limberger et al,2013 ; AL-Khateeb ,2014; Chen et al,2010 ; Schaneberg et al ,2002**).

De plus, les effets toxiques de *Ephedra alata* semblent être attribués à ses alcaloïdes de type ephedrine, principalement l'éphédrine et la pseudoephedrine (**Chenet al, 2010 Limberger et al, 2013**). A des doses élevées, l'éphédrine provoque une hépatotoxicité & caractérisée par une nécrose massive visible lors de l'examen histologique (**Zheng , 2016**) Elle entraîne également des symptômes tels que la nervosité. L'insomnie, les maux de tête, les vertiges, les palpitations, les sueurs, les nausées et les vomissements, parfois accompagnés de douleurs précordiales et occasionnellement de dermatites (**Peters et al, 2005**)

*Chapitre 02 :*  
*Les Métabolites Secondaires*

### 1-Définition de métabolites secondaires

Les métabolites secondaires (MS) sont des molécules organiques complexes synthétisées par Les plantes autotrophes (**Boudjouref, 2011**). Elles sont caractérisées généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total, si on exclue la lignine de cette catégorie) (**Newman et Cragg, 2012**). Aussi n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante (**Guignard, 1996**). Bio synthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème (**Peeking et al, 1987**). En 1987 Plus de 8500 métabolite secondaire sont déjà connus. Ces molécules jouent un rôle dans l'adaptation des plantes à leur environnement et représentent également une source importante de produits pharmaceutiques (**Bourgaud et al, 2001**). Ils appartiennent à des groupes chimiques varié : alcaloïdes, terpènes et composés phénoliques (**Macheix et al, 2005**). Ils présentent une énorme valeur économique (en particulier pour l'industrie pharmaceutique et la cosmétique) (**Peeking et al, 1987**).

### 2-Classification

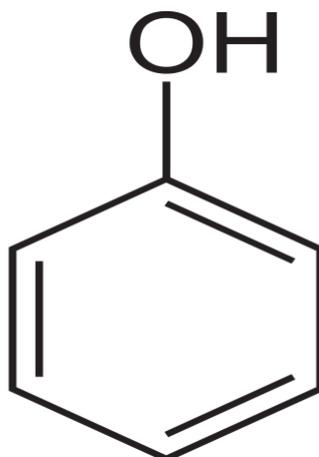
Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies (**Hartmann, 2007**) et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Les composés phénoliques (CP), les terpénoïdes, les stéroïdes et les alcaloïdes sont des exemples de métabolites secondaires ; ils ont de nombreuses applications pharmaceutiques. (**Epifano et al, 2007**). D'après leur biosynthèse, la structure chimique, leur solubilité dans divers solvants, les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois classes : poly phénols ; terpénoïdes ; stéroïdes et alcaloïdes (**Hennebelle et al, 2004**).

#### 2-1- Les polyphénols

##### 2-1-1- Définition :

Les polyphénols sont des métabolite secondaire des végétaux regroupe un vaste ensemble Plus de 8000 structures phénoliques ont été signalées et elles sont largement dispersées dans tout le royaume des plantes (**Strack, 1997**), divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence d'au moins d'une cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles OH (**Lefébure, 1999**) ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc (**Bruneton, 1999**) ils sont sensibles à l'oxydation. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal,

ils jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (Gorham, 1977).



**Figure 3 : structure chimique du phénol (Desmier, 2016).**

### 2-1-2-Classification

Les composés phénoliques sont des composés simples, de faible poids moléculaire, composé aromatique unique annelé à des tanins grand et complexe et à des polyphénols dérivés. Ils peuvent être classés selon le nombre et l'organisation des atomes de carbone et ils sont souvent associés à des sucres et des acides organiques. Les substances phénoliques peuvent être divisées en deux groupes : les composés phénoliques simples (non-flavonoïdes) et les composés phénoliques complexes (flavonoïdes) (Crozier *et al*, 2008).

### 2-1-3-Polyphénols simples (Non flavonoïdes) :

#### 2-1-3-1-Phénols simples

Tels que le catéchol, guaiacol, phloroglucinol... sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae...).

Les deux phénols hydroxylés, le catéchol avec deux groupes OH et le pyrogallol avec trois, ont été montré pour leur toxicité vis-à-vis des microorganismes (Cowan, 1999).

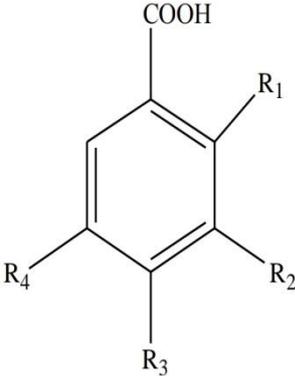
#### 2-1-3-2-Acides phénoliques

Les acides phénoliques, ou acides phénols ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols, Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature (Haslam, 1994). Le composant principal des acides phénoliques est l'acide gallique son nom est dérivé du mot galle, ce qui signifie un gonflement dans le tissu d'une plante après une attaque par des insectes parasites (Gross, 1992). Les acides phénoliques, connu pour servir de composés bioactif polyvalents ils sont largement

répandus dans tous le règne végétal la plupart d'entre eux font partie de l'alimentation humaine (Shahidi, 2015).

● Acide phénols dérivés d'acide benzoïque

Sont des hydroxybenzoïques de structure générale de type (C6-C1), ils sont sous forme d'esters ou de glycosides (Harrar, 2012). Les plus fréquents sont : l'acide salicylique et l'acide gallique (Bruneton, 1999).



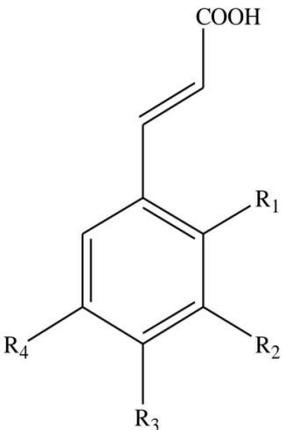
Composés	R1	R2	R3	R4
Ac. Benzoïque	H	H	H	H
Ac. Salicylique	OH	H	H	H
Ac. Hydroxybenzoïque	H	H	OH	H
Ac. Gallique	H	OH	OH	OH
Ac. Protocatechuique	H	OH	OH	H

Figure 4 : Dérivés de l'acide benzoïque (François, 2010).

● Acide phénols dérivés d'acide cinnamique

Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique sont souvent estérifiés.

La majorité sont l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide synaptique (Haslam, 1994).



Composés	R1	R2	R3	R4
Ac. cinamique	H	H	H	H
Ac. o-coumarique	OH	H	H	H
Ac. m-coumarique	H	OH	H	H
Ac. p-coumarique	H	H	OH	H
Ac. Caféique	H	OH	OH	H

Figure 5 : Dérivés de l'acide cinnamique (François, 2010).

### 2-1-3-3-Coumarines

La famille des coumarines est formée des composés phénoliques dérivés de la coumarine simple, la 2H-1-benzopyrane-2-one, molécule elle-même dénuée de groupe hydroxyle phénolique OH. Toutes les coumarines sont substituées en C-7 par un hydroxyle phénolique (**Benayache, 2005**). Elles se trouvent sous forme libre solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides) sont plus ou moins solubles dans l'eau (**Bruneton, 1999**).

La coumarine et ses dérivés ont des actions phyto biologiques, bactériostatiques et anti-fongiques. Ils ont un effet anti-œdémateux (**Hoult et Paya, 1996**).

### 2-1-4-Les Flavonoïdes

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**).

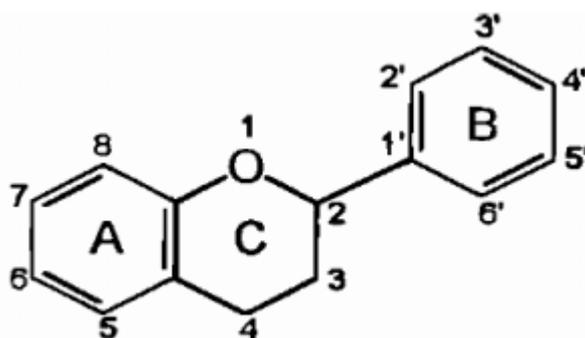


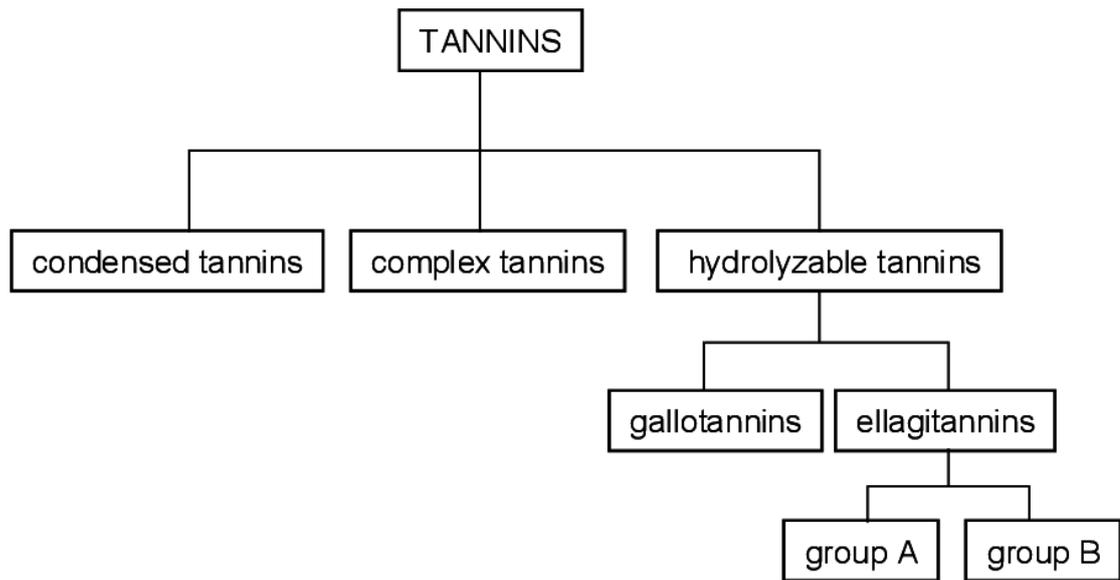
Figure 6 : Structure de base des flavonoïdes (C6-C3-C6) (**Tapas et al, 2008**).

### 2-1-5-Polyphénols complexes

#### •Tannins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (**Kamra et al, 2006**). Ces composés naturellement produits par les plantes et se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines (**Makkar,2003 ; Mangan, 1988 ; McSweeney et al, 2001**). Grâce à la présence de plusieurs groupements hydroxyles phénoliques (**Khenaka, 2011**), Aussi à d'autres polymères organiques

tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables (Haslam, 1998).



**Figure 7 : Classification des tanins (Wilfred et Ralph., 2006).**

## 2-2-Les Terpénoïdes

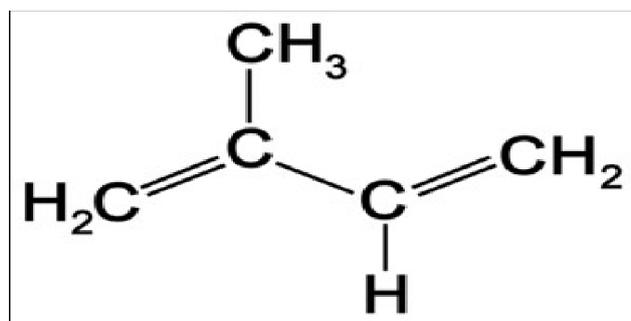
### 2-2-1-Définition

Les terpénoïdes constituent une classe importante de plus de 10000 composés qui déterminent également l'activité pharmacologique des plantes médicinales. (Zian, 2016).

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte :

Leur formule brute est  $(C_5H_X)_n$ . Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques.

La molécule de base est l'isoprène de formule  $C_5H_8$  (figure 14).



**Figure 8 : La molécule d'isoprène (Malecky, 2005).**

### 2-2-2-Classification

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

- Les terpènes proprement dits ou mono terpènes (C10)
- Les sesquiterpènes (C15)
- Les di terpènes (C20)
- Les tris terpènes (C30)
- Les tétras terpènes (C40)
- Les poly terpènes (4000)

Les stéroïdes rentrent dans le groupe des terpénoïdes et les caroténoïdes sont des tétraterpènes (**Merghem, 2009**).

#### 2-2-2-1-Les mono terpènes :

Ce sont des produits généralement odorants obtenus par entraînement à la vapeur d'eau des végétaux entiers ou d'organes de végétaux (**Merghem, 2009**).

Ils constituent la majeure partie des huiles essentielles qui sont présentes en quantité appréciable chez environ 2000 espèces de 60 familles végétale (**Zian, 2016**).

Ils comportent dix (10) atomes de carbones et sont issus de la condensation de deux unités isoprène, selon le mode de couplage « tête-queue » (**Ayad, 2008**).

Plus de 900 mono terpènes connus se trouvent principalement dans 3 catégories structurales : les mono terpènes linéaires (acycliques), les mono terpènes avec un cycle unique (monocycliques) et ceux avec deux cycles (bi cycliques) et tricyclique (**Malecky, 2005; Belbache, 2003**).

#### 2-2-2-2- Les sesquiterpènes :

Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures comme le  $\beta$ -Cadinène (**Belbache, 2003**) Les sesquiterpènes forment une série de composés qui renferment 15 atomes de carbones).

#### 2-2-2-3- Diterpènes :

Les diterpènes sont des substances avec 20 atomes de carbone (C20) élaborées à partir de 4 unités d'isoprène le géranylgeranylpyrophosphate (GGPP). Ces composés sont principalement présents dans les plantes supérieures, ainsi que dans les champignons. la majorité est sous forme

cyclique. Parmi les diterpènes linéaires, on rencontre la famille *Phytane* dont le phytol est le représentant le plus connu dans la chlorophylle ou dans les vitamines K et E. Les diterpènes cycliques sont des dérivés de cyclophytane (**Malecky, 2005**).

### 2-2-2-4-Les tri terpènes et les stéroïdes

Les triterpènes sont des composés en C<sub>30</sub>, plus de 4000 composés construits sur plus de 40 squelettes différents (**Bruneton, 2009**). Ils comportent plusieurs groupes de substances et de nombreux composés importants sur le plan biologique : stérols, saponines, hormones (**Richter,1993**).

#### ▲ Les stérols :

Ce sont des dérivées des phytostérols ces composés sont naturellement trouvés dans la partie lipidique des plantes. Ils peuvent être apportés que par l'alimentation lorsque, ils ne sont pas synthétisés par l'homme et l'animal. Il été démontré que les phytostérols et les phytostanols réduisant l'absorption de cholestérols dans l'intestin grêle. Leur structure générale est composée de quatre cycles dans les trois premiers six chainons et le dernier cinq. Les principaux stérols dans les plantes, algues, et les champignons sont caractérisé par la présence d'un méthyl ou éthyle lié au carbone C-24 sur la chaîne latérale. Ces différents types de stérols appelées les poly stérols sont des constituants de membrane cellulaire jouent un rôle important dans la perméabilité et aussi la prolifération cellulaire (**Kahlouche-Riacht, 2014**).

#### ▲ Saponines :

Les saponines sont très communes dans les plantes médicinales. Ils sont une classe d'hétérosides très répandue et chimiquement ce sont des molécules glycosidiques tri terpéniques et stéroïdiques (**Olezek, 2002**). Ils sont caractérisés par leur propriété tensioactive car ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussant (**Bruneton, 2009**).

#### ● Les stéroïdes et certaines propriétés des stéroïdes :

Tous les stérols ont en commun le même noyau et ils ne diffèrent que par la chaîne latérale. En revanche, pour plusieurs biochimistes, les « stérols constituent une catégorie à part entière incluant les stéroïdes » ainsi que cinq autres sous-classes :

- Les stérols et dérivés : cholestérol, phytostérol et stérides.
- Les stéroïdes : oestrogènes, androgènes, gluco- et minéralocorticoïdes.
- Les sécostéroïdes : vitamine D.

- Les stéroïdes conjugués (**Benaissa, 2011**).
- Les stérols ont un rôle vital dans la maintenance de l'intégrité structurale de la plupart des structures membranaires des organismes. Ils assistent aussi dans la régulation de la perméabilité de ces membranes aux différents ions.

### 2-2-2-5-Les tétra terpènes et caroténoïdes :

Ce sont des composés biologiquement importants présents dans les règnes animal et végétal (**Belloum, 2007**).

Les Tetraterpènes contiennent une longue chaîne de 40 atomes de carbones, à doubles liaisons conjuguées de configuration « trans » dont les extrémités sont des chaînes ouvertes ou des cycles (**Ayad, 2008**).

Les seuls représentés de ce groupe sont les caroténoïdes, substances colorés en jaune, orange ou rouge auxquelles de nombreuses fleurs et fruits doivent leurs couleurs (**Merghem, 2009**). Les carotènes jouent un rôle majeur dans la captation de l'énergie lumineuse lors de la photosynthèse.ils ont un rôle photo protecteur vis-à-vis des radiations nocives, notamment ultra violettes UV (**Merghem, 2009**).

### 2-2-2-6-Les polyterpènes :

Ils sont formés de 500 à plus de 5000 unités isoprènes en chaînes non ramifiées aux doubles liaisons de configuration cis. Ils sont présents dans environ 2000 espèces végétales et le caoutchouc est l'exemple le plus connu (**Bruneton, 1996**).

En général, les polyterpènes ou polyisoprènes se composent de plus de 8 unités d'isoprène (plus de C40). Ces terpènes se trouvent souvent sous deux formes isomériques cis- et trans, Le cis-polyisoprène se trouve dans le caoutchouc indien (**Malecky, 2005**).

## 2-3-Les alcaloïdes

### 2-3-1-Définition

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. Le regroupement d'un tel ensemble est par ailleurs confirmé par des réactions communes de précipitation avec les « réactifs généraux des alcaloïdes» (**Bruneton,2009**).

### 2-3-2-Classification

La classification des alcaloïdes tient compte de deux paramètres distincts : la position de l'atome d'azote au sein de la structure et les différentes fonctions qui en découlent (**Dunet ,2009**). En suivant, on se limite à la classification générale basant sur la structure et l'origine de l'atome de l'azote. On distingue :

#### 2-3-2-1-Les alcaloïdes vrais :

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

#### 2-3-2-2-Les pseudo-alcaloïdes :

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

#### 2-3-2-3-Les proto-alcaloïdes :

Ce sont des dérivés d'acides aminés dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle. Ils sont appelés amines biologiques et sont soluble dans l'eau (**Bruneton ,2009**).

**Chapitre 03 :**  
**Le Stress oxydatif**

### 1-Stress oxydatif

#### 1-1-Définition

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre la production d'oxydants, ou ERO, et les molécules antioxydants en faveur des oxydants. Le terme ERO fait référence à plusieurs types de métabolites réactifs à l'oxygène tels que les radicaux libres et d'autres non-radicalaires tel que le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Les radicaux libres sont des molécules hautement réactives possèdent un ou plusieurs électrons non appariés tels que l'anion superoxyde, le radical hydroxyle et l'oxygène singlet (**Wiseman et Halliwell, 1996**).

Ces molécules se lient rapidement aux molécules non radicalaires à proximité résultant généralement en la formation de nouveaux radicaux (**Baratli, 2014**).

Les ERO sont principalement formés lors de l'oxydation des lipides par le cycle de Krebs et lors de la chaîne de transport mitochondriale d'électrons qui a pour but de produire de l'énergie. Les radicaux libres sont formés suite à l'oxydation des glucides, la glycation non enzymatique des protéines et leur subséquente dégradation.

La présence d'une faible concentration d'ERO est importante pour le maintien d'un statut redox cellulaire normal, les fonctions tissulaires et les processus de signalisation intracellulaire (**Baratli, 2014**).

Par contre une production excessive d'ERO endommage les lipides, les protéines et l'ADN compromettant les fonctions cellulaires. De l'autre côté de la balance, plusieurs processus de défense contre les ERO existent de manière à contrer leurs effets néfastes sur les fonctions cellulaires.

La première ligne de défense est leur captation par des systèmes non enzymatiques tels que les vitamines C et E, les caroténoïdes, les polyphénols et le glutathion réduit, et plusieurs enzymes dont les plus importantes sont les enzymes superoxyde dismutases, le glutathion, la catalase et les peroxiredoxines (**Baratli, 2014**).

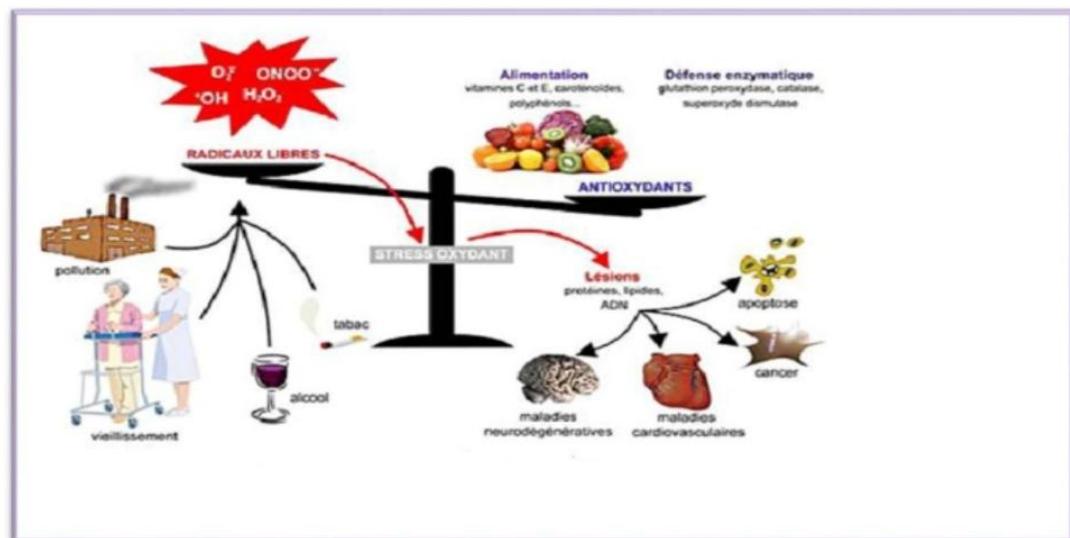


Figure 9 : Stress oxydant (Durackova, 2008)

### 1-2- Radicaux libres :

Un radical libre est une espèce chimique, contenant un ou plusieurs électrons non appariés.

L'appellation « espèces réactives d'oxygène (ERO) » inclut les radicaux libres de l'oxygène qui représentent la classe la plus importante d'espèces radicalaires générées dans les systèmes vivants : Superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), radical hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ ) mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). L'ion Superoxyde  $O_2^{\cdot-}$  et le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  signifie une classe moins active.  $O_2^{\cdot-}$  peut interagir avec  $H^+$  pour générer  $H_2O^{\cdot}$  et sera la forme réactive d' $O_2^{\cdot-}$  ce qui peut induire une peroxydation lipidique.  $O_2^{\cdot-}$  peut disproportionner en  $H_2O_2$  et réagir avec le  $NO^{\cdot}$  pour former du Peroxynitrite  $ONOO^{\cdot}$  ou avec des métaux de transition en formant des radicaux libre plus actifs (Valko *et al*, 2007 ; Martinez-Cayuela, 1995).

Le radical hydroxyle  $OH^{\cdot}$  est plus réactif il peut attaquer la plupart des biomolécules et forment des radicaux libres secondaires. Ces ROS peuvent être convertis en Intervention de la Superoxyde dismutase (SOD) et des métaux de transition tels que  $Fe_2^+$  ou  $Cu_2^+$ , libres ou complexés (hème), qui sont des activateurs de l'oxydation. L'oxygène Singulet peut être produit par des réactions photochimiques et chimiques (par exemple, la réaction de  $H_2O_2$  avec  $OCl^-$  produit 1 Oxygène (Negre-Salvayre, et Salvayre, 2005). Ces réactions sont présents.

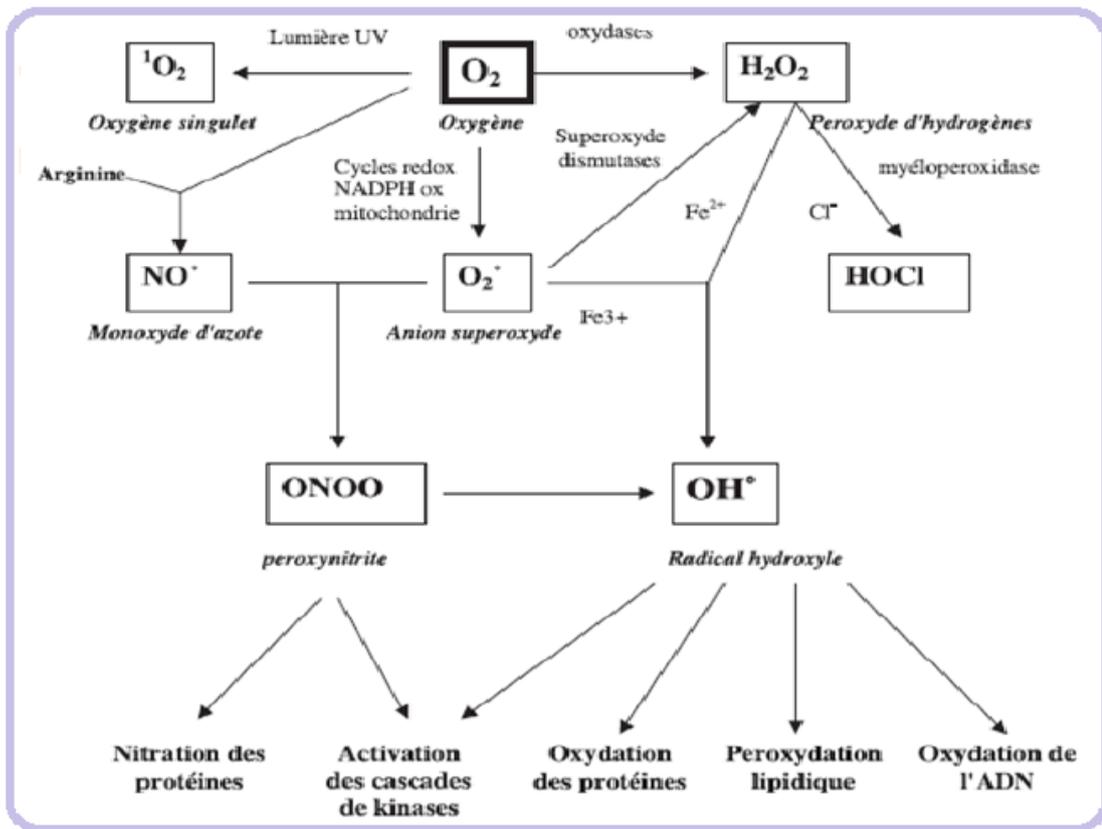


Figure 10 : origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier,2003).

### 1-2-1-Production des radicaux libres

La principale voie de production des radicaux libres est la rupture homolytique d'une liaison covalente en deux entités possédant chacune un électron, les autres étant l'élimination ou l'addition d'un électron. Ces réactions sont endergoniques. Une fois produits, les radicaux sont souvent instables. Il faut donc des méthodes de détection adéquates. Les méthodes utilisées pour produire des radicaux libres sont : (Benaïssa , 2012).

#### a. Méthodes physiques :

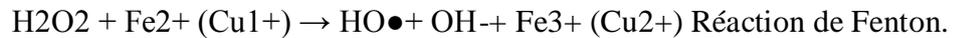
**Thermolyse** : Rupture d'une ou de plusieurs liaisons covalentes, consécutive à l'exposition d'un composé à une élévation de température, ou tout processus dans lequel une telle rupture joue un rôle essentiel.

**Photolyse** : coupure d'une ou de plusieurs liaisons d'une entité moléculaire consécutive à une absorption de lumière, ou tout processus photochimique dans lequel une telle coupure joue un rôle essentiel.

**Radiolyse** : lyse d'une molécule provoquée par une radiation.

### b. Méthodes chimiques :

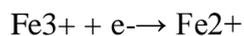
L'oxydoréduction : l'exemple le plus important est la réaction de Fenton, C'est une réaction qui permet la production du radical hydroxyle à partir du peroxyde d'hydrogène en présence d'un métal (Cu, Fe) (**Benaissa , 2012**).



### c. Méthodes électrochimiques :

La production du radical hydroxyle ( $\text{HO}\bullet$ )  $\text{Fe}^{3+} + e^- \rightarrow \text{Fe}^{2+}$  s'effectue par une réaction appelée Electro-Fenton. Elle consiste à réduire électrochimiquement via des électrodes de mercure ou de graphite le fer ferrique en fer ferreux et l'oxygène en peroxyde d'hydrogène.

Ce système permet de produire les deux espèces nécessaires à la réaction de Fenton. (**Benaissa , 2012**).



## 1-2-2-Nature des radicaux libres

### 1-2-2-1-Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO)

Sont des espèces chimiques oxygénées, rendues chimiquement, très réactives par la présence d'électrons de valence non appariés dans l'orbitale la plus externe (**Gardès-Albertet al,2003**).

Les ERO agissent comme des seconds messagers, régulant une variété de processus physiologiques cellulaires et tissulaires. ils sont impliqués dans :

- La défense antimicrobienne.
- Processus de réponse cytotoxique aux agents pathogènes, perturbation de L'apoptose.
- La destruction des cellules tumorales.
- La transduction du signal cellulaire et la régulation du métabolisme cellulaire (**Bensakhria, 2018**).

Les EOR se forment de façon parasitaire dans toutes les réactions biochimiques comportant le transfert d'électrons ou la participation de l'oxygène. Divers types cellulaires et tissus donnent naissance aux ERO par des réactions enzymatiques ou par auto-oxydation au cours du métabolisme normale et parfois en réponse à un stimulus spécifique (**Cristina *et al*, 2009**).

**Tableau 3 : Liste de quelques espèces réactives (Mercan, 2010).**

Espèce Radicalaire		Espèce non Radicalaire	
$O_2^{\circ-}$	Superoxyde	$H_2O_2$	Peroxyde d'hydrogène
$OH^{\circ-}$	Hydroxyle	ROOH	Peroxyde organique
$ROO^{\circ-}$	Peroxyle	ONOO-	Peroxynitrite
$NO^{\circ-}$	Oxyde nitrique	$O_2NOO$	peroxynitrate
$NOO^{\circ-}$	Dioxyde de nitrogène	NO2Cl	chlorure de nitrile
$NO_3^{\circ-}$	Nitrate	$HNO_2$	Acide nitreux
$CO_3^{\circ-}$	Carbonate	$ClO_2$	Dioxyde de chlore

### 1-2-2-2-Espèces libres non oxygénées

Les espèces libres non oxygénées sont les produits des réactions de certaines molécules avec les espèces réactives dérivées de l'oxygène. Ils peuvent à leur tour réagir avec d'autres molécules et être à l'origine de la multiplication des réactions d'oxydation et de la propagation des dommages oxydatifs ; par exemple : Les acides gras peroxydés, résultats de l'action des espèces oxygénées sur les membranes biologiques. Les fractions protéiques, les acides aminés et les acides nucléiques peuvent aussi réagir avec les ERO générant des molécules réactives et nocives (**Gardès-Albert *et al*, 2003**).

### 1-2-2-3-Espèces réactives de l'azote (ERN)

Son principal représentant est le monoxyde d'azote  $NO^{\circ}$ , il est impliqué dans la neurotransmission et produit lors du métabolisme de l'arginine en citrulline par l'oxyde nitrique

synthèses (NOS). Le  $\text{NO}^\circ$  peut se combiner avec les radicaux d'oxygène pour former des molécules toxiques telles que l'anion peroxynitrite ( $\text{ONOO}^-$ ) (**Valko *et al*, 2007**).

### 1-3-Conséquence du stress oxydatif

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN, les lipides (peroxydation), les protéines...etc. Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, Accélération le vieillissement (maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives, cancer, diabète...) et la dégradation des cellules et des tissus (**Boubekri, 2014**)

### 1-4- Les cibles biologiques du stress oxydant

L'équilibre entre les effets positifs et négatifs des radicaux libres est particulièrement fragile (**Pincemail, 2003**). La production de ces radicaux peut être régulée par notre organisme (**Sies, 1991**). Les systèmes de régulation se composent d'enzymes, de protéines, de molécules antioxydantes de petite taille et d'oligoéléments indispensables pour l'activité des enzymes. Un déséquilibre de la balance antioxydante en faveur de la production des ERO constitue le stress oxydant. Le stress oxydant va dénaturer les lipides, les protéines, l'ADN et provoquer des pathologies (**Gutteridge, 1992 ; Curtin et al, 2002**).

### 1-5-Maladies liées au stress oxydants :

Le stress oxydant est impliqué dans des nombreuses pathologies, incluant l'obésité, le diabète, l'athérosclérose, le vieillissement, cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Mohammedi, 2013**). La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale des radicaux avec une diminution de l'efficacité des systèmes de réparations et de dégradations des constituants oxydés (**Sohal et al, 2002**).

## 2-Antioxydants

### 2-1-Définition

Les antioxydants sont des substances ayant la capacité de retarder, prévenir ou réparer les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme (**Tang et Halliwell, 2010**). Ainsi, ils servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif (**Guan et al, 2007**).

La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire (**Goudable et Favier, 1997**). On distingue les antioxydants endogènes et antioxydants naturels (exogènes).

## 2-2-Classification des antioxydants

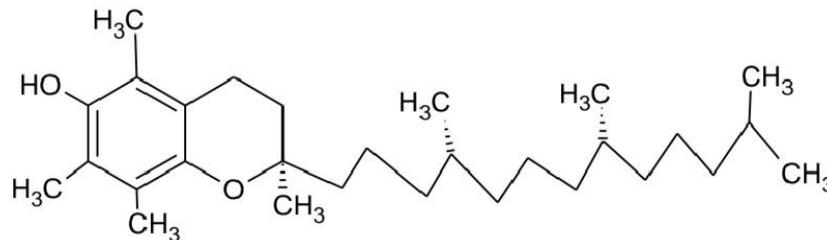
### 2-2-1-Antioxydants naturels ou exogènes

L'organisme possède une seconde ligne de défense « les antioxydants d'origine naturelle ». Ils sont essentiels pour l'homme dont les apports peuvent prévenir et même aider au traitement des maladies liées au stress oxydant (**Vertuani *et al*, 2004**).

#### A) Les vitamines vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol) :

La vitamine E est une vitamine liposoluble qui se lie aux membranes cellulaires afin de pouvoir séquestrer, les radicaux libres empêchent la propagation de la peroxydation lipidique.

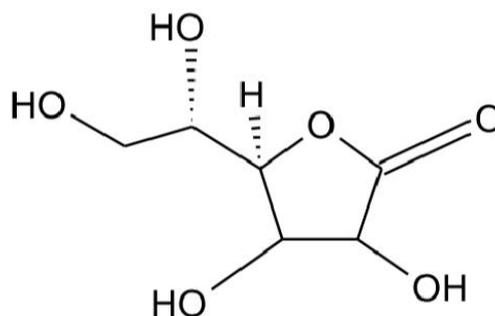
Il est présent en grande quantité dans les huiles de légume et il agira comme un antioxydant (**Desmier ,2016**).



**Figure 11 : Structure chimique de vitamine E**

#### Vitamine C (acide Ascorbique)

La vitamine C soluble dans l'eau fournit une capacité antioxydante intracellulaire et extracellulaire en phase aqueuse, principalement en récupérant les radicaux libres d'oxygène. et permet indirectement la régénération de la vitamine E (**Birben *et al*, 2012**).



**Figure 12 : Structure chimique de vitamine C (Nimse et Pal, 2015).**

### B) Caroténoïdes

Ce sont des pigments liposolubles dont la couleur varie du jaune à l'orange et qui sont très répandus dans le règne végétal puisqu'on n'en connaît pas moins de 600. Certains d'entre eux produisent de la vitamine A, et ceux qui ne sont pas convertis sont incorporés dans les lipides. Les caroténoïdes ont une capacité antioxydant simple et l'alpha-carotène inhibe également la peroxydation des lipides en Blocage du peroxyde (**Hercberg *et al*,2006**).

### C)Oligoéléments

Les oligoéléments ou les éléments-trace (zinc, sélénium, cuivre, manganèse) constituent des cofacteurs nécessaires aux activités des enzymes antioxydantes. D'autres constituants de l'alimentation, comme les vitamines du groupe B, le chrome ou le magnésium agissent comme des antioxydants indirects via la régulation de l'homocystéinémie (vitamines du groupe B), l'amélioration de la sensibilité à l'insuline (chrome) ou la lutte contre l'inflammation (magnésium) (**Erdman *et al*, 1993**)

#### 2-2-2-Antioxydants endogènes

Les antioxydants peuvent être classés en deux groupes principaux ; c'est-à-dire les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques. Certains de ces antioxydants sont produits de manière endogène, notamment des enzymes, des molécules de faible poids moléculaire et des cofacteurs enzymatiques. De nombreux antioxydants non enzymatiques sont obtenus à partir de sources alimentaires (**Bunaciu *et al*, 2012**).

##### A. Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques fonctionnent en convertissant les produits métaboliques oxydés dans un processus en plusieurs étapes en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), puis en eau à l'aide de cofacteurs tels que le fer, le zinc, le cuivre et le manganèse (**Moussa *et al*,2019**).

- **Superoxyde dismutase**

Le superoxyde dismutase est une enzyme qui élimine l'anion superoxyde par une réaction de dismutation, elle produit de l'oxygène et du peroxyde d'hydrogène selon la réaction (**Jacques et André, 2004**) :  $O_2^{\circ-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$

- **Catalase**

La catalase est une enzyme qui transforme deux molécules de peroxyde d'hydrogène (produit par dismutation de SOD) en eau et en oxygène qui sont des composés stables selon la réaction (**Jacques et André, 2004**) :  $2H_2O_2 \rightarrow H_2O + O_2$

- **Glutathion peroxydase**

Le glutathion peroxydase est une enzyme qui constitue l'un des plus importants systèmes enzymatiques de protection car elle est capable non seulement de détoxifier le peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres hydroperoxydes résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras (**Ganther, 1999**).

### **B. Les Antioxydants Non enzymatiques**

L'organisme possède une seconde ligne de défense « les antioxydants d'origine naturelle ou exogène, dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons : les oligoéléments, glutathion, vitamine A, E et C, caroténoïdes, composé phénolique.

Certaines substances ont la propriété de piéger et de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Il s'agit de composés facilement oxydables présents dans le cytoplasme ou dans les membranes cellulaires (**Vertuani et al, 2004**).

# **Chapitre 04 :**

## **Matériel et Méthodes**

Dans ce chapitre, nous décrivons le matériel et les méthodes utilisées lors des protocoles expérimentaux. Toutes les analyses ont été faites au sein des laboratoires de faculté des sciences de nature et de la vie, au niveau de l'université de Djelfa.

### 1- Objectif de travail

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'activité antioxydante des différents extraits de *d'Ephédra alata* avec le test DPPH, associé avec une étude phytochimique pour déterminer les métabolites secondaires majoritaires dans notre plante, pour atteindre notre objectif nous avons passé par les étapes suivantes :

- Préparation des extraits aqueux (macérat, décocté, infusé)
- Détermination des familles chimiques présentes dans notre plante (screening phytochimique) .
- Extraction des métabolites secondaires majoritaire [les flavonoides ] .
- Estimation de CE50 par le test de DPPH des extraits aqueux, des extraits méthanoliques et aussi le CE50 des flavonoides de notre plante.

### 2- Matériel

#### 2-1- Matériel végétal

La récolte *d'Ephédra alata* est effectuée au mois de mai 2023 au niveau de la Wilaya de djelfa (exactement Messaad).

Le séchage a été fait à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité afin d'éviter la dégradation des principes actifs et le développement des moisissures (**Catier et Roux, 2007**). La partie utilisée a été broyée au broyeur électrique puis conditionnée dans des sachets en papier kraft à l'abri de la lumière et à une température ambiante



**Figure 13 : Plante Ephédra alata sèche.**

## 2.2- Présentation du site de récolte

Messaad C'est une ville algérienne située à environ 375 Km au Sud d'Alger. Sa population est de 102453 (2008). La ville est connue depuis prospère l'Antiquité romaine, quand c'était une ville prospère.

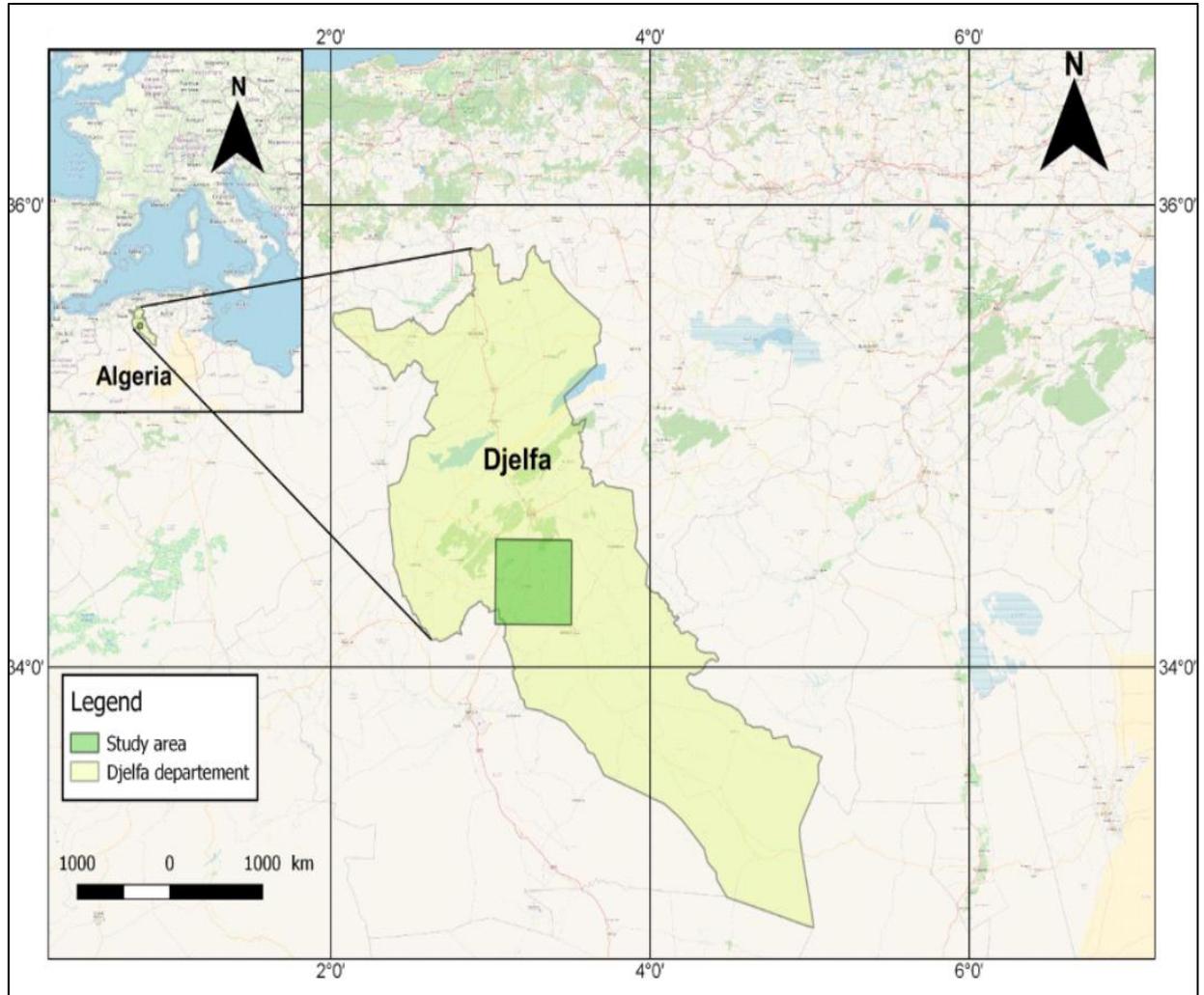


Figure 14 : Carte géographique de Messaad

## 2-3- Préparation des extraits :

### 2-3-1-Décocté (10 %) :

La poudre végétale est mise à l'ébullition pendant 30 min, l'extrait est ensuite refroidi à la température ambiante, puis filtré, le filtrat est collecté, concentré, lyophilisé et conservé à 4 °C, jusqu'à l'utilisation.

### 2-3-2-Infusé (10%) :

La poudre végétale est mise à infuser dans l'eau bouillie pendant 30 minutes, l'extrait est ensuite refroidi à la température ambiante, puis filtré, le filtrat est collecté, concentré, lyophilisé et conservé à 4 °C, jusqu'à l'utilisation.

### 3-3.3-Macérât (10%) :

La poudre végétale est mise à macérer dans l'eau froide distillée durant la nuit, l'extrait est ensuite filtré, le filtrat est collecté, concentré, lyophilisé et conservé à 4 °C, jusqu'à l'utilisation.

#### ● Calculer le rendement :

Le rendement de l'extraction est le rapport entre la masse de chaque extraitsèche et la masse de la matière sèche. Le rendement en pourcentage (%) est calculé par la formule suivante (Esseh et al., 2019) :

$$R(\%) = (Me/Mm) \times 100$$

Me : Masse d'extrait sec en gramme (g).

Mm : Masse de matière sèche (Poudre) en gramme (g).

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

## 3-Etude phytochimique :

### 3-1-Réactions en tubes :

Le screening phytochimique de la plante a été réalisé en suivant les protocoles phytochimiques standards décrites par **Trease et Evans 1983** et **Harborne 1998**

#### 3-1-1-Les polyphénols :

- **Tanins** : à 5 ml de l'infusé (5%), on ajoute 1ml de solution aqueuse (1%) ou alcoolique (2%) de FeCl<sub>3</sub>, l'apparition d'une couleur verdâtre ou bleu noirâtre est une indication de la présence des tanins
- **Les flavonoïdes (les anthocyanes)** : à 5 ml de l'infusé (5%) on ajoute 5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 10 %, puis quelques gouttes de NH<sub>4</sub>OH, la présence des anthocyanes est confirmée par le virage de couleur vers le bleu violacé. \*

#### 3-1-2-stéroïdes et triterpène :

##### Réactions de Libermann-Buchard :

## Chapitre 03 : Le Stress oxydatif

---

On laisse macérer 1 g de poudre du matériel végétal dans 10 ml d'ether pendant 24 heures ; on filtre et le filtrat est complété avec 20 ml par l'ether , 10 ml de l'extrait ainsi obtenu sont évaporé a sec , puis aux résidu on ajoute 1 ml d'anhydre acétique et 1 ml de chloroforme, dans l'ordre , le mélange est partagé en deux tubes , un tube témoin, et un autre au fond duquel avec une pipette on ajoute 1 a 2 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré , au contact des deux liquides , se produit la formation d'un anneau brunâtre ou violet ; une coloration verte ou violette de la couche surnageant indique la présence des stérols et des triterpéne

### 3-1-3-Coumarines :

On laisse macéré 1 g de poudre végétal dans 10 ml d'ether pendant 24 heures , on filtre et le filtrat est complété a 20 ml par ether , 5ml de l'extrait ainsi obtenue sont évaporé a l'air libre , puis au résidus on ajoute 2 ml d'eau chaude , le mélange est partagé en deux tubes ,un tube témoin et un autre auquel on ajoute 0.5 ml de NH<sub>4</sub>OH a 25% ; l'apparition dans ce dernier d'une fluerenscence intense ( observé sous UV 366 nm ) après l'ajout de l'ammoniac , indique la présence des coumarines.

### 3-1-4- les alcaloïdes :

On ajoute 20 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 3 g de la poudre végétal, on agite, on laisse reposer 30 min , puis on filtre sur papier , le filtrat ainsi obtenu est répartie en trois tubes comme suite :

**Dans un tube :** à 1ml du filtrat, on ajoute quelque goutte du réactif de Bouchardat

La présence des alcaloïdes est confirmée par l'apparition d'un :

- Précipité brun dans le tube

#### Réactif de WAGNER :

Iodure de potassium.....2 g

Iode.....1,27 g

Eau distillée.....qsp 100 ml

## 4-Extraction des flavonoïdes :

### 4-1- Extrait méthanolique :

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

rotavapeur (évaporateurrotatif) à 45°C, l'extrait est placé dans une boîte Petré en verre à l'étuve à 40°C jusqu'à séchage (Boubekri,2014)

#### 4-2- Extrait aqueux :

Dans une deuxième étape l'extraction se fait avec l'eau distillée.50g de la plante broyée a été soumise à une décoction avec 500ml de l'eau déstillé à température élevé80°C avec l'agitation pendant 15 min jusqu'à l'évaporation, puis l'extrait récupéré est filtré. L'extrait est, placé dans une boîte pétrée en verre à l'étuve à 40°C jusqu' à séchage.

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

$$R\% = \frac{Me}{Mé} * 100$$

R% : rendement en pourcentage.

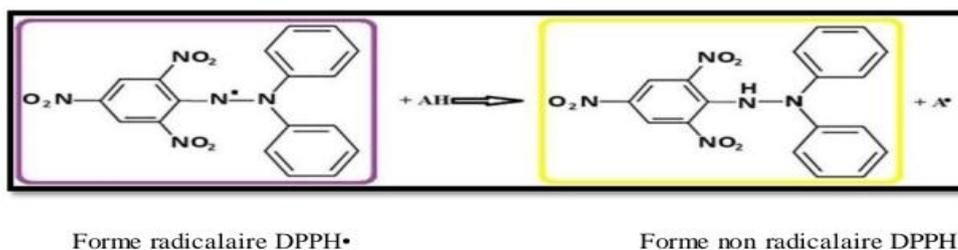
Me : masse de l'extrait sec engramme.

Mé : masse de l'échantillon en gramme.

#### 4-3-Piégeage DPPH :

##### Principe

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



**Figure 15 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH•entre l'espèce radicalaire DPPH•et un antioxydant (AH)(Molyneux,2004).**

- **Protocol**

Le2diphényl-1-picryl-hydrazyl(DPPH)est déterminé par spectrophotométrie en se

Référant au protocole de Itaeduok.(2017) modifié,Un volume de 1ml de chaque extrait à différentes concentrations est ajouté à 1ml d'une solution méthanolique de DPPH.Se dernier préparé par0.0125mg deDPPH dans 100 ml de méthanol, puis ajouté 20ml de méthanol dans10mlde souldion mère.

### Chapitre 03 : Le Stress oxydatif

---

Après une incubation 30 min à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance du mélange réactionnelle est mesuré à 517nm.

Le pourcentage d'inhibition(I%) du radicalDPPH par 'extrait méthanolique est calculé selon la formule suivante :

$$I\%=[1-(AbsEchantillon/AbsContrôle)]\times 100$$

où:

I% : pourcentage d'inhibition du radical DPPH.

AbsEchantillon : Absorbance de l'échantillon.

AbsControl : Absorbance du contrôle.

L'activité antioxydante des extraits est exprimé en IC50 (concentration inhibitrice 50). L'IC50 est la concentration de l'échantillon est nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH, ils sont calculés graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés Les résultats sont exprimés en mg/ml. La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que son IC50 est petit (**Gouasmia et Zoubiri ,2016**)

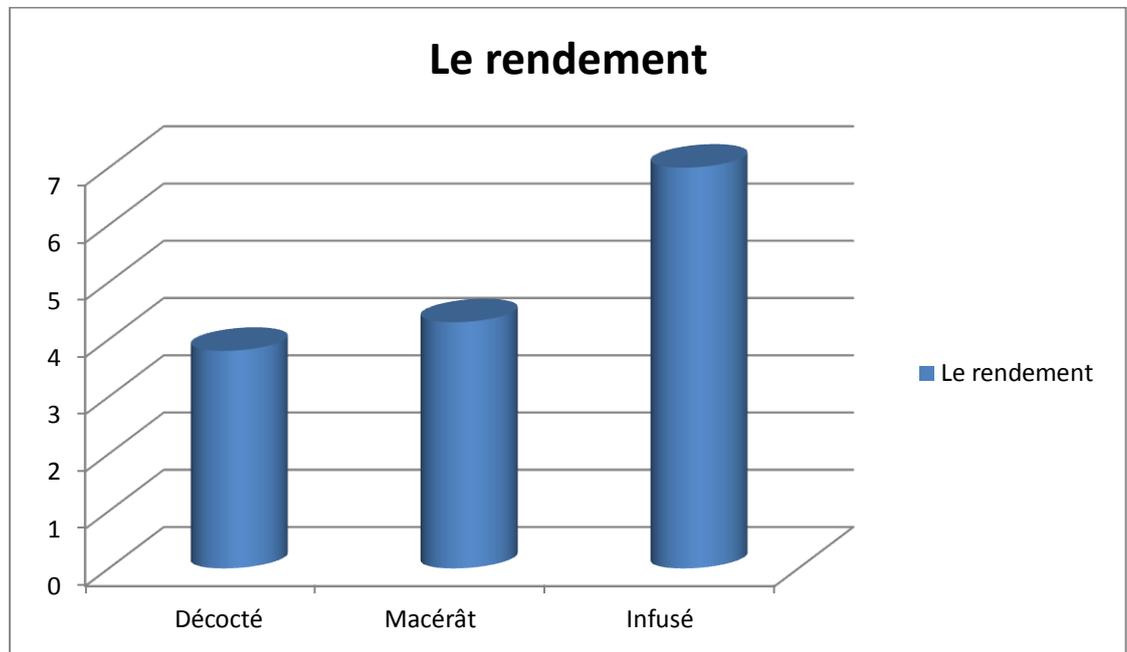
**Chapitre 05 :**  
**Résultats et discussion**

### 1- Résultats de rendement des extraits :

Une extraction solide-liquide par l'eau a été préparée pour l'évaluation des activités biologiques. Dont chaque des extraits précédents a une propriété spécifique. Les rendements de chaque extrait par rapport à 5g de la matière sèche utilisée sont présentés dans l'histogramme (figure) suivant.

**Tableau 4 : Rendement d'extraction de plante Ephédra alata alenda**

	Décocté	Infusé	Macérât
Rendement	3,8%	7%	4,3%



**Figure 16 : Rendement d'extraction de plante Ephédra alata alenda**

#### 1-1- Discussion des résultats :

Trois types d'extraction ont été réalisés : l'extraction par macération pendant 24 h, l'extraction par l'infusion et l'extraction par décoction. Le solvant utilisé est : eau distillée et les rendements obtenus sont présentés dans les tableaux 4.

Le rendement calculé varie entre (3,8%) et (7%), ces faibles rendements obtenus par les extraits pourraient être due :

à une petite durée d'extraction, la méthode d'extraction utilisée, le PH du milieu d'extraction, les espèces végétales, le sol et les conditions climatiques, le moment de récolte, les conditions de séchage ,les organes utilisés dans l'extraction, le teneur de chaque espèce en

métabolites et la nature des solvants utilisés dans l'extraction, la température et bien sûr par les différentes origines géographiques de la plante (Yashaswini *et al*, 2019) (Baydar *et al*, 2009)

## 2- Résultats de l'étude phytochimique

La détection phytochimique de la plante *Ephédra alata alenda* consiste à détecter et quantifier les différents métabolites secondaires existants dans la plante, par réaction de précipitation, changement de couleur et formation de mousse. Les résultats de caractérisations des différents métabolites secondaires ont été mentionnés au suivant en fonction de différents critères d'observation, entre autre :

- Réaction positive : (+) présent. / : Non testé
- Réaction négative : (-) absent.

**Tableau 5 : Les résultats de caractérisations des différents métabolites secondaires**

E.alata "M'sila"	E.alata "El Oued"	E.alata "Ouargla"	E.alata "Djelfa"	Plante
++	+	+	++	Flavonoïdes
++	+	+	++	Tanin
+	-	-	+	Stéroïde
/	+	+	+	triterpène
+	/	/	-	Coumarines
/	+	+	++	Alcaloïdes
Kebili ,2016	Gousmia et Zoubiri, 2016	Salah <i>et al</i> ,2021	Nos résultats	Références

### 2-2- Discussion des résultats :

Les tests phytochimiques permettent de détecter seulement l'absence ou la présence de telle ou telle famille chimique. Les résultats obtenus montrent que la plante étudiée est plus ou moins riche en métabolites secondaires.

Les tests phytochimiques *d'E. alata* réalisés a montré la présence des polyphénols (tanins et flavonoïdes) , stérols et triterpène et des alcaloïdes, .Cependant il y a une différence de l'intensité, on est remarqué une intensité importante pour les alcaloïdes et les polyphénols (tanins et flavonoïdes) par rapport à stérols et triterpène .Avec absence des coumarines.

Ceci pourrait justifier les multiples indications thérapeutiques et pour les quelles elle est utilisée en tradithérapie.

On signale que les deux parties de la plante se différent dans leur composition en certains métabolites secondaires à savoir, les tannins galliques et catéchiques, les flavonoïdes et les dérivés anthracéniques. Les croyances chinoises prétendent que la partie aérienne et souterraine de *l'Ephédra* ont des effets opposés (**Hikino et al., 1982**), cela est peut-être du à la différence en leur composition chimique signalée par ces tests. Il est néanmoins nécessaire de confirmer ces résultats par des études phytochimiques approfondies. En effet ces tests préliminaires manquent souvent de spécificité.

### 3-Résultat de pouvoir de l'activité anti radicalaire (DPPH)

#### 3-1- Résultat de rendement d'extrait :

**Tableau 6 : Rendement d'extraction des flavonoïdes**

Type d'extrait	Aspect physique de l'extrait	Rendement%
E met	Poudre vert	15.66
Eaq	Poudre Brun verdâtre	6.48

**Emet** : extrait méthanologique

**Eaq** : extrait aqueux

#### 3-2-1-Discussion des résultats :

Nos résultats mentionnés dans le tableau 06 montre que l'extrait méthanologique présente un rendement plus élevé en flavonoïdes (15.66%) par rapport l'extrait aqueux (6.48%).

Le faible rendement en flavonoïdes dans l'extrait aqueux peut être expliquée d'après **JABBARI et GHARIB (2012)** par le fait que les flavonoïdes sont pratiquement insolubles dans l'eau, mais ils sont souvent solubles dans les solvants organiques. Ceci est un problème fréquent

aujourd'hui, car les nouvelles molécules dans la recherche de drogues sont moins solubles dans l'eau et plus lipophile. La procédure mixte-solvant en utilisant principalement des mélanges de solvants organiques dans l'eau fournissent une bonne alternative pour des composés peu ou non solubles.

### 3-2-Résultat de piégeage DPPH :

L'activité anti-oxydante des extraits étudiés vis-à-vis du radical DPPH, à été évaluée en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H), mesurable au spectrophotomètre à 517nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires.

Les valeurs IC<sub>50</sub> déterminées expriment la concentration efficace de l'extrait anti-oxydant nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% de molécules de DPPH en dissolution dans du méthanol

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits

#### 3-2-1-Extrait aqueux :

**Tableau 7 : Résultats d'absorbance et d'inhibition d'E aq**

Concentration (mg/ml)	Inhibition (I%)	IC50
10	10.4205	
20	15.9049	
30	25.9598	[43_45]mg/l
40	43.3272	
50	61.6088	

#### 3-2-2-Extrait méthanolique :

**Tableau 8 : Résultats d'absorbance et d'inhibition d'E met**

Concentration (mg/ml)	Inhibition(I%)	IC50
10	44.24	
20	55.21	
30	62.52	[14 _16] mg/ml
40	66.18	
50	73.49	

### 3-2-3- Discussion des résultats :

Les résultats de l'essai DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) permettent d'évaluer la capacité antioxydante des extraits. Plus la concentration d'extraits est élevée et plus le pourcentage d'inhibition est élevé, plus la capacité antioxydante est forte.

Les résultats révèlent que plus la concentration d'extraits est élevée, plus le pourcentage d'absorption est élevé, indiquant ainsi une activité antioxydante accrue.

L'E met semble présenter un pourcentage d'inhibition plus élevé par rapport à l'E aq.

Donc, l'extrait méthanolique semble présenter une capacité antioxydante plus élevée que l'extrait aqueux.

En se basant sur les résultats présentés, nous pouvons parvenir à des conclusions importantes concernant l'activité antioxydante des extraits étudiés. La valeur de IC50, qui s'est élevée à [14\_16] mg/ml pour l'extrait méthanolique d'*E alata*, indique qu'il possède une capacité élevée à neutraliser les radicaux libres présents dans l'environnement. Cela suggère la présence de composés complexes ayant un effet antioxydant puissant.

Quant à l'extrait aqueux, la valeur de IC50, qui atteint [43\_45]mg/ml, révèle qu'il possède également une activité antioxydante, bien que de moindre intensité par rapport au extrait méthanolique.

Cette divergence pourrait être attribuée par la présence d'autres composés en dehors des flavonoïdes responsables de l'activité antioxydante de la plante ; ainsi que le méthanol possède une grande capacité d'extraire les flavonoïdes.

Ces résultats suggèrent la possibilité d'utiliser la plante *E.alata* en tant que source naturelle de composés antioxydants, en mettant l'accent sur l'efficacité supérieure du extrait méthanolique dans ce contexte. Ces conclusions encouragent la poursuite de la recherche dans ce

## Chapitre 05 :Résultats et discussion

---

domaine pour comprendre la composition chimique de la plante *E.alata* et les mécanismes potentiels par les quel il pourrait influencer la lutte contre le stress oxydatif.

Nos résultats indiquent que l'extrait méthanolique lus élevé par présente une activité p rapport au extrait aqueux vis à-vis le piégeage du radical libre DPPH avec un IC50 de [14\_16] et [43\_45] .mg/ml respectivement

Les résultats obtenus par **Yahaiou *et al* (2018)** ont montré que leur extrait méthanolique avait une activité anti-radicalaire plus faible (30.304mg/ml) par rapport à notre extrait.

Les travaux de **Kelbi (2016)** ont montré que l'extrait méthanolique avait une capacité anti-radicalaire de  $(0.26 \pm 0,013\text{mg/ml})$  ce qui indique que leur extrait possède une activité anti-radicalaire plus élevé par rapport à notre extrait.

**Conclusion générale :**

### Conclusion générale :

Les plantes médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous exploitées dans le domaine médicale. Dans l'industrie pharmaceutique, sachant que les antioxydants interviennent de manière significative à la prévention des maladies, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants d'origine naturelle doit être à l'ordre de jour.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique, l'évaluation du pouvoir antioxydant de différents extraits de plante *Ephédra alata alenda* et l'analyse des composés actifs (les flavonoides) dans notre plante.

Les résultats obtenus nous ont montré que le meilleur rendement en extrait sec pour notre plante est obtenu par l'infuser avec un rendement de 7%

L'étude phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires suivante : des flavonoides, des tanins, des Stéroïdés et alcaloides et Triterpène , tandis que les coumarines ils sont absents dans les notre plantes

L'extraction des flavonoïdes à partir la partie arienne de Ephédra *alata alenda* permet d'obtenir un rendement de 15.66 %. Avec le méthanol, L'extrait est sous forme poudre vert et on a obtenue un rendement de 6.48% avec l'eau, L'extrait est sous forme poudre brun verdâtre

L'activité antioxydante de la partie arienne de Ephédra *alata alenda* a été évaluée par la technique de piégeage du radical libre DPPH, Le pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique est presque le triple par rapport a l'extrait aqueux pour le même pourcentage d'inhibition et leur IC50 respectivement est de 16 et 45mg/ml

L'ensemble de ces résultats obtenus ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances et sources naturelles biologiquement actives. Des études complémentaires, précises et approfondies restent nécessaires pour pouvoir confirmer les résultats mis en évidence.

De nombreuses perspectives peuvent être envisagées, on cite juste quelques-unes :

- L'isolement et l'identification des principes actifs responsables des activités antioxydantes et par des techniques chromatographiques et spectrales exemple GC-MS
- Une étude *in vivo* des molécules bioactives de *Ephédra alata alenda* isolées serait souhaitable pour déterminer les tissus et organes cibles, et rechercher leurs mécanismes d'action au niveau

## **Conclusion générale**

---

tissulaire et moléculaire puisqu' elle est considerer comme une plante puissante pour le traitement de cancer.

- Evaluation d'autres activités biologiques tels que : antitumoral, anticancéreux et anti-inflammatoire.

## **Références bibliographiques :**

Références bibliographiques

**Abourashed E.A., El- Alfy A.T., Khan I.A. et Walker L., 2003.** Ephédra in perspective—a current review. *Phytother. Res.*, Vol. 17, PP. 712.

**Abourashed, E.A., El- Alfy, A.T., Khan, I.A. et Walker, L. (2003).** Ephédra in perspective—a current review. *Phytother. Res*; 17 : pp. 703-712

**Adoune., S. 2016.** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès. Mémoire de magister ,Univ. Mohamed Khider , Biskra,01\_02p.

**Agbonon A., Gbeassor M. (2019).** Screening Phytochimique, Étude Toxicologique, Évaluation des Activités Antiplasmodiale et Antiradicalaire de la Tige Feuillée de *Senna occidentalis* Linn (Fabaceae). *European Scientific Journal*, Vol.15, No.6, pp : 411-433. <https://doi.org/10.19044/esj.2019.v15n6p411>.

**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 Ephédra spp., wildy grown in Iraq. *Jordan journal of pharmaceutical sciences* 7 (3) : 191-198.

**AL-Qarawi., A.A , Abd Allah., E.F , Abeer., H .2011.** *Ephédra alata* as biologically-based strategy inhibit aflatoxigenic seedborne mold. *African Journal of Microbiology Research* .Vol. 5, N°16, pp. 2297-2303.

**Al-Rimawi F., Abu-Lafi S., Abbad J., Alamarneh A., Sawahreh RA., Odeh I.,2017.** Analysis of Phenolic and Flavonoids Of Wild *Ephédra alata*. Plant Extracts By Lc/Pda And Lc/Ms and Their Antioxidant Activity. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines* : AJTCAM, 14(2), 130–141p.

**Andrei, A., Bunaciu, Hassan Y. Aboul-Enein & Serban, F. (2012).** FTIR Spectrophotometric Methods Used for Antioxidant Activity Assay in Medicinal Plants *Applied Spectroscopy Reviews*, 47 : 4, 245-255.

**Ayad, R. (2008).** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique, université Mentouri Constantine. p 35-39, 40, 47.

**Bahorun, T. (1997).** Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research council Mauritias*.

## Références bibliographiques

---

- Baydar, H., Özkan, G., Erbaş, S Altındal, D. (2009).**and D. Yield, Chemical Composition and Antioxidant Properties of Extracts and Essential Oils of Sage and Rosemary Depending on Seasonal Variations. Ist IC on Culinary Herbs, pp : 383-390.
- Belbache, H. (2003).** Investigation phytochimique de l'extrait chloroforme de *Centaurea Parviflora* Desf, mémoire de magister en chimie organique, université Mentouri Constantine. p 16-20
- Belhouala., K , Benarba.,B .2021.** Medicinal Plants Used by Traditional Healers in Algeria : A Multiregional Ethnobotanical Study. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8666619/>
- Belloum Z ; 2007-**Etude phytochimique des plantes médicinales Algérienne ,cas de l'espèce *Inula Crithmoides* L.mémoire pour l'obtention de diplôme de magister en chimie organique p89.
- Benaïssa Bouguerne, 2012,** conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires, Doctorat, p7-11.
- Benaïssa, O. (2011).** Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. Activité Biologique, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine. 63p.
- Benayache, F. (2005).** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre *Genista* (Fabaceae) : *G. saharae*,
- Bensakhria, A. (2018).** Le stress oxydatif. Toxicologie générale , 71-86.
- Birben, P.E., Sahiner MD,U.M., Sackesen MD, C., Erzurum MD,Z & Kalayci MD, O.( 2012).** Oxidative Stress and Antioxidant Defense, World Allergy Organization Journal volume 5, pages 9-19
- Bone, K., & Mills, S. (2012).** Principles and practice of phytotherapy modern herbal medicine, 2nd Ed. Elsevier Health Sciences, p : 17-82.
- Borhane., E.C. Ziani , Sandrina., A.H ,Khaldoun B, Maria.,I.D ,Maria., J.A, Lillian.,B ,**
- Boudjouref M,2011-**Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extrait d'*Artemisia Campestris* L.thèse de magister en biochimie .Université ferhat Abbes, Sétif. Algérie. p99.
- Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., Gontier E.2001.** Production of plant secondary metabolites : a historical perspective. Review Plant Science 161 : 839–851.

## Références bibliographiques

---

**Bruneton J.1996.** Plantes toxiques, Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, 3ème édition, Lavoisier, Paris. 632 p.

**Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.

**Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie , Phytochimie , plantes médicinales. 3ème édition. Ed.médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris.

**Bruneton, J. (1999).** Tannins. In : Pharmacognosie, phytochimie, Plantes Cannas A. [www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin/pos\\_effects.html](http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin/pos_effects.html) - 6k.

**BRUNETON, J.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Tec & Doc/Lavoisier, Paris, 2009, 279-281.

**Catier O., Roux D., 2007.** Botanique pharmacognosie phytothérapie. Wolters Kluwar (3eme Ed.), 141 p .

**Caveney., S ,Charlet., D.A ,Freitag., H ,Malet-Stolte., M ,Starratt., A.N .2001.**New observations on the secondary chemistry of world Ephédra(Ephedraceae). American journal of botany 88(7). 1199\_1200pp.

**Chaieb, M., Delaigue, M., Guittonneau, G., Arousseau, R.P. 2008.** Voyage botanique en Tunisie méridionale, faculté des sciences de Sfax.

**Chebouat., L .2014 .**Etude phytochimique et évaluation microbiologique de deux Plantes médicinales saharienne : Zizyphus(mauritiana, lotus) -Rhamnaceae- (Sedra) et *Ephédra alata* - Ephedraceae- (Alinda) . Thèse de doctorat , Univ. Kasdi Merbah ,Ouargla .60\_61\_62pp.

**Chen W.L, Tsai T.H., Yang C.C.H., Kuo T.B.J., 2010 .**Effects of Ephedra on autonomic nervous modulation in healthy young adults. Journal of ethnopharmacology, Vol. 130. 563\_568pp.

**Chérifa Boubekri, 2014,** Etude de l'activité antioxydante des Polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques, Doctorat en sciences, p 44.

**Cowan, M. M. (1999).**Plant products as antimicrobial agents.Clinical microbiology reviews, 12(4), 564.

**Cristina, P., Ilonka, S., et Bartek, T. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel. 4. 25-39.

## Références bibliographiques

---

**Crozier et al., (2008).** Plant secondary metabolites : occurrence, structure and role in the human diet. (J. W. Sons, Éd.)

**Dennis.,V.C. Awang. 2009** .Tyler's herbs of choice : the therapeutic use of phytomedicinals, USA, 3ème Ed .78pp.

**Derbel., S, Touzard, B., Triki, M.A. et Chaieb, M. 2010.** Seed germination responses of the Saharan plant species *Ephédra alata* ssp. *alenda* to fungicide seed treatments in the laboratory and the field.Flora; 205 : pp. 471–474.

**Desmier, T. (2016).** Les antioxydants de nos jours : définition et applications (Doctoral dissertation).

**Desmier, T. (2016).** Les antioxydants de nos jours : définition et applications (Doctoral dissertation).

**DUNET, J. 2009.**Réaction de Michael et de Mannich appliquées à des arylcyclohexa-2, 5-diènes en vue de la synthèse d'alcaloïdes de type aspidosperma et morphinanes. Bordeaux 1.

**Durackova Z, Djrolo F, Hougbe H, Avode G, Attoulou V, Addra B, Kodjoh N,AvimadjM. (2008).** Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. Mitochondrial medicine . Gvozdjakova A (ed) p43.

**Isabel.,C.F.R.F. 2018.**Phenolic compounds characterization by LC-DAD- ESI/MSn and bioactive properties of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut.and*Ephédra alata* Decne.

**EL hafian., M , Benlamdini .,N , Elyacoubi .,H, Zidane., L & Rochdi .,A. 2014.** Étude floristique et ethnobotanique des plantes médicinales utilisées au niveau de la préfecture d'Agadir-Ida –Outanane , Maroc .Journal of Applied Biosciences 81 : 7198.

**EL-Haoud, H., Boufellous, M., Berrani, A., Tazougart, H et Bengueddour, R. (2018).** Screening phytochimique d'une plante medicinale : *Mentha Spicata* L. American Journal of Innovative Research and Applied Sciences, pp : 226-233.

**Erdman, J. W., Bierer, T. L., & Gugger, E. T. (1993).**Absorption and transport of carotenoids. Annals of the New York Academy of Sciences, 691(1), 76-85.

**Esseh, K., Afanyibo, Y. G., Ahama-Esseh K.Y.S., Idoh, K., Koudouvo K.,**

**Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. l'actualité chimique , 108 (10), 832.

## Références bibliographiques

---

**Ganther, H. E. (1999).** Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention : complexities with thioredoxin reductase. *Carcinogenesis*, 20 (9), 1657-1666.

**Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.

**Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.

**GHEDJATI, N. 2018.**Toxicité aiguë et subaiguë des alcaloïdes naturels et synthétiques des graines du datura stramonium.

**Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M. (2001).**Le préparateur en pharmacie dossier 2èmeEd TEC&DOC. Paris. pp275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).

**Ghourri, M., Zidane, L., Douira, A. 2013.** Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). *JAPS*, 17(1), 2388-2411

**Gorai.,M, Laajili.,W, Santiago., L.S ,Neffati.,M.2014** .Rapid recovery of photosynthesis and water relations following soil drying and re-watering is related to the adaptation of desert shrub *Ephédra alata* subsp. *alenda* (Ephedraceae) to arid environments .*Environmental and Experimental Botany* 109.113\_114pp.

**Gorham, J. (1977).**Lunularic acid and related compounds in liverworts, algae and Hydrangea.*Phytochemistry*, 16(2), 249-253.

**Goudable, J., & Favier, A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11(2), 115-120.

**Guan, W., Li, S., Yan, R., Tang, S., & Quan, C. (2007).**Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chemistry*, 101(4), 1558-1564.

**Guignard, J.L. (1998).**Abrégé de botanique. Masson (Ed). Paris, 212p.

**Gurley., B.J, Gardner., S.F , Hubbard., A .2000** . Content versus label claims in Ephedra cnotaining dietary supplements .57 : 963-969..

**Gutteridge J. (1992).** Invited review free radicals in disease processes : a compilation of cause and consequence. *Free Rad Res Comm.* 19, 598-620.

## Références bibliographiques

---

**HADJADJ., K , DAOUDI., B.B ,GUERINE.,L .2020 .** Importance thérapeutique de la plante *Ehedra alata* subsp. *alenda* dans la médecine traditionnelle pour la population de la région de Guettara (DJELFA, ALGÉRIE) .Revue de botanique, Nouvelle série N° 201.

**Hadjadj.,K , Benaissa .,M , Mahammedi.,M , Ouragh., A , Rahmoue.,A . 2019.** Importance des plantes médicinales pour la population rurale du Parc National de djebel Aissa (sud ouest algérien). Le jeunia, Révue de botanique , Nouvelle série N° 199.

**Harrar, A.E.N., (2012).** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de Magister Biochimie et physiologie expérimentale, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie.73 p.

**Hartmann, T. (2007).** From waste products to ecochemicals : fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*.p68, 2831–2846.

**Haslam E, 1998.** Pratical polyphenolics : From Structure to Molecular Recognition and physiological Action. Ed. Cambridge University Press, Cambridge.UK.422p.

**Haslam, E., &Cai, Y. (1994).** Plant polyphenols (vegetable tannins) : gallic acid metabolism. *Natural product reports*, 11, 41.

**Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. p1, 3-6.

**Hercberg S, Czernichow S, Galan P. (2006).** Antixoydants et prévention des maladies chroniques : synthèse des principaux résultats de l'étude SU.VI.MAX. *STV*; 18/6 : 325-330.

**Hikino H., Takahashi M., et Konno C., 1982-** Structure of Ephedrannin a, a hypotensive principle of Ephédra roots. *Tetrahedron Letters*, Vol. 23, N°.6, pp. 673-676.

**Hoult, J. R. S., & Paya, M. (1996).** Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins : natural products with therapeutic potential. *General Pharmacology : The Vascular System*, 27(4), 713-722.

**Jaradat.,N ,Hussen.,F ,Al Ali.,A .2015 .** Preliminary phytochemical screening, quantitative estimation of total flavonoids, total phenols and antioxidant activity of *Ephedra alata decne*.J. *Mater. Environ. Sci.* 6 (6) .1771pp.

**Kahlouche-Riacht F, 2014 -** Evaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie, Thèse de doctorat, Université de Constantine1,111p.

## Références bibliographiques

---

**Kamra D.N; Agrwal N; Chaudhary L.C;2006.** Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds .International Congress Series .Vol.(1293) : 156-163.

**Khenaka, K. (2011).** Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin, Diplôme de Magister En Microbiologie Appliquée, Université Mentouri Constantine. p19,

**Lefébure, C. (1999).** La France des pharmacies anciennes. Privat.

**Limberger., R. P, Jacques., A. L. B , Schmitt.,G.C, Arbo., M. D. 2013** Pharmacological effects of ephedrine, Natural products (ouvrage) : 1218-1237. **PETERS C. M., O'NEILL J. O., YOUNG J. B., 2005.** Is there an association between Ephédra and heart failure? A case series. Journal of cardiac failure 11 (1) : 1-9

**Ma., G, Bavadekar., S. A, Davis., Y. M, Lalchandani., S. G, Nagmani., R, Schaneberg., B.T., ... ,Feller., D.R. 2007.** Pharmacological effects of ephedrine alkaloids on human  $\alpha$ 1-and  $\alpha$ 2-adrenergic receptor subtypes. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 322(1), 214-221.

**Macheix J., Fleuriet A., Jay C. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux, un exemple des métabolites secondaires. Collection Biologie, pp.1-11.

**Maged.,S.A ,Fahima., F.K ,Rokia.,M.A .2003 .** Tow alkaloids from *Ephedraaphylla* growing in Egypt .Natural product science 9(2).52pp.

**Makkar, H.P.S. (2003).** Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. Small Ruminant Research, p49, 241-256.

**Malecky M, 2005** -Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins, Thèse de doctorat, l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech) ,Paris .p9, 13-19, 20, 27. 201.

**Mekhaldi, A., Bouznad, A., Djibaoui, R., Hamoum, H. (2014).** Phytochemical Study and Biological Activity of Sage (*Salvia officinalis* L.). International Journal of Bioengineering and Life Sciences, Vol : 8, No : 11, pp : 1253-1257.

Mercan, D. (2010). Le stress oxydatif. Lausanne, Unilabs.

## Références bibliographiques

---

**Merghem R ;2009.** Livre des éléments de biochimie végétale p115-116-118-120-121-124-127-135-137-143-144-152-153-157-158.

**Mohammedi, Z. (2013).** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie (Doctoral dissertation). pp : 113

**Moussa, Z., Zaher M.A., Judeh and Saleh, A., Ahmed. (2019).** No enzymatic Exogenous and Endogenous Antioxidants.DOI : 10.5772/intechopen.87778 book. Jacques, B., et André, R., (2004). Biochimie métabolique Ed ellipses .Paris. pp : 217-219.

**Nawwar., M. A, El-Sissi., H.aa .I ,Barakat., H. H. 1984.** Flavonoid constituents of Ephedra alata.Phytochemistry, 23(12), 2937-2939. 6-118-120-121-124-127-135-137-143-144-152-153-157-158

**Negre-Salvayre, A., & Salvayre, R. (2005).** Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif : Implication en physiopathologie vasculaire. Oléagineux, Corps gras, Lipides, , 12 (5-6), 433-438.

**Newman DJ; Cragg GM; 2012-Natural products As Sources of New Drugs over the 30Years from 1981 to 2010.** J. Nat.Prod.Vol. (75) : 311-335.

**Nimse, S.B et pal, D. (2015),** Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms journal is © The Royal Society of Chemistry, RSC Adv 5, 27986– 28006 – 27989.

**Ould El Hadj., M , Hadj-Mahammed., M Zabeirou, H. (2003).**Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional est). n°3, pp.47\_51

**Ozenda, P. (1991).** Flore et végétation du Sahara. Centre National De La Recherche Scientifique, Paris, 3éme Ed. 662pp.

p83-94.

**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.

**Peeking A; Picand B; Hacene K; Lokies F; Guerin P;1987-Oligimères procyanidolique (Endotélon) et système lymphatique. Artères et veines. Publications médicales AGCF.Vol (6) : 512-513.**

## Références bibliographiques

---

**Pincemail J, Meurisse M, Limet R, Defraigne JO. (1999).** L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaiss Coeur Poumons*. 4(5), 359-370.

**Richter G.1993.** Métabolismes des végétaux : physiologie et biochimie, pp.288-377.

**Rouvillois-Brigol. 1975.** Les pays de Ouargla (Sahara algérienne). Ed département géographique. Paris, Sorbonne, 310 p.

**Sarri., M , Mouyeta.,F.Z , Benziane., M , Cherieta.,A .2014 .**Traditional use of medicinal plants in a city at steppic character (M'sila, Algeria). *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 2 (2), 32.

**Schaneberg .,B .T , Crockett ., S , Bedir .,E , Khan ., I. A .2002 .**The role of chemical fingerprinting : application to Ephédra .*Phytochemistry* 62 (2003) 911.–918

**Shahidi, F. a. (2015).** Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices : Antioxidant activity and health effects–A review. *Journal of functional foods* , 18, 820-

**Sies H. (1993).** Oxidative stress : from basic research to clinical application. *Amer J of Med*. 91, 31S-38S.

**Sohal, R. S., Mockett, R. J., & Orr, W. C. (2002).** Mechanisms of aging : an appraisal of the oxidative stress hypothesis 1, 2. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(5), 575-586.

**Strack, D. (1997).** 10 Phenolic Metabolism. *Plant biochemistry*, 387.

**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), 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.

**Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M. et Telser J., 2007-** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, Vol. 39, pp. 44-84.

**Vertuani, S., Angusti, A., & Manfredini, S. (2004).** The antioxidants and pro-antioxidants network : an overview. *Current pharmaceutical design*, 10(14), 1677-1694.

**Vertuani, S., Angusti, A., & Manfredini, S. (2004).** The antioxidants and pro-antioxidants network : an overview. *Current pharmaceutical design*, 10(14), 1677-1694.

## Références bibliographiques

---

**Wilfred .V et Ralph .N. (2006).**Phenolic compound biochemistry Ed Springer .USA. 24p.

**Wiseman, H., Halliwell, B., 1996.** Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species : role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem J* 313 ( Pt 1), 17-29.

**YAHIAOUI, A., L. SILET AND W. MAZOZ2018.**Contribution à l'étude des extraits de l'espèce *Ephédra alata* Alanda de la région de Sigus.

**Yashaswini, Sh., John, F and Jim, S. (2019).**Ethnobotany, phytochemistry, cultivation and medicinal properties of Garden sage (*Salvia officinalis* L.).*Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*; 8(3) : 3139-3148.

**Yosra Baratli, 2014,** ETUDE DE LA TOXICITE DES NANOPARTICULES D'OXYDE DE FER CHEZ LE RAT ANALYSES MITOCHONDRIALES ET DU STRESS OXYDANT, THESE DE DOCTORAT ; p37-38.

**ZHENG E., NAVARRO V., 2016.** Liver injury due to herbal and dietary supplements : Areview of individual ingredients, *Clinical liver disease* 7 : 81 p.