



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

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Biotechnologie
Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes
Réf :

Présenté et soutenu par :

➤ **Chahrazed KAROUI**

➤ **Ikhlas HAMMI**

Le : 29 juin 2022

Thème

Synthèse bibliographique des activités
biologiques des différents extraits d'une
plante médicinale (*Ephédra alata*)

Jury :

Mme. Kriker Soulef	MAA	Université de Biskra	Présidente
Mme. Bellebcir Leila	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. Boucif Asma	MCB	Université de Biskra	Examinatrice

Année universitaire: 2021-2022

Remerciements

Au-dessus de tout, nous tenons à remercier **ALLAH** le tout Puissant, le tout Miséricordieux, de nous avoir permis d'atteindre ce niveau d'étude et pour nous avoir donné la santé, la force, le courage et la volonté d'achever notre humble recherche.

Nous remercions et exprimons notre reconnaissance à **M^{me} BELLEBCIR LEILA**, Maître assistante au département de Biologie, Université Mohamed Khider - Biskra, pour avoir accepté de nous encadrer, pour ses précieux conseils, ses observations et sa disponibilité qui nous ont été d'une grande utilité tout au long de ce travail.

Des remerciements également aux **Membres du Jury**, président et examinateur, pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre modique étude et pour avoir accepté d'examiner, d'évaluer et d'enrichir par leurs propositions, cette recherche.

On remercie également tous nos **Amis et Collègues** de la promotion de Biotechnologie et valorisation de plante 2021/2022.

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de la présente étude.

Dédicace

En guise de reconnaissance, Je dédie ce travail à
Sources de mes joies, secret de ma force, Le support de ma vie, *Les plus chères personnes*
dans le monde, *mes parents*; qui ont toujours fait leur maximum, en sacrifiant leur temps, qui
n'ont jamais cessé de m'encourager, de m'épauler et m'ont soutenu moralement par leur
présence. C'est grâce à vous et pour vous que j'ai fait ce mémoire.

À la bougie de ma vie *mon grand père* Mouhamed.

À *mes adorables soeurs*: Samiha, Ahlem, Selma, Ismahene, Ikhlas, Niamet Aallah.

Pour leurs soutiens et encouragements permanents tout au long de mon parcours.

À *mes chers frères*: Riadh, Ali, Aures.

À *mes neveux*: Siradj, Acil, Batoul, Djana, Houdhaifa.

À *toutes les personnes de ma grande famille maternelle et paternelle*

À *mes chères et proches amies*

Hadjer, Afef, Khadidja, Rayene, Maroua, Sara, Amna, Hanene, Dhikra, Rania.

En souvenirs de nos éclats de rire et des bons moments, en souvenir de tout ce qu'on a vécu
ensemble. Merci d'être dans ma vie

Chahrazed

C'est, ici, l'occasion pour dédier ce travail aux

Mes parents, sont la source de mes efforts, mon exemple éternel, mon soutien moral et
source de joie et de bonheur, qui se sont toujours sacrifiés pour me voir réussir, Que Dieu

Tout Puissant vous accorde santé, bonheur et longue vie

À *mes très chère sœurs* : Lamia, Wissem, Imene

Et leurs enfants : Loudjaine, Mayssem, Israa, Tassnim, Mariem, Med Amine

À *mes très cher frères* : Ibrahim, Abderraouf

À *ma chère amie* : Hanine Baara

qui ont toujours fait leur maximum, qui n'ont jamais cessé de m'encourager, de m'épauler et
m'ont soutenu moralement par leur présence.

À toute ma famille de près ou de loin

À toutes mes amies

À tous ceux qui me connaissent

Ikhlas

Table des matières

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1
Première partie : Synthèse bibliographique	
Chapitre 01: Généralités sur l'espèce <i>Ephédra alata</i>	
1.1. La famille Ephedraceae.....	3
1.2. Espèce <i>Ephédra alata</i>	3
1.2.1. Position systématique.....	3
1.2.2. Description botanique.....	3
1.2.3. Répartition géographique.....	4
1.2.3.1. Dans le monde.....	4
1.2.3.2. En Algérie.....	5
1.2.4. Utilisation.....	5
1.2.5. Toxicologie.....	6
1.2.6. Chimie de la plante	6
Chapitre 02: Le métabolite secondaire et les activités biologiques	
2.1. Définition générale.....	8
2.2. Fonction des métabolites secondaires.....	8
2.3. Types des métabolites secondaires.....	8
2.3.1. Les polyphénols	8
2.3.2. Les terpènes	9
2.2.3. Les alcaloïdes.....	9
2.4. Activité biologique de la plante	9
2.4.1. Activité antioxydante.....	10
2.4.1.1. Radicaux libres	10
2.4.2. Activité antibactérienne.....	10

2.4.3. Activité antifongique	10
2.4.4. Activité anti-inflammatoire.....	10
2.4.5. Activité anticancéreuse.....	11

Deuxième partie : Synthèse des activités biologiques menées sur *Ephédra alata*

Chapitre 03 : Synthèse de la partie matériel et méthode

3.1. Matériel végétal.....	12
3.1.1 Récolte et séchage	12
3.2. Les microorganismes utilisés.....	13
3.3. Extraction.....	13
3.3.1. Extrait aqueux.....	13
3.3.2. Extrait alcoolique.....	14
3.4. Analyses qualitatives.....	14
3.4.1. Tests phytochimiques.....	14
3.4.1.1. Test de phénols et tanins.....	15
3.4.1.2. Test de saponines.....	15
3.4.1.3. Test de terpénoïdes.....	15
3.4.1.4. Test de Keller Kilani.....	15
3.4.1.5. Test de flavonoïde.....	15
3.4.1.6. Test des alcaloïdes.....	16
3.4.1.7. Tests de protéines.....	16
3.4.1.8. Tests pour les glucides.....	16
3.4.1.9. Test de stéroïde.....	16
3.4.1.10. Tests pour les glycosides.....	17
3.5. Analyses quantitatives.....	17
3.5.1. Dosage des polyphénols totaux.....	17
3.5.2. La techniques HPLC.....	18
3.5.2.1.Principe.....	18
3.5.2.2. Le protocole de la technique HPLC.....	18
3.6. Activités biologique.....	19
3.6.1. Activité antioxydante.....	19
3.6.1.1. Test du piégeage du radical libre DPPH.....	19
3.6.1.1.1. Principe du test.....	19

3.6.1.1.2. Protocole de l'activité anti-radicalaire par le test DPPH.....	19
3.6.1.2. Détermination du pouvoir réducteur ferrique des extraits (test de FRAP).....	20
3.6.1.2.1. Principe.....	20
3.6.1.2.2. Méthode de dosage.....	20
3.6.1.3. Dosage de la capacité antioxydante totale (dosage du phosphomolybdate PPM).....	20
3.6.1.3.1. Principe.....	20
3.6.1.3.2. Méthode de dosage.....	20
3.6.2. Activité antibactérienne.....	21
3.6.3. Activité antifongique.....	21
3.6.4. Activité anti-inflammatoire.....	22
3.6.4.1. Test de dénaturation de l'albumine sérique bovine.....	23
3.6.4.2. Test de dénaturation de l'albumine d'œuf.....	23
3.6.5. Activité anticancéreuse.....	23
3.6.5.1. L'activité antiprolifératif.....	23
3.6.5.1.1. Culture de cellules.....	23
3.6.5.1.2. Test MTT antiprolifératif	24
3.6.5.2. Expériences de croissance tumorale.....	24

Chapitre 04 : Résultats et discussion

4.1. Le rendement d'extraction.....	26
4.2. Analyses qualitatives.....	26
4.3. Analyses quantitatives.....	28
4.3.1. Teneur en phénol totaux.....	28
4.3.2. Technique HPLC.....	30
4.4. Activités biologique.....	33
4.4.1. Activité antioxydante.....	33

4.4.1.1. Test DPPH.....	33
4.4.1.2. Pouvoir antioxydant réducteur ferrique.....	35
4.4.1.3. La capacité antioxydante totale.....	36
4.4.2. Activité antibactérienne.....	37
4.4.3. Activité antifongique.....	38
4.4.4. Activité anti-inflammatoire.....	39
4.4.4. 1. Activités d'inhibition de la dénaturation des protéines.....	40
4.4.4.1.1. Inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine.....	40
4.4.4.1.2. Inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œuf.....	41
4.4.5. Activité anti cancéreuse.....	41
4.4.5.1. Test MTT antiprolifératif.....	41
4.4.5.2. Expériences de croissance tumorale.....	43
Conclusion	45
Références bibliographiques.....	47
Annexes	
Résumés	

Liste des tableaux

Tableau 01: La position systématique d' <i>Ephédra alata - alenda</i> selon Ozenda (1991).....	1
Tableau 02: Lieu et temps de récolte d' <i>Ephédra alata</i>	12
Tableau 03: Rendement d'extraction des extraits d' <i>Ephédra alata</i> (Bourgou <i>et al.</i> , 2020; Benarba <i>et al.</i> , 2021; Hibi <i>et al.</i> , 2022).....	26
Tableau 04: Criblage phytochimique d'extraits aqueux et méthanoïques d' <i>Ephédra alata</i> (Jaradat <i>et al.</i> , 2015; Benarba <i>et al.</i> , 2021).....	27
Tableau 05: Criblage phytochimique d' <i>Ephédra alata</i> (Hibi <i>et al.</i> 2022) Béni Abbes (Algérie).....	28
Tableau 06: Teneur des phénols totaux des extraits d' <i>Ephédra alata</i> (Jaradat <i>et al.</i> , 2015; Ibragic et Sofic, 2015; Kmail <i>et al.</i> , 2017; Al rimawi <i>et al.</i> , 2017; Bourgou <i>et al.</i> , 2020; Elhadef <i>et al.</i> , 2020 ; Benarba <i>et al.</i> , 2021).....	28
Tableau 07: Identification du composé phénolique (mg/g) d' <i>Ephédra alata</i> (Bourgou <i>et al.</i> , 2020).....	30
Tableau 08: Comparaison entre la teneur en composés phénoliques dans la tige de la plante <i>Ephédra alata</i> son tissu cals dérivé (Hegazi et El-lamey, 2011).....	32
Tableau 09: IC ₅₀ des extraits d' <i>Ephédra alata</i> (Jaradat <i>et al.</i> , 2015; Bourgou <i>et al.</i> , 2020; Benarba <i>et al.</i> , 2021; Hibi <i>et al.</i> , 2022).....	33
Tableau 10: Pouvoir réducteur des extraits d' <i>Ephédra alata</i> (Bourgou <i>et al.</i> , 2020).....	35
Tableau 11: Capacité antioxydante totale des extraits d' <i>Ephédra alata</i> (Bourgou <i>et al.</i> , 2020; Benarba <i>et al.</i> , 2021).....	36
Tableau 12: L'activité antibactérienne de différents extraits d' <i>Ephédra alata</i> (Ghanem et Elmagly., 2008 ; Hibi <i>et al.</i> , 2022).....	37
Tableau 13: L'activité antifongique de différents extraits d' <i>Ephédra alata</i> (Ghanem et Elmagly., 2008).....	38

Liste des figures

Figure 01 : Port général d' <i>Ephédra alata - alenda</i> (Stapf) Batt. & Trab ; rameau fleurit (B) et fleur en épanouissement (C) (Palici, 2016).....	4
Figure 02 : Répartition géographique de l' <i>Ephédra</i> dans le monde (Caveney <i>et al.</i> , 2001)....	5
Figure 03 : Alcaloïdes d'éphédra d'origine naturelle (Abourashed <i>et al.</i> , 2003).....	7
Figure 04 : Chromatogrammes HPLC-PDA superposés d'extrait aqueux (bleu), d'éthanol à 80 % (vert) et d'éthanol à 100 % (rouge) d' <i>Ephédra alata</i> à 350 nm. Les spectres UV-Vis superposés des principaux pics sont représentés dans le coin droit (Al rimawi <i>et al.</i> , 2017).....	33
Figure 05 : Pouvoir réducteur des extraits d' <i>Ephédra alata</i> Algérienne (Benarba <i>et al.</i> , 2021).....	36
Tableau 06 : Contenu phénolique total des extraits d' <i>Ephédra alata</i> (Jaradat <i>et al.</i> , 2015; Ibragic et Sofic, 2015; Kmail <i>et al.</i> , 2017; Al-rimawi <i>et al.</i> , 2017; Bourgou <i>et al.</i> , 2020; Elhadef <i>et al.</i> , 2020 ; Benarba <i>et al.</i> , 2021).....	39
Figure 07 : Effet des fractions d' <i>Ephédra alata</i> sur l'inhibition de la production de NO dans les macrophages RAW 264.7 stimulés par le LPS (Bourgou <i>et al.</i> , 2020).....	39
Figure 08 : Activité d'inhibition de la dénaturation des protéines de l'albumine sérique bovine des extraits d' <i>Ephédra alata</i> (Benarba <i>et al.</i> , 2021).....	40
Figure 09 : Activité d'inhibition de la dénaturation des protéines de l'albumine d'œuf des extraits d' <i>Ephédra alata</i> (Benarba <i>et al.</i> , 2021).....	41
Figure 10 : L'inhibition de la croissance cellulaire pour la lignée cellulaire de cancer du sein humain MCF-7 après 72 h d'incubation avec l' <i>Ephédra alata</i> Tunisienne (Danciu <i>et al.</i> , 2018).....	42
Figure 11 : L'analyse de cytotoxicité de l'extrait d' <i>Ephédra alata</i> Tunisienne à une concentration de 30 g/ml sur des cellules MCF-7 (après 72 h de stimulation) (Danciu <i>et al.</i> , 2018).....	42
Figure 12 : Combinaison d' <i>Ephédra alata</i> /CDDP synergisée pour inhiber la croissance tumorale et prévenir les hépato- et néphrotoxicités du CDDP (Sioud <i>et al.</i> , 2020).....	43

Liste des abréviations

AAE: Acide ascorbique équivalente.

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium.

ALT: L'alanine transaminase.

AST: L'aspartate transaminase.

ATCC: American Type Culture Collection.

BHA: Butylé l'hydroxyanoside.

C₂H₈: Isoprène.

CAT: La capacité antioxydante totale.

CDDP: Cis-diaminedichloroplatine.

CO₂: Dioxyde de carbone.

Cr: La créatinine.

DMSO: Diméthylsulfoxyde.

DPPH: 2.2 diphényl-1 picrylhydrazyl.

EA: Extrait méthanoïque d'*Ephédra alata*.

EC₅₀: Concentration Efficace médiane.

EtOAc: Acétate d'éthyle.

EtOH: Ethanol.

Fe²⁺: Ions ferreux.

Fe³⁺: Ions ferrique.

FeCl₃: Chlorure de fer.

FRAP: Ferric ion Reducing Antioxidant Power.

GA: Acide gallique.

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène.

H₂SO₄: Acide sulfurique.

HC: Hydrolysate de caséine.

HCl: Acide chlorhydrique.

Hex: Hexane

HPLC: High Performance Liquid Chromatography.

HPLC-PDA: High-performance liquid chromatography photodiode array detection method.

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice médiane.

K₃Fe(CN)₆ : Ferricyanure de potassium.

LC DAD ESI MS: Liquid chromatography coupled to diode array detection and electrospray ionization tandem mass spectrometry.

LPS: Lipopolysaccharide.

MoO²⁺ : Ions molybdène.

MoO₄²⁻ : Ions molybdate.

MS: Matière sèche.

MTT: Bomure de 3-(4,5 diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium.

NaHCO₃: Bicarbonate de sodium.

NaNO₃: Nitrate de sodium.

NaOH: Hydroxyde de sodium.

NH₄OH: Ammoniaque.

NO[•] : Oxyde nitrique.

O₂^{•-} : Anion superoxyde.

OH[•] : Radical hydroxyle.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

ON: Oxyde nitrique.

PAL: La phosphatase alcaline.

PBS: Phosphate Buffer Saline.

pH: Potentiel d'Hydrogène.

PPM: Phosphomolybdate.

SBF: Sérum Bovin Fœtal.

SD: Standard deviation.

SEM: Erreur standard de la moyenne.

UPLC-MS: Ultra performance liquid chromatography - tandem mass spectrometer.

USA: United States of America.

UV: Ultraviolet.

V: Volume.

Introduction

Introduction

Dans le monde, les plantes ont été utilisées toujours comme médicaments. Les médicaments à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques. Les industries pharmaceutiques sont de plus en plus intéressées par l'étude ethnobotanique des plantes.

Les plantes médicinales sont des plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles (médicaments).

L'utilisation des plantes médicinales en thérapeutique à travers le monde est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès de la population et cela malgré les progrès de la médecine moderne. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2008), plus de 80 % de la population mondiale a recours à la médecine dite traditionnelle pour faire face à ses problèmes de santé (Salhi *et al.*, 2010).

Selon une estimation, plus de 300 000 espèces sont décrites à travers le monde, et 15% d'entre elles ont été étudiées sur le plan phytochimique dont 6% pour leurs activités biologiques (Negri et Tabach, 2013), ce qui rends les plantes un réservoir de molécules bioactives encore peu exploré chimiquement et biologiquement.

C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés à l'évaluation de quelques activités biologiques et à la caractérisation phytochimique de l'espèce végétale *Ephedra alata* de la famille Ephedraceae, qui pousse dans les régions arides et semi arides. Cette plante est connue pour son utilisation en médecine traditionnelle (Abourashed, 2003). Elle est également utilisée dans l'aspect agricole comme plante naturelle pesticide pour lutter contre certaines maladies fongiques qui affectent négativement le rendement de certaines cultures agricoles. Il est également réputé pour sa grande tolérance à la carence en eau et sa richesse en métabolites secondaires.

Et en raison du fait que cette plante a des propriétés biologiques très efficaces.

La mise en forme proposée pour ce document retient les normes prescrites par le département qu'il s'agit d'une étude théorique menées sur des travaux effectués sur plusieurs

activités biologique d'une plante médicinale *Ephedra alata*. Ainsi, ce travail est présenté en deux parties:

- **La première partie** est consacrée à une étude bibliographique dans laquelle nous avons résumé des généralités (description botanique, répartition et utilisation de la plante étudiée et leurs métabolites secondaires et les activités biologiques).

- **La deuxième partie** résulte d'une synthèse compilant des publications récentes réalisées sur des activités biologiques tel que : activités antioxydants, antimicrobienne, anti-inflammatoire, anticancéreuse.

Le manuscrit s'achève par une conclusion avec quelques perspectives offertes par les différents résultats obtenus à partir de l'analyse des articles scientifiques utilisés pour la synthèse de cette étude.

Première partie:
Synthèse bibliographique

Chapitre 01:
Généralités sur l'espèce
Ephédra alata

1.3. La famille Ephedraceae

Les Ephédraceae sont des plantes phylogénétiquement très anciennes appartenant au groupe des gymnospermes « graines nues », qui ne renferment qu'un seul genre Ephédra. Ce sont des petits arbres à branches minces, anguleuses et striées dont les feuilles sont réduites à des écailles membraneuses (Lee, 2011) .le genre Ephédra inclue environ 40 espèces, dont la plupart sont utilisée comme remèdes dans la phytothérapie traditionnelle (Evans, 2009; Bagheri-Gavkosh *et al.*, 2009; Gherraf *et al.*, 2014). Parmi ces espèces: *Ephédra alata*, *Ephédra lristanica*, *Ephédra sarcocarpa*, *Ephédra strobiliacea*, *Ephédra procera* et *Ephédra pachyclada* (Rustaiyan *et al.*, 2011).

1.4. Espèce *Ephédra alata*

1.4.1. Position systématique

La systématique d'*Ephédra alata*, est donnée dans le tableau 01.

Tableau 01 : La position systématique d'*Ephedra alata - alenda* selon Ozenda (1991).

Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Gymnospermes
Classe	Gnetopsida
Ordre	Ephédrales
Famille	Ephédraceae
Genre	Ephédra
Espèce	<i>Ephédra alata</i>
Sous espèce	<i>Ephédra alata alenda</i>

1.4.2. Description botanique

Il s'agit de l'un des rares arbustes des zones sahariennes (Fig.01), également considéré comme nanophanérophyte au sens de Raunkiaer (1934). C'est un arbuste vivace, rigide, jaune-vert, densément ramifié, de 40 à 100 cm de hauteur et souvent plus large que haut (Palici, 2016).

Les rameaux sont articulés et portent au niveau des noeuds des feuilles réduites en écailles et opposées. Les fleurs unisexuées sont groupées en petits cônes. Les fleurs mâles et femelles sont généralement sur des pieds différents (dioïques) (Palici, 2016). Toutefois, on peut dans certains cas observer des individus portant les deux types de fleurs. La plante présente un système de racines latérales extrêmement puissant. La floraison en hiver et au printemps (Ozenda, 1991; Derbel *et al.*, 2010).

Au niveau écologique, la plante est une excellente espèce fixatrice de sable éolien. Toutefois, la qualité de son charbon de bois, apprécié par les populations sahariennes, l'expose au déboisement (Palici, 2016; Danciu *et al.*, 2019).

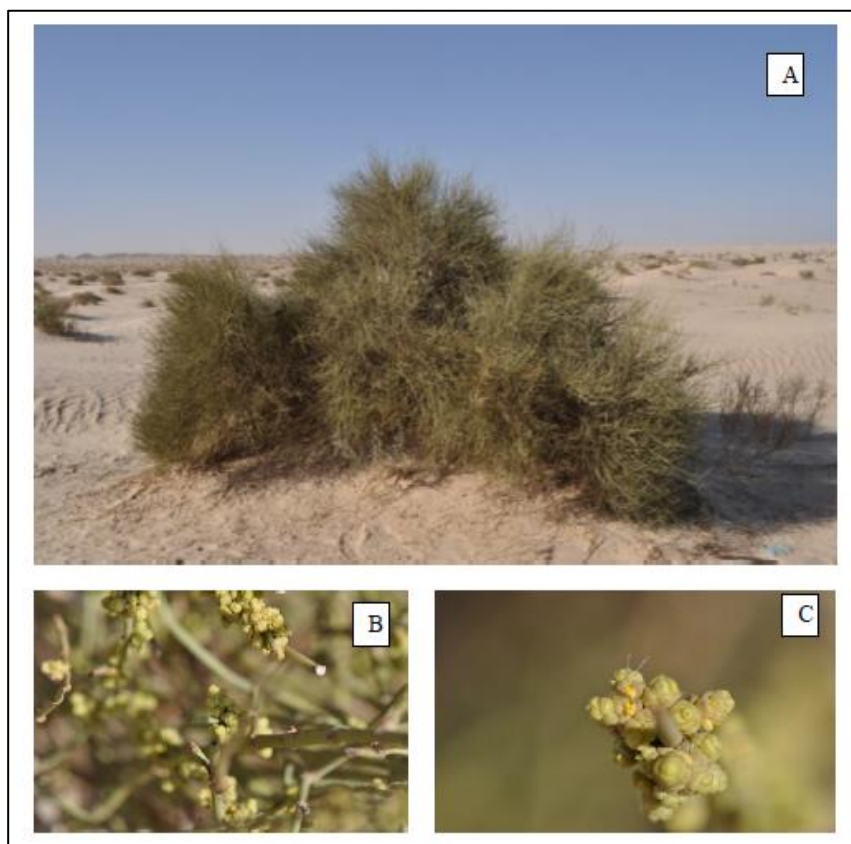


Figure 01 : Port général d'*Ephédra alata - alenda* (Stapf) Batt. & Trab; rameau fleurit (B) et fleur en épanouissement (C) (Palici, 2016).

1.4.3. Répartition géographique

1.4.3.1. Dans le monde

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

- L'Afrique: Algérie, Egypte, Libye, Maroc, Tunisie, Mauritanie, Tchad, Mali.
- L'Asie: Arabie Saoudite, Irak, Iran, Palestine, Liban, Jordanie, Syrie et pousse surtout dans le nord et l'ouest de la Chine, le nord de l'Inde.
- l'Amérique: aux États-Unis, l'*Ephédra* pousse au long des montagnes Rocheuses (Al-Snafi, 2017; Bell et Bachman, 2011).

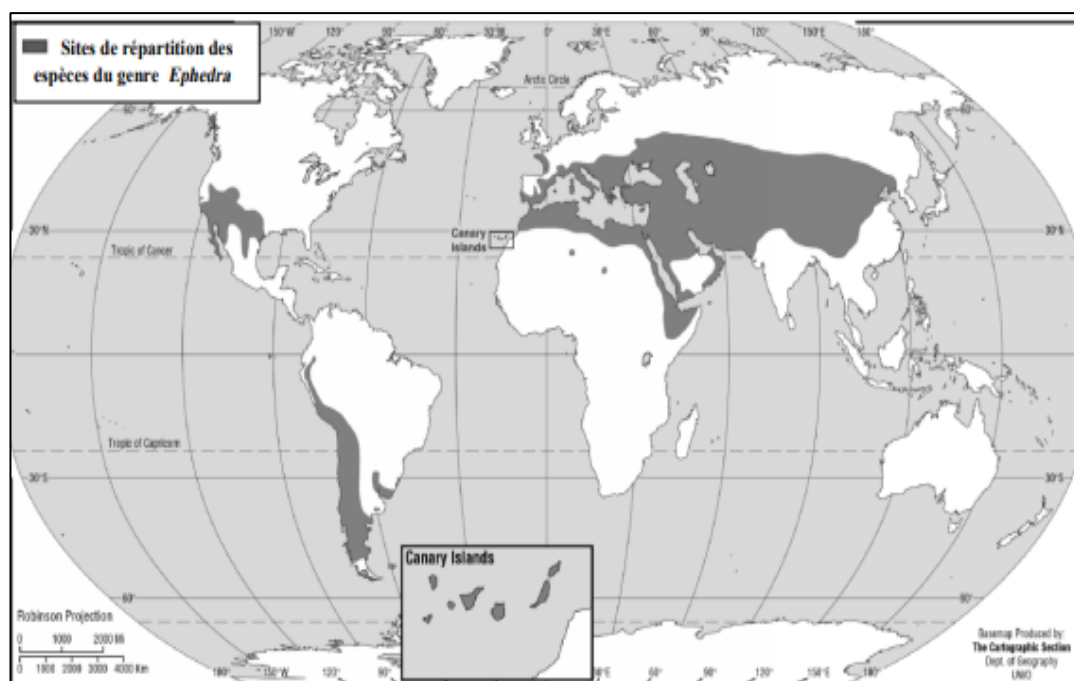


Figure 02 : Répartition géographique de l'Ephédra dans le monde (Caveney *et al.*, 2001).

1.4.3.2. En Algérie

En Algérie, elle se trouve dans le Sahara septentrional et occidental au niveau des terrains sableux, des regs et du lit sablonneux des oueds. Elle est même rencontrée dans le sable de l'étage tropical et la Hamada de Tinghert (Ozenda, 1991).

1.4.4. Utilisation

Les espèces du genre Ephédra sont parmi les plus anciennes herbes médicinales connues de l'humanité (Abourashed *et al.*, 2003). L'abondance de principes actifs confère à la plante des propriétés pharmacologiques remarquables, qui pourraient justifier ses multiples indications thérapeutiques et pour lesquelles elle est utilisée en thérapeutique traditionnelle (Konkon *et al.*, 2006). En Algérie, *Ephédra alata* est utilisé contre la grippe, la coqueluche et la faiblesse générale en tisane et par inhalation ainsi que sous forme de gouttes nasales contre le rhume (Ould El Hadj *et al.*, 2003).

La tige d'*Ephédra alata* contient des alcaloïdes: l'éphédrine et la pseudo éphédrine qui sont utilisées pour le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, de l'asthme et des maladies virales. L'utilisation de cette plante est également connue pour être associée à des manifestations gastro-intestinales et psychiatriques (Peters *et al.*, 2005).

La partie aérienne des espèces: *E. sinica*, *E. equisetina*, *E. intermedia*, *E. distachya*, *E. gerardiana*, *E. minuta* a été traditionnellement utilisé en Chine pour lutter contre l'asthme bronchiale, rhume, grippe, fièvre, frissons, rhinite, congestion nasale, œdème, maux de tête,

arthralgies et comme diaphorétique, antiallergique et antitussif (Ghafour *et al.*, 2007; Soni *et al.*, 2004; Abourashed *et al.*, 2003; Hikino *et al.*, 1980).

1.4.5. Toxicologie

Toutefois, la phytothérapie n'a pas que des effets bénéfiques. Comme tout produit actif, elle peut avoir des effets indésirables, toxiques et allergiques. Des études sur les propriétés phytochimiques ou biologiques de plusieurs produits végétaux ont démontré l'action et le potentiel toxique de ces produits sur les systèmes cellulaires des mammifères. Cette toxicité dépend de la nature de la substance, de la dose, de la durée d'exposition et de différents facteurs liés à l'individu (sexe, âge, état nutritionnel et hormonal) (Chemsa et Youmbai, 2020).

Les espèces de l'Ephédra ont des effets bénéfiques et néfastes. Cliniquement, il peut en résulter une tachycardie, une hypertension, une hypersudation, une Broncho-dilatation, une agitation et une mydriase. L'utilisation de l'Ephédra est également connue pour être associée avec des manifestations gastro-intestinales et psychiatriques (Peters *et al.*, 2005). Ces effets peuvent être les raisons pour lesquelles l'utilisation de l'Ephédra est recommandée uniquement pour les situations aiguës en médecine traditionnelle chinoise et contre-indiqué pour une utilisation à long terme (Chen *et al.*, 2010).

À fortes doses, l'éphédrine provoque de la nervosité, des maux de tête, de l'insomnie, des vertiges, des palpitations, des rougeurs de peau, des picotements et des vomissements. (Blumenthal et King, 1995).

1.4.6. Chimie de la plante

Les espèces de l'Ephédra sont des sources naturelles de nombreux phytoconstituants incluant des alcaloïdes, des tanins, des saponines, des proanthocyanidines, des acides phénoliques, des flavonoïdes et des huiles essentielles (Hegazi et El-lamey, 2011). Il est bien connu dans la littérature que les propriétés biologiques traditionnelles de l'Ephédra sont attribuables en grande partie aux alcaloïdes de type éphédrine, proto-alcaloïdes dérivés de la phénylalanine (Caveney *et al.*, 2001). Etudes phytochimiques sur les espèces d'Ephédra axées sur les alcaloïdes, principalement l'éphédrine, pseudoéphédrine, noréphédrine, norpseudoéphédrine, méthyléphédrine, et la méthylpseudoéphédrine. De plus, un examen de les études existantes ont montré que la plupart des chercheurs pensent que l'activité pharmacologique des espèces d'Ephédra peut être dérivée de leur richesse en alcaloïdes (Caveney *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2018). Notons que l'éphédrine et la pseudoéphédrine sont généralement les plus abondantes, ils représentent environ 80% de la teneur en alcaloïdes dans la plante séchée (Caveney *et al.*, 2001; Soni *et al.*, 2004; Phinney *et al.*, 2005).

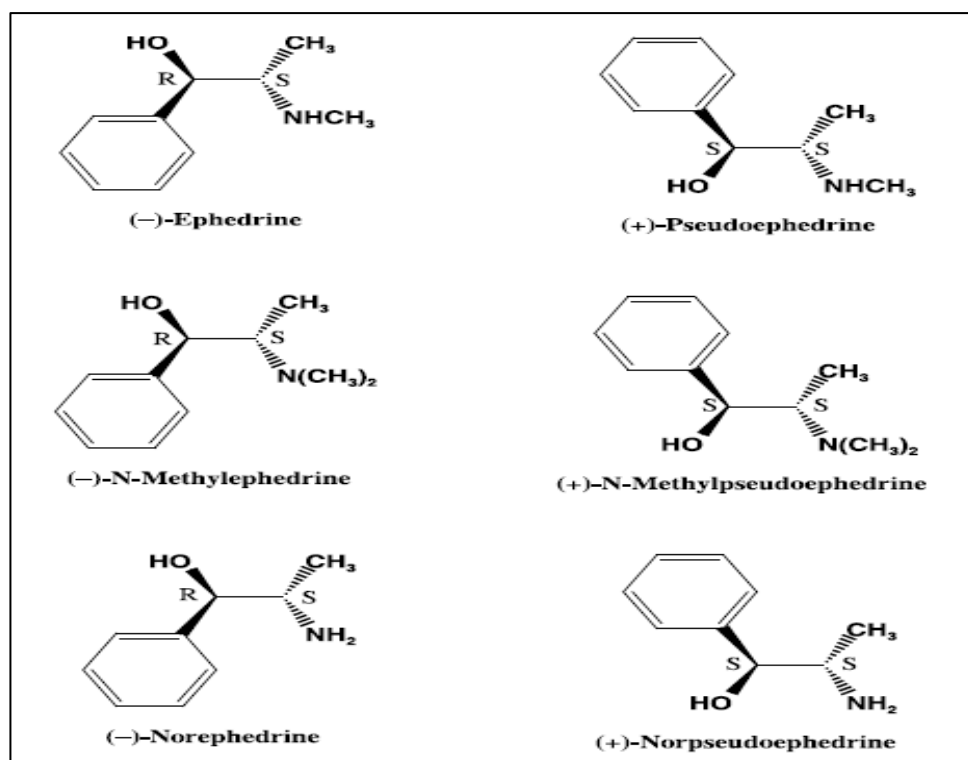


Figure 03: Alcaloïdes d'Ephédra d'origine naturelle (Abourashed *et al.*, 2003).

Chapitre 02:
Le métabolite secondaire
et les activités biologiques

2.1. Définition générale

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par l'ensemble des végétaux et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils Les métabolites secondaires sont composés de 3 principales catégories qui sont :

- Les polyphénols.
- les terpènes.
- les alcaloïdes.

Ils sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences), ou améliorent l'efficacité de reproduction. Ils sont différents dans les différentes espèces (Lutge *et al.*, 2002 ; Abderrazak et Joël, 2007).

2.2. Fonction des métabolites secondaires

Ils ont des fonctions très différentes, exemples:

- Protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores.
- Attraction des pollinisateurs.
- Ils participent à des réponses allélopathiques (compétition entre les plantes pour la germination et croissance).
- Ils sont des molécules qui sont aussi très utiles pour l'homme, comme colorants, arômes, antibiotiques, herbicides, drogues... (Nabti et Boulberhane, 2017).

2.3. Types des métabolites secondaires

2.3.1. Les polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, dérivés de la voie de l'acide shikimique et acétate/malonate, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que: éther, ester, hétéroside...(Bruneton, 1999; Lugasi *et al.*, 2003). Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois).

Parmi les composés phénolique, dont 8000 sont connus: les flavonoïdes, les quinones phénoliques, ligans, les xanthonnes, les coumarines et d'autres classes existent en nombre considérable (Al-khateeb *et al* 2014).

2.3.2. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte. Formés à partir de l'assemblage d'unités à 5 carbones l'isoprène de formule C_5H_8 . Dans les plantes, on les trouve dans les feuilles, tiges, fleurs et racines. Les terpénoïdes sont utilisés selon leurs qualités aromatiques. En thérapeutique, ils jouent le rôle d'antioxydant, d'antibactériens, d'antineoplasique (Malecky Mostafa, 2008).

2.3.3. Les alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé organique d'origine naturelle (le plus souvent végétale), dérivés d'acides aminés, azoté, plus ou moins basique, de distribution restreinte et doté, à faible dose de propriétés pharmacologiques marquées (Bruneton, 2009). Les alcaloïdes sont le plus souvent localisés dans les tissus périphériques; assises externes des écorces de tige et de racine, téguments des graine et rarement dans les tissus morts (Krief, 2003).

Les alcaloïdes sont généralement classés selon leurs précurseurs biogénétique communs et la position de l'atome d'azote, en:

- ✓ **Alcaloïdes vrais**
 - Leur biosynthèse s'effectue à partir d'acides aminés.
 - Leur atome d'azote contenu dans un hétérocycle (l'azote est intra-cyclique).
- ✓ **Proto-alcaloïdes**
 - Leur biosynthèse s'effectue à partir d'acides aminés.
 - L'atome d'azote ne faisant pas parti d'un hétérocycle (l'azote est extra-cyclique).
- ✓ **Pseudo-alcaloïdes**
 - Ne dérive pas d'acides aminés (Koné, 2018).

2.4. Activité biologique de la plante

La plante a montré un large éventail d'activités pharmacologiques, notamment antimicrobiennes Hibi *et al.* (2022), antioxydants Jardat *et al.* (2015), anticancéreuses Danciu *et al.* (2018), anti-inflammatoires Benarba *etal.* (2021), et antidiabétiques, cardiovasculaires, nerveuses, respiratoires, immunologiques, antipyrétique, analgésique et de nombreux autres effets pharmacologiques. Parmi lesquelles on cite les plus importantes

2.4.1. Activité antioxydante

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

2.4.1.1. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique contenant un ou plusieurs électrons non appariés. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour apparier son électron (Valko *et al.*, 2007).

Parmi les radicaux libres le superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'oxyde nitrique (NO^{\cdot}) (Pincemail *et al.*, 2001).

2.4.2. Activité antibactérienne

Les infections bactériennes sont causées par différents micro-organismes de Gram⁺ et Gram⁻ et sont la cause des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques (Palici, 2016). L'utilisation des antibiotiques conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes. Cette résistance est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons, intégrons) (Arshad *et al.*, 2010).

2.4.3. Activité antifongique

Les antifongiques (ou antifungiques) tirent leur nom du latin fungus qui signifie champignons. Ce sont donc des médicaments capables de traiter les mycoses, c'est-à-dire les infections provoquées par des champignons microscopiques.

Un antifongique agira soit en s'attaquant directement à la paroi fongique, provoquant ainsi la mort de la cellule (action fongicide). Soit en bloquant la division cellulaire, arrêtant ainsi la reproduction des champignons (action fongistatique) (Nabti et Boulberhane, 2017). Parmi les chercheurs qui ont utilisé la plante d'*Ephédra alata* pour détecter l'activité antifongique Hibi *et al.* (2022).

2.4.4. Activité anti-inflammatoire

Les anti-inflammatoires sont définis comme étant des substances qui agissent sur la douleur et le gonflement qui apparaissent suite à une agression d'un agent pathogènes. Elles bloquent la sécrétion ou l'action de certains médiateurs chimiques de l'inflammation (comme les prostaglandines) et donc diminuent la sensation de douleur mais aussi l'inflammation (Hajjaj, 2017; Orliaguet *et al.*, 2013). Elles sont utilisées lorsque la réaction inflammatoire se

prolonge de façon anormale (inflammation chronique) et entraîne des dommages aux tissus. Ces molécules sont classées en anti-inflammatoires stéroïdiens (cortisone et dérivés), anti-inflammatoires non stéroïdiens et anti-inflammatoires naturels comme les composés phytochimiques issus du règne végétal.

2.4.5. Activité anti cancéreuse

Plusieurs traitements contre le cancer sont disponibles. Les options de traitement dépendent de nombreux facteurs, tels que le type et le stade du cancer, et l'état de santé général. Actuellement, son traitement vise à l'éradication complète de ces cellules, en inhibant leur prolifération et en induisant leur mort. Cette stratégie fait appel à plusieurs moyens, utilisés seuls ou en combinaison : la chirurgie d'exérèse, la radiothérapie externe ou interne et les traitements médicamenteux. Parmi ces derniers nous trouvons la chimiothérapie cytotoxique, l'immunothérapie, l'hormonothérapie et les thérapies ciblées. Les options de médecine alternative peuvent aider à gérer les effets secondaires du cancer et de son traitement, tels que la fatigue, les nausées et la douleur (Mayo Clinic, 2022).

Deuxième partie:
Synthèse des activités
biologiques menées sur
Ephédra alata.

Chapitre 03:

Synthèse de la partie matériel et méthodes

Cette section fait l'objet d'une étude analytique présente sous forme d'une synthèse basée sur des recherches récentes de 15 articles scientifiques publiés (Annexe 01) servant de support à la rédaction de ce document. La recherche documentaire envisager pour cette rubrique consiste à faire collecter, sélectionner et analyser une série d'articles puis les synthétisés de façon objective à partir des données scientifiques probantes et pertinentes afin d'atteindre nos objectifs soulignés dès le début.

3.1. Matériel végétal

Les parties aériennes d'*Ephédra alata* ont été récoltée à plusieurs régions (pays) et à différentes saisons (Tab. 02)

Tableau 02: Lieu et temps de récolte d'*Ephédra alata*.

Auteurs (Année)	Lieu de récolte	Temps de récolte
Ghanem et El-magly (2008)	Désert du Caire Suez (Égypte)	/
Hegazi et El-lamey (2011)	Wadi El Bagha (Égypte)	/
Jaradat <i>et al.</i> (2015)	La région de Jénine en Cisjordanie (Palestine)	juillet 2014
Ibrajic et Sofic (2015)	Allemand	/
Palici (2016)	La région saharienne Tunisienne	Printemps 2013
Al-rimawi <i>et al.</i> , 2017	Cisjordanie (Palestine)	Février 2015
Danciu <i>et al.</i> , 2018.	Djerba (Tunisie)	/
Ziani <i>et al.</i> , 2019.	Biskra (Algérie)	Septembre 2016
Sioud <i>et al.</i> , 2020.	Tataouine (Tunisie)	Février 2017
Bourgou <i>et al.</i> (2020)	Tozeur (Tunisie)	juin 2017
Elhadef <i>et al.</i> , (2020)	Sfax (Tunisie)	Septembre 2019
Benarba <i>et al.</i> (2021)	Adrar (Algérie)	janvier 2020
Hibi <i>et al.</i> (2022)	Béni Abbes (Algérie)	Janvier 2017

/ : N'a pas mentionné dans l'article

3.1.1. Récolte et séchage

Cette étape est établie dans tous les articles synthétisés (cités dans le tableau 02). Les plantes ont été lavées puis séchées à l'ombre à température ambiante à l'abri de la lumière du soleil jusqu'à ce que toutes les parties des plantes soient bien sèches. Après séchage, les matières végétales ont été ensuite bien réduites en poudre à l'aide d'un broyeur et placées dans un récipient bien fermé à l'abri de la lumière, de la chaleur et de l'humidité. jusqu'à leur

soumission à l'extraction (Ghanem et El-magly, 2008; Jaradat *et al.*, 2015; Bourgou *et al.*, 2020; Benarba *et al.*, 2021; Hibi *et al.*, 2022).

3.2. Les microorganismes utilisés

Dans les études menées par Ghanem et El-magly (2008), ainsi que Hibi *et al.* (2022) et Palici (2016), l'ensemble des bactéries qui ont été utilisés pour tester l'activité antibactérienne d'*Ephédra alata* sont les *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, et *Escherichia coli*. Alors que l'activité antifongique a été étudiée sur l'espèce *Aspergillus fumigatus* par Ghanem et El-magly (2008). Tandis que Hibi *et al.* (2022) l'ont fait sur *Aspergillus flavus*.

3.3. Extraction

L'extraction consiste à traiter un mélange homogène ou non de liquides ou de solides par un solvant pur dans le but d'en extraire un constituant solide ou liquide (Benabdallah, 2016).

La méthode d'extraction phytochimique la plus utilisés est la macération successive, qui s'effectue par extraction par solvant organique ainsi qu'une extraction aqueuse pour extraire les principaux actifs (Derradji et Ben haoua, 2016).

3.3.1. Extrait aqueux

Ghanem et El-magly (2008) ont été utilisé 5 g de poudre végétale ont été extraites trois fois par macération l'eau, également l'extraction à l'eau de l'échantillon par autoclavage avec de l'eau a été essayée. Les extraits ont été filtrés à travers du papier Whatman et les solvants ont été évaporés. Les extraits ont été repris dans 25 ml (20 µg/100 µl W/V) d'eau distillée puis dilués à la concentration souhaitée avant utilisation.

Tandis que Jaradat *et al.* (2015), dans une fiole a préparé 5g de poudre de plante avec 250 ml d'eau distillée, Le mélange a été chauffé sur une plaque chauffante à 30°- 40°C et a mélangé sous agitation continue pendant 20 min. Le mélange a été filtré à l'aide d'un papier filtre Whatman. Le filtrat a été conservés jusqu'à l'utilisation.

Hibi *et al.* (2022) ont préparé un mélange de 10 g de poudre de plante *Ephédra alata* dans 100 ml d'eau distillée à température ambiante pendant 24 h. Le macéra obtenu est filtré pour éliminer les résidus insolubles. Par la suite, le filtrat a été condensé par évaporation, à l'aide d'un évaporateur rotatif à 75°C pour éliminer le solvant résiduel. Aussi ils ont utilisé un extrait aqueux sous reflux de la même manière presque dont il a pris 10 g de matériel végétal en poudre ont été mélangés avec 100 ml d'eau distillée dans un ballon à fond rond et porter au reflux pendant 1 h. Le mélange est ensuite filtré à l'aide d'un papier filtre. L'eau a été éliminée du filtrat par évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif à 75 °C.

Alors que Benarba *et al.* (2021) ont pris 20 g de poudre de plante séchée et l'a mis en décoction dans 200 ml d'eau à 100 °C pendant 10 min, refroidis à température ambiante, puis filtrés. L'extrait aqueux brut a été stocké à +4 °C jusqu'à utilisation.

3.3.2. Extrait alcoolique

L'extraction organique a été réalisée par Jaradat *et al.* (2015) selon la méthode de Soxhlet. L'avantage de ce type d'extraction est que le solvant condensé, s'accumule dans un réservoir à siphon, ce qui augmente la durée de contact entre le solvant et le produit à extraire (William, 2007). Alors ont pris 20 g de poudre de plante séchée et la placé dans un dé à coudre en verre dans 250 ml de différents solvants séparément (éthanol, méthanol et acétone). Les processus d'extraction se poursuivent jusqu'à ce que le solvant dans le tube siphon de l'appareil Soxhlet devienne incolore. L'extrait a été chauffé au bain-marie à 35 °C jusqu'à ce que tout le solvant se soit évaporé. L'extrait brut a été conservé dans réfrigérateur à 2 - 8 °C pour leur utilisation future.

Par contre l'équipe de Hibi (2022) ont préparé 10 g de poudre végétale dans 100 ml de méthanol et d'acétate d'éthyle et recondensés pendant une heure. Les deux extrait ont été filtrés et séché à 65°C.

Tandis que Bourgou *et al.* (2020) ont pris 10 g de poudre de plante avec 250 ml de différents solvants séparément (hexane, éthyle acétate, éthanol). Chaque extrait reste 30 min à température 30°C, Le mélange est ensuite filtré à l'aide d'un papier filtre Whatman, le filtrat laisse jusqu'à ce que tout le solvant se soit évaporé et conservé dans l'obscurité.

Ghanem et El-magly (2008) sont utilisées 5 g de poudre végétale ont été extraites trois fois par macération avec différents solvants tels que le méthanol et l'acétonitrile. Les extraits ont été filtrés à travers du papier Whatman et les solvants ont été évaporés. Les extraits ont été repris dans 25 ml (20 µg/100 µl W/V) d'eau distillée puis dilués à la concentration souhaitée avant utilisation.

Benarba *et al.* (2021) ont préparé 20 g de poudre végétale macéré dans 100 ml de méthanol pendant une semaine à température ambiante. Après filtration, le méthanol a été évaporé et l'extrait méthanoïque obtenu a été stocké à +4 °C jusqu'à utilisation.

3.4. Analyses qualitatives

3.4.1. Tests phytochimiques

La présence ou l'absence de différentes classes de métabolites secondaires contenues dans les extraits ont été qualitativement testés en utilisant les méthodes suivantes:

3.4.1.1. Test de phénols et tanins

Ce test a été réalisé par les groupes de chercheurs Jaradat *et al.* (2015) et Hibi *et al.* (2022), 2 ml d'une solution à 2 % de FeCl₃ mélangée avec l'extrait brut. La couleur noire ou bleu-vert indique la présence de tanins et phénols.

3.4.1.2. Test de saponines

La présence de saponines a été testée par Jaradat *et al.* (2015) et Hibi *et al.* (2022) qui ont adopté le même protocole du test de moussage de Jigna et Sumitra (2007). 5 ml d'eau distillée ont été ajoutés à l'extrait brut de plante dans un tube à essai et agités vigoureusement. La formation de mousse indique la présence de saponines.

3.4.1.3. Test de terpénoïdes

La présence de terpénoïdes a été déterminée par les deux groupes de Jaradat *et al.* (2015) et Hibi *et al.* (2022) en prenant 5 ml de l'extrait de plante qui a été mélangé avec 2 ml de chloroforme, et 3 ml d'acide sulfurique concentré H₂SO₄, ensuite ont été soigneusement ajoutés pour former une couche. Hibi *et al.* (2022) validé la couleur brun rougeâtre comme test positive, par contre Jaradat *et al.* (2015) validé la couleur grise comme test positive.

3.4.1.4. Test de Keller Kilani

La présence de glycosides cardiaques a été testée par Jaradat *et al.* (2015) et Hibi *et al.* (2022) qui ont adopté le même protocole du test de Keller-Kilani de Hussain *et al.* (2011). 2 ml du filtrat ont été combinés avec 1 ml d'acide acétique glacial et trois gouttes de chlorure de fer (III) (FeCl₃) et acide sulfurique concentrés H₂SO₄. Hibi *et al.* (2022) validé l'anneau brun produise entre les couches comme test positive, par contre Jaradat *et al.* (2015) validé la couleur vert bleu comme test positive.

3.4.1.5. Test de flavonoïde

Jaradat *et al.* (2015) ont utilisé 2 tests pour détecter les flavonoïdes :

Test de Shinoda: des morceaux de ruban de magnésium et de chlorure de fer (III) concentré ont été mélangés avec de l'extrait de plante brut après quelques minutes d'apparition d'écarlate de couleur rose indiquant la présence de flavonoïdes.

Test de réactif alcalin: 2 ml de solution de NaOH à 2 % ont été mélangés avec de l'extrait brut de plante, une couleur jaune intense s'est formée, qui est devenue incolore lorsqu'on a ajouté 2 gouttes d'acide dilué à la solution, ce résultat a indiqué la présence de flavonoïdes.

Hibi *et al.* (2022) a été déterminé la présence de flavonoïdes comme suit : Ils ont pris 5 ml d'une solution d'ammoniaque diluée NH₄OH qui a été ajoutée à une partie du filtrat aqueux

de chaque extrait de plante suivi de l'ajout d'acide sulfurique concentré H_2SO_4 . Une coloration jaune a été observée dans chaque extrait indique la présence de flavonoïdes. La coloration jaune a disparu au repos.

3.4.1.6. Test des alcaloïdes

Ce test a été réalisé seulement par Hibi *et al.* (2022) selon la méthode suivante: 200 mg d'extrait de plante ont été dissous dans 10 ml de méthanol et filtrés. 1 ml de filtrat a été combiné avec 6 gouttes de réactif de Wagner (fait en combinant 1,27 g d'iode avec 2 g d'iodure de potassium dans 100 ml d'eau) ou il a confirmé la présence des alcaloïdes par un précipité crémeux/brun-rouge/orange.

3.4.1.7. Tests de protéines

Ce test été présenté par Jaradat *et al.* (2015) ou il a validé la présence des protéines par deux méthodes:

Test de Millon: 2 ml de réactif de Millon mélangés à l'extrait brut de la plante entière, sont apparus un précipité blanc qui, lors d'un chauffage doux, s'est transformé en une couleur rouge indiquant la présence de protéines dans la plante.

Test à la ninhydrine: Faire bouillir 2 ml d'une solution de ninhydrine à 0,2% avec l'extrait brut de plante entière, une couleur violette apparue indique la présence de protéines et d'acides aminés.

3.4.1.8. Tests pour les glucides

Ce test été présenté par Jaradat *et al.* (2015) ou il a validé la présence des glucides par quatre méthodes:

Test des solutions de Fehling: Faire bouillir un mélange de solutions de Fehling A et B avec des volumes égaux ont été ajoutés à l'extrait de plante brut. Un précipité de couleur rouge indique la présence de sucres réducteurs.

Test du réactif de Benedict: Faire bouillir 2 ml de réactif de Benedict avec un extrait brut, une couleur brun rougeâtre indique la présence des glucides.

Test de la solution de Molisch: Agiter 2 ml de la solution de Molisch avec de l'extrait de plante brut, puis ajouter 2 ml de H_2SO_4 concentré et verser délicatement le long du tube à essai. Un anneau violet apparu à l'interphase du tube à essai indiquait la présence de glucides.

Test d'iode: 2 ml de solution d'iode mélangés à de l'extrait végétal brut. Les couleurs violettes ou bleu foncé prouvent la présence du glucide.

3.4.1.9. Test de stéroïde

Ce test a été réalisé seulement par Jaradat *et al.* (2015) selon la méthode suivante: 2 ml de chloroforme et de H_2SO_4 concentré ont été mélangés avec l'extrait brut de plante entière.

Dans la couche inférieure de chloroforme produit une couleur rouge qui indique la présence de stéroïdes. Un autre test a été réalisé en mélangeant 2 ml de chacun de l'acide acétique avec du H₂SO₄ concentré et de l'extrait brut avec 2 ml de chloroforme Jaradat *et al.* (2015) a confirmé que la couleur verte indique l'entité des stéroïdes.

3.4.1.10. Tests pour les glycosides

Ce test été présenté par Jaradat *et al.* (2015) ou il a validé la présence des glucides par deux méthodes:

Test de Liebermann: 2 ml d'acide acétique et 2 ml de chloroforme mélangés à de l'extrait brut de plante entière. Le mélange a ensuite été refroidi et additionné de H₂SO₄ concentré, la couleur verte indiquait l'entité aglycone de la partie stéroïdienne des glycosides.

Test de Salkowski: H₂SO₄ concentré (environ 2 ml) a été ajouté à l'extrait brut de plante entière. Une couleur brun rougeâtre produite indiquait l'entité de la partie aglycone stéroïdienne du glycoside.

3.5. Analyses quantitatives

3.5.1. Dosage des polyphénols totaux

Jaradat *et al.* (2015) et Bourgou *et al.* (2020) ont adopté la méthode de Dewanto *et al.* (2002). Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyyles présents dans l'extrait (Singleton *et al.*, 1999).

Les polyphénols totaux ont été dosés avec le réactif de Folin-Ciocalteu et l'acide gallique comme standard. Le contenu phénolique total dans les extraits méthanoïques et éthanoïques de la plante a été déterminé en utilisant la méthode spectrophotométrique (Waterhouse, 2002) avec quelques modifications. Des solutions aqueuses à 1 mg/ml pour les extraits méthanoïques et éthanoïques ont été préparées dans l'analyse. Le mélange réactionnel a été préparé en mélangeant 0,5 ml de solution d'extrait végétal, 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu à 10% dissous dans de l'eau et 2,5 ml de solution aqueuse de NaHCO₃ à 7,5%. Les échantillons ont ensuite été incubés dans un thermostat à 45 °C pendant 45 min. L'absorbance a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde = 765 nm. Les échantillons ont été préparés en triple pour chaque analyse et la valeur moyenne de l'absorbance a été obtenue. La même procédure a été répétée pour la solution standard d'acide gallique et la ligne d'étalonnage a été interprétée. Sur la base de l'absorbance mesurée, la concentration d'équivalent acide gallique exprimée en termes de (mg de GA/ g d'extrait) (Jaradat *et al.*, 2015; Bourgou *et al.*, 2020).

Benarba *et al.* (2021) ont utilisées la méthode de Swain et Hillis (1959) et Noreen *et al.* (2017), la différence entre ces méthodes et la méthode de Dewanto *et al.* (2002) réside dans le volume de chaque extrait et la quantité de réactif de Folin-Ciocalteu et volume de solution de NaHCO₃, en plus la période d'incubation.

La teneur phénolique totale a été évaluée par Elhadeb *et al.*(2020) par la méthode de Follin-Ciocalteu de Swain et Hillis (1959).

3.5.2. La techniques HPLC

Cette technique utilisée pour l'identification, la séparation et la quantification des composés d'un mélange. Les analyses peuvent être séparées en fonction de l'hydrophobicité, de la taille, de la charge et de nombreuses autres propriétés (Bogusław *et al.*, 2012).

3.5.2.1. Principe

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique. La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme (Colomb, 2010).

3.5.2.2. Le protocole de la technique HPLC

La caractérisation des composés phénoliques dans les extraits *d'Ephédra alata* a été réalisée à l'aide d'un système de chromatographie liquide haute performance (HPLC). Le détecteur à barrette de diodes a été réglé sur une plage de balayage de 200 à 400 nm.

Bourgou *et al.* (2020) ont pris 3 ml d'échantillon ont été injectés dans le système HPLC sous un débit de 0,4 ml/min. La phase mobile est composée de deux solvants: du méthanol et de l'eau Milli Q (0,1% d'acide formique). Toutes les conditions chromatographiques ont été réalisées selon la méthode décrite précédemment par Mkadmini *et al.* (2017). L'analyse d'identification des composés phénoliques a été faite par comparaison de leur temps de rétention avec ceux d'étalons purs. Pour l'analyse quantitative, une courbe d'étalonnage a été réalisée pour chaque composé phénolique identifié en utilisant les standards disponibles à 280

nm. La quantité de chaque composé a été exprimée en microgramme par gramme de résidu (mg/g MS).

D'autres tentatives d'application de cette technique ont été ensuite entrepris par d'autres chercheurs Al rimawi *et al.* (2017); Ziani *et al.* (2019) et Sioud *et al.* (2020) pour détecter les composés phénoliques dans les différents extraits d'*Ephédra alata* alcoolique (100% éthanol) et hydro-alcoolique (80% éthanol).

3.6. Activité biologique

3.6.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante d'*Ephédra alata* a été étudiée par Jardat *et al.* (2015), Bourguou *et al.* (2020), Benarba *et al.* (2021) et Hibi *et al.* (2022) selon les méthodes suivantes:

3.6.1.1. Test du piégeage du radical libre DPPH

3.6.1.1.1. Principe du test

Le DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) est un radical instable qui possède un électron célibataire sur l'atome d'azote. Le test DPPH est un test colorimétrique qui repose sur la mesure par spectrophotomètre de la capacité d'une substance antioxydante à réduire le radical DPPH de couleur violette en solution de couleur jaunâtre, ceci lorsque son électron célibataire est apparié avec un hydrogène provenant d'un antioxydant (Hanato *et al.*, 1988).

3.6.1.1.2. Protocole de l'activité anti-radicalaire par le test DPPH

L'activité de piégeage des radicaux a été déterminée par les groupes des chercheurs Bourguou *et al.* (2020) Jardat *et al.* (2015) selon le protocole de préparer comme suit:

Des extraits à différentes concentrations ont été ajoutés à solution méthanoïque de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) puis l'absorbance a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les solutions ont été incubées dans l'obscurité à température ambiante avant les lectures, l'absorbance a été lue contre un blanc. De plus, chaque groupe a utilisé un standard différent à l'autre. Bourguou *et al.* (2020) ont été utilisé Butylé l'hydroxyanisole (BHA) comme référence positive, tandis que Jardat *et al.* (2015) ont été utilisé le trolox comme standard.

Tandis que L'activité de piégeage des radicaux DPPH a été évaluée par Benarba *et al.* (2021) selon le protocole de Brand-Williams *et al.* (1995) et Hibi *et al.* (2022) ont été déterminée par le protocole de Burits et Bucar (2000) de la même manière de protocole de

Hanato *et al.* (1988) et ont été utilisés l'acide ascorbique comme contrôle positif dans les deux groupes des chercheurs Benarba *et al.* (2021) et Hibi *et al.* (2022).

L'activité de piégeage des radicaux DPPH l'activité a été exprimée en CI_{50} définie comme la concentration de l'extrait générant 50% d'inhibition. Tous les échantillons ont été analysés en trois exemplaires.

3.6.1.2. Détermination du pouvoir réducteur ferrique des extraits (test de FRAP)

3.6.1.2.1. Principe

La méthode FRAP est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}). Cette méthode évalue le pouvoir réducteur des composés (Ou *et al.*, 2001).

La présence des réducteurs (AH) dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} / complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung *et al.*, 2002). En effet, le système $FeCl_3/K_3Fe(CN)_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination «semi quantitative» des concentrations des antioxydants, qui participent à la réaction redox (Amarowicz *et al.*, 2004).

3.6.1.2.2. Méthode de dosage

Le pouvoir réducteur de chaque extrait ou des étalons a été déterminé par les groupes de chercheurs Bourgou *et al.* (2020) et Benarba *et al.* (2021) selon la méthode d'Oyaizu (1986).

La valeur EC_{50} pour le pouvoir réducteur est la concentration d'extrait à laquelle l'absorbance était de 0,5 et l'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif. Tous les échantillons ont été analysés en triple.

3.6.1.3. Dosage de la capacité antioxydante totale (dosage du phosphomolybdate PPM)

3.6.1.3.1. Principe

Le test est basé sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence de l'extrait ou d'un agent antioxydant. Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre (phosphate/Mo (V)) à un pH acide (Prieto *et al.*, 1999). On mesure l'augmentation de la coloration du complexe molybdène (VI) en présence d'antioxydant. A la différence des autres tests, ce test permet non seulement de quantifier l'apport de l'activité antioxydante des polyphénols mais aussi d'autres composés antioxydants tel que les vitamines (C, E...).

3.6.1.3.2. Méthode de dosage

Ce test a été déterminé par l'équipe de Benarba *et al.* (2021) selon la méthode suivante : des tubes à essai contenant 200 μ l d'extrait et 2 ml de réactif phosphomolybdate ont été placés

dans un bain-marie à 95°C pendant 90 min, puis refroidis et le niveau d'absorbance a été mesuré à 695 nm contre un blanc de méthanol ou l'eau distillé au lieu d'un échantillon de plante. L'étalonnage a été réalisé en utilisant différentes concentrations d'acide ascorbique pour calculer l'équivalent en acide ascorbique. Les valeurs ont été exprimées en mg d'AAE/ml d'extrait.

3.6.2. Activité antibactérienne

D'après les recherches effectuées par Ghanem et El-magly (2008) et Hibi *et al.* (2022) ont été utilisés deux souches bactériennes Gram positives *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, et une souche Gram négatives *Escherichia coli*.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des groupes chercheurs Hibi *et al.* (2022) et Ghanem et El-magly (2008) et Palici (2016) a été effectuée par la méthode de diffusion des disques qui a préparé par papier filtre Whatman. Les disques imprégnés des extraits végétaux ont été placés sur la surface en gélose Müller Hinton. La plaque a ensuite été incubée. Les zones d'inhibition produites par les organismes sensibles ont été délimitées par une zone circulaire autour des disques. Le diamètre de la zone d'inhibition par le centre du disque a été mesuré au millimètre (Bauer et coll, 1966).

L'équipe de Ghanem et El-magly (2008) a également ajouté une autre méthode: c'est la méthode de diffusion en puits d'agar Mueller-àHinton. Un puits de 0,6 cm de diamètre a été réalisé dans des plaques de gélose à l'aide d'un verseur en liège stérile. Les différents extraits ont été ajoutés à chaque puits. Le chloramphénicol ont été utilisés respectivement comme étalons de référence antibactériens. Les plaques ont été conservées avant l'incubation à une température appropriée pour les bactéries afin de permettre la diffusion des extraits dans un milieu gélosé. Les plaques ont été examinées quotidiennement pour le développement de zones d'inhibition de croissance autour des puits chargés. Chaque concentration est réalisée en triple exemplaire.

3.6.3. Activité antifongique

D'après les recherches effectuées par Ghanem et El-magly (2008) et Hibi *et al.* (2022) ont été utilisés le même genre de champignon *Aspergillus*. Alors que le groupes des chercheurs Hibi *et al.* (2022) prenait l'espèce *Aspergillus flavus*. Et l'autre groupes des chercheurs Ghanem et El-magly. (2008) prenait l'espèce *Aspergillus fumigatus*.

L'évaluation de l'activité antifongique de Ghanem et El-magly. (2008) a été effectuée par la méthode de diffusion des disques qui a préparé par papier filtre Whatman et la méthode

de diffusion en puits d'agar Mueller-à Hinton dans un milieu gélosée Sabouraud et/ou extrait de malt de levure, de la même manière que mentionné dans l'activité précédente selon le protocole de Berghe *et al.*, 1991; Boakye *et al.*, 1975 et Abdel Kader *et al.*, 1995. Les disques imprégnés des extraits végétaux ont été placés sur la surface en gélose Müller Hinton. La plaque a ensuite été incubée. Les zones d'inhibition produites par les organismes sensibles ont été délimitées par une zone circulaire autour des disques. Le diamètre de la zone d'inhibition par le centre du disque a été mesuré au millimètre (Bauer et coll., 1966).

D'autre part, d'après l'expérience réalisée par Hibi *et al.* (2022) l'activité antifongique a été testée par croissance radiale. Les souches de champignons ont été maintenues dans la gélose au dextrose de pomme de terre, et incubées à 25°C pendant 7 jours. Les spores de la souche testée ont été placées dans une suspension semi-solide à base de 0,2% d'agar et 0,05 de tween 80. L'activité des moisissures a été déterminée selon Dixit *et al.* (1996) pour ajouter 1 ml d'extraits au milieu gélosé au dextrose de pomme de terre. On a pris une goutte de la suspension sporale préparée est déposée au centre de chaque boîte. Les boîtes ont été incubées à 25°C pendant 7 jours avec un échantillon témoin sans extraits.

3.6.4. Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire d'*Ephédra alata* a été étudiée par Bourgou *et al.* (2020) et Benarba *et al.* (2021).

Bourgou et son équipe (2020) ont évalué l'activité anti-inflammatoire par la méthode suivante :

L'effet anti-inflammatoire des fractions d'*Ephédra alata* a été évalué par Bourgou *et al.* (2020) sur la lignée cellulaire de macrophages urinaires RAW 264.7 par l'accumulation de nitrite (NO). Les cellules ont été cultivées dans des plaques à 24 puits à une concentration de 2×10^5 cellules/ml pendant 24 h, après des fractions ont été ajoutées pour 1h de traitement. Le lipopolysaccharide (LPS) (1 mg/ml) a été ajouté au groupe de plaques de traitement, tandis que le milieu ou le LPS seul a été ajouté au groupe témoin. Après une stimulation LPS de 24 h, les surnageants acellulaires ont été collectés et dosés pour les niveaux d'oxyde nitrique (NO) à l'aide du réactif de Griess. Le test à la résazurine a été réalisé pour vérifier la cytotoxicité des échantillons sur les cellules. L'absorbance a été mesurée à 540 nm et la concentration de nitrite dans les échantillons a été déterminée par une courbe standard de nitrite de sodium. Tous les échantillons ont été analysés en triple.

Par contre Benarba et son équipe (2021) ont évalué l'activité anti-inflammatoire par deux testes:

3.6.4.1. Test de dénaturation de l'albumine sérique bovine

Ce test est utilisé par Benarba *et al.* (2021) selon la méthode suivante: 0,45 ml de l'albumine sérique bovine (0,5 % p/v solution aqueuse) et 50 µl de différentes concentrations de l'extrait ont été mélangés, incubés à 37 °C pendant 20 min, puis chauffés à 57 °C pendant 3 min. 2,5 ml de PBS (pH = 6,6) ont été ajoutés et l'absorbance a été mesurée à 255 nm contre un blanc du solvant de l'extrait. 0,45 ml de solution de l'albumine sérique bovine à 0,5 % et 50 µl d'eau distillée constituaient la solution de contrôle (Shelke *et al.*, 2020; sunmathi *et al.*, 2016).

3.6.4.2. Test de dénaturation de l'albumine d'œuf

Le test de dénaturation membranaire a été réalisé par Benarba *et al.* (2021) selon le protocole décrit par Shelke *et al.* (2020). 2 ml de l'extrait ont été mélangés avec 0,2 ml d'albumine d'œuf (solution aqueuse à 0,5 % p/v) et 2,8 PBS (pH = 6,4) et incubés à 37 °C pendant 15min. Le mélange a ensuite été chauffé à 70°C pendant 5 min dans un bain-marie. L'absorbance a été mesurée à 660 nm contre le solvant en tant que blanc. Pour le contrôle, de l'eau distillée a été utilisée à la place des extraits. L'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant le diclofénac sodique comme contrôle positif pour les deux testes (Sunmathi *et al.*, 2016).

3.6.5. Activité anticancéreuse

L'activité anticancéreuse d'*Ephédra alata* a été étudiée par les groupes des chercheurs Danciu *et al.* (2018) et Sioud *et al.* (2020) selon le protocole décrit ci-dessous :

3.6.5.1. L'activité antiprolifératif

La technique adoptée par Danciu *et al.* (2018) est la suivante:

3.6.5.1.1. Culture de cellules

Les cellules utilisées dans cette étude étaient des cellules de cancer du sein humain MCF-7 achetées auprès de l'ATCC (American Type Culture Collection). La lignée cellulaire a été cultivée dans un milieu de croissance spécifique milieu essentiel minimum d'Eagle, additionné de 10% de SBF (sérum bovin fœtal) et d'un mélange d'antibiotiques à 1% de pénicilline/streptomycine. Les cellules ont été maintenues dans une condition standard: une

atmosphère humidifiée avec 5% de CO₂ à 37 °C dans un incubateur Steri Cycle i160 (Thermo Fisher Scientific, USA), et supervisées quotidiennement (Szabó *et al.*, 2016).

3.6.5.1.2. Test MTT antiprolifératif

L'évaluation de l'activité antiproliférative a été réalisée comme décrit précédemment. Les cellules ont été étalées à une densité de 5000 cellules/puits en utilisant des plaques à 96 puits et incubées avec des concentrations sélectionnées d'extrait d'éthanol 70% d'*Ephédra alata* Tunisienne (Djerba). Après 72 h d'incubation, une solution de 5 mg/ml de MTT (bromure de 3-(4,5 diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium) a été ajoutée et incubée pendant 4 h supplémentaires. L'absorbance des cristaux de formazan précipités dissous dans diméthylsulfoxyde (DMSO) a été mesurée avec un lecteur de microplaques à 545 nm.

Des puits avec des cellules incubées avec du milieu et du DMSO ont été utilisés comme contrôle (Mosmann *et al.*, 1983). Les résultats sont présentés comme la moyenne de trois expériences différentes.

3.6.5.2. Expériences de croissance tumorale

L'équipe de Sioud (2020) ont évalué l'activité anticancéreuse par la méthode suivante:

Sioud *et al.* (2020) ont répartis un total de 24 souris femelles BALB/c (âgées de 8 semaines et pesant 25 g). Les souris ont été maintenues dans un environnement exempt d'agents pathogènes (24 °C et 50% d'humidité) sur un cycle de lumière de 12 h / obscurité de 12 h, avec de la nourriture et de l'eau fournies à volonté tout au long de la période expérimentale. Les souris ont été autorisées à s'acclimater dans des conditions de laboratoire pendant une semaine avant d'être soumises. La formation de tumeurs a été initiée en injectant 1×10^6 cellules 4T1 dans la région adipeuse mammaire de souris, ce qui correspond au 1^{er} jour.

Le traitement a commencé à partir du 7^{ème} jour, et les souris ont ensuite été réparties au hasard en quatre groupes : extrait méthanoïque d'*Ephédra alata* (EA), le cisplatine ou cis-diaminedichloroplatine (CDDP) et la combinaison E.A. et traitement CDDP, véhicule (comme contrôle) (n = 6 par groupe).

Pour tous les groupes, le DMSO a été utilisé à la concentration finale 0,1% et le groupe témoin a reçu une solution saline avec 0,1% de DMSO (DMSO stérile (Sigma Aldrich, St. Quentin Fallavier, France, référence 67-68-5).

- Groupe 01: Les souris de ce groupe ont été traitées avec l'extrait méthanoïque d'*Ephédra alata* dilué dans du DMSO, qui était administré trois fois par semaine par injection intrapéritonéale (150 mg/kg).
- Groupe 02: Les souris du groupe 2 ont été traitées avec du cisplatine dans le même véhicule de contrôle, qui a été administré une fois par semaine par injection intrapéritonéale (20 mg/kg).
- Groupe 03: Les souris du groupe 3 ont reçu un traitement combiné avec les mêmes concentrations de CDDP et l'extrait méthanoïque d'*Ephédra alata* comme dans les groupes 1 et 2.
- Groupe 04: Les six souris restantes du groupe témoin ont reçu une solution saline stérile avec le même protocole et le même schéma posologique que celui utilisé pour les autres groupes de traitement. Les volumes tumoraux et les poids corporels des souris ont été mesurés tout au long de l'étude.

Chapitre 04:

Résultats et discussion

Ce chapitre s'appuie sur un groupe des articles scientifiques publiés se concentrant spécifiquement sur l'étude des activités biologiques d'*Ephédra alata* à travers divers pays. Ces derniers furent recherchés, collectés, étudiés, interprétés, confrontés et approfondis afin d'enrichir la rubrique « Résultats et discussion ». Le travail est réalisé dans le respect de l'axe d'analyses décrit au cours du chapitre précédent.

4.1. Le rendement d'extraction:

Tableau 03: Rendement d'extraction des extraits d'*Ephédra alata* (Bourgou *et al.*, 2020; Benarba *et al.*, 2021; Hibi *et al.*, 2022)

Extrait	Le rendement d'extraction (%)		
	<i>Ephédra alata</i> Algérienne (Benarba <i>et al.</i> , 2021)	<i>Ephédra alata</i> Algérienne (Hibi <i>et al.</i> , 2022)	<i>Ephédra alata</i> Tunisienne (Bourgou <i>et al.</i> , 2020)
Aqueux	38	17.27	/
Méthanol	15	8.24	/
Éthyle acétate	/	9.14	1.61

Le rendement est exprimé en pourcentage de la masse d'extrait sec par rapport à la masse végétale. Les résultats obtenus montrent que les rendements de l'extrait aqueux 38% et méthanoïque 15% de Benarba *et al.* (2021) sont légèrement supérieurs aux extraits aqueux 17.27% et méthanoïques 8.24% obtenus par Hibi *et al.* (2022). D'autre part, concernant la fraction acétate d'éthyle, elle présentait 9.14% pour *Ephédra alata* Algérienne (Hibi *et al.*, 2022) et 1,61% pour *Ephédra alata* Tunisienne (Bourgou *et al.*, 2020). Donc l'efficacité de l'extraction dépend de différentes conditions comme la nature chimique des composés phytochimiques, les méthodes d'extraction et le type de solvants.

4.2. Analyses qualitatives

Tableau 04: Criblage phytochimique d'extraits aqueux et méthanoïques d'*Ephédra alata* (Jaradat *et al.*, 2015 ; Benarba *et al.*, 2021)

Composés phytochimique	<i>Ephédra alata</i> Palestinienne (Jaradat <i>et al.</i> , 2015)		<i>Ephédra alata</i> Algérienne (Benarba <i>et al.</i> , 2021)	
	Extrait aqueux	Extrait méthanoïque	Extrait aqueux	Extrait méthanoïque
Glycosides cardiaques	+	+	+	+
saponine	-	-	+	+
Sucres réducteurs	+	+	++	+
Stéroïdes	-	-	+	++
Alcaloïdes	-	+	-	-
Flavonoïdes	+	+	+	+
Phénols	-	+	++	++
Acide aminés	-	-	-	+

(+) indiquer la présence, (++) indiquer la présence en abondance, (-) indiquer l'absence et (/) indiquer aucun test de certitude.

L'analyse phytochimique effectuée par les deux groupes chercheurs Jaradat *et al.* (2015) et Benarba *et al.* (2021) pour les différents extraits d'*Ephédra alata* montrent la présence de glycosides cardiaques, sucres réducteurs, flavonoïdes.

La présence de phénol dans les différents extraits cités dans le tableau, sauf dans l'extrait aqueux de Jaradat *et al.* (2015), n'est pas apparue.

Benarba *et al.* (2021) ont montré la présence de saponine dans les deux extraits aqueux et méthanoïques de par contre Jaradat *et al.* (2015) a noté l'absence de saponine dans les deux extraits aqueux.

L'absence des alcaloïdes dans les différents extraits sauf l'extrait méthanoïque d'*Ephédra alata* Palestinienne il est apparue. En plus, les acides aminés sont apparus dans l'extrait méthanoïque d'*Ephédra alata* Algérienne seulement et les stéroïdes sont présents sauf chez Benarba *et al.* (2021).

L'équipe des chercheurs de Benarba (2021) a également ajouté la présence d'autres composés phytochimiques dans divers extraits, tels que : quinones, coumarins, Anthraquinones, phyto-steroids, anthocyanin, terpénoids.

On remarque que les extraits d'*Ephédra alata* de Benarba *et al.* (2021) caractérisée par une quantité importante en composés phytochimiques par rapport les extraits d'*Ephédra alata* de Jaradat *et al.* (2015).

Par contre les résultats des tests phytochimiques effectués par Hibi *et al.* (2022) sur les extraits d'*Ephédra alata* de Béni Abbes (Algérie) regroupés dans le tableau 05; montrent la présence de stéroïdes, triterpènes, les acides gras, alcaloïdes, les agents réducteurs, flavonoïdes, polysaccharides, tanins, saponines.

Tableau 05: Criblage phytochimique d'*Ephédra alata* de Béni Abbes (Algérie) (Hibi *et al.*, 2022)

Composés phytochimique	Résultats de la réaction chimique
Coumarines	-
Stérols	-
Stéroïdes	+
Triterpènes	+
Terpénoïdes	-
Quinone	-
Les acides gras	+
Alcaloïdes	+
Les agents réducteurs	+
Flavonoïdes	+
Polysaccharides	+
Anthocyane	-
Tanins	+
Saponines	+
Émodols	-

(+) indiquer la présence, (-) indiquer l'absence.

4.3. Analyses quantitatives

4.3.1. Teneur en phénol totaux

Tableau 06: Teneur des phénols totaux des extraits d'*Ephédra alata* (Jaradat *et al.*, 2015; Ibragic et Sofic, 2015; Kmail *et al.*, 2017; Al-rimawi *et al.*, 2017; Bourgou *et al.*, 2020; Elhadeb *et al.*, 2020 ; Benarba *et al.*, 2021)

Extrait	Contenu phénolique total (mg GA/g)						
	<i>Ephédra alata</i> Palestinienne (Jaradat <i>et al.</i> , 2015)	<i>Ephédra alata</i> Algérienne (Benarba <i>et al.</i> , 2021)	<i>Ephédra alata</i> Tunisienne (Bourgou <i>et al.</i> , 2020)	<i>Ephédra alata</i> Palestinienne (Kmail <i>et al.</i> , 2017)	<i>Ephédra alata</i> Palestinienne (Al-rimawi <i>et al.</i> , 2017)	<i>Ephédra alata</i> Allemand (Ibragic et Sofic, 2015)	<i>Ephédra alata</i> Tunisienne (Elhadeb <i>et al.</i> , 2020)
Aqueux	-	8.66	/	/	30.9	/	75.2
Méthanol	47.62	3.16	/	/	/	53.3	/
Ethanol	19.17	/	164.58	30	101.2	/	/
Ethyle acétate	/	/	58.17	/	/	/	/
Hexane	/	/	0.15	/	/	/	/

La teneur phénolique totale de l'extrait aqueux d'*Ephédra alata* Palestinienne de Jaradat *et al.* (2015) était non définie, pour l'extrait éthanoïque était de 19,17 mg GA/g alors qu'elle était importante dans l'extrait méthanoïque avec une valeur de 47,62 mg GA/g.

Concernant les extraits d'*Ephédra alata* Algérienne de Benarba *et al.* (2021), les résultats ont révélé que l'extrait aqueux avait une teneur en composés phénoliques élevée avec 8,66 mg GA/g, alors que l'extrait méthanoïque avait des teneurs phénoliques modeste avec 3,16 mg GA/g.

Une étude récente (Elhadeb *et al.*, 2020) a marqué une teneur phénolique totale de l'extrait aqueux d'*Ephédra alata* Algérienne était de 75.2 mg GA/g.

Selon Bourgou *et al.* (2020), l'extrait de l'hexane présentait une teneur totale en composés phénoliques de 0,15 mg GA/g. Tandis que l'extrait éthanoïque a révélé une teneur de 164,58 mg GA/g, suivi de l'extrait de l'acétate d'éthyle a marqué 58,47 mg GA /g.

En effet, l'extrait éthanoïque d'*Ephédra alata* Tunisienne (Bourgou *et al.*, 2020) avait une teneur phénolique totale plus élevée que celui rapporté dans l'extrait éthanoïque d'*Ephédra alata* Palestinien allant de 30 mg GA/g (Kmail *et al.*, 2017) à 101 mg GA/g (Al rimawi *et al.*, 2017).

Ibragic et Sofic (2015) ont étudié la composition chimique des extraits de méthanol obtenus à partir de six espèces d'*Ephédra* (*Ephedra fragilis*, *Ephedra major*, et ils ont trouvé une teneur totale en composés phénoliques inférieure dans l'*Ephédra alata* Allemand (53,3 mg GA/g) que celui obtenu dans l'étude du Bourgou *et al.* (2020). Ces changements pourraient être attribués à l'effet de facteurs environnementaux, génétiques et techniques.

Outre la technique utilisée, la récupération des composés phénoliques dans les différents échantillons a également été influencée par la solubilité de ces composés dans le solvant utilisé. Bettaieb *et al.* (2018) déclare que les composés phénoliques d'*Ephédra alata* avaient tendance à être solubles dans les solvants polaires (éthanol, méthanol). Généralement, la polarité du solvant et ses forces de diffusion ainsi que la complexité structurale des composés phytochimiques régulent la solubilité des composés bioactifs dans le solvant (Bettaieb *et al.*, 2018).

4.3.2. Technique HPLC

Tableau 07: Identification du composé phénolique (mg/g) d'*Ephédra alata* (Bourgou *et al.*, 2020)

Composés	Temps de rétention (min)	Ethyle acétate	Ethanol
Acide gallique	8.762	-	6.77 ± 0.71
Épigallocatechine	14.552	-	2.46 ± 0.22
Catéchine	14.756	0.25 ± 0.05	0.03 ± 0.01
L'acide chlorogénique	16.258	0.20 ± 0.01	10.15 ± 0.15
Épicatéchine-3-O-gallate	17.219	0.75 ± 0.04	-
Acide caféique	18.931	-	0.18 ± 0.04
Acide syringique	19.306	-	0.03 ± 0.03
Acide p-coumarique	24.181	0.04 ± 0.01	-
Acide férulique	25.071	-	-

Acide sinapique	25.637	0.05 ± 0.00	0.09 ± 0.05
Acide hydroxycinnamique	27.45	-	0.01 ± 0.00
Myricitrine	29.12	0.17 ± 0.01	0.84 ± 0.04
Lutéoline-7-O-glucoside	29.506	0.07 ± 0.01	0.63 ± 0.25
Isoquercitrine	30.975	7.60 ± 0.22	0.21 ± 0.02
Rutine	31.734	3.37 ± 0.11	0.01 ± 0.01
Myricétine	34.414	-	-
Kaempférol 3-O-rutinoside	35.64	-	0.07 ± 0.00
Acide trans-cinnamique	38.548	-	0.08 ± 0.01
Quercétine	40.691	-	7.64 ± 0.14
Lutéoline	42.752	-	-
Kaempférol	45.943	-	0.05 ± 0.02

Bourgou *et al.* (2020) ont effectué une analyse par HPLC ont déterminé un total de 21 composés phénoliques cité dans le tableau 07. Dans cette étude, les extraits d'acétate d'éthyle et d'éthanol des espèces d'éphédra se sont avérés exercer de puissants pouvoirs antioxydants.

Les résultats ont révélé que l'espèce *d'Ephédra alata* étaient riches en acides phénoliques et en composés flavonoïdes, principalement des flavonols et des flavones, l'extrait de l'acétate d'éthyle étaient particulièrement riches en flavonoïdes tandis que l'extrait de l'éthanol se distinguaient par la présence de quantités élevées d'acides phénoliques. En effet, l'extrait de l'acétate d'éthyle *d'Ephédra alata* a montré des teneurs élevées de dérivés de flavonol, notamment l'isoquercitrine (7,60 mg/mg MS) et la rutine (3,37 mg/mg MS). De quantité modeste de catéchine (0,25 mg/mg MS), d'épicatéchine-3-O-gallate (0,75 mg/mg MS), de myricitrine (0,17 mg/mg MS) et de lutéoline-7-O-glucoside (0,07 mg/mg MS) ont également été détectés dans cette fraction.

Par contre, l'extrait éthanoïque *d'Ephédra alata* était riche en acides phénoliques principalement chlorogéniques (10,15 mg/mg MS) et galliques (6,77 mg/mg MS). Huit

flavonoïdes ont également été identifiés dans l'extrait éthanoïque d'*Ephédra alata* où la quercétine (7,64 mg/mg MS) était le composé majoritaire.

Alors que Hegazi et El-lamey (2011), ses résultats étaient une comparaison entre les quantités des composés phénoliques dans le tissu de cals et la tige de la plante étudié *Ephédra alata* Egyptienne (Tableau 08).

Tableau 08: Comparaison entre la teneur en composés phénoliques dans la tige de la plante *Ephédra alata* son tissu cals dérivé (Hegazi et El-lamey, 2011)

Echantillon	Composé phénolique ($\mu\text{g/g}$) d' <i>Ephédra alata</i> Egyptienne (Hegazi et El-lamey, 2011)				
	Acide chlorogénique	Rutine	Catéchine	Quercétine	Acide coumarique
Tige	0.22	3.77	0.77	1.05	0.03
Cals	0.17	21.6	2.05	3.18	0.65

D'après les résultats de Hegazi et El-lamey (2011) présentés dans le tableau 08, il a été constaté que le tissu de cals cultivé sur un milieu contenant du CH (hydrolysate de caséine) a atteint la capacité de produire des quantités plus élevées de tous les composés phénoliques, à l'exception de l'acide chlorogénique, qui contient presque la même concentration dans le cals et la tige d' *Ephédra alata* Egyptienne.

Ces résultats démontrent que les cultures de cals d'*E. alata* pourraient être potentiellement une riche source d'antioxydants naturels, en raison de sa capacité à produire certains composés phénoliques à activité antioxydante, et l'ajoute de CH peut améliorer la production de composés phénoliques issus de cultures de cals (Hegazi et El-lamey, 2011). Cependant, la présence d'acide gallique à un niveau élevé n'a été détectée que dans ces études. De plus, la quercitrine (quercétine-3-O-rhamnoside) et le kaempférol-3-O-rhamnoside ont été identifiés chez d'*Ephédra alata* poussant dans le désert égyptien (Nawwar *et al.*, 1984). Tandis que l'analyse simultanée HPLC-PDA et UHPLCMS de l'extrait hydro éthanoïque d'*Ephédra alata* de Palestine a révélé la présence de dérivés de lutéoline-7-O-glucuronide et de myricétine (Al rimawi *et al.*, 2017).

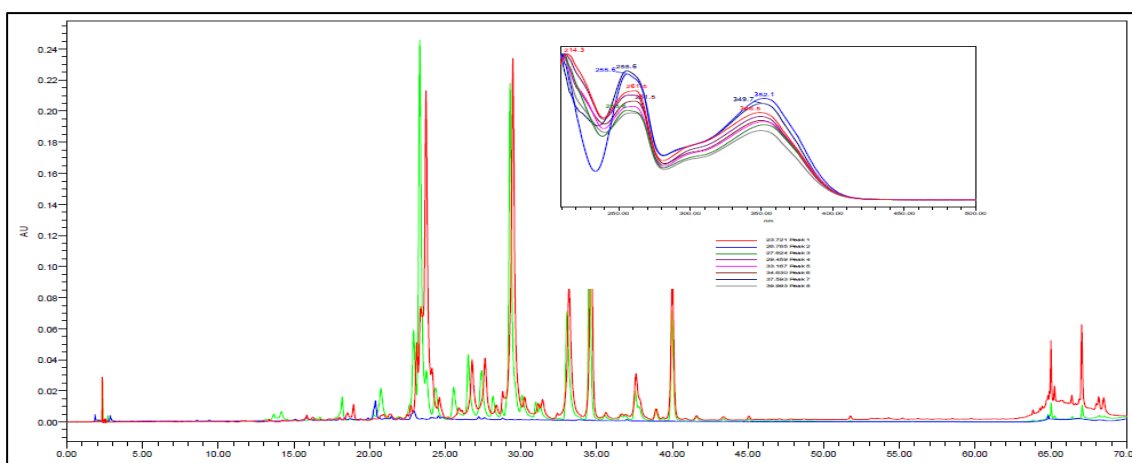


Figure 04 : Chromatogrammes HPLC-PDA superposés d'extrait aqueux (bleu), d'éthanol à 80 % (vert) et d'éthanol à 100 % (rouge) d'*Ephédra alata* à 350 nm. Les spectres UV-Vis superposés des principaux pics sont représentés dans le coin droit (Al rimawi *et al.*, 2017).

Le profil LC-DAD-ESI/MS de l'extrait hydro éthanoïque d'*Ephédra alata* Algérienne a été déterminé par Ziani *et al.* (2019) qui ont indiqué la présence de 10 composés phénoliques, tous appartenant à la classe des flavonoïdes avec la prédominance de l'hydroxyperarine isomère 1 et les dérivés de la myricétine. Récemment, Sioud *et al.* (2020) ont rapporté que l'extrait méthanoïque de *Ephédra alata* tunisienne contenait 20 composés phénoliques représentant différentes classes dont les flavonoïdes, les acides phénoliques et les proanthocyanidines à haute teneur en quercétine et ses dérivés. Outre la quercétine, ces auteurs ont noté qu'il existait d'autres dérivés de la myricétine.

4.4. Activités biologique

4.4.1. Activité antioxydante

4.4.1.1. Test DPPH

Tableau 09 : IC₅₀ des extraits d'*Ephédra alata* (Jaradat *et al.*, 2015; Bourgou *et al.*, 2020; Benarba *et al.*, 2021; Hibi *et al.*, 2022)

		IC ₅₀ (mg/ml)			
		(Jaradat <i>et al.</i> , 2015)	(Bourgou <i>et al.</i> , 2020)	(Benarba <i>et al.</i> , 2021)	(Hibi <i>et al.</i> , 2022)
Les extraits	Aqueux	/	/	4.632	0.49
	Méthanol	0.032	/	20.943	0.56

d' <i>Ephédra alata</i>	Ethyle acétate	/	0.083	/	0.42
Acide ascorbique		/	/	2.786	0.13
Trolox		0.002	/	/	/
Butylé l'hydroxyanisoles		/	0.011	/	/

L'activité antioxydante des extraits *d'Ephédra alata* se manifeste par le changement de couleur du DPPH entre l'état oxydé (forme violette) et l'état réduit (forme jaune), ce qui permet de quantifier le pourcentage d'inhibition de ce radical en mesurant les variations d'absorbance aux différentes concentrations utilisées. Pratiquement tous les extraits ont réagi positivement aux tests DPPH anti-radicaux, ceci est dû à la présence d'un antioxydant.

Selon les résultats d'activité de piégeage des radicaux DPPH de Benarba *et al.* (2021) avait une différence significative entre les deux extraits aqueux *d'Ephédra alata* Algérienne et le témoin d'acide ascorbique; l'extrait aqueux de Hibi *et al.* (2022) avait la meilleure activité de piégeage des radicaux libres avec une IC₅₀ de 0.49 mg/ml, par rapport à l'extrait aqueux de Benarba *et al.* (2021) qui a une IC₅₀ de 4.632 mg/ml.

Les travaux de l'équipe de Hibi (2022) et l'équipe de Benarba (2021) ont montré IC₅₀ totalement différent de l'acide ascorbique avec une IC₅₀ de 0.13 mg/ml et 2.786 mg/ml respectivement.

Concernant l'activité antioxydante d'extrait méthanoïque *d'Ephédra alata*, l'extrait de Jaradat *et al.* (2015) avait la meilleure activité de piégeage des radicaux libres avec une IC₅₀ de 0.032 mg/ml suivie par l'extrait d'Hibi *et al.* (2022) qui a une IC₅₀ de 0.56 mg/ml, tandis que l'extrait méthanoïque de Benarba *et al.* (2021) avait une faible activité avec une IC₅₀ de 20.943 mg/ml.

L'extrait de l'éthyle acétate *d'Ephédra alata* Tunisienne étudié par Bourgou *et al.*, (2020) avait une activité élevée avec une IC₅₀ de 0.083 mg/ml par rapport à l'extrait Algérien de la même plante étudié par Hibi *et al.* (2022) avec une IC₅₀ de 0.42 mg/ml.

L'étroite corrélation entre l'activité antioxydante et la teneur phénolique des extraits issus de diverses sources naturelles a été démontrée par de nombreux travaux (Parejo *et al.*, 2002; Meyers *et al.*, 2003). Il a été rapporté que le solvant utilisé dans l'extraction peut

également être important dans l'activité antioxydante de l'extrait, en fonction de la teneur en composés phénoliques.

Le test DPPH a montré que la plante a une activité antioxydante puissante qui peut être un excellent choix pour l'analyse biologique et chimique, et peut en outre être soumise pour l'isolement des composés thérapeutiquement actifs.

4.4.1.2. Pouvoir antioxydant réducteur ferrique

Tableau 10: Pouvoir réducteur des extraits *d'Ephédra alata* (Bourgou *et al.*, 2020)

Les extraits <i>d'Ephédra alata</i>	Hexane	Ethyle acétate	Ethanol
Pouvoir réducteur EC ₅₀ (mg/ml)	>1	>1	0.262

Dans le test de puissance de réduction, la couleur jaune de la solution de test passe au bleu lors de l'ajout de réducteurs au milieu de la solution de test. En conséquence, le changement de couleur (formation de bleu de Prusse de Perl) basé sur la conversion du complexe Fe³⁺/ferricyanure en Fe²⁺/ferreux et la concentration de Fe²⁺ peut être établi en mesurant à 700 nm. Une absorbance plus élevée à 700 nm indique un pouvoir réducteur plus élevé (Barros *et al.*, 2007).

D'après les résultats obtenus par Bourgou *et al.* (2020) seul l'extrait éthanoïque *d'Ephédra alata* a présenté un pouvoir réducteur avec une EC₅₀ de 0.262 mg/ml. Ces résultats suggèrent que l'extrait à l'éthanol *d'Ephédra alata* était riche en réducteurs antioxydants avec une puissante capacité de réduction. En accord avec ces résultats, Al-rimawi *et al.* (2017) ont signalé que le potentiel de réduction de *l'Ephédra alata* palestinien augmentait considérablement à mesure que la polarité du solvant changeait (80/20 éthanol/ eau > 100 % éthanol > 100 % eau).

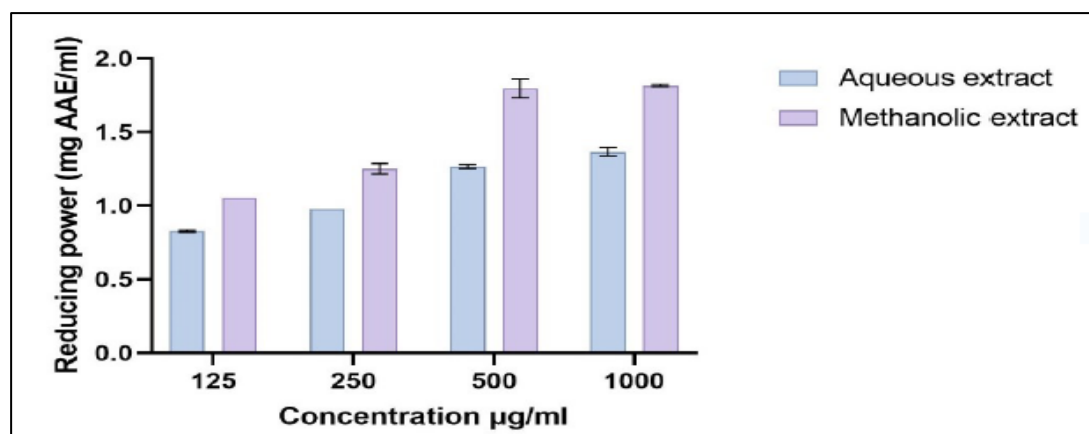


Figure 05 : Pouvoir réducteur des extraits d'*Ephedra alata* Algérienne (Benarba *et al.*, 2021)

Les résultats de l'activité du pouvoir réducteur de l'équipe de Benarba *et al.* (2021) ont montré qu'il y avait une augmentation dose-dépendante du pouvoir réducteur (Fig. 05). L'extrait méthanoïque d'*Ephedra alata* possédait la réductibilité la plus élevée ($1,81 \pm 0,00$ mg d'AAE/ml d'extrait) à 1000 µg/ml, tandis que l'extrait aqueux avait $1,36 \pm 0,02$ mg d'AAE/ml à la même concentration. Cependant, cette différence n'était pas statistiquement significative d'après Benarba *et al.* (2021).

4.4.1.3. La capacité antioxydante totale

Tableau 11 : Capacité antioxydante totale des extraits d'*Ephedra alata* (Bourgou *et al.*, 2020; Benarba *et al.*, 2021)

Extrait	<i>Ephedra alata</i> Algérienne (Benarba <i>et al.</i> , 2021)		<i>Ephedra alata</i> Tunisienne (Bourgou <i>et al.</i> , 2020)		
	Aqueux	Méthanol	Hexane	Ethyle acétate	Ethanol
Capacité antioxydante totale	7.35 ± 0.125 mg/ml AAE	7.3 ± 0.025 mg/ml AAE	2.3 ± 2.1 mg GAE/g	93.67 ± 2.1 mg GAE/g	280.5 ± 3.9 mg GAE/g

Le tableau ci-dessus montre les résultats de dosage du phosphomolybdate (PPM) où l'évaluation de l'activité antioxydante totale a montré que le type de solvant affectait significativement l'activité antioxydante. L'extrait à l'éthanol d'*Ephedra alata* Tunisienne a présenté la capacité antioxydante la plus élevée dans les extraits étudiés par Bourgou *et al.* (2020) (280 mg GAE/g MS) suivi de l'extrait à l'acétate d'éthyle (94 mg GAE/g MS).

Les résultats effectués par Benarba *et al.* (2021) ont montré que l'extrait aqueux d'*Ephédra alata* présentait la capacité antioxydante totale la plus élevée (7,35 mg/ml AAE) suivi de l'extrait méthanoïque avec une légère différence (7,3 mg/ml AAE). Statistiquement, il n'y avait pas de différence significative entre les deux extraits.

4.4.2. Activité antibactérienne

Tableau 12: L'activité antibactérienne de différents extraits d'*Ephédra alata* (Ghanem et El-magly, 2008; Hibi *et al.*, 2022)

Souche bactérienne	Zone d'inhibition (mm)				+ve control Chloramphenicol (mg/ml)
	Extrait EA Algérienne (Hibi <i>et al.</i> , 2022)		Extrait EA Egyptienne (Ghanem et El-magly, 2008)		
	Aqueux	Méthanoïque	Aqueux	Méthanoïque	
<i>Staphylococcus aureus</i>	6±0 SEM=0	9 ± 1.73205081 SEM=1	-	-	++
<i>Bacillus subtilis</i>	14± 1.73205081 SEM=1	6 ±0 SEM=0	-	-	+++
<i>Escherichia coli</i>	6±0 SEM=0	6 ±0 SEM=0	-	-	++

Les zones d'inhibition sont représentées par la moyenne des trois essais ± écart type, avec calcul de l'erreur standard de la moyenne (SEM). (-) pas de zone d'inhibition : moins de 1 mm, (+) 1- 5 mm d'inhibition zone d'inhibition (++) zone d'inhibition de (++) 6 à 10 mm, zone d'inhibition de (+++) 11 à 15 mm. Le chloramphénicol standard de référence était utilisé comme agent antibactérien.

L'activité antibactérienne de la plante *Ephédra alata* a été testée contre certaines bactéries, notamment *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli* (Tab. 12). Les micro-organismes testés ont été sélectionnés en fonction de leur pathogénicité humaine et pour évaluer le spectre de l'activité antimicrobienne.

L'activité antimicrobienne a été dosée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition. D'après les résultats obtenus par l'étude de Hibi *et al.* (2022) ont montré que l'extrait méthanoïque montre un effet modéré avec une zone d'inhibition de 9 mm contre *Staphylococcus aureus* et à une concentration de 1 mg/ml. Palici (2016) a confirmé que

l'extrait éthanoïque d'*Ephedra alata* alenda avait une activités antibactérienne modérée et un fort effet inhibiteur contre *Staphylococcus aureus* résistant a la méthiciline.

L'extrait aqueux d'*Ephédra alata* Algérienne obtenu par macération a marqué une zone d'inhibition de 14 mm contre *Bacillus subtilis* à une concentration de 1mg/ml. D'après Hibi *et al.* (2022), l'extrait aqueux d'*Ephédra alata* n'a marqué aucune inhibition contre les souches *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. Par contre les extraits aqueux et méthanoïque d'*Ephédra alata* obtenus par Ghanem et El-magly (2008) n'ont aucun effet sur les trois souches testées.

4.4.3. Activité antifongique

Tableau 13: L'activité antifongique de différents extraits d'*Ephédra alata* (Ghanem et El-magly, 2008)

Test micro-organisme	Extrait d' <i>Ephédra alata</i>				+ve contrôle
	Acétonitrile	Méthanol	Aqueux	Aqueux autoclavé	Terbinafine (mg/ml)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	++	++	-	++	+++

Les zones d'inhibition sont celles au-delà des valeurs de contrôle. (-) pas de zone d'inhibition : moins de 1 mm, (+) 1- 5 mm de zone d'inhibition, (++) 6- 10 mm de zone d'inhibition, (+++) 11- 15 mm de zone d'inhibition. la terbinafine standard de référence a été utilisé comme agent antifongique. Diamètre du puits, 6 mm (100 µl de chaque conc. ont été testés).

Les résultats effectués par Ghanem et El-magly (2008) montré que l'extrait d'acétonitrile a présenté une activité antifongique importante contre le champignon testé.

Aspergillus fumigatus était le plus sensible à l'extrait d'acétonitrile même à de faibles concentrations par rapport aux autres fractions. Ghanem et El-magly (2008) expliquent la grande sensibilité d'*Aspergillus fumigatus* à l'un des groupes chimiques présents dans la fraction acétonitrile. De plus, l'extrait méthanoïque et aqueux autoclavé ont montré une activité antifongique l'*Aspergillus fumigatus* remarquable.

Hibi *et al.* (2022) déclarent que les deux extraits aqueux (par macération, sous reflux) ont un effet antifongique différent. Par contre les extraits méthanoïques et d'acétate d'éthyle n'ont aucune activité contre *Aspergillus flavus*.

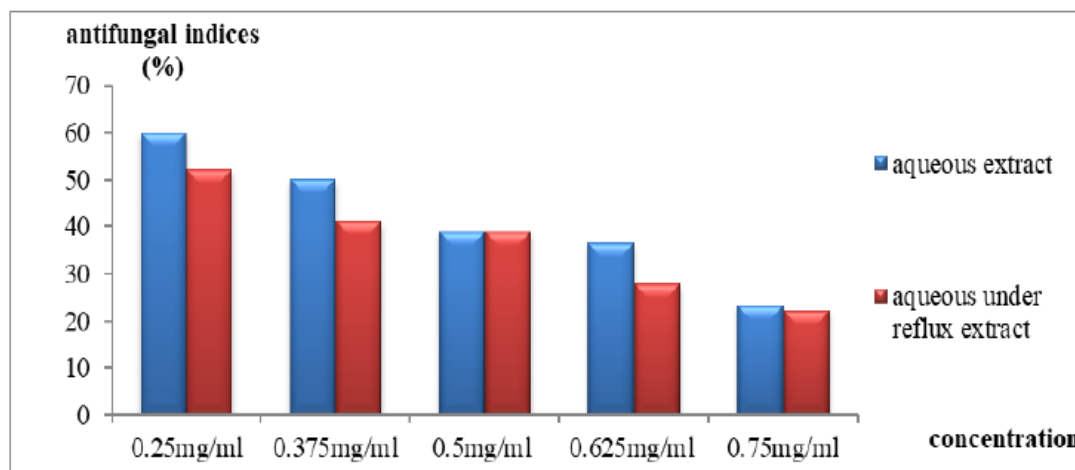
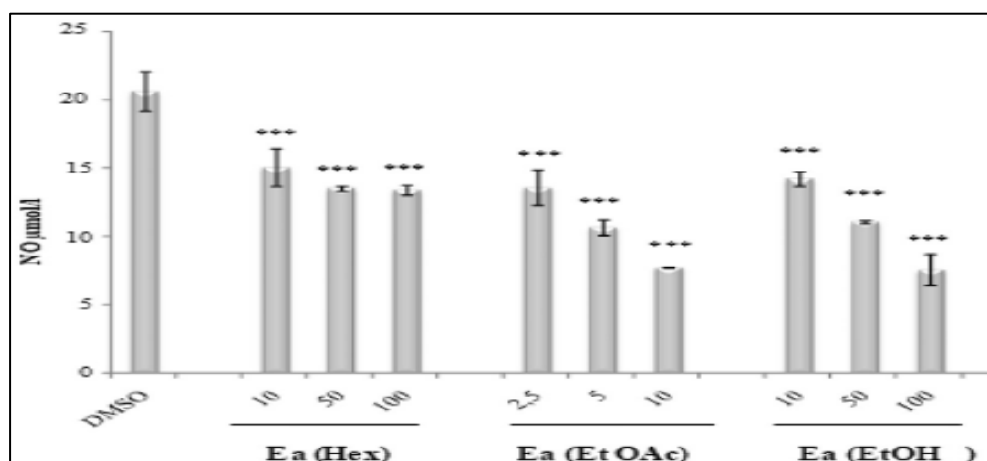


Figure 06: Indices antifongiques de différentes concentrations de l'extrait aqueux et aqueux sous reflux d'*Ephedra alata* sur *Aspergillus flavus* (Hibi *et al.*, 2022)

Les résultats du pourcentage d'inhibition d'extrait aqueux par macération d'*Ephedra alata* exerce une activité inhibitrice sur la souche mycélienne testée avec un pourcentage d'inhibition 60% sur *Aspergillus flavus*.

Hibi *et al.* (2022) annonce que l'exploitation des résultats de l'activité antifongique des différents extraits d'*Ephedra alata* révèle que l'intensité de cette activité a été variable selon plusieurs facteurs, notamment le solvant utilisé, la méthode d'extraction et la souche investiguée.

4.4.4. Activité anti-inflammatoire



L'extrait d'hexane d'*Ephedra alata* (Ea(Hex)), l'extrait d'acétate d'éthyle (Ea(EtOAc)) et l'extrait d'éthanol (Ea (EtOH)), *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$.

Figure 07 : Effet des fractions d'*Ephedra alata* sur l'inhibition de la production de NO dans les macrophages RAW 264.7 stimulés par le LPS (Bourgou *et al.*, 2020)

Comme le montre la figure 07 qui représente les résultats des recherches de Bourgou *et al.* (2020), le traitement au LPS a déclenché une accumulation significative de nitrite dans les cellules témoins. Il a été constaté que la production de nitrite diminue de manière dépendante de la concentration. Les extraits de l'acétate d'éthyle et de l'éthanol étaient très actifs. En fait, l'inhibition du NO libéré dans les macrophages RAW 264.7 induits par le LPS par des extraits d'acétate d'éthyle était de 34 % à faibles concentrations de 2, 5 µg/ml. À des concentrations plus élevées, l'inhibition a atteint 62 % à 10 µg/ml. Ces résultats suggèrent que les extraits d'acétate d'éthyle exercent un fort potentiel anti-inflammatoire à très faibles concentrations. Par ailleurs, les extraits éthanoïques possédaient également une activité intéressante.

4.4.4. 1. Activités d'inhibition de la dénaturation des protéines

4.4.4.1.1. Inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine

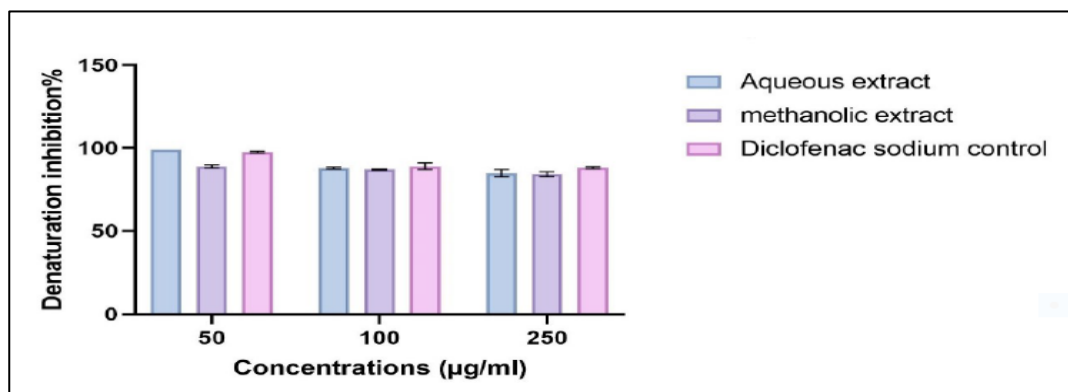


Figure 08: Activité d'inhibition de la dénaturation des protéines de l'albumine sérique bovine des extraits d'*Ephédra alata* (Benarba *et al.*, 2021)

Les résultats du test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (Fig. 08) indiquent que l'extrait aqueux d'*Ephédra alata* avait le pourcentage d'inhibition le plus élevé à 50 µg/ml (99,22 ± 0,022 %) encore plus élevé que le diclofénac sodique standard (97,65 % ± 0,440), tandis que l'extrait méthanoïque avait une activité d'inhibition de 89,74 % ± 0,60 à la même concentration.

4.4.4.1.2. Inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œuf

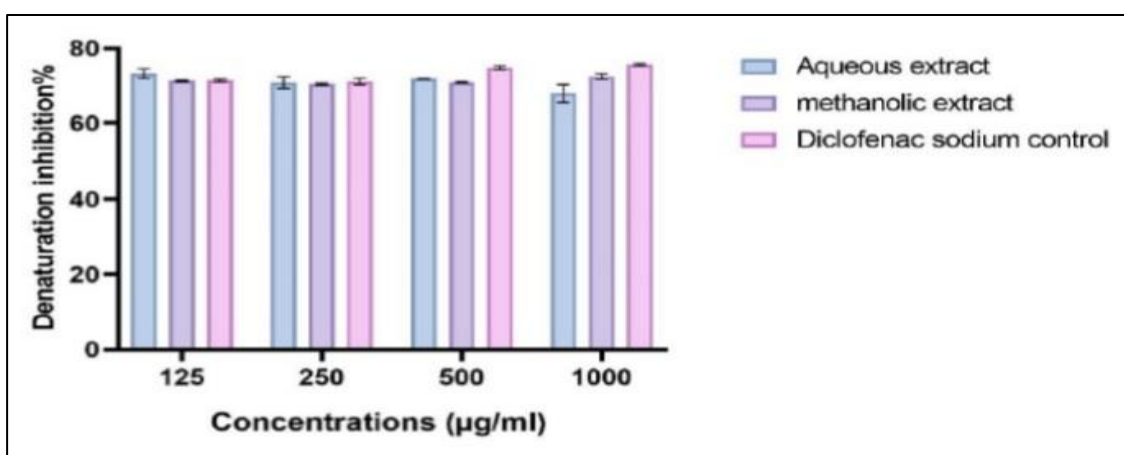


Figure 09: Activité d'inhibition de la dénaturation des protéines de l'albumine d'œuf des extraits d'*Ephedra alata* (Benarba *et al.*, 2021)

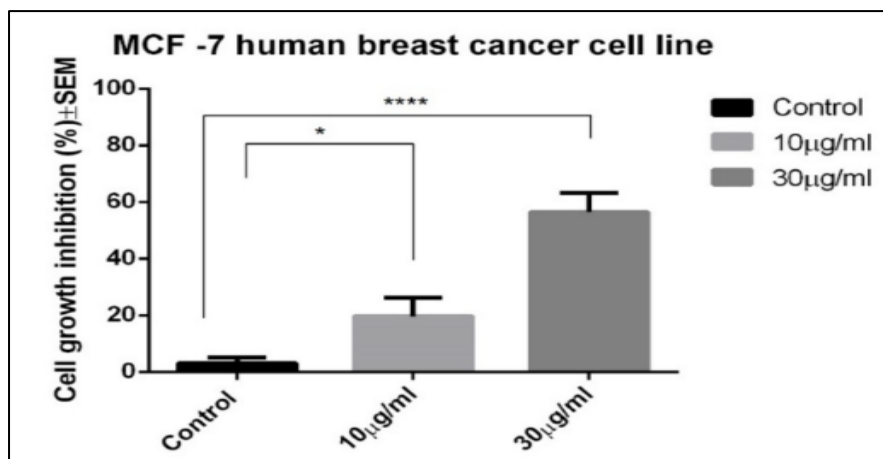
L'extrait aqueux d'*Ephedra alata* a exercé la plus forte activité d'inhibition de la dénaturation des protéines à des concentrations de 125 et 500 µg/ml ($73,31 \pm 0,906$ et $72,02 \pm 0,064$ %, respectivement) suivi de l'extrait méthanoïque à une concentration de 1000 µg/ml ($72,54 \pm 0,518$ %). Bien que les deux extraits aient révélé des activités d'inhibition élevées, aucun d'entre eux n'a dépassé le médicament diclofénac standard qui avait une activité d'inhibition de la dénaturation des protéines élevée de $75,56 \pm 0,259$ et $74,87 \pm 0,323$ à des concentrations de 1 000 et 500 µg/ml, respectivement.

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

4.4.5. Activité anti cancéreuse

4.4.5.1. Test MTT antiprolifératif

Danciu *et al.* (2018) a étudié l'activité anticancéreuse d'*Ephedra alata* Tunisienne pour son potentielle *in vitro* contre la lignée cellulaire de cancer du sein humain MCF-7. L'activité a été testé par l'extrait éthanoïque deux concentration 10 g/ml et 30 g/ml d'*Ephedra alata* après une période d'incubation de 72 h est illustrée dans la figure 10.



SEM, erreur standard de la moyenne

Figure 10: L'inhibition de la croissance cellulaire pour la lignée cellulaire de MCF-7 après 72 h d'incubation avec l'*Ephédra alata* Tunisienne (Danciu *et al.*, 2018).

Le MTT est un test colorimétrique permettant d'évaluer l'activité métabolique des cellules. La libération de lactate déshydrogénase a été mesurée à la concentration la plus élevée testée.

Les résultats enregistrés par Danciu *et al.* (2018) étaient statistiquement significatifs sont détectés à partir de la concentration de 10 g/ml, avec un pourcentage d'inhibition de la croissance cellulaire de $19,68 \pm 4,2$. Pour la concentration la plus élevée testée, à savoir 30 g/ml, le pourcentage d'inhibition de la croissance était de $56,45 \pm 3,9$.

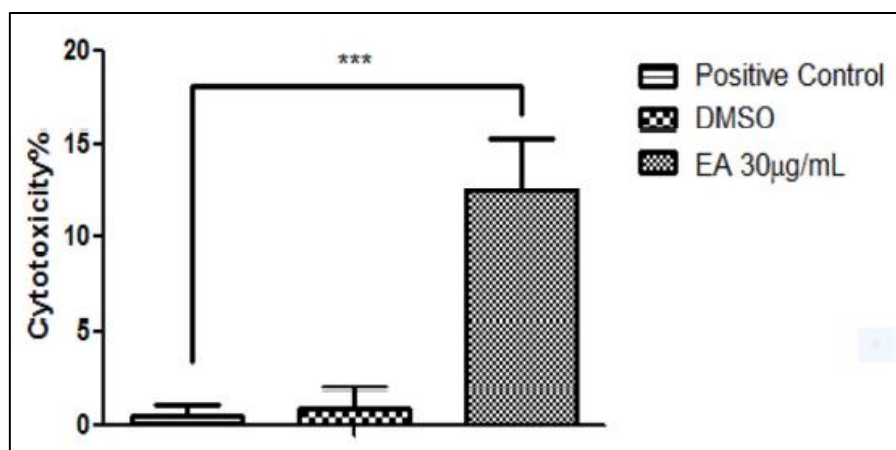
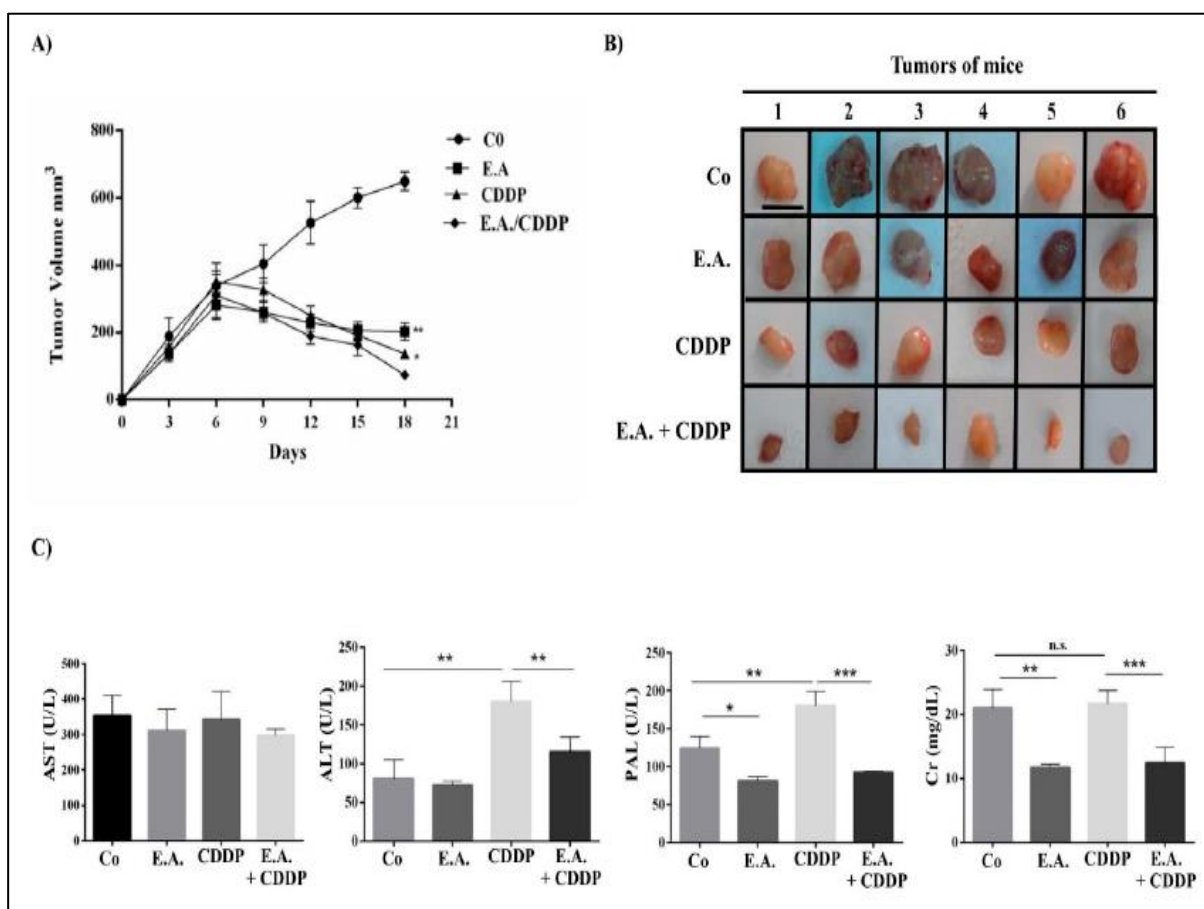


Figure 11 : L'analyse de cytotoxicité de l'extrait d'*Ephédra alata* Tunisienne à une concentration de 30 g/ml sur des cellules MCF-7 (après 72 h de stimulation) (Danciu *et al.*, 2018)

Danciu *et al.* (2018) a montré que l'évaluation de la cytotoxicité a montré que l'extrait éthanoïque d'*Ephedra alata* a présenté des différences significatives de potentiel cytotoxique par rapport au témoin positif,

Le groupe de Danciu *et al.* (2018) montrent que l'extrait éthanoïque d'*Ephedra alata* Tunisienne présentant un pourcentage de cytotoxicité supérieur à 13 %. Le solvant DMSO n'a pas montré de potentiel cytotoxique significatif sur les cellules MCF-7.

4.4.5.2. Expériences de croissance tumorale



(A) La taille de la tumeur en millimètres cubes au fil du temps est représentée sous forme de médiane \pm erreur standard de la moyenne (SEM). (B) Tumeurs de xénotransplante de groupes de souris (six par groupe ont été récoltées au 18^{ème} jour ; barre d'échelle = 1 cm). (C) Analyses biochimiques du sérum de groupes de souris pour l'aspartate transaminase (AST), l'alanine transaminase (ALT), la créatinine (Cr) et la phosphatase alcaline (PAL). Les données sont des moyennes \pm écart-type (SD) de trois expériences indépendantes ; Les valeurs de p ont été déterminées par le test ANOVA multiple. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Figure 12: Combinaison d'extrait méthanoïque d'*Ephedra alata* /CDDP synergisée pour inhiber la croissance tumorale et prévenir les hépto- et néphrotoxicités du CDDP (Sioud *et al.*, 2020)

Les résultats effectués par Sioud *et al.* (2020) ont montré pour la première fois que l'*Ephedra alata* a pu retarder de manière significative la croissance des tumeurs dès 6^{ème} jour après l'implantation de la tumeur, par rapport à la croissance tumorale des souris témoins (Fig. 12 A,B). Cette différence s'est fortement accentuée 15 jours après l'injection des cellules 4T1.

Sioud *et al.* (2020) a déclaré l'effet synergique remarquable dans le modèle tumoral, où la combinaison d'extrait méthanoïque d'*Ephedra alata*/CDDP a montré une diminution significative de la croissance tumorale par rapport au traitement d'extrait méthanoïque d'*Ephedra alata* et CDDP seul (Fig.12 A,B).

Les effets secondaires du CDDP qui sont généralement associés à son effet anti tumoral ont été trouvés, où l'analyse des échantillons de sang a révélé un taux élevé de phosphatase alcaline (PAL), d'alanine transaminase (ALT) et de créatinine (CR) chez les souris traitées uniquement avec le CDDP (Fig. 12 C). Sioud *et al.* (2020) confirme que la combinaison de CDDP avec l'extrait méthanoïque d'*Ephedra alata* diminué les effets secondaires du CDDP, montré par une diminution significative de ces trois marqueurs de toxicité du CDDP (Fig.12 C).

Dans le même conteste Sioud *et al.* (2020) atteste que cette combinaison a diminué les effets toxiques induits par le CDDP. En effet, l'utilisation du CDDP est généralement associée à des effets secondaires tels que la néphrotoxicité ou l'hépatotoxicité.

De manière générale, l'apparition de l'insuffisance rénale débute plusieurs jours après la dose de cisplatine, le CDDP a été associé à une faible élévation des taux d'enzymes sériques au cours du traitement (c'est-à-dire PAL, ALT, AST), reflétant une hépatotoxicité (Tsang *et al.*, 2009).

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales ou les extraits des plantes sont utilisées dans le traitement de nombreuses maladies, sont aussi utilisées dans les préparations pharmaceutiques. L'objectif de cette présente étude consacré dans le cadre de synthèse de plusieurs travaux des groupes chercheurs sur les molécules bioactives d'origine végétale, par l'évaluation des activités biologique *in vitro* et l'analyse phytochimique des différents extraits de la partie aérienne d'*Ephédra alata alenda* appartenant à la famille des Ephedraceae, utilisée largement dans le médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies.

Le screening phytochimique réalisé sur les différents extraits qui collectés de différentes régions: Palestine, Algérie (Adrar, Béni Abbes) a révélé la richesse de cette plante en métabolites secondaires comme les flavonoides alors que les quinones, terpénoïde et anthocyane sont absents.

L'analyse quantitative des composés phénolique des différents extraits par les méthodes spectrophotométrique et HPLC a montré la richesse des extraits éthanoïque d'*Ephédra alata* Tunisienne (Tozeur) en polyphénols par rapport aux autres extraits .

L'évaluation de l'activité antioxydante dans le test de piégeage des radicaux libres DPPH a révélé que l'extrait méthanoïque Palestinien et leur standard présenté par IC_{50} a une activité supérieure à celle des autres extraits. De plus l'extrait méthanoïque Algérien (Adrar) a montré une activité antioxydante très remarquable par rapport aux autres extraits dans le pouvoir réducteur du fer (FRAP) et l'extrait éthanoïque Tunisien dans la capacité antioxydante totale (CAT).

Les résultats de l'activité antibactérienne ont déterminé par la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé révèlent que l'extrait aqueux d'*Ephédra alata* Algérienne marqué une zone d'inhibition importante contre *Bacillus subtilis* par rapport de l'autre extrait.

Les résultats antifongique exprimés en pourcentage d'inhibition a été marqué que l'extraiteaqueux d'*Ephédra alata* Algérienne (Béni Abbes) exerce une activité inhibitrice sur la souche mycélienne testée *Aspergillus flavus*. De plus l'extrait d'acétonitrile, méthanoïque et aqueux autoclavé marqué une activité antifongique contre *Aspergillus fumigatus*.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire montré que les extraits d'acétate d'éthyle d'*Ephédra alata* Tunisienne (Tozeur) exercent un fort potentiel anti-inflammatoire sur l'inhibition de NO à très faibles concentrations. L'extrait aqueux d'*Ephédra alata* Algérienne

(Adrar) a exercé une forte activité d'inhibition de la dénaturation des protéines de l'albumine sérique bovine et de l'albumine d'œuf.

Les résultats de l'activité anticancéreuse ont déterminé par le test MTT montrent que l'extrait éthanoïque d'*Ephedra alata* Tunisienne (Djerba) présentant un pourcentage de cytotoxicité remarquable sur les cellules MCF-7. Tandis que l'expérience de la croissance tumorale montre que l'extrait méthanoïque d'*Ephedra alata* a pu retarder la croissance des tumeurs dès 6^{ème} jours et confirme que la combinaison de CDDP avec l'extrait méthanoïque d'*Ephedra alata* diminue les effets toxiques induits par le CDDP tels que la néphrotoxicité ou l'hépatotoxicité.

Les résultats obtenus de cette étude permettent de conclure que la partie aérienne d'*E. alata* présente une source naturelle d'agents antioxydants et peut servir comme traitement préventif contre le stress oxydatif, anticancéreuse, antibactérienne

Références bibliographiques

Références bibliographique

- Abdel Kader .H., Seddkey S., 1995. *In vitro* study of the effect of some medicinal plants on the growth of some dermatophytes. Assiut Vet Med J. 34.
- Abderrazak M., Joël R., 2007. La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. p 177.
- Abourashed E., El-alfy A., Khan I., Walker L., 2003. Ephedra in pers-pective-a current review. *Phytotherapy Research*, 17: 01-12.
- Al-khateeb E., Al-ani H., Al-kadi K., Al-obaidi E.D.F., Shalan N., Al-rawi N., 2014. Investigation of the Alkaloids of Two Ephedra Spp. Wildly Grown in Iraq. *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*.Vol.7.N°3: 191-198.
- AL-snafi, A. E. 2017. Therapeutic importance of *Ephedra alata* and *Ephedra foliata*-A review. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(2): 399-406
- Amarowicz, R., Pegg R. B., Rahimi-Moghaddamc P., Barl B., & Weil J. A., 2004. Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84: 551-562.
- Arshad H., Shadma W., Iffat Z., & Sarfaraj H., 2010. Antibacterial activity of the leaves of *Coccinia indica* (W and A) wof India. *Advances in Biological Research*. 4(5): 241-248.
- Azwanida, N.N., 2015. *Med Aromat Plants*. 19.
- Benabdallah. H. 2016. Techniques d'extraction, de purification et de conservation.Cours pour les étudiants de Master 1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Ferhat Abbas de Sétif. 2.
- Bagheri-Gavkosh S., Bigdeli M., Shams-Ghahfarokhi M., Razzaghi-Abyaneh M., 2009. Inhibitory Effects of *Ephedra major Host* on *Aspergillus parasiticus* Growth and Aflatoxin Production. *Mycopathologia* 168: 249-255.
- Barros L., Ferreira M., Queiro's. B., Ferreira I., Baptista P., 2007. Total phenols, ascorbic acid, b-carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chemistry* 10: 413-419.
- Bauer A W., Kirby W. M., Sheris J. S., Turck M., 1966. Antibiotic sus-ceptibility testing by a standardized single disk method. *Amer J Clin. Pathol* 45: 493-496.
- Bell, A., Bachman, S. 2011. *Ephedra distachya*.
- Berghe D. A.V., Vlietinck A.J., 1991. Screening Methods for Antibacterial and Antiviral Agents from Higher Plants. In: Dey PM and Harborne JB (Eds.), *Methods in Plant Biochemistry*. Vol. VI, Academic Press, London: 47-69.

- Bettaieb Rebey, I., Bourgou, S., Wannas, Aidi, W., Hamrouni Selami, I., Saidani Tounsi, M., Marzouk, B., Fauconnier, M.L., Ksouri R., 2018. Comparative assessment of phytochemical profiles and antioxidant properties of Tunisian and Egyptian anise (*Pimpinella anisum* L.) seeds. *Plant Biosyst.* 152 : 971-978.
- Betti JL. 2002a. Usages traditionnels des plantes médicinales et traitement des maux de dos dans la réserve de biosphère du Dja/Cameroun. In *history of health and diseases: Living and curing old age in the world/Old age in the world*, Gueri A & Consiglière S (ed). Genoa/Italy: 117-154.
- Betti JL. 2002b. Medicinal plants sold in Yaounde markets, Cameroon. *African Study Monographs* 23 (3): 47-64.
- Blumenthal J.A., Mahanna E.P., Madden D. J., White W. D., Croughwell N.D., Newman M, F., 1995. Methodological issues in the assessment of neuropsychologicfunction after cardiac surgery. *The Annals of thoracic surgery.* 59(5): 1345-1350.
- Boakye Y.K., Konning G.H., 1975. Incidence of antibacterial activity in the Connaraceae. *Planta Medica.*
- Bogusław B., Sylwia N., 2012. Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC)— a powerful separation technique. *Anal Bioanal Chem.* . 402(1): 231-247.
- Bougateg A., Hajji M., Balti R., Lassoued I., 2009. Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food chemistry.* 114(4): 1198-1205.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C., 1995. *Lebenson Wiss Technol.* 28: 25-30.
- Broadhurst R.B., Jones W.T., 1978. *Journal of the science of food and agriculture.* 29: 788-794.
- Bruneton J. 1999. *Pharmacognosie, Phytochimie Plantes médicinales 3ème Ed* Techniques et documentations. Paris: 227-310.
- Bruneton.J. 2004. *Pharmacognosie et phytochimie .Plante médicinales*, Edition Technique et documentation, 3ème Edition Lavoisier, Paris,
- Bruneton J. 2009. *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales.* Lavoisier Tec & Doc: 4eme édition. 1268.
- Caveney S., Charlet D A., Freitag H., Maier-Stolte M., and Starratt A N., 2001 .New observations on the secondary chemistry of world Ephedra (Ephedraceae). *American journal of botany.* 88(7): 1199-1208.

- Chebaout E., Dadamoussa B., Gharbali S., Gherraf N., 2014. Assessment of antimicrobial activity of flavonoids extract from *Ephedra alata*. *Der Pharmacia Lettre*. 6(3): 27-30.
- Chen, W. L., Tsai, T. H., Yang, C. C., & Kuo, T. B. 2010. Effects of Ephedra on autonomic nervous modulation in healthy young adults. *Journal of ethnopharmacology*, 130(3): 563-568.
- Chung Y. C., Chang C T., Chao W W., Lin C F., & Chou S T. 2002. Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 50: 2454-2458.
- Colomb, F. 2010. HPLC Principe et appareillag. *Biotechnologie & Biologie et Physiopathologie humaine*, Académie de Rouen. 2.
- Derradji M., Ben haoua H., 2016. Extraction du quelques plantes médicinales (*Ephédra alata*). Mémoire de master en génie chimique. Faculté des sciences et technologie. Université Echahid Hamma Lakhdher EL OUED. 32.
- Derbel S., Touzard B., Triki M.A., & Chaieb M., 2010. Seed germination responses of the Saharan plant species *Ephedra alata* ssp. *alenda* to fungicide seed treatments in the laboratory and the field. *Flora-Morphology. Distribution. Functional Ecology of Plants*. 205(7): 471-474.
- Dewanto V., Wu X., Adom K.K., Liu R.H., 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J. Agricult.*
- Dixit S. N., Tripathi S. C., Upadhyey R.R., 1976. The antifungal sub-stance of rose flower (*Rosa indica*). *Economic botany* 30: 371-374.
- Djabou, N., 2006. *Sambucus nigra L.*, une plante de la pharmacopée traditionnelle du nord africaine, Thèse de magister en chimie organique appliquée, Faculté des Sciences - Département de Chimie, université Abou Bakr Belkaid – Tlemcen. 123.
- Evansw C. 2009. *Trease and Evans. pharmacognosy*. Saunders, 16e me, Ed, 616.
- Ghafoor, S., Shah, M. M., Ahmad, H., Swati, Z. A., Shah, S. H., Pervez, A., & Farooq, U. 2007. Molecular characterization of *Ephedra* species found in Pakistan. *Genet Mol Res*, 6(4): 1123-1130.
- Gherraf N., Chebouat E., Dadamoussa B., Garabli S., Alloui M., Cheriti A., Zellagui A., 2014. Assessment of antimicrobial activity of flavonoids extracts from *Ephedra alata*. *Der Pharmacia Lettre* 6(3): 27-30.

- Hajjaj G. 2017. Screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *Matricaria chamomilla* L. et de *L'ormenis mixta* L. (asteraceae). Thèse de Doctorat, Université Mohammed V, Maroc. 216.
- Hanato T., Kagawa H., Yasuhara T., Okuda T., 1988. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: Their relative astringency and radical scavenging effects. *Chem. Pharm. Bull.* 36: 2090-2097.
- Harbone J. B., 1984. *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis.* Chapman and Hall, London.
- Hikino, H., Konno, C., Takata, H., & Tamada, M. 1980. Antiinflammatory principle of Ephedra herbs. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 28 (10): 2900-2904.
- Hussain I., Khan N., Ullah R., Shanzeb., Ahmed S., Khan FA., 2011. Phytochemical, physiochemical and antifungal activity of *Eclipta alba*. *Afr J Pharm Pharmacol* 5(19): 2150-2151.
- Ingle, K.P.; Deshmukh, A.G.; Padole, D.A.; Dudhare, M.S.; Moharil, M.P.; Khelurkar; V.C. J., 2017. *Pharmacogn Phytochem*: 32.
- Jigna P., Sumitra V. C., 2007. *In vitro* antimicrobial activity and phy-tochemical analysis of some Indian medicinal plants. *Turk J Biol* 31: 53-58.
- Kebili Z. 2016. Contribution à l'étude de quelques activités biologiques des extraits de *Ephédra alata* de la région d'Ouargla.
- Koné, K. P. F. O., 2018. Applications des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l'identification des métabolites secondaires de trois plantes antidiabétiques et antihypertensives de la pharmacopée ivoirienne (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique Felix Houphoët Boigny-Yamoussoukro): 27-28.
- Konkon N.G., Simaga D., Adjoungova A.L.N., Guessan K.E., Zirihi C.N., Kone B.D., 2006. Etude phytochimique de *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Ktze (Rubiaceae), plante a feuille antidiabetique. *Pharm Méd Trad Afr.* 14: 73-80.
- Krief S. 2003. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. HAL. Thèse de doctorat "Ecologie et chimie des substances naturelles". Muséum national d'histoire naturelle: 31-32.
- Lee M.R., 2011. The history of Ephedra (Ma-Huang). *The journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh* Edinb. 41(1): 78-84.

- Limberger R P., Jacques A L B., Schmitt G C, Arbo M D., 2013. Pharmacological Effects of Ephedrine: 38.
- Lugasi A., Hovari J., Sagi K., Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J.Acta.biologica. Szegediensis.* 47 (1-4): 119-125.
- Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002). *Botanique 3ème Ed : Technique et documentation.* Lavoisier .Paris: 211.
- Malecky, M. 2008. Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins (Doctoral dissertation, Paris, AgroParisTech).
- Marinova, D.; Ribarova, F.; Atanassova, M. 2005. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy.*, 40, 255-260.
- Mathur, R.; Vijayvergia, R. 2017. *Int J Pharm Sci Res.*, 8: 5282-85.
- Mayo clinic. 2022. Cancer .<https://www.mayoclinic.org/ar/diseasesconditions/cancer/diagnosis-treatment/drc-20370594>. Consulté le 20 juin 2022 à 15 heures.
- Meyers K. J., Watkins C. B., Pritts M. P., Liu R. H., 2003. Antioxi-dant and antiproliferative activities of strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 6887-6892.
- Mkadmini Hammi K., Jellouli Ennigrou D., Majdoub H., Ksouri R., 2017. Recovery of phenolic compounds and carbohydrates from hydro-ethanolic extract of *Zizyphuslotus* fruit using ultra filtration process. *Int. J. Food Eng.* 13: 1-13.
- Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*, 65: 55-63.
- Nabti H., Boulberhane S., 2017. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et l'activité antifongique des deux plantes *Artemisia compestris* L. et *Ephédra alata alenda* Staph : 92.
- Negri, G., Tabach, R. 2013. Saponins, tannins and flavonols found in hydroethanolic extract from *Periandra dulcis* roots. *Revista Brasileira de Farmacognosia*: 851-860.
- Noreen, H.; Semmar, N.; Farman, M.; McCullagh, J.S.O. 2017. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*: 792-801.
- OMS. 2008. Fact sheet on traditional medicine. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>. Consulté le 12 juin 2022 à 09 heures.
- Orliaguet G, Gall O, Benabess-Lambert F. 2013. Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Le Praticien en Anesthésie Réanimation.* ; 17(5): 228-237

- Ou B., Hampsch-Woodill M., Prior R. L., 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 49: 4619-4626.
- Oyaizu M., 1986. Studies on products of browning reaction- Antiox-idative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal Of Nutrition* 44: 307-315.
- Ozenda P. 1991. Flore et végétation du Sahara: Centre National De La Recherche Scientifique. 3éme édition, Paris: 662.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2012). Ferric reducing and radical scavenging activities of selected important polyphenols present in foods. *International Journal of Food Properties*, 15(3): 702-708.
- Parejo I., Viladomat F., Bastida J., Rosas-Romeo A., Flerlage N., Burillo J., 2002. Comparison between the radical-scavenging activi-ty and antioxidant activity of six distilled and non-distilled mediter-ranean herbs and aromatic plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6882-6890.
- Peters C.M., O'neill J.O., Young J.B., Bott-Silverman C., 2005. Is there an association between Ephedra and heart failure? A case series. *J Card Fail.*, 11: 9-11.
- Pincemail J., Heusele C., Bonté F., Limet R., 2001. Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. *Act Med Int*, 4: 18-23.
- Popovici C., I saykova AND B., 2010. Tytkowski Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH.
- Prieto P., Pineda M., & Aguilar M., 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem*, 269: 337-341.
- Raunkiaer C. 1934. The life form of plants and statistical plant geography. Oxford: Clarendon Press.
- Rustaiyan A., Javidnia K., Farjam M.H., Aboee-Mehrizi, F., Ezzatzadeh, E., 2011. Antimicrobial and antioxidant activity of the Ephedra sarcocarpa growing in Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5: 4251-4255.
- Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L., Douira, A. 2010. Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa*, 31: 133-146.
- Shelke P.S., Jagtap P.N., Tanpure P.R., 2020. *Int J Sci Res.*, 9: 1-2.

- Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. M., 1999. "Analysis of totalphenols and otheroxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent" *Methods Enzymol.* Vol. (299): 152.
- Soni, M. G., Carabin, I. G., Griffiths, J. C., & Burdock, G. A. 2004. Safety of Ephedra: lessons learned. *Toxicology letters*, 150(1): 97-110.
- Sunmathi D., Sivakumar R., Ravikumar K., *IJAPBC.*, 2016
- Swain, T.; Hillis, W. E. 1959. *Journal of the science of food and agriculture*: 63-68
- Szabó, J.; Jerkovics, N.; Schneider, G.; Wölfling, J.; Bózsity, N.; Minorics, R.; Zupkó, I.; Mernyák, E., 2016. Synthesis and in vitro antiproliferative evaluation of C-13 epimers of triazolyl-D-secoestrone alcohols: The first potent 13a-D-secoestrone derivative. *Molecules* 21: 611.
- Tsang, R.Y.; Al-Fayea, T.; Au, H.J. 2009. Cisplatin overdose: Toxicities and management. *Drug Saf.* 32: 1109–1122.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., & Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease.165. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1): 44-84.
- Visioli F., Borsani L., Galli C. 2000. Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of Phytochemicals. *Cardiovascular Research* 47: 419–425.
- Waterhouse A. 2002. Determination of total phenolics. *Curr. Prot. in Food Anal. Chem.*
- William, B.J., 2007. The original of the soxhlet extractor, *Journal of Chemical Education*, Volume 84, n°12, Canada: 1913.
- Zhang B.M., Wang Z.B., Xin P., Wang Q.H., Bu H., Kuang H.X., 2018. Phytochemistry and pharmacology of genus Ephedra. *Chin. J. Natl. Med.* 16: 811–828.

Annexes

Annexe 01. Tableau présentant les articles scientifiques servant de support à la réalisation de la partie expérimentale de la présente étude (par ordre chronologique).

N°	Titre	Auteurs (Année)
01	Alkaloidal, lignan and phenolic constituents of <i>Ephedra alata</i> .	Nawwar <i>et al.</i> , 1985.
02	Antimicrobial activity and tentative identification of active compounds from the medicinal <i>Ephedra alata</i> male plant.	Ghanem et El-magly, 2008.
03	In vitro production of some phenolic compounds from <i>Ephedra alata</i> Decne.	Hegazi et El-lamey, 2011.
04	Chemical composition of various Ephedra species	Ibragic et Sofic, 2015.
05	Preliminary phytochemical screening, quantitative estimation of total flavonoids, total phenols and antioxidant activity of <i>Ephedra alata</i> Decne.	Jaradat <i>et al.</i> , 2015.
06	Valorisation des Activités biologiques de certaines espèces végétales sahariennes Nord-africaines.	Palici, 2016.
07	In vitro evaluation of antiinflammatory and antioxidant effects of <i>Asparagus aphyllus</i> L., <i>Crataegus azarolus</i> L., and <i>Ephedra alata</i> Decne.	Kmail <i>et al.</i> , 2017.
08	Analysis of phenolic and flavonoids of wild <i>Ephedra alata</i> plant extracts by LC/PDA and LC/MS and their antioxidant activity.	Al-rimawi <i>et al.</i> , 2017
09	Phytochemical characterization and evaluation of the antimicrobial, antiproliferative and pro-apoptotic potential of <i>Ephedra alata</i> Decne hydroalcoholic extract against the MCF-7 breast cancer cell line.	Danciu <i>et al.</i> , 2018.
10	Phenolic compounds characterization by LC-DAD-ESI/MSn and bioactive properties of <i>Thymus algeriensis</i> Boiss & Reut and <i>Ephedra alata</i> Decne.	Ziani <i>et al.</i> , 2019.
11	A new highlight of <i>Ephedra alata</i> Decne properties as potential adjuvant in combination with cisplatin to induce cell death of 4T1 breast cancer cells <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> .	Sioud <i>et al.</i> , 2020.

12	Preliminary phytochemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of two Tunisian <i>Ephedra</i> species: <i>Ephedra alata</i> and <i>Ephedra fragilis</i> .	Bourgou <i>et al.</i> , 2020.
13	Effects of <i>Ephedra alata</i> extract on the quality of minced beef meat during refrigerated storage: a chemometric approach.	Elhadeb <i>et al.</i> , 2020.
14	Phytochemical profile, antioxidant and anti-inflammatory activities of <i>Ephedra alata Decne</i> growing in south Algeria.	Benarba <i>et al.</i> , 2021.
15	Ethnobotanical, phytochemical characterization and biological activities of <i>Ephedra alata Decne</i> extracts, growing wild in Bechar region, south west of Algeria.	Hibi <i>et al.</i> , 2022.

Résumés

ملخص

تعتمد هذه الدراسة على تحليل 15 منشورًا علميًا الهدف الرئيسي منها هو المساهمة في تطوير نبات طبي *Ephédra alata alenda* من عائلة Ephedraceae، الذي يتمتع بأهمية كبيرة في مجال الأدوية في العالم.

هدفت دراستنا التحليلية إلى إنشاء ملف تعريف كيميائي نباتي، وتقييم مضادات الأكسدة وتقدير الأنشطة المضادة للالتهابات والمضادة للبكتيريا والفطريات وكذلك المضادة للسرطان لنبات *Ephédra alata* بناء على العديد من الاختبارات والتحليلات التي أجراها الباحثون سابقاً. وقد سلط الفحص الكيميائي الضوء على ثراء هذا النبات من المستقبلات الثانوية في المستخلصات المختلفة. تحتوي جميع مستخلصات *Ephédra alata* على أنشطة مضادة للأكسدة خاصة المستخلصات الميثانولية. تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات على عدة سلالات بكتيرية وفطرية *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus*, *Aspergillus fumigatus*, و *flavus* وأظهرت النتائج أن السلالات المختبرة لها حساسية متغيرة لمستخلصات *Ephédra alata* وتركيزاتها، أظهر تقييم النشاط المضاد للالتهابات أن مستخلصات *Ephédra alata* تمارس إمكانات قوية مضادة للالتهابات على تثبيط NO وتثبيت تحلل بروتين الألبومين. أظهرت نتائج النشاط المضاد للسرطان أن مستخلصات *Ephédra alata* تظهر نسبة ملحوظة من السمية الخلوية على خلايا MCF-7.

يمكن استخدام المستخلصات المختلفة للأجزاء الهوائية من *Ephédra alata* كمصادر مستقبلية لمضادات الأكسدة التي لها خصائص مضادة للميكروبات ومضادة للسرطان و مضادة للالتهابات بسبب غناها بالجزئيات النشطة بيولوجيًا.

الكلمات المفتاحية: تحليل بيبلوغرافي، *Ephédra alata*، النشاط البيولوجي.

Résumé

Cette étude consiste à une synthèse basée sur l'analyse de 15 publications scientifiques dont l'objectif principal est s'inscrire dans la contribution à la valorisation d'une plante médicinale *Ephédra alata alenda* (Ephedraceae), dotée d'une grande importance pharmacologique dans le monde.

Notre étude analytique visait à établir un profil phytochimique, évaluer le potentiel antioxydant et estimer les activités anti-inflammatoires, antibactériennes, antifongiques et aussi anticancéreuse d'*E. alata* sur la base des plusieurs tests et analyses effectués par les chercheurs précédemment. Le screening chimique a mis en évidence la richesse de cette plante en métabolites secondaires aux différents extraits. Tous les extraits ont des activités antioxydantes sur tout l'extrait méthanoïque. L'activité antimicrobienne a été déterminée sur plusieurs souches bactériennes et fongiques: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, les résultats obtenus montrent que les souches testés possèdent une sensibilité variable pour les extraits d'*Ephédra alata* et leurs concentrations. L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire montrée que les extraits d'*Ephédra alata* exercent un fort potentiel anti-inflammatoire sur l'inhibition de NO et l'inhibition de la dénaturation des protéines de l'albumine. Les résultats de l'activité anticancéreuse montrée que les extraits d'*Ephédra alata* présentant un pourcentage de cytotoxicité remarquable sur les cellules MCF-7.

Les différents extraits des parties aériennes d'*E. alata* peuvent être utilisés comme future sources des antioxydants ont un pouvoir antimicrobienne et anti-cancéreux anti-inflammatoires en raison de leur richesse en molécules bioactives.

Mots clé: synthèse bibliographique, *Ephédra alata*, activité biologiques.

Abstract

This study consists of a synthesis based on the analysis of 15 scientific publications whose main objective is to contribute to the development of a medicinal plant *Ephedra alata alenda* (Ephedraceae), endowed with great pharmacological importance in the world.

Our analytical study aimed to establish a phytochemical profile, evaluate the antioxidant potential and estimate the anti-inflammatory, antibacterial, antifungal and also anticancer activities of *E. alata* based on the several tests and analyzes carried out by the researchers previously. The chemical screening has highlighted the richness of this plant in secondary metabolites in the different extracts. All the extracts have antioxidant activities especially the methanolic extract. The antimicrobial activity was determined on several bacterial and fungal strains: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, the results obtained show that the strains tested have a variable sensitivity for *Ephedra alata* extracts and their concentrations. Evaluation of anti-inflammatory activity showed that *Ephedra alata* extracts exert strong anti-inflammatory potential on NO inhibition and inhibition of albumin protein denaturation. The results of anti-cancer activity showed that the extracts of *Ephedra alata* exhibiting a remarkable percentage of cytotoxicity on MCF-7 cells.

The different extracts of the aerial parts of *E. alata* can be used as future sources of antioxidants have antimicrobial and anti-cancer anti-inflammatory properties due to their richness in bioactive molecules.

Key words: Bibliographical synthesis, *Ephedra alata*, biological activity.