



الشعبية الديمقراطية الجزائرية الجمهورية

République Algérienne Démocratique et Populaire

N série:.....

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمزة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

Aspects phytochimiques de *Ephedra alata* et ses effets sanitaires

Présenté Par :

M^{elle} REHOUMA Safa

M^{elle} GUEMARI Razika

Devant le jury composé de :

- ✚ Président: M^{elle} RAMDANE Farah M.C.B, Université d'El Oued.
- ✚ Examineur: M. BEL MESSAOUD Rachid M.A.A, Université d'El Oued.
- ✚ Promotrice : M^{elle}. GUEMOUDA Messaouda M.A.B, Université d'El Oued.

Année Universitaire: 2017/2018

Dédicaces

Nous dédions ce modeste travail à :

Nos parents ;

Nos frères et sœurs ;

Nos amies.

Safa & Razika

Remerciements

Nous tenons en premier lieu à exprimer notre sincère gratitude à M^{elle}. **GUEMOUDA Messaouda**, Enseignante-chercheuse à l'université d'El Oued, pour avoir acceptée d'être notre promotrice de mémoire.

Merci pour la confiance que vous avez nous accordez ensuite lors de la réalisation de ce travail. Nous tenons aujourd'hui à vous remercier chaleureusement pour votre rôle dans l'élaboration de ce mémoire.

Nous remercions vivement M^{elle}. **RAMDANE Farah**, Enseignante-chercheuse à l'université d'El Oued, de présider notre jury de soutenance et contribuer à l'évaluation de notre travail.

Nous remercions infiniment M. **BEL MESSAOUD Rachid**, Enseignant-chercheur à l'université d'El Oued, d'être un membre de jury et d'évaluer notre travail.

Nous remercions également tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin, tout particulièrement nos amies.

Abstract

Ephedra is one of the medicinal plants used in traditional medicine to treat many diseases. The purpose of this study is to identify the secondary components and to evaluate the antibacterial activity of the aqueous extract of the plant *Ephedra alata* growing in the wild in Khenchela and analyze it. The present study is part of the contribution to the valorization of a medicinal plant. *Ephedra alata* has a great pharmacological importance in the world and is renowned for its resistance to drought. The extract obtained after maceration in distilled water gave a moderate yield of 16.38%. The phytochemical study showed the presence of various secondary metabolites in the aerial part of the plant such as polyphenols, flavonoids, tannins, alkaloids, saponosides, reducing sugars and terpenoids. With a high flavonoid content that reaches an average value of 11.423 $\mu\text{gEQ} / \text{mg}$. The disk diffusion method in agar medium, showed a strong activity of the extracts of the plant against the growth of *S. enteric*, and low inhibitory activity of the growth of *P. aeruginosa*. According to the ethnobotanical survey, the pharmacological importance of the plant seems to be ignored by a large part of the population, but some scientific researches in pharmacology show that *Ephedra alata* has a considerable therapeutic importance and can be used as remedies for various diseases.

Keywords: *Ephedra alata*, Antibacterial activity, Evaluation, Secondary metabolites, Health effects, Khenchela.

الإفيدرا هي واحدة من النباتات الطبية المستخدمة في الطب التقليدي لعلاج العديد من الأمراض. الغرض من هذه الدراسة هو تحديد المكونات الثانوية وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص المائي لنبات *Ephedra alata* المتواجد في البرية في خنشلة وتحليله. هذه الدراسة تساهم في تثمين النباتات الطبية في منطقة الدراسة، و اشتهرت النبتة في العالم بخصائصها العلاجية و مقاومتها للجفاف. أعطى المستخلص الذي تم الحصول عليه بعد النقع في الماء المقطر مردود متوسط يقدر بـ 16.38٪، كما اظهرت الكشوفات الأولية تواجد المركبات الثانوية في الجزء الهوائي للنبات مثل البوليفينول، الفلافونويد والتينينات وقلويدات، الصابونين، والسكريات المرجعة، التربينات. مع وجود الفلافونويد بكمية معتبرة تصل إلى قيمة 11.423 mg / µgEQ. و أظهرت الفعالية المضادة للبكتيريا نشاطا قويا لمستخلصات النبات في تثبيط نمو البكتيريا *Escherichia*، بينما لوحظ انخفاض النشاط المثبط لنمو بكتيريا *P.aeruginosa*. ووفقا للدراسات الإثنية، فإن الأهمية الدوائية لها لا يمكن تجاهلها من قبل معظم السكان، و لكن مع البحث العلمي في علم الصيدلة تبين ان *Ephedraalata* لها أهمية علاجية كبيرة، و يمكن أن تستخدم كأدوية ضد الأمراض المختلفة.

الكلمات المفتاحية: إفيدرا آلاتا، النشاط المضاد للبكتيريا، التقييم، المستقلبات الثانوية، التأثيرات الصحية، خنشلة.

Résumé

L'éphédra fait partie des plantes médicinales utilisées dans la médecine traditionnelle pour traiter de nombreuses maladies. Le but de cette étude est d'identifier les composants secondaires et d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de la plante *Ephedra alata* poussant à l'état sauvage à Khenchela et l'analyser. La présente étude s'inscrit dans le cadre de la contribution à la valorisation d'une plante médicinale de la région, *l'Ephedra alata* est dotée d'une grande importance pharmacologique dans le monde et réputée par sa résistance à la sécheresse. L'extrait obtenu après macération dans l'eau distillée a donné un rendement modéré de 16.38 %. L'étude phytochimique a montré la présence de divers métabolites secondaires dans la partie aérienne de la plante tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les saponosides, les sucres réducteurs et les terpénoïdes. Avec une richesse en flavonoïdes qui atteint une valeur moyenne de 11.423 µgEQ/mg. La méthode de diffusion sur disques en milieu gélosé, a montré une forte activité des extraits de la plante contre la croissance de *S. enteric*, et de faible activité inhibitrice de la croissance de *P. aeruginosa*. Selon l'enquête ethnobotanique, l'importance pharmacologique de la plante semble être ignorée par une grande partie de la population, mais quelques recherches scientifiques en pharmacologie montrent que *l'Ephedra alata* a une importance thérapeutique considérable et peut être utilisée comme remèdes contre différentes maladies.

Mots-clés: *Ephedra alata*, Activité antibactérienne, Evaluation, Métabolites secondaires, Effets sanitaires, Khenchela.

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU	TITRE	PAGE
Tableau 01	Rendement d'extrait sec d'Ephedraalata	35
Tableau 02	Différents composants secondaires dans l' <i>E. alata</i> (Acne, 1834) prélevée de la région de kenchela en février 2017.	35
Tableau 03	Etude de l'effet d'antibiotique gentamicine sur les bactéries traitées	37
Tableau 04	Résultat de l'activité antibactérienne d'extraits d' <i>E. alata</i> ; Diamètres en cm ($m \pm s$, $n = 3$).	40
Tableau 05	Activité antibactérienne d'extrait d' <i>E. alata</i> à l'égard des différentes souches bactériennes.	41

LISTE DES FIGURE

FIGURE	TITRE	PAGE
Figure 01	Répartition géographique de l' <i>Ephedra</i> dans le monde	5
Figure 02	Traits taxonomiques du genre <i>Ephedra</i>	6
Figure 03	Squelette de base et numérotation adoptée des flavonoïdes	13
Figure 04	Diverses classes de flavonoïdes d'après	14
Figure 05	Squelette de base des terpènes	19
Figure 06	Structure des alcaloïdes	20
Figure 07	Principaux hétérocycles de base et leurs précurseurs	22
Figure 08	Exemple de biosynthèse de certains dérivés de phénylalanine	23
Figure 09	Position géographique de la zone d'étude (wilaya de Khenchela)	27
Figure 10	Courbe d'étalonnage du quercétine.	36
Figure 11	Diamètres de la zone d'inhibition de la croissance des différentes souches bactériennes.	38
Figure 12	Photos montrant les zones d'inhibition des différentes souches bactériennes.	38
Figure 13	Photos montrant les zones d'inhibition des différentes souches bactériennes.	39
Figure 14	Activité antibactérienne de l'extrait d' <i>E. alata</i> ; $m \pm s$ et $n = 3$.	40

Liste des abréviations

ALP : Phosphatase alcaline

CCM : chromatographie sur couche mince

CL50 : Concentration létale 50

CP : chromatographie sur papier

CPG : la chromatographie en phase gazeuse

Cu : Cuivre

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FDA : Food and Drug Administration

Fe : Fer

GENT : Antibiotique de gentamicine

GMH : Gélose Mueller Hinton

Hg : Mercure

HPLC : la chromatographie en phase liquide

HSV : virus herpès simplex

nm : nanomètre

Pb : Plomb

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

SGOT : Glutamate-oxaloacétate-transaminase sérique

SGPT : Glutamate-pyruvate-transaminase sérique

SNC : système nerveux central

TDH : Texas Department of Health

UV : ultraviolet

Zn : Zinc

Sommaire

Dédicaces

Remerciements

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

01

Première Partie: Etude Bibliographique

Chapitre I: Généralités sur la plante étudiée (*Ephedra alata*)

I.1. Répartition géographique

5

I.2. Critères taxonomiques

5

I.3. L'utilisation dans la médecine traditionnelle

6

I.4. Effets pharmacologiques

7

I.5. Effets Toxiques

9

Chapitre II: Les plantes médicinales et métabolites secondaires

II.1. Définition des plantes médicinales

12

II.2. les métabolites secondaires

12

II.2.2. Flavonoïdes

12

II.2.3. Les tanins

18

II.2.4. Les terpènes

19

II.2.5. Les stérols	19
---------------------	----

II.2.6. Les alcaloïdes	20
------------------------	----

Deuxième Partie: Partie Pratique

Chapitre I: Matériels et Méthodes

I.1. Position géographique de la zone d'étude et méthode d'échantillonnage	27
--	----

I.2. Séchage de la plante	27
---------------------------	----

I.3. Souches microbiennes utilisées	28
-------------------------------------	----

I.3.1. Bactéries Gram négatif	28
-------------------------------	----

I.3.1.1. <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922):	28
--	----

I.3.1.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	28
---	----

I.3.1.3. <i>Salmonella Enteric</i> (Arizonae CIP 81-3);	28
--	----

I.3.2. Bactéries Gram positif	28
-------------------------------	----

I.3.2.1. <i>Listeria monocytogene</i>	28
---------------------------------------	----

I.4. Préparation des extraits	28
-------------------------------	----

I.5. Détermination du rendement	29
---------------------------------	----

I.6. Tests phytochimiques	29
---------------------------	----

I.6.1. Polyphénols	29
--------------------	----

I.6.2. Flavonoïdes	30
I.6.3. Tanins	30
I.6.4. Alcaloïdes	30
I.6.5. Saponosides (Test de mousse)	30
I.6.6. Sucres réducteurs	30
I.6.7. Terpénoïdes	31
I.6.8. Stéroïdes	31
I.7. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)	31
I.7.1. Principe	31
I.7.2. Mode opératoire	31
I.8. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait	31
I.8.1. Milieux de culture	31
I.8.2. Conservation des souches	32
I.8.3. Préparation des précultures	32
I.8.4. Préparation des disques	32
I.8.5. Préparation des suspensions bactériennes	32

I.8.6. Test de l'activité antibactérienne	32
---	----

I.8.6.1. Test de sensibilité aux antibiotiques	33
--	----

I.8.6.2. Test de sensibilité aux extraits bruts des plantes	33
---	----

Chapitre II: Résultats et Discussion

II.1. Rendement des extraits aqueux	35
-------------------------------------	----

II.2. Tests phytochimiques	35
----------------------------	----

II.3. Analyse quantitative des composés flavonoïdiques (FVT)	36
--	----

II.3.1. Courbe d'étalonnage	36
-----------------------------	----

II.3.2. Teneurs des flavonoïdes	36
---------------------------------	----

II.4. Etude de l'activité antibactérienne des extraits <i>d'E. alata</i>	37
--	----

II.4.1. Effet de l'antibiotique gentamicine	37
---	----

II.4.2. Activité antibactérienne des extraits <i>d'E. alata</i>	39
---	----

Discussion	42
------------	----

III.1. Rendement des extraits aqueux	42
--------------------------------------	----

III.2. Tests phytochimiques	42
-----------------------------	----

III.3. Analyse quantitative des composés flavonoïdiques (FVT)	42
---	----

III.4. Etude de l'activité antibactérienne des extraits <i>d'E. alata</i>	43
---	----

Chapitre III: Les effets sanitaires

III.1. Effet antioxydant	46
--------------------------	----

III.2. Effet hypoglycémique	46
-----------------------------	----

III.3. Effet hépatoprotecteur	46
-------------------------------	----

III.4. Pharmacologie de l'éphédrine	46
-------------------------------------	----

III.4.1. Effets cardiovasculaires	47
-----------------------------------	----

III.4.2. Bronchodilatation	47
----------------------------	----

III.4.3. Décongestion nasale	47
------------------------------	----

III.4.4. Enurésie nocturne	48
----------------------------	----

III.4.5. Anesthésie rachidienne	48
---------------------------------	----

III.4.6. Stimulation du SNC	48
-----------------------------	----

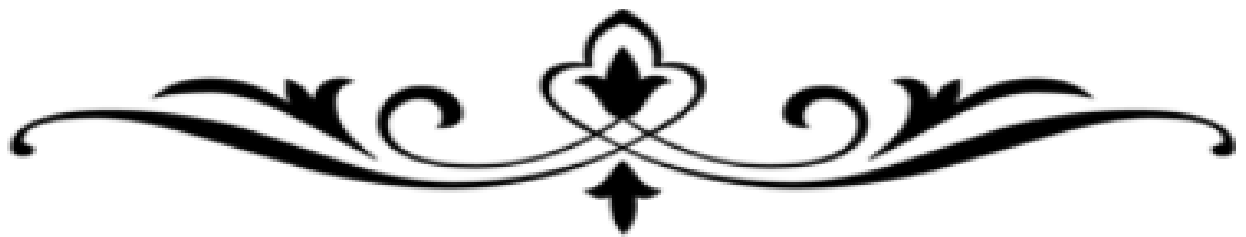
III.4.7. Perte de poids	48
-------------------------	----

III.4.8. Effets cytotoxiques de l'éphédrine et de la pseudoéphédrine	48
--	----

III.4.9. Autres effets	49
------------------------	----

<i>conclusion générale</i>	52
----------------------------	----

Références bibliographiques	54
-----------------------------	----



Introduction générale



Depuis les temps les plus reculés, la préoccupation de l'homme a été la satisfaction de ses besoins alimentaires. Il a développé ainsi une relation intime avec le milieu qui l'entourait. Pour se soigner, il a appris à ses dépens à discerner les ressources végétales et animales nécessaires à sa survie. Pour cela il s'est inspiré des mœurs des animaux, de son expérience et parfois de son imagination. C'est pour cela que souvent les utilisations de plantes sont révélées tragiques (**Jean-Louis, 1998**).

L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt auprès du public, selon l'organisation Mondiale de la Santé (**OMS, 2003**), environ 65-80% de la population mondiale à recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (**Ma et al., 1997**).

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine. On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies (**Schauenberg & Paris, 2006**).

Aujourd'hui il a été estimé que les principes actifs provenant des végétaux représentent 25% des médicaments prescrits soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes (**Potterat & Hostettmann, 1995**).

L'Algérie qui occupe une place stratégique de par sa position géographique en Afrique et dans le bassin méditerranéen, offre une variété d'écosystèmes: écosystèmes forestiers, écosystèmes steppiques et écosystème saharien, qui lui confèrent une exceptionnelle richesse phytogénétique (**INRAA, 2006; Benhouhou & Benghanem, 2013**).

Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal se trouve la famille des Ephedraceae, représentés par un seul genre *Ephedra*, cette famille possède des propriétés thérapeutiques et sont utilisées en médecine traditionnelle.

L'espèce d'*Ephedra alata* (**Decne, 1834**) est utilisée dans la médecine traditionnelle comme stimulant, désobstruant, pour traiter les reins, les bronches, le système circulatoire, les troubles du système digestif et les crises d'asthme ainsi que pour le traitement du cancer et

traitement des infections bactériennes et fongiques(Christensen & Lam, 1991; Emerenciano *et al.*, 2001).

La composition phytochimique de diverses espèces d'ephedra n'est pas complètement élucidée. Les métabolites secondaires provenant des espèces d'Ephedra comprennent les alcaloïdes, les acides aminés et dérivés, les composés volatils et les composés phénoliques (Ozenda, 1983).

Dans ce contexte, de nombreuses recherches scientifiques faites sur les composés bioactifs notamment sur les polyphénols (PP) qui agissent contre les ERO, ont aboutit à leur utilisation dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques (Pietta *et al.*, 2000). L'évaluation des propriétés phytothérapeutiques, telle que l'activité antibactérienne et antioxydante est considérée comme très importante et très utile (Abdel Hakim, 2009).

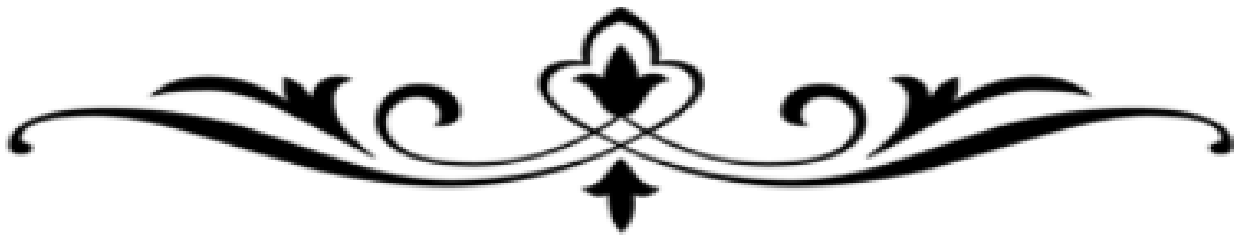
L'objectif de ce travail est d'établir une recherche biochimique qui nous permis d'évaluer les composants secondaires dans l'extrait de l'*Ephedra alata* (Decne, 1834) prélevée de la région de Khenchela, en étudiant l'activité antimicrobienne de cette espèce.

Des éléments bibliographiques seront tout d'abord apportés dans une première partie pour faire le point sur la plante étudiée (*Ephedra alata*) et les plantes médicinales et leurs métabolites secondaires. Puis, dans une deuxième partie, nous aborderons la méthodologie mise en œuvre et la présentation du cadre d'étude. Ensuite, la réalisation des tests phytochimiques, le dosage des flavonoïdes totaux, l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait, ses effets sanitaires et une discussion des résultats. Enfin, dans la conclusion générale, nous présenterons les points essentiels du travail et nous proposerons quelques perspectives pour des travaux ultérieurs.

Première Partie



Chapitre I



Généralités sur la plante étudiée

(Ephedra alata)

I.1. Répartition géographique

L'origine de l'*Ephedra* a parfois été considérée comme ancienne, peut-être dès ou avant l'éclatement de la Pangée (environ 200 millions d'années passant dans le Trias moyen) (Huang & Price, 2003).

Les espèces de ce genre 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 côtes secs de montagnes et qui poussent surtout dans la Chine, l'Inde, l'Égypte, le Moyen-Orient, en Europe et dans les Amériques (Evans, 2009; Hegazi & Ellamey, 2011; Limberger *et al.*, 2013).

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

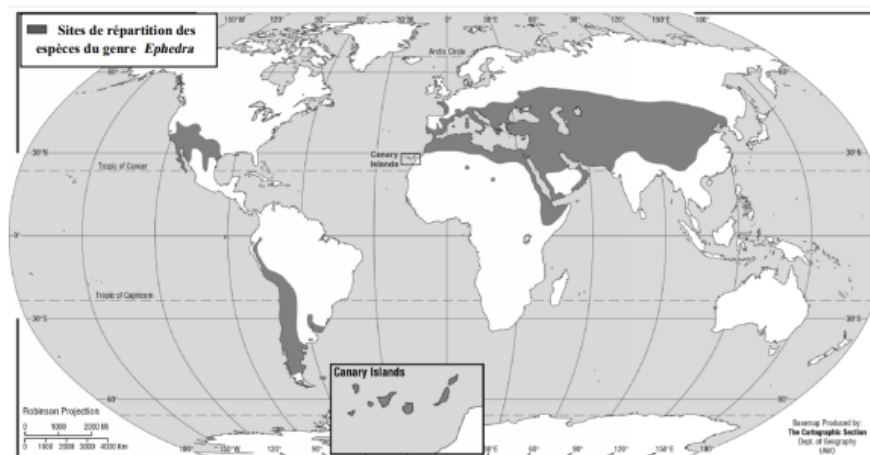


Figure 01. Répartition géographique de l'*Ephedra* dans le monde (Caveney *et al.*, 2001).

I.2. Critères taxonomiques

La famille d'Ephedraceae est représentée par des arbustes dioïques vivaces à rameaux articulés, qui peuvent atteindre 1 à 3 mètre de haut, avec de minces tiges dressées, verts jaunâtres, intersectées et légèrement nervurées, à canalicules de 1,5 mm de diamètre et qui se termine par une pointe souvent acérée. Au niveau des nœuds, qui sont écartés de 4 à 6 cm, les feuilles réduites en écailles apparaissent triangulaires qui se développent en paires opposées ou en verticilles de trois, donnant à la plante l'aspect d'un arbuste sans feuille, de petites fleurs apparaissent en été (Ozenda, 1991; Abourashed *et al.*, 2003; Limberger *et al.*, 2013).

Les fleurs sont en petits cônes blanchâtres, dioïques (fleurs mâles et femelles sur des pieds différents). Les fruits entourés de bractées largement membraneuses, elle présente un système de racines latérales extrêmement puissant (Ozenda, 1991; Derbel *et al.*, 2010).

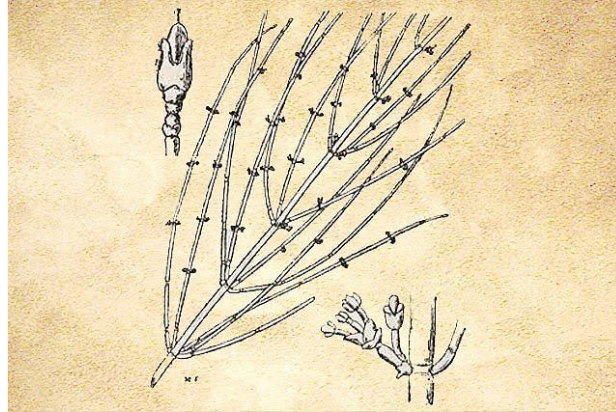


Figure 02. Traits taxonomiques du genre Ephedra

Sa position systématique citée par Ozenda (1991) est la suivante:

Règne: Végétale

Embranchement: Spermaphytes

Sous embranchement: Gymnospermes

Classe: Gnetopsida

Ordre: Ephedrales

Famille: Ephedraceae

Genre: *Ephedra* (Linné, 1753)

Espèce: *alata* (Dacne, 1834)

I.3. L'utilisation dans la médecine traditionnelle

L'*Ephedra* s'utilise contre la grippe, la coqueluche et la faiblesse générale en tisane et par inhalation ainsi que sous forme de goutte nasales contre les rhumes. Elle est utilisée pour lutter contre le diabète. Ainsi, les tiges broyées d'*Ephedraalata* seraient ingérées par les femmes du sahara pour avorter (Bellakhdar, 1997; Ouled El Hadj *et al.*, 2003; Ghourriet *al.*, 2013), hypotensive, antiasmthique et agent astringent (Nawwar *et al.*, 1984), dans la lutter contre le diabète (Ghourriet *al.*, 2013).

Une étude réalisée par (**Boozer et al., 2001**) a montré qu'un mélange d'*Ephedra* et de *guarana* favorise efficacement à court terme (8 semaines) la perte de poids chez des sujets en surpoids. L'extrait alcoolique de l'*E. alata* a présenté un abaissement persistant du taux de glucose sanguin une heure après son administration à des rats à jeun (**Shabana et al., 1990**). Elle a été utilisée comme pâturage pour de nombreux animaux attirés par son arôme acceptable (**AL-Qarawi et al., 2012**).

Les parties utilisés dans la médecine traditionnelle sont les tiges vertes séchées, qui sont usuellement bouillies dans l'eau pendant trente minutes et administrées comme thé chaud (**Abou Rashed et al., 2003**).

I.4. Effets pharmacologiques

Depuis des siècles *Ephedra* est une plante médicinale recherchée pour ses effets sur les affections des voies respiratoires, employée sous le nom d'éphédrine dans les médicaments Européens. Pousse en Europe centrale et sur le pourtour Méditerranéen. Leurs baies sont utilisées comme médicament (**Pellay Maryvonne., 2011**).

L'*Ephedra* a été considérée depuis longtemps en tant que source importante d'alcaloïde: éphédrine, un médicament vasoconstricteur, autrefois, très utilisé dans le traitement de l'asthme et comme décongestionnant respiratoire générale (**Mandaville, 1990**).

Selon **kebili (2016)**, les espèces de l'*Ephedra* ont des origines naturelles de nombreux phyto-constituants incluant des alcaloïdes, des tanins (principalement les pronthocyanidines), des saponines des acides phénoliques, des flavonoïdes (la vicénine II, la leucine III, le kaempferol 3- rhamnoside, la quercétine 3 - rhamnoside et l'herbacétine 7-O-glucoside sont les flavonoïdes qui ont été isolés de l'*Ephedraalata*) et des huiles essentielles. Leurs propriétés biologiques sont attribuées en grande partie aux alcaloïdes de types éphédrine, proto-alcaloïdes dérivés de la phénylalanine. Notons que la (-) éphédrine et l'(+)-pseudoéphédrine sont généralement les plus abondantes, ils représentent environ 80 % de la teneur en alcaloïdes dans la plante séchée (**Soni et al., 2004; Phinney et al., 2005 ; Hegazi & El-Lamey, 2011**).

Le dépistage antiviral montre qu'*Ephedraalata* a une activité antivirale contre le HSV (**Soltan & Zaki, 2009**). En outre, l'activité antidiabétique a été rapportée (**Shabana, 1990**), par l'identification de nouveaux dipeptidyl humain inhibiteurs peptidase-IV d'origine naturelle

qui sont un des candidats potentiels pour le traitement du diabète de type 2 (**Guasch et al., 2012**).

Cette plante peut servir de sources d'antioxydants avec de nouveaux chimotypes (**Alali et al., 2007**). Selon Le **Floc'h (1983)**, les fruits et les bourgeons de cette espèce, étant astringents, sont employés en médecine. L'Ephédrine, malgré l'absence de groupement phénolique caractéristique des catécholamines, est un sympathomimétique, agoniste à la fois des récepteurs adrénergiques α et β . Elle présente aussi un effet indirecte sur le système sympathique via l'augmentation de la libération de noradrénaline à partir des vésicules de stockage dans les neurones sympathiques vers la zone synaptique où il se fixe sur les récepteur post-synaptiques α et β (**Ma et al., 2007; Chen et al., 2010; Limberger et al., 2013**).

L'effet principal de la stimulation des récepteurs adrénergiques α et β incluse l'augmentation de la fréquence cardiaque et la contractilité. Elle favorise également la vasoconstriction périphérique due à la fraction pseudoéphédrine, la bronchodilatation, ce qui explique son utilisation traditionnelle comme décongestionnant nasal et antiasthmatique, ainsi que la stimulation du SNC (**Abourashed et al., 2003 ;Phinney et al., 2005**). Cependant, les effets hypertenseurs et vasoconstricteurs liés à l'éphédrine, sont moins rapides et moins puissants, mais plus durables et plus stables dans les conditions du métabolisme contrairement à l'adrénaline (**Chopra et al., 1960**). C'est pour cela que l'administration de l'éphédrine, qui semble le majeur principe actif de la plupart des espèces *Ephedra*, est contre indiqué chez les patients atteint d'hypertension, de glaucome, ou de l'hyperthyroïdie (**Soni et al., 2004; Chen et al., 2010**).

Tous les travaux phytochimiques ont mis en évidence au sein des organismes végétaux les biomolécules suivantes:

Les flavonoïdes : ils constituent chez les plantes un groupe très diversifié de métabolites secondaires; ce sont des pigments polyphénoliques possédant de nombreuses vertus thérapeutiques (**Maceijstobiechi, 2000**).

Les phénols: ils existent sous une très grande variété, parmi lesquelles on peut citer les acides phénoliques qui sont fortement antioxydants et anti inflammatoires. Ils peuvent avoir des propriétés antivirales (**Igor, 2002**).

Les tanins: toutes les plantes en contiennent à des degrés différents. Ce sont également des composés polyphénoliques. Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation.

Les xanthones: sont essentiellement des métabolites secondaires antimicrobiens (**Sidibé, 2003**).

Les coumarines: se trouvent dans de nombreuses espèces végétales, et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires, et de capter les radicaux libres (**Igor, 2002**). En tant que constituants alimentaires, ces antioxydants naturels semblent contribuer de manière significative dans la prévention des maladies, telles que le cancer ou encore des maladies cardiovasculaires (**Amadou, 2005**).

I.5. Effets Toxiques

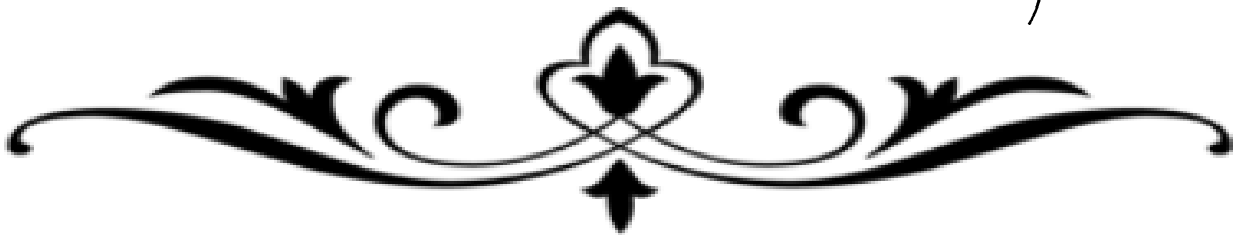
Les remèdes traditionnels utilisés sont, souvent, un mélange de plantes dont la connaissance et les impératifs de préparation, de dosage et de consommation ne sont pas bien maîtrisés. Ainsi, les plantes peuvent contenir des composés chimiques puissants, responsables d'effets indésirables et de toxicité (**Khattabi, 2010**).

La part des intoxications liées à l'usage des plantes est non négligeable (**Benkhnigue, 2011**). Très souvent, les plantes sont consommées sans prendre en considération leur toxicité (**Veiga Junior & Pinto, 2005**). En effet, une toxine est une substance capable de perturber, immédiatement ou à long terme, de façon passagère ou durable, le fonctionnement normal d'un organisme vivant, pouvant aller jusqu'à sa suppression complète et provoquer la mort (**Viala & Botta, 2007**). 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) (**Tron, 2002**).

Plusieurs espèces végétales contiennent des familles de métabolites secondaires qui peuvent être toxiques (**Nafisi, 2010**). Les alcaloïdes forment une grande famille hétérogène de métabolites secondaires, qui présentent un intérêt par leurs propriétés pharmacologiques et leurs applications en médecine. A forte dose, ils sont très toxiques (**Bruneton, 1999**).

Les espèces de l'*Ephedra* ont des effets bénéfiques et néfastes (**Ma et al., 2007**). Cliniquement, il peut en résulter une tachycardie, une hypertension, une hypersudation, une bronchodilatation, une agitation et une mydriase. L'utilisation de l'*Ephedra* 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'*Ephedra* est recommandée uniquement pour les situations aiguës en médecine traditionnelle chinoise et contre-indiqué pour une utilisation à long terme (**Chen et al., 2010**).

Chapitre II



Les plantes médicinales et métabolites

secondaires

II.1. Définition des plantes médicinales

Dans le code de la santé publique, il n'existe pas de définition légale d'une plante médicinale au sens juridique, mais en France « une plante » est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinal. C'est-à-dire qu'elles sont présentées pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales (**Moreau, 2003 In Ghabrier, 2010**).

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sanago, 2006**).

II.2. les métabolites secondaires

II.2.1. Définition

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (**Lutge et al., 2002; Abderrazak & Joël, 2007**).

II.2.2. Flavonoïdes

II.2.2.1. Définition

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Seyoum et al., 2006**), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**Figure 03**) (**Bruneton, 1999;Ghestem et al., 2001**).

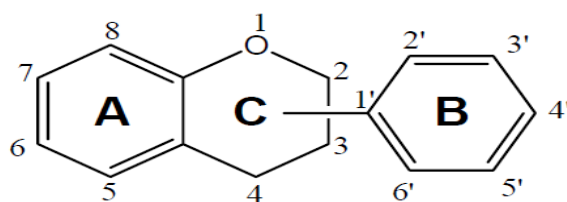


Figure 03. Squelette de base et numérotation adoptée des flavonoïdes

II.2.2.2. Structure et classification

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux cycles en C₆ (A et B) reliés par une chaîne en C₃ (**Grotewold, 2006**). L'enchaînement propanique est le plus souvent sous forme d'hétérocycle pyranique, à l'exception de deux groupes; les chalcones et les aurones (**Attou, 2011**).

Les flavonoïdes sont souvent hydroxylés en position 3, 5, 7, 3', 4' et/ou 5'. Fréquemment, une ou plusieurs de ces groupes hydroxyles sont méthylés, acétylés, sulfatés ou prénylés. Dans les plantes, les flavonoïdes sont souvent présents sous forme d'O- ou C-glycosides. Les formes libres, sans sucres attachés, sont appelées génines. Les O-glycosides sont de loin les plus fréquents. Ils portent leurs substituant sur les groupements hydroxyles de la génine, généralement situé à la position 3 ou 7. Alors que pour les C-glycosides, la liaison se fait directement avec un carbone de la génine, généralement les C-6 ou C-8. Les sucres les plus rencontrés sont le rhamnose, le glucose, le galactose et l'arabinose. Deux disaccharides très courants sont aussi fréquemment trouvés, le néohespéridose et le rutinose. Les sucres sont souvent en outre substitués par des résidus d'acyles tel que l'acétate et le malonate

(figure 04) (**Rijke et al., 2006**).

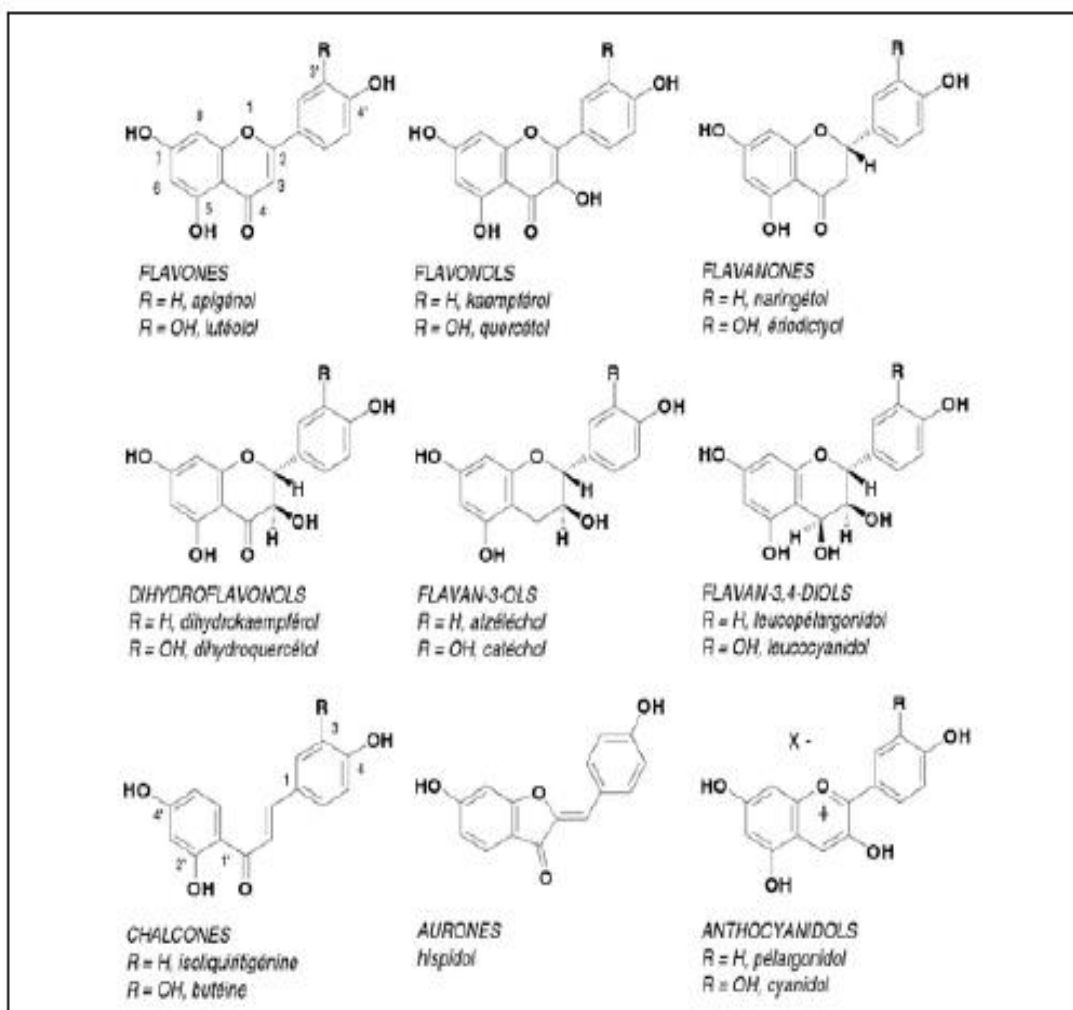


Figure 04. Les diverses classes de flavonoïdes d'après Bruneton (2009).

II.2.2.3. Distribution et localisation

A l'exception de quelques flavonoïdes qui ont été isolés d'un corail marin, *Fchinophoralamellosa* et d'un petit nombre de champignons y compris *Aspergillus candidus*, seules les plantes ont la capacité de biosynthétiser les flavonoïdes (Iwashina, 2000). Ils sont fréquents chez les Bryophytes, les Ptéridophytes et les Gymnospermes, mais la diversité structurale est maximale chez les Angiosperme (Bruneton, 2009).

Les formes hétérosidiques des flavonoïdes, hydrosolubles, s'accumulent dans les vacuoles et, selon les espèces, se rencontrent dans les cellules épidermiques des fleurs, les parenchymes des tiges et des racines, l'épiderme ou répartis entre la mésophylle et l'épiderme des feuilles. Les génines seules, en particulier les flavonoïdes simples et polyméthylés, sont

présentes dans les cuticules des feuilles, écorces et bourgeons, ou sous forme de cristaux dans les cellules de cactus, espèce *Asptrophytum* (Bruneton, 2009;Iwashina, 2000).

La forte tendance des plantes taxonomiquement proches à produire les mêmes types de flavonoïdes, ont fait des flavonoïdes des marqueurs chimiotaxonomiques de choix pour la classification végétale (Bruneton, 2009).

II.2.2.4. Biosynthèse des Flavonoïdes

Les différentes classes de flavonoïdes sont biogénétiquement et structurellement apparentées (Manach *et al.*, 2004). Le cycle A est formé à partir de trois molécules de malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA), issues du métabolisme du glucose. Les cycles B et C proviennent aussi du métabolisme du glucose mais par la voie du shikimate (Balasundram *et al.*, 2006). Après désamination d'un acide aminé essentiel, la phénylalanine par la phénylamma lyase qui conduit à la formation du cinnamate, ce dernier est ensuite transformé en acide coumarique puis en 4-coumaroyl-coenzyme A, respectivement sous l'action de l'enzyme cinnamate-4-hydroxylase (C4H) et la CoA-ligase (4CL) (Bensegueni, 2007).

L'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation, catalysée par la chalconesynthase, de trois molécules de malonyl-coenzyme A avec le 4-coumaroyl-coenzyme A, aboutissant à la formation de 4,2',4',6' tétrahydroxychalcone. Sous l'action de la chalcone isomérase, la fermeture stéréospécifique du cycle C conduit à la seule (2-S)-flavanone: la naringénine. Cette chalcone peut également se cycliser en aurone. Il est le précurseur commun de toutes les classes de flavonoïdes (Manach *et al.*, 2004; Bruneton, 2009).

Des étapes ultérieures, surtout de réarrangement, oxydation, alkylation, glycosylation et d'acylation, amènent les flavonoïdes à la forme définitive dans laquelle ils se trouvent in vivo (Chebrouk, 2009). Le cas particulier des flavonoides C-méthylés s'expliquerait par la présence d'une méthylchalconesynthase qui catalyserait la réaction de condensation entre méthylmalonyl-CoA et le 4-coumaroyl-CoA pour donner la chalconeméthylée correspondante qui par suite des réactions conduirait aux autres flavonoides C-méthylés (Portet, 2007).

II.2.2.5. Extraction, séparation et identification

Les flavonoïdes sont des solides cristallisés dont la teinte varie du blanc ivoire au jaune vif (Bouhadjer, 2005). Dans la nature, les flavonoïdes sont généralement glycosylés. Ces sucres ainsi que les groupements hydroxyles augmentent leur solubilité dans l'eau et les alcools, la méthylation et l'estérification rendent les flavonoïdes lipophiles (Attou, 2011). Les génines sont pour la plupart, solubles dans les solvants organiques apolaires; lorsqu'elles ont au moins un groupe phénolique libre, elles se dissolvent dans les solutions d'hydroxydes alcalins (Bruneton, 2009).

L'extraction peut s'effectuer par des mélanges hydro-alcooliques, les solutions obtenues sont évaporées sous vides et, lorsque le milieu ne contient que de l'eau, on précède à une série d'extractions liquide-liquide par de l'éther de pétrole qui élimine la chlorophylle et les lipides, par du diéthyléther qui extrait les génines libres et puis par l'acétate d'éthyle qui entraîne la majorité des hétérosides. Les sucres libres restent dans la phase aqueuse avec, les hétérosides les plus polaires (Bruneton, 2009).

La séparation et la purification des différents flavonoïdes sont fondées sur les techniques chromatographiques (CP, CCM, HPLC, CPG). L'identification se fait par différentes méthodes telles que la chromatographie couplées aux techniques spectroscopiques, la spectrophotométrie UV/Visible, la spectrométrie de masse et la spectroscopie RMN (Bruneton, 2009).

Tous les flavonoïdes contiennent au moins un cycle aromatique et, par conséquent, absorbent efficacement la lumière UV. Le premier maximum, qui se trouve dans la plage de 240 à 285 nm, est dû au cycle A et le second maximum, qui est dans la plage de 300 à 550 nm, est due au cycle C. Le maximum d'absorption est influencé par la substitution de ces cycles (Rijke *et al*, 2006).

II.2.2.6. Propriétés des flavonoïdes

* Protection des plantes contre les radiations UV.

* Sont impliqués dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales.

* Agissent comme des pigments ou des co-pigments.

* Fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote moléculaire.

* Régulation de l'élongation des tiges.

* Interviennent dans la maturité des fruits.

* Sont à l'origine des goûts amers (**Yang et al, 2008**)

II.2.2.7. Intérêts des flavonoïdes

Les flavonoïdes jouent un rôle important dans les plantes:

- Pigmentation des tissus végétaux, fleurs, fruits et parfois des feuilles.

- Grâce à la coloration des fleurs, ils exercent un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape fondamentale de la reproduction.

- Composés de défense en repoussant certains insectes et prédateurs par leur goût désagréable.

- Protection contre les rayonnements UV.

- Impliqués dans la production de nodules racinaires comme un système de fixation de l'azote après l'infection par le *Rhizobium* chez les Fabacées (**Rijke et al, 2006**).

- Impliqués dans les processus de germination, floraison, tuberisation et croissance racinaire (**Macheix, 1996**). *Actions pharmacologiques* Les flavonoïdes reçoivent une attention considérable à cause de leur importance thérapeutique.

Les flavonoïdes peuvent jouer un rôle important dans la prévention de nombreuses maladies associées au stress oxydatif tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et les maladies neurodégénératives. En général, l'atome d'hydrogène phénolique est beaucoup plus facilement à prélever, les composés phénoliques, sont capables de concurrencer très efficacement avec un substrat oxydable pour les radicaux libres. Le radical flavonoïde ainsi

formé est stable et interrompt les évènements de dégradation cellulaire initiés par l'attaque radicalaire (**Manach *et al*, 2004; Bruneton, 2009; Rustaiyan *et al*, 2011**).

Les isoflavones présentent une similitude structurale avec les œstrogènes. Bien qu'ils ne soient pas de nature stéroïdienne, ils ont des groupes hydroxyle en positions 7 et 4' dans une configuration analogue à celle des groupes hydroxyle dans la molécule d'œstradiol. Ce qui leur confère des propriétés pseudohormonales, grâce à la capacité de se lier aux récepteurs d'œstrogène, et ils sont par conséquent classés comme phyto-œstrogènes (**Manach *et al*, 2004; Rijke *et al*, 2006**).

II.2.3. Les tanins

II.2.3.1. Définition

Le tanin est un composé phénolique qui précipite les protéines à partir de leurs solutions aqueuses. Les tanins sont présents en une grande quantité chez les arbres, dans les écorces, les racines, les feuilles et les fruits. Ils sont placés dans les vacuoles de cellules. En thérapeutique, les tanins a des activités antiseptique et bactéricides, ils a la propriété antioxydant et empêchent le développements de microbes (**Biaye, 2002**).

Toutes les parties du végétal peuvent en contenir, cependant, les plus hautes teneurs en tanins se rencontrent dans les organes âgés qui semblent les accumuler. Les tanins sont solubles dans l'eau et l'alcool. Ils sont précipités par les sels métalliques (Cu, Fe, Hg, Pb, Zn). Usage externe : tannage = diminue la perméabilité de la peau et des muqueuses, action vaso-constrictive des petits vaisseaux (hémorroïdes et brûlures superficielles), Usage interne : anti-diarrhéiques et antiseptiques intestinaux.

II.2.3.2. Utilisation des tanins

II.2.3.2.1. En pharmacie

Les tanins sont utilisés comme anti diarrhéiques vasoconstricteurs et hémostatiques, mais surtout comme protecteurs veineux dans traitement des varices et hémorroïdes (**Paris & Hurabielle, 1981**).

II.2.3.2.2. Dans l'industrie

On utilise les tanins pour fixer la couleur et pour former des encres par des combinaisons avec les sels ferriques ils jouent le rôle d'une colle à papier (**Rahantanirina, 2014**).

II.2.4. Les terpènes

Communément appelées « essences » (HE), les terpènes sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voire résinoïdes, très odorantes, volatiles, souvent colorées et plus légères que l'eau (densité de 0,75 à 0,98). Si de nombreuses plantes renferment des essences, une centaine de plantes seulement en contiennent des quantités notables. Elles appartiennent pour la plupart aux familles suivantes : Conifères, Labiées, Lauracées, Myrtacées, Ombellifères, Rutacées. On appelle térpenoïdes ou isoprénoïdes des composés issus de condensation de base de 5 carbones de type isoprene. Dans les plantes, on les trouve dans les feuilles, tiges, fleurs et racines, les térpenoïdes sont utilisés selon leurs qualités aromatiques. En thérapeutique, ils jouent le rôle d'antioxydant, d'antibactériens, d'antineoplasique (**Figure 05**)(**Malecky, 2008**).

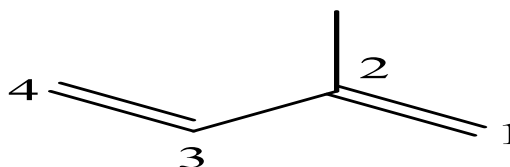


Figure 05. Squelette de base des terpènes

II.2.5. Les stérols

Sont des alcools à noyaux cyclopentoperhydrophénanthréniques. On les trouve chez les végétaux, sous forme d'esters: les stérides, ou combinés à des sucres sous forme d'hétérosides. Les monocotylédones semblent plus riches en stérols que les dicotylédones on les trouve dans la fraction lipidique que l'on peut extraire des végétaux par les solvants organiques non polaires.

II.2.6. Les alcaloïdes

II.2.6.1. Définition

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles de plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (Wichtl & Anton, 2009). Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine, lupinine) (Hopkins, 2003). Des anticancéreuses (vincristine et la vinblastine) (Figure 06) (Iserin *et al*, 2001).

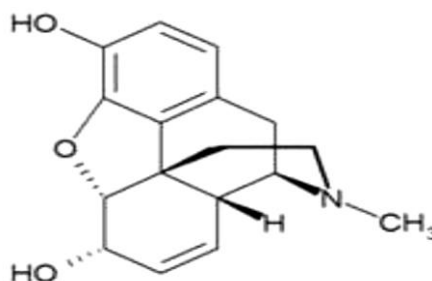


Figure 06. structure des alcaloïdes

II.2.6.2. Classification

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

Alcaloïdes vrais: Les alcaloïdes vrais contiennent ordinairement un azote hétérocyclique dans leurs structures qui dérivent des acides aminés.

Pseudo- alcaloïdes: Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ce ne sont pas des dérivés des acides aminés. Il s'agit dans la majorité des cas connus d'isoprénoïdes et l'on parle alors d'alcaloïdes terpéniques: monoterpéniques, sesquiterpéniques, ou diterpéniques.

Proto- alcaloïdes: Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'atome d'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique mais forme plutôt des groupements aminés latéraux. Ils sont biosynthétisés à partir des acides aminés (Aniszewski, 2007).

II.2.6.3. Distribution et localisation des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont présents essentiellement chez les Angiospermes dont la plupart sont des Dicotylédones. Cependant, de nombreux alcaloïdes ont également été trouvés chez des Monocotylédones et même chez des Gymnospermes *Ephédra*. Les Ptéridophytes sont rarement alcaloïdifères (**Bruneton, 2009**).

Généralement, tous les alcaloïdes d'une même plante ont une origine biogénétique commune, et ils existent généralement sous la forme, soluble, de sels d'acides végétaux (citrate, malate, tartrate, benzoate...etc.) ou sous celle d'une combinaison avec les tanins (**Bruneton, 2009**).

La synthèse des alcaloïdes s'effectue généralement dans des sites précis (racines en croissance, cellules spécialisés de laticifère... etc.). Ils sont ensuite transportés dans leurs sites de stockage. 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. Au niveau cellulaire, la synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique et le stockage dans les vacuoles (**Krief, 2003**). La nature et la teneur en alcaloïdes peut être très inégale selon les organes d'une même plante; certains pouvant en être dépourvus (**Bruneton, 2009**).

II.2.6.4. Biosynthèse des alcaloïdes

De façon générale, la production d'alcaloïdes s'observe dans les tissus en voie de croissance (jeunes racines, jeunes feuilles ...). Selon **Kebili (2016)**, le précurseur des alcaloïdes vrais est un acide aminé; histidine, ornithine, lysine, phénylalanine, tryptophane, tyrosine, acide anthranilique. La formation de l'alcaloïde peut nécessiter l'intervention d'une seule molécule d'acide aminé (hygrine), de deux molécules de même acide aminé (quinolizidines), plus rarement de deux acides aminés différents (tubulosine) ou de plusieurs molécules du même acide aminé (spartéine) (**figure 07**).

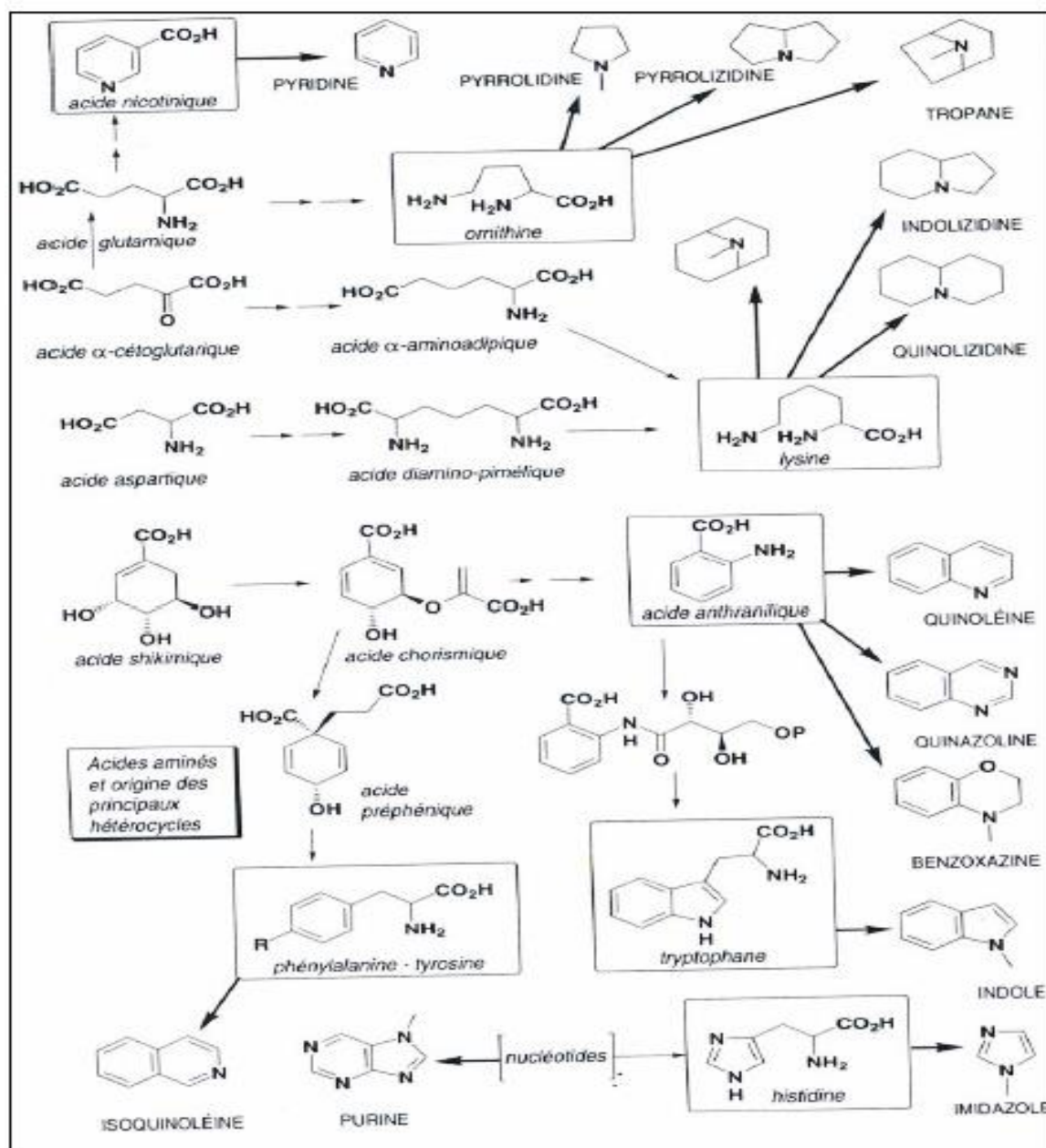


Figure 07. Principaux hétérocycles de base et leurs précurseurs (Bruneton, 2009).

Les réactions d'oxydation, d'estérification, d'alkylation, d'éthérifications, etc., justifient la diversité structurale des alcaloïdes, dans le cas particulier des alcaloïdes terpéniques, les précurseurs ont une origine terpénique (Bruneton, 2009). Fréquemment les alcaloïdes s'accumulent en des emplacements différents de leur lieu de synthèse. Par exemple chez les tabacs, la nicotine est synthétisée au niveau des racines, puis elle migre vers les feuilles (Guignard *et al.*, 1985, Judd *et al.*, 2002). La figure 08 montre un exemple de biosynthèse de certains dérivés de phénylalanine.

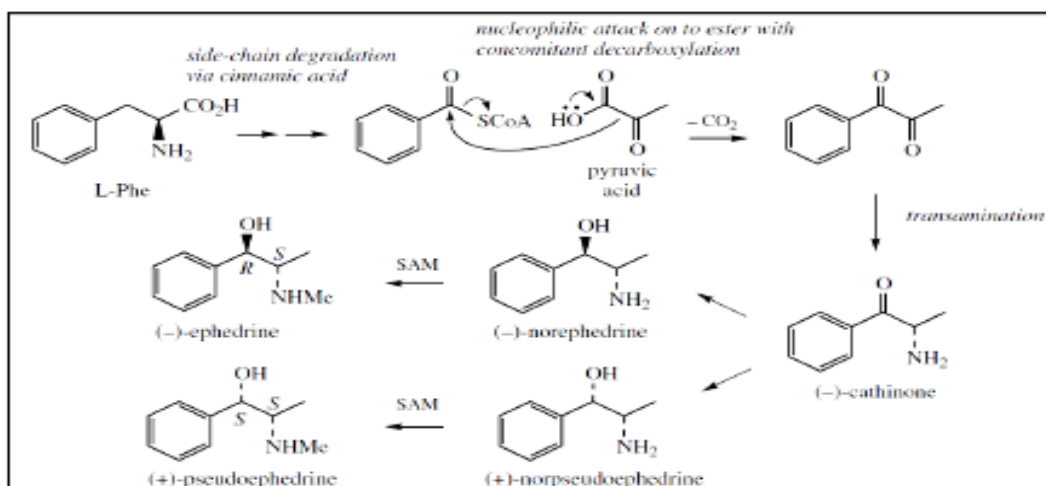


Figure 08. Exemple de biosynthèse de certains dérivés de phénylalanine

(Dewick, 2002).

II.2.6.5. Propriétés physico-chimiques

Selon Bruneton (2009) les alcaloïdes se caractérisent principalement par:

- Masse moléculaire variant de 100 à 900 Dalton.
- La quasi-totalité des structures connues comprenant dans leur formule de l'oxygène, sont des solides cristallisables, rarement colorés. Les autres, non oxygénés, sont liquides à la température ordinaire.
- Presque toujours capables de dévier la lumière polarisée.
- Les bases sont très peu ou insolubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques apolaires et dans les alcools à titre élevé.
- La basicité est un caractère très variable, elle dépend de la disponibilité du doublet libre de l'azote. Des groupements électro-attracteurs adjacents à l'atome d'azote diminuent la basicité alors que des groupements électro-donneurs l'exaltent.
- La basicité des alcaloïdes permet la formation des sels avec des acides minéraux ou organiques, et qui sont plus stables à la chaleur, la lumière et à l'oxygène que les formes de bases libres.

- Grâce à la capacité qu'ont les alcaloïdes de se combiner avec des métaux et des métalloïdes, la caractérisation des alcaloïdes est possible avec des réactions de précipitation par des réactifs généraux des alcaloïdes.

II.2.6.6. Activités biologiques des alcaloïdes

Les plantes utilisent les alcaloïdes dans leur système de défense contre les herbivores et les prédateurs à cause de leur amertume et toxicité, ils pourraient être des produits d'excrétion du métabolisme azoté, et jouent un rôle de l'urée (**Guignard et al., 2002; Merghem, 2009**).

Chez l'homme, les alcaloïdes ont un rôle très important dans la stimulation du rythme cardiaque (le sel de sulfate de spartéine, isolée de *Cytisus scoparius*), il est également utilisé pour provoquer la contraction de l'utérus au cours de l'accouchement. Les alcaloïdes sont utilisés dans le traitement de l'asthme bronchique et comme médicament analgésique et antiallergique (L'éphédrine, isolée d'*Ephedra sinica*), ils ont des propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes (La berbérine, isolée de *Berberis vulgaris*), et sont utiles dans le traitement de la maladie d'Alzheimer (la galanthamine agit en tant qu'inhibiteur compétitif de la cholinestérase) (**Mauro, 2006**).

II.2.6.7. Intérêts des alcaloïdes

Fonctions au niveau du producteur: Comme pour beaucoup d'autres métabolites secondaires, on ne sait pratiquement rien du rôle des alcaloïdes dans les végétaux. La toxicité de certaines, laisse supposer des rôles de protection contre les prédateurs (**Krief, 2003**).

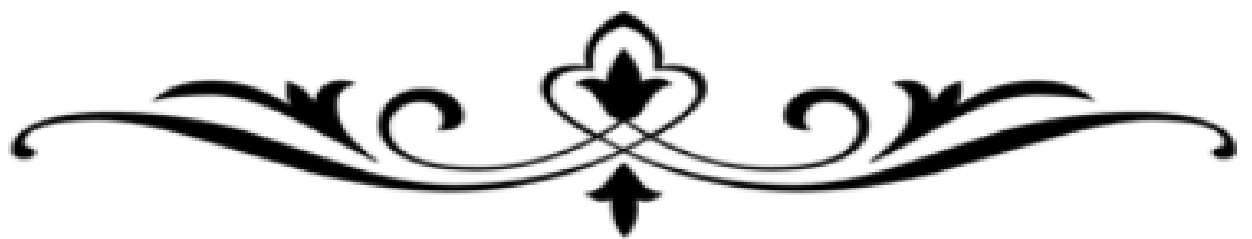
Actions pharmacologiques: Leurs propriétés pharmacologiques concernent des domaines variés;

- Dépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (caféine, strychnine) au niveau du système nerveux central.

- Sympathomimétiques (éphédrine), parasymphomimétique (pilocarpine) au niveau de système nerveux autonome.

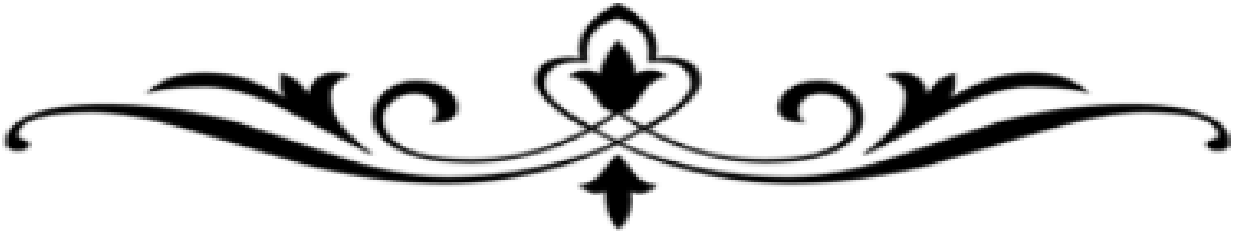
- Anesthésiques locaux (cocaïne), antipyrétique (quinidine), anti-tumoraux (ellipticine), anti-paludiques (quinine)...etc (**Bruneton, 2009**).

Deuxième Partie



Partie Pratique

Chapitre I



Matériels et Méthodes

I.1. Position géographique de la zone d'étude et méthode d'échantillonnage

La wilaya de Khenchela est située dans l'Est d'algérien, s'étend sur une superficie de 9811 Km², elle est limitée(**figure 09**):

- Au Nord par la wilaya d'Oum el Bouaghi.
- A l'Est par la wilaya de Tébessa.
- A l'Ouest par la wilaya de Batna.
- Au Sud-ouest par la wilaya de Biskra.
- Au Sud par la wilaya d'El Oued.

Les échantillons de la plante ont été prélevés de Sud de la wilaya de khenchela au mois de février 2017 avec une méthode aléatoire et simple. (**Google eurth,2018**)



Figure 09. Position géographique de la zone d'étude (wilaya de **Khenchela**) (**Google eurth,2018**)

I.2. Séchage de la plante

Après la récolte, le matériel végétal est débarrassé des débris. Pour s'assurer de la bonne conservation des échantillons, un séchage à l'air libre et à l'obscurité pendant une dizaine de jours a été réalisé. Elles sont, ensuite, broyées par un broyeur électrique.

Après le broyage, la plante a été conservée dans des sacs en papier opaque afin de garder leur couleur, goût et principalement leur effet thérapeutique, elle a été stockée soigneusement dans un endroit sec jusqu'à leur analyse.

I.3. Souches microbiennes utilisés

L'activité antimicrobienne des extraits a été évaluée en utilisant des souches référenciées:

I.3.1. Les bactéries Gram négatif

I.3.1.1. *Escherichia coli* (ATCC 25922): Bacille, appartient à la famille des Enterobacteriaceae (Paterson, 2006). Grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm (Steven *et al.*, 2004). *Escherichia coli* est habituellement une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs virulence particuliers (Nauciel *et al.*, 2005) de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile.

I.3.1.2. *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853): Bacille, opportuniste, fréquemment incriminée dans les infections nosocomiales grâce à sa capacité de persister dans les milieux hospitaliers sa résistance naturelle et son pouvoir d'acquisition de multiples mécanismes de résistance aux antibiotiques (Chinbo *et al.*, 2014). Elle est l'agent le plus pathogène courant provoquant une infection chronique (Pressler, 2011). *P. aeruginosa* est impliquée dans les infections des plaies et de l'appareil respiratoire, infections des voies urinaires et les septicémies (Perry *et al.*, 2004).

I.3.1.3. *Salmonella Enteric* (Arizonae CIP 81-3); des entérobactéries, des bacilles, non sporulants (Jawetz *et al.*, 1973), espèce majoritaire, qui se divise en six sous espèces

(Popoff *et al.*, 2004 ; Tindall *et al.*, 2005).

I.3.2. Les bactéries Gram positif

I.3.2.1. *Listeria monocytogene*

Listeria monocytogenes est une bactérie à Gram positif, du genre *Listeria*, division des Firmicutes, qui doit son nom à Joseph Lister, c'est la seule espèce du genre *Listeria* pathogène pour l'homme, provoquant la listériose. Il s'agit d'un bacille de petite taille, non sporulé,

aéro-anaérobie facultatif, ubiquitaire (sol, végétaux, eau), possédant une catalase et mobile à 20°C. Selon certaines études, 1 à 10 % des humains seraient porteurs sains de *L. monocytogenes* dans leur intestin.

I.4. Préparation des extraits

Cette étape consiste à extraire maximum de molécules poly phénoliques contenues dans la partie aérienne de la plante (Madi, 2009).

Une quantité de 50 g de la plantes étudiée est mis à macérer à l'obscurité et à température ambiante dans 500 ml d'eau distillée pendant 24 heures. Après la macération, l'extrait aqueux est récupéré par filtration sur papier Wattman. Ensuite l'extrait a été évaporé à 56°C à l'aide d'un évaporateur rotatif (BüchiRotavapor R- 200) jusqu'à l'obtention d'un résidu sec. Puis séché à l'étuve à une température ne dépasse pas 55°C. Enfin ce résidu sec a été conservé à une température de +4°C (Matkowski & Piotrowcka, 2006).

I.5. Détermination du rendement

Le rendement de la plante en extrait sec a été quantifié selon la formule suivante:

$$R \% = \text{PEB}/\text{PMV} \times 100$$

R: Rendement.

PEB: Poids de l'Extrait Brut (g)

PMV: Poids de Matière Végétale(g)

I.6. Tests phytochimiques

L'un des buts essentiels d'un test phytochimique consiste à déterminer les différentes familles de métabolites secondaires existant dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation (Haoulia, 2015). La phytochimie qualitative basée sur des réactions colorées ou de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques réalisée sur les extraits (Mohammedi, 2013).

I.6.1. Polyphénols

2 ml de chaque extrait est ajouté à une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique (FeCl_3) à 2 %. Le chlorure ferrique provoque en présence de dérivés polyphénoliques l'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée (**Bidie et al., 2011**).

I.6.2. Flavonoïdes

Traité 0,5 ml d'extrait avec quelques gouttes d'HCl concentré et 0.5g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe en après 3 minutes (**Bouhadjera et al., 2005**).

I.6.3. Les tanins

Les tanins sont mis en évidence à partir de 0,5 ml d'extrait placé dans un tube en présence de quelques gouttes de FeCl_3 (préparé au méthanol). Après l'agitation de l'extrait, la couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (**Rizk, 1982;Karumi et al., 2004**).

I.6.4. Les Alcaloïdes

Dans deux tubes à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser, acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl et ajoute quelques gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube et quelques gouttes de réactif de Wagner dans le deuxième tube.L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement révèle la présence des alcaloïdes (**Kanoun,2011**).

I.6.5. Les saponosides (Test de mousse)

Nous avons introduit 10 ml de chacun des extraits aqueux dans un tube à essai. Le tube est agité pendant 15 secondes (s) puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (**Bidie et al., 2011**).

I.6.6.Sucres réducteurs

Dans un tube à essai, ajoute liqueur de Fehling (1ml d'un réactif A plus 1ml d'une réactif B), à l'extrait à analyser et incuber l'ensemble dans un bain marie béant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des sucres réducteurs (**Traese & Evans, 1987**).

I.6.7. Terpénoïdes

Dans un tube à essai, ajouter à 5ml d'extrait de plante, 2ml de chloroforme (CHCl_3) et 3ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré. La formation d'une couleur brune rougeâtre indique la présence des terpénoïdes (**Dharmendra *et al.*, 2012**).

I.6.8. Stéroïdes

Pour 1ml d'extrait végétal ajouter 0,5ml de solution d'acide acétique, est suivi par 0,5ml de H_2SO_4 concentré. Si la solution ne donne aucune couleur verte cela prouve la présence de stéroïdes non saturés. Dans un 2^{ème} tube, le même volume de H_2SO_4 est ajouté. La présence de la couleur rouge indique la présence des dérivés des stéroïdes (**Harborne *et al.*, 1973**).

I.7. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)

I.7.1. Principe

Le réactif utilisé est : le chlorure d'aluminium (AlCl_3 , 2 %) . Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des carbones 4 et 5 des flavonoïdes réactif, elle entraîne la formation d'un complexe jaune absorbe à 430 nm (**Abdurrahmanet *al.*, 2013; Yakhlef, 2010**).

I.7.2. Mode opératoire

Les flavonoïdes totaux sont évalués par colorimétrie, 1 ml de chaque solution a été introduit à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 1 ml de trichlorure d'aluminium (AlCl_3 de 2 %) préparé dans l'éthanol (**Abdurrahmanet *al.*, 2013**).

I.8. Evaluation de l'activité antimicrobienne d'extrait

L'activité antimicrobienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion des disques cité par (**Yakhlef, 2010 ; Meddor *et al.*, 2013 ;Nedjmi & Sousou, 2014 ; Kebili, 2016 ; Medjour & Ben aoun, 2017; Mostfaoui & Laamri, 2017**).

I.8.1. Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens sont les suivants:

- La gélose nutritive pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes
- La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits de plantes.

I.8.2. Conservation des souches

Les souches sont conservées à 5°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (gélose nutritive).

I.8.3. Préparation des précultures

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétrie contenant de la gélose nutritive et incubées pendant 24 h à 37°C afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées.

I.8.4. Préparation des disques

Nous avons préparé les disques par papier wattman de 6mm de diamètre, ensuite elles sont mises dans un tube à essai, il faut stériliser les disques 30 minutes à 120°C dans un tube à essai bien fermé, et garder le jusqu'à l'utilisation.

I.8.5. Préparation des suspensions bactériennes

A l'aide d'une pipette pasteur nous avons prélevé quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques et sont été mises dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 % de sel (NaCl). La suspension bactérienne est bien homogénéisée et laissée sur la paillasse pendant 30 minutes.

I.8.6. Test de l'activité antibactérienne

La gélose Mueller-Hinton stérile est coulée dans des boîtes Pétrie stériles à 4 mm d'épaisseur et laissée se gélifier. On a trempé une pipette pasteur dans la suspension préalablement préparée et on a étalé la surface entière avec la gélose Mueller Hinton (GMH) à trois reprises.

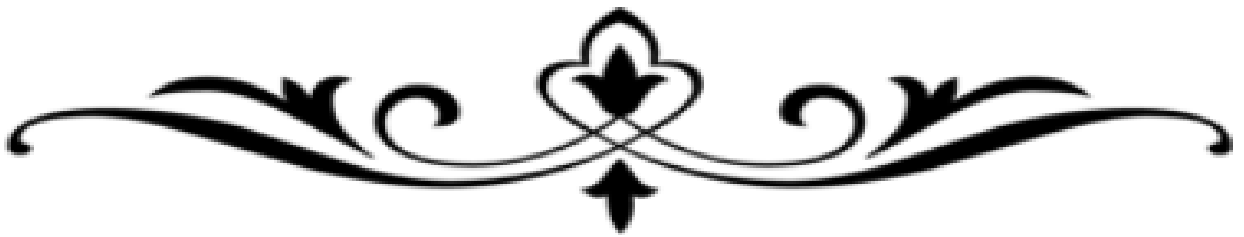
I.8.6.1. Test de sensibilité aux antibiotiques

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer avec l'effet de notre extrait brut les disques d'antibiotiques sont déposés en utilisant l'antibiotique de gentamicine.

I.8.6.2. Test de sensibilité aux extraits bruts des plantes

A l'aide d'une pince stérile, 4 disques de 6 mm de diamètre préalablement préparé, imprégnés des quatre concentrations de l'extrait aqueux (5, 10, et 15 mg/ml) sont déposés dans la boîte pétrie. Celles-ci sont ensuite fermées et laissées diffuser pendant 20 mn puis incubées à 37 °C pendant 24 h. Le témoin négatif était un disque imprégné avec l'eau distillée stérilisée. Après l'incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (**Choi *et al.*, 2006**).

Chapitre II



Résultats et Discussion

II.1. Rendement d'extraits aqueux

L'extrait obtenu après macération dans l'eau distillée d'aspect collant et pâteux, de couleur marron foncé a été pesé pour déterminer son rendement.

Le rendement est calculé par rapport au poids de la matière sèche de plante étudiée par macération est représenté dans le Tableau 01.

Tableau 01. Rendement d'extrait sec d'*Ephedra alata*(Acne, 1834).

Poids sec utilisée (g)	Poids d'extrait brut (g)	Rendement (%)
50	8.19	16.38

II.2. Tests phytochimiques

Les résultats obtenus par les tests phytochimiques montrent que la plante d'*E. alata* prélevée de la région de kenchela est très riche en flavonoïdes suivi par les polyphénols, en présence des tanins, les alcaloïdes, les saponosides, les terpènes et les sucres réducteurs, en l'absence des composants stéroïdiens, comme nous présentons dans le tableau ci-dessous.

Tableau 02. Les différents composants secondaires dans *l'E. alata*(Acne, 1834) prélevée de la région de kenchela en février 2017.

Métabolites	Macération (Partie aérienne)
Les polyphénols	++
Les Flavonoïdes	++++
Les tanins	+
Les Alcaloïdes	+
Les saponosides	+
Les Sucres réducteurs	+
Les Terpénoïdes	+
Les Stéroïdes	-

II.3. Analyse quantitative des composés flavonoïdiques (FVT)

II.3.1. Courbe d'étalonnage

La gamme d'étalonnage a été effectuée pour déterminer la courbe d'étalonnage de la quercétine, et les équations de la droite de régression linéaire avec les moindres carrés et les coefficients de détermination ajustés (R^2), sont utilisés pour calculer les concentrations des flavonoïdes dans nos échantillons.

L'équation de la droite de régression exprimant les absorbances affichés en fonction des concentrations du quercétine (mg/ml), avec un coefficient de détermination $R^2 = 99,2\%$, révèle une forte liaison positive entre les absorbances et les concentrations (**Figure10**).

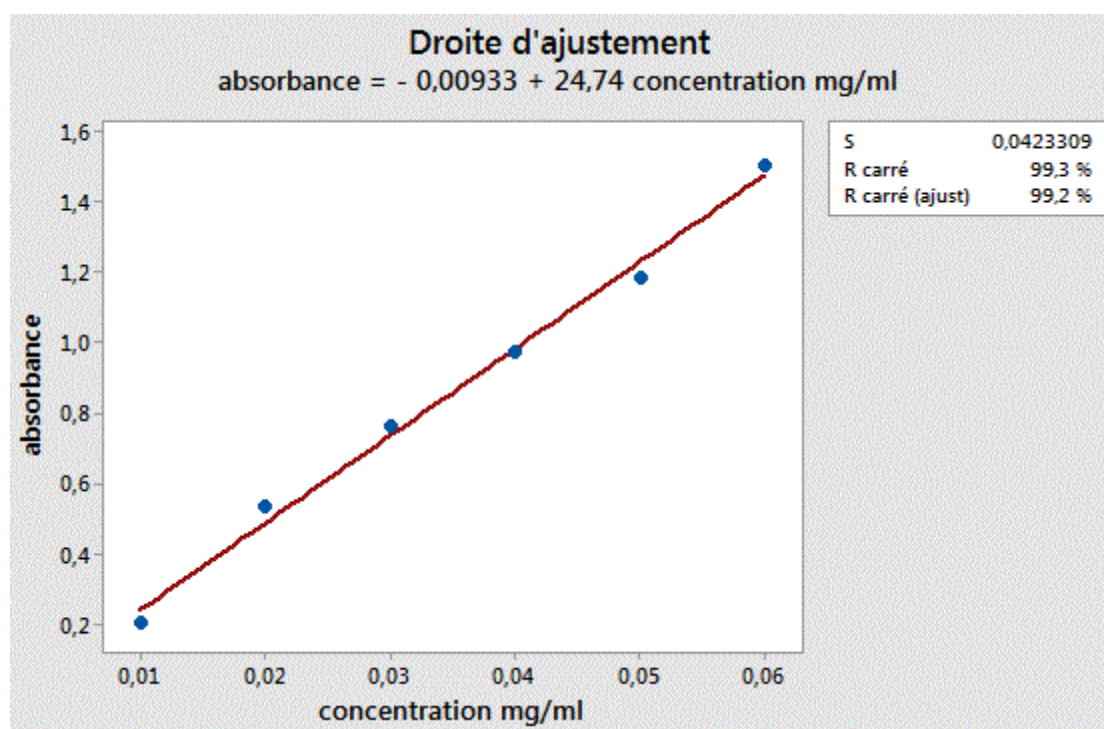


Figure10. courbe d'étalonnage du quercétine.

II.3.2. Teneurs des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme de matière végétale sèche (ug EQ/mg de MS).

Le taux des flavonoïdes d'extraits a été obtenu à partir du courbe d'étalonnage qui suit une équation de $Y = 24,74X - 0,00933$. Les teneurs en flavonoïdes enregistrées chez la plante *E. alata* sont variés entre une forte valeur de 11.429 $\mu\text{gEQ/mg}$, et de faible valeur de

11.417 μ gEQ/mg, avec une valeur moyenne de 11.423 μ gEQ/mg. Donc, on peut constater que l'extrait de la plante étudié, est très riche en flavonoïdes.

II.4. Etude de l'activité antibactérienne d'extraits d'*E. alata*

II.4.1. Effet d'antibiotique gentamicine

Quatre souches de bactéries (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enteric*, et *L. monocytogene*) sont utilisées pour tester l'effet antibactérien de 50mg/ml de gentamicine (disque) , les résultats montrent que la gentamicine peut exercer d'effet comme inhibiteur de la croissance des souches utilisées, les résultats sont présentés dans le **tableau 03** montrent que la gentamicine exerce des effets différents de souche à l'autre où les souches les plus sensible sont par ordre la *L. monocytogene*, *P. aeruginosa*, et l'*E. coli*. Par contre la *S. Enteric* qui est la moins sensible à la présence de gentamicine par rapport aux autres souches bactérienne.

Tableau 03. Etude de l'effet d'antibiotique gentamicine sur l'activité antibactérienne d'*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteric*, et *Listeria monocytogene*.

Souches b. Antibiotique	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. enteric</i>	<i>L. monocytogene</i>
Zone d'inhibition (cm)	3.1	3.3	2.2	3.4

La figure 11 et 12 représente les diamètres de la zone d'inhibition pour chaque souche traitée par 50 mg/ml de gentamicine, où le diamètre le plus élevé est enregistré chez *L. monocytogene* et le plus faible est mesuré chez *S. Enteric*.

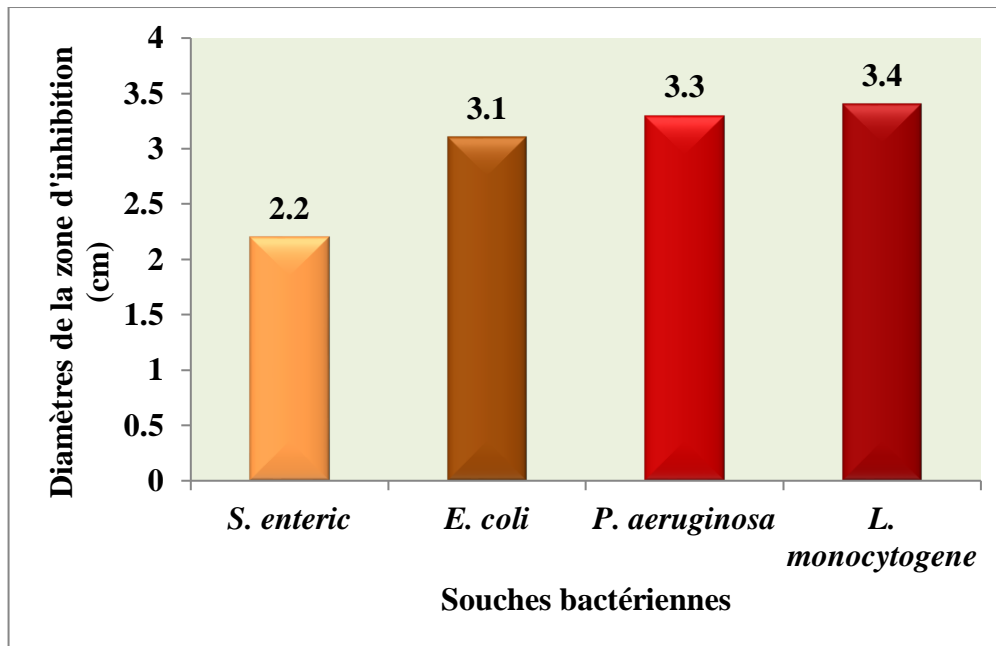


Figure 11. Diamètres de la zone d'inhibition des différentes souches bactériennes.

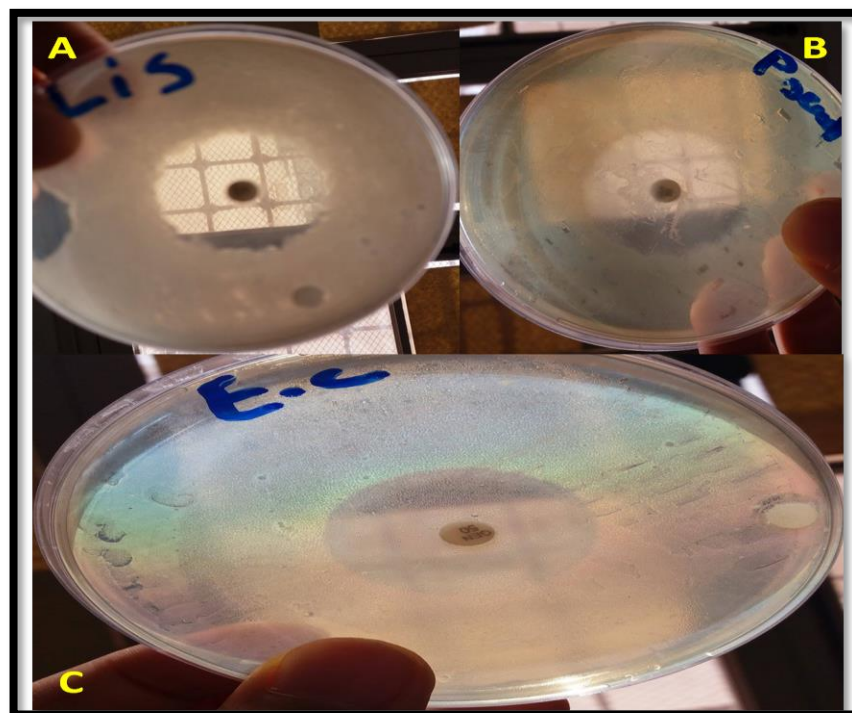


Figure 12. Photos montrant les zones d'inhibition des différentes souches bactériennes.

II.4.2. Activité antibactérienne d'extraits d'*E.alata*

L'activité antibactérienne est déterminée par les mesures du diamètre des zones d'inhibition au niveau des différents disques dans lesquels le traitement effectué sur les différentes souches bactériennes (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enteric*, *L. monocytogene*). On a remarqué l'existence de pouvoir inhibiteur d'extrait contre la croissance bactérienne comparativement aux témoins (**figure 13**).

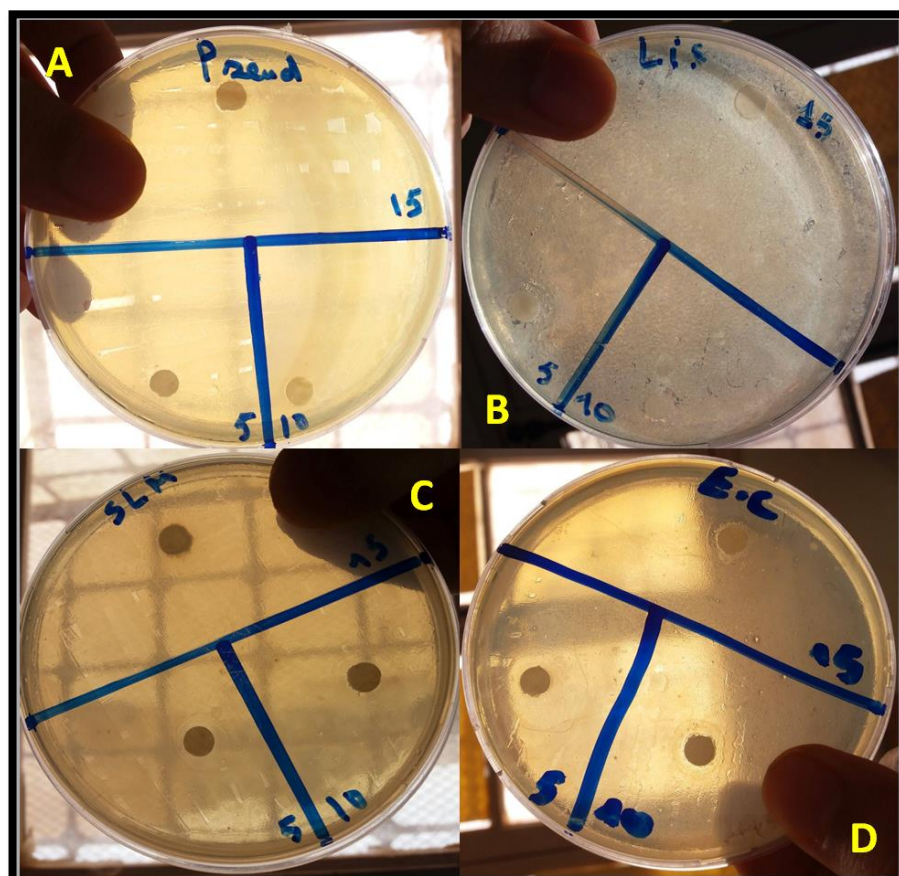


Figure 13. Photos montrent les zones d'inhibition des différentes souches bactériennes.

Les mesures sont représentées dans le **tableau 04** qui nous révèlent que les extraits de la plante étudiée sont réagis avec tous les souches microbiennes testées avec une valeur moyenne de 1,33 cm qui est la plus élevée enregistrée chez *S. enteric* traité par 15 mg/ml d'extrait de la plante, et de faible moyenne de 0,70 cm enregistrée chez *P. aeruginosa* traité par 10 et 15 mg/ml d'extrait.

Tableau 04. Résultat de l'activité antibactérienne d'extraits d'*E. alata* ; Diamètres en cm ($m \pm s$, $n = 3$).

Souches Concentration (mg/ml)	<i>S. enteric</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>L. monocytogene</i>
5	1,27 \pm 0,12	1,17 \pm 0,15	0,80 \pm 0,10	1,00 \pm 0,10
10	1,30 \pm 0,10	1,2 \pm 0,00	0,70 \pm 0,00	1,03 \pm 0,06
15	1,33 \pm 0,25	1,23 \pm 0,21	0,70 \pm 0,00	1,23 \pm 0,06

La figure 14 montre que l'activité inhibitrice de l'extrait d'*E. alata* va augmenter en fonction de l'augmentation de la concentration chez la plus part des souches étudiées.

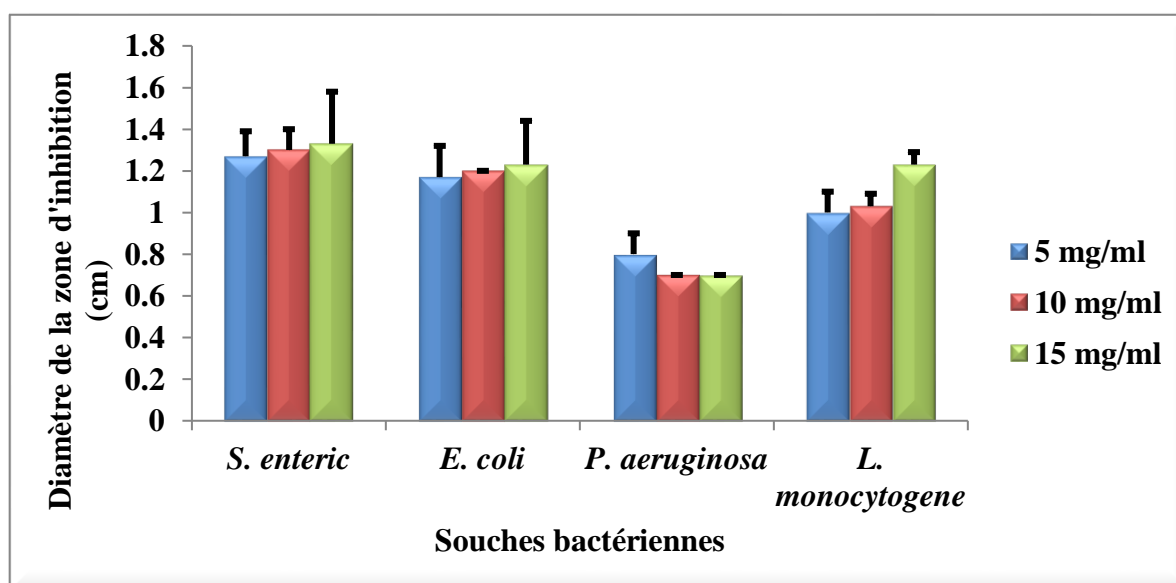


Figure 14. Activité antibactérienne de l'extrait d'*E. alata*; $m \pm s$ et $n = 3$.

Les résultats obtenus indiquent que l'effet de l'extrait d'*E. alata* est varié d'une souche à l'autre, et plus important sur *S. enteric* et moins important sur *P. aeruginosa* qui peut s'adapter l'augmentation de la concentration d'extrait d'*E. alata*.

L'analyse de la variance à deux critères contrôlés indique qu'il y a une différence très hautement significative entre les souches utilisées et aucune différence significative entre l'effet de la concentration (**tableau 05**).

Tableau 05.Activité antibactérienne d'extrait d'*E. alata* à l'égard des différentes souches bactériennes après 24h de traitement par 5, 10, et 15 mg/ml d'extrait, Analyse de la variance à deux critères de classification ($m \pm s$; $n = 3$).

Source de la variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Concentration	2	0,03556	0,01778	1,18	0,322
Souches	3	1,64750	0,54917	36,34	0,000***
Interaction concentration/souches	6	0,09333	0,01556	1,04	0,426
Erreur résiduelle	24	0,36000	0,1500		
Total	35	2,13639			

DDL : degré de liberté, **SCE** : sommes des carrées des écarts, **CM** : carré moyen, **F obs.** : test de fisher, **P** : seuil de signification ; **P<0,05** significative avec*, **P<0,01** hautement significative avec **, et **P< 0,001** très hautement significative avec***.

Discussion

III.1. Rendement d'extrait aqueux

L'espèce *Ephedra alata* est une plante médicinale appartenant au genre *Ephedra* originaire d'Asie, y compris l'Arabie Saoudite (**Al-Qarawi et al., 2011**). En Algérie, *E. alata* se trouve dans le Sahara septentrional et occidental au niveau des terrains sableux, des regs et les lits sablonneux des oueds. Ce sont utilisées dans la médecine traditionnelle indienne depuis l'ancien temps (**Abourashed et al., 2003**).

L'objectif de ce travail est d'établir des études biochimiques qui nous permettent d'identifier les composants secondaires dans l'extrait de l'*E. alata* prélevée de la région de Khenchela en mois de Février 2017, et d'évaluer ses activités antimicrobiennes.

Les résultats de notre travail montrent une valeur de rendement (16,38%) d'extrait sec d'*E.alata* moyennement faible mais en accord avec des études réalisés par **Mri (1981)** sur la même plante, et notre valeur est très importante comparativement aux études de **Nesba et Henka (2017)** réalisés sur l'*E. alata* prélevée de la région d'Ouedqui enregistrent une valeur de rendement de 8,21%.

III.2. Tests phytochimiques

Les résultats obtenus par les tests phytochimiques montrent que la plante d'*E. alata* prélevée de la région de khenchela est très riche en flavonoïdes suivi par les polyphénols, en présence des tanins, les alcaloïdes, les saponosides, les terpènes et les sucres réducteurs, en l'absence des composants stéroïdiens, nos résultats sont en accord avec l'étude de **kibli(2016)** et **Kessal&Bouafia (2003)** qui sont utilisés la même *E.alata* prélevée de la région de Ouargla.

III.3. Analyse quantitative des composés flavonoïdiques (FVT)

Le taux des flavonoïdes enregistrés chez la plante *E. alata* sont variés entre une forte valeur de 11.429 µgEQ/mg, et de faible valeur de 11.417 µgEQ/mg, avec une valeur moyenne de 11.423 µgEQ/mg, qui indiquent que la plante utilisée est très riche en composants flavonoïdiques.

Nos résultats sont conformes à ceux de **Thaipong *et al* (2006)** qui ont montré que les plantes d'*Ephedra* étudiées dans cette étude sont plus riches en composés phénoliques (101,2 mg /g en utilisant le meilleur solvant d'extraction) (**Harisaranraj *et al.*, 2009**) montrent que les extraits d'une plante d'*Ephedra* sont riches en flavonoïdes avec un intervalle de 4,2 à 19,5 mg/g qui est faible par rapport à nos résultats.

L'abondance en principes actifs confère à la plante des propriétés pharmacologiques remarquables (**Konkonet *al.*, 2006**). Ce qui pourrait justifier ses multiples indications thérapeutiques et pour lesquelles elle est utilisée en tradi-thérapie.

III.4. Etude de l'activité antibactérienne d'extraits d'*E. alata*

L'activité antibactérienne est déterminée par les mesures du diamètre des zones d'inhibition au niveau des différents disques qui dans lesquels le traitement effectué sur les différentes souches bactériennes *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enteric*, *L. monocytogene*. On a remarqué l'existence de pouvoir inhibitrice d'extrait contre la croissance bactérienne comparativement aux témoins. Et les résultats obtenus indiquent que l'effet de l'extrait d'*E. alata* est varié de souche à l'autre, et très efficace chez *S. enteric* et moins efficace avec *P. aeruginosa*, ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus dans le traitement par l'antibiotique gentamicine ce qui confirme que d'extrait d'*E. alata* a une capacité d'inhiber la croissance de certains germes.

Les mesures de diamètre de la zone d'inhibition nous révèlent que les extraits de la plante étudiée sont réagis avec tous les souches microbiennes testées avec une valeur moyenne de 1,33 cm qui est la plus élevée enregistrée chez *S. enteric* traité par 15 mg/ml d'extrait de la plante, et de faible moyenne de 0,70 cm enregistrée chez *P. aeruginosa* traité par 10 et 15 mg/ml d'extrait, ces valeurs sont moins importantes en comparaison avec les valeurs obtenus par la gentamicine qui enregistre une valeur de 2,2 cm chez *S. enteric* avec une concentration de 50 mg/ml de gentamicine.

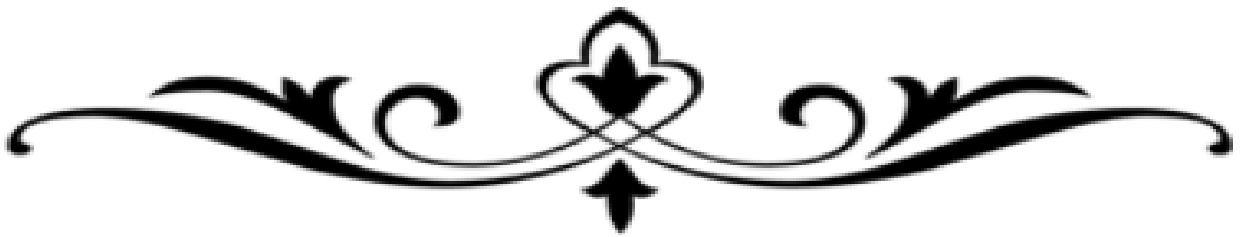
Nos résultats sont cohérents avec les résultats obtenus par **Kessal et Bouafia en 2003**, leurs études réalisés sur l'extrait méthanolique de la plante entière de l'*E. alata* de la région de Ouargla, dans laquelle ils enregistrent des valeurs de 9.63 mm, 7.31mm et de 15.32mm contre l'*E. coli*, *P. aeruginosa*, et *S. aureus* respectivement.

D'autres études sur l'*E. alata* prélevée de la région de Ouargla montrent que le meilleur pouvoir d'inhibition a été contre *S. aureus* comparativement à *E. coli* et *P. aeruginosa* (Chebouat *et al.*, 2014). (Bussmanna *et al* 2008) utilisent l'extrait éthanolique d'*E. americana* du nord du Pérou a donné des zones d'inhibition de 22mm, 8mm et des MIC de 32 et 64 mg/ml contre la croissance de *S. aureus* et *E. coli* respectivement.

En effet, la plus grande résistance des bactéries à GRAM négatif par rapport aux bactéries à GRAM positif est un phénomène connu (Gupta, 2011) car en plus des mécanismes de résistance communs entre les deux groupes (l'inactivation directe de la molécule active par l'action de différentes enzymes, l'expulsion active des antibiotiques par les pompes à efflux et l'altération de la sensibilité à l'antibiotique par modification de cible (Dzidic *et al.*, 2008) la membrane externe de l'enveloppe cellulaire des bactéries à GRAM négatif semble constituer une barrière efficace à haut niveau de résistance (Nikaido, 1989).

Kibli en 2016 a indiqué le meilleur pouvoir inhibiteur de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de trois espèces iraniennes d'*Ephedra*; *E. procera*, *E. strobilacea*, *E. pachyclada* étaient contre *P. aeruginosa*.

Chapitre III



Les effets sanitaires

III.1. Effet antioxydant

L'activité antioxydante d'*Ephedra alata* a été évaluée par un dosage au 2, 2-diphényl-1-picryl-hydrazyl-hydrate. L'extrait méthanolique d'*Ephedra alata* a montré une activité antioxydante élevée et de puissantes capacités de piégeage des radicaux libres d'oxygène. La CI50 de la plante était presque équivalente à l'antioxydant standard Trolox (Al-Snafi, 2017).

III.2. Effet hypoglycémique

L'extrait alcoolique d'*Ephedra alata* a provoqué une hypoglycémie, une heure après l'administration chez des rats à jeun. Le même extrait n'a pas permis de réduire la glycémie chez les rats alloxanisés par rapport au témoin positif, le glibenclamide (Al-Snafi, 2017).

III.3. Effet hépatoprotecteur

L'effet hépatoprotecteur d'*Ephedra foliata* a été étudié chez des rats Wistar albinos. Des lésions hépatiques ont été induites chez le rat en utilisant du tétrachlorure de carbone. Les paramètres biochimiques; Le glutamate-oxaloacétate-transaminase sérique (SGOT), le glutamate-pyruvate-transaminase sérique (SGPT), la phosphatase alcaline (ALP) et la bilirubine totale ont été estimés comme reflétant la condition hépatique. L'effet hépatoprotecteur offert par l'extrait brut d'*Ephedra foliata* (plante entière) à des doses de 500 mg / kg s'est révélé significatif dans tous les paramètres étudiés, avec une réduction de 42,6, 39,5, 21,2 et 46,2% respectivement des SGOT, SGPT, ALP et bilirubine. Aux doses les plus faibles (250 mg / kg), l'extrait a entraîné une réduction significative des taux de SGOT, d'ALP et de bilirubine ($P < 0,05$) (Al-Snafi, 2017).

III.4. Pharmacologie de l'éphédrine

L'éphédrine stimule à la fois les récepteurs α et β . Cet effet était en partie dû à une action directe sur les récepteurs et en partie indirectement en libérant de la noradrénaline de ses réserves de tissus, l'effet de l'éphédrine dans divers organes et systèmes étant similaire à celui de l'adrénaline. C'est aussi un stimulant léger du SNC. En général, il a produit les effets pharmacologiques suivants:

III.4.1. Effets cardiovasculaires

L'effet de l'éphédrine administrée par voie intraveineuse à des animaux de laboratoire était similaire à celui de l'épinéphrine. La pression artérielle, la pression systolique, diastolique et la pression moyenne ont augmenté et le ralentissement vagal s'est produit. En comparaison avec l'épinéphrine, la réponse à l'éphédrine est produite un peu plus lentement et a duré environ dix fois plus longtemps.

De plus, il fallait plus d'éphédrine que d'épinéphrine pour obtenir une réponse hypertensive équivalente. La réponse à l'éphédrine est due en partie à la constriction périphérique et en partie à la stimulation myocardique. La vasoconstriction peut être démontrée par injection intra-artérielle, mais par rapport à l'épinéphrine, l'éphédrine est seulement environ un millième active. Cela impliquerait que l'effet cardiaque était prédominant dans l'augmentation de la pression artérielle.

Chez l'homme, l'éphédrine augmente la pression artérielle à la fois par vasoconstriction périphérique et par stimulation cardiaque. La fréquence cardiaque était généralement augmentée, tout comme la pression artérielle, suggérant toutes deux une augmentation du débit cardiaque. Cependant, l'éphédrine a pratiquement empêché l'hypotension qui se produisait couramment lors d'une intervention chirurgicale sous anesthésie rachidienne

(Al-Snafi, 2017).

III.4.2. Bronchodilatation

Le muscle lisse de l'arbre bronchique était détendu par l'éphédrine. Par rapport à l'épinéphrine, l'action de l'éphédrine a été lente, a pris une heure ou plus après l'administration. L'éphédrine a également prévenu la bronchoconstriction induite par l'histamine chez les patients asthmatiques (Al-Snafi, 2017).

III.4.3. Décongestion nasale:

En raison de l'effet vasoconstricteur de l'éphédrine, il a été utilisé comme solution décongestionnante appliquée par voie topique sur les muqueuses du nez. Semblable à l'épinéphrine, l'éphédrine produit souvent une réponse congestive secondaire.

III.4.4. Enurésie nocturne

Les comprimés d'hydrochlorure éphédrine ont été utilisés dans beaucoup d'essais pour contrôler l'énurésie nocturne. Il est apparu que le chlorhydrate d'éphédrine améliorait le tonus interne du sphincter, prévenant ainsi une miction incontrôlée.

III.4.5. Anesthésie rachidienne

L'éphédrine a été utilisée pour prévenir la survenue d'une hypotension lors d'une intervention chirurgicale sous anesthésie rachidienne. La dose habituelle d'éphédrine utilisée pour traiter, plutôt que prévenir, l'hypotension était de 50 mg par voie intramusculaire ou de 15 mg par voie intraveineuse. L'action stimulante centrale de l'éphédrine, qui peut être contestable, a été contrôlée par une sédation pré-anesthésique adéquate ou par l'utilisation concomitante d'un barbiturique à courte durée d'action (Al-Snafi, 2017).

III.4.6. Stimulation du SNC

L'éphédrine était un stimulant corticomédullaire. En fonction de la dose, cette action stimulante chez l'homme entraîne des sensations d'anxiété, des tremblements, de l'insomnie et de la vigilance, et une augmentation de la respiration. Lorsque l'éphédrine a été utilisée pour ses effets adrénergiques, la stimulation centrale a été considérée comme un effet secondaire. Cependant, l'éphédrine était auparavant utilisée comme stimulant central utile dans la narcolepsie et les intoxications dépressives, mais l'amphétamine et la méthamphétamine étaient couramment utilisées aujourd'hui (Al-Snafi, 2017).

III.4.7. Perte de poids

Aujourd'hui, l'ephedra a été utilisée pour améliorer la performance, la suppression de l'appétit et la perte de poids. Plusieurs études ont montré que les associations éphédrine/ caféine étaient modestement efficaces pour la perte de poids à court et à long terme. De plus, l'effet stimulant de l'éphédrine a entraîné une augmentation du taux métabolique basal qui contribue à la perte de poids (Al-Snafi, 2017).

III.4.8. Effets cytotoxiques de l'éphédrine et de la pseudoéphédrine

La cytotoxicité de la (-) - éphédrine et de la (+) - pseudoéphédrine a été examinée contre deux lignées cellulaires différentes, les cellules SH-SY5Y et H9c2 (2-1). Dans les deux cas, le

pourcentage de cellules viables a diminué de manière significative en fonction de la dose. Pour SH-SY5Y, la valeur CL50 de la (-) - éphédrine était de $0,619 \pm 0,004$ mg/ml et la (+) - pseudoéphédrine était de $0,605 \pm 0,011$ mg/ml. Pour H9c2 (2-1), la valeur CL50 de la (-) - éphédrine était de $0,617 \pm 0,005$ mg /ml et la (+) - pseudoéphédrine était de $0,666 \pm 0,012$ mg/ml. La valeur CI50 de la (-) - éphédrine pour H9c2 (2-1) était significativement inférieure à celle de la (+) - pseudoéphédrine ($P < 0,01$). À mesure que la concentration de (-) - éphédrine augmente, le gonflement des cellules devient important et la dégénérescence vacuolaire est observée au microscope (Al-Snafi, 2017).

III.4.9. Autres effets

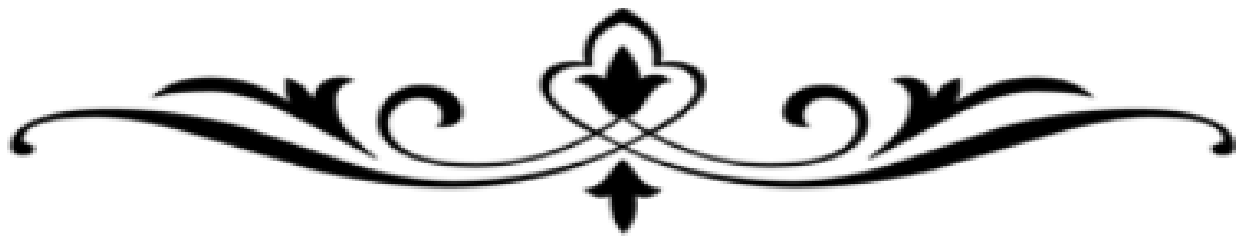
L'éphédrine a produit les mêmes effets de l'épinéphrine sur le muscle lisse. Il inhibe la contraction de la musculature gastro-intestinale intacte et stimule la contraction de la capsule splénique et des muscles pilomoteurs. Il possédait les mêmes actions sur la vessie et le myomètre que l'épinéphrine. L'éphédrine a également produit une hyperglycémie et une éosinopénie. L'éphédrine a influencé favorablement la faiblesse musculaire de la myasthénie par un mécanisme inconnu. Le muscle squelettique isolé a été contracté par l'éphédrine, l'effet observé n'était possèdent des actions de l'éphédrine sur le système vasculaire ou le système nerveux central. Les sécrétions du tractus gastro-intestinal ont été inhibées par l'éphédrine. L'éphédrine a également diminué la production de suc pancréatique (Al-Snafi, 2017).

Contrairement à la plupart des autres médicaments à base de plantes, l'éphédra comporte un risque pour la santé, aggravé par leur utilisation abusive. Selon l'évaluation de la Food and Drug Administration (FDA) en 2004, les compléments alimentaires contenant des alcaloïdes de l'éphédra représentaient un risque inacceptable pour la santé. La FDA a interdit la vente de médicaments contenant de l'éphédrine. De nombreux évènements cardiovasculaires et cérébrovasculaires indésirables ont été associés à l'utilisation de préparations de compléments alimentaires contenant des alcaloïdes de l'éphédra.

En 1993-1995, le Bureau de la sécurité sanitaire des aliments et des médicaments du Texas Department of Health (TDH) a reçu environ 500 déclarations d'effets indésirables chez des personnes ayant consommé des compléments alimentaires contenant de l'éphédrine et des alcaloïdes associés (pseudoéphédrineméthyléphédrine). Ces rapports ont enregistré des effets indésirables de gravité allant des tremblements et maux de tête à la mort chez huit utilisateurs

d'éphédrine et comprenaient des accidents vasculaires cérébraux, un infarctus du myocarde, des douleurs thoraciques, des convulsions, des nausées et des vomissements, de la fatigue et des étourdissements. Sept des huit décès signalés ont été attribués à un infarctus du myocarde ou à un accident vasculaire cérébral (Al-Snafi,2017). Cependant, les effets secondaires enregistrés avec les doses toxiques d'éphédrine incluaient des convulsions, des nausées, des vomissements, des frissons, une cyanose, une irritabilité, une nervosité, de la fièvre, des comportements suicidaires, une tachycardie, des pupilles dilatées, une vision trouble, des comas, insuffisance respiratoire et changements de personnalité.

L'éphédra ne doit pas être utilisé chez les patients présentant une thrombose coronarienne, un diabète, un glaucome, une maladie cardiaque, une hypertension, une maladie thyroïdienne, une altération de la circulation cérébrale, un phéochromocytome ou une hyperplasie de la prostate(Al-Snafi,2017).



Conclusion générale



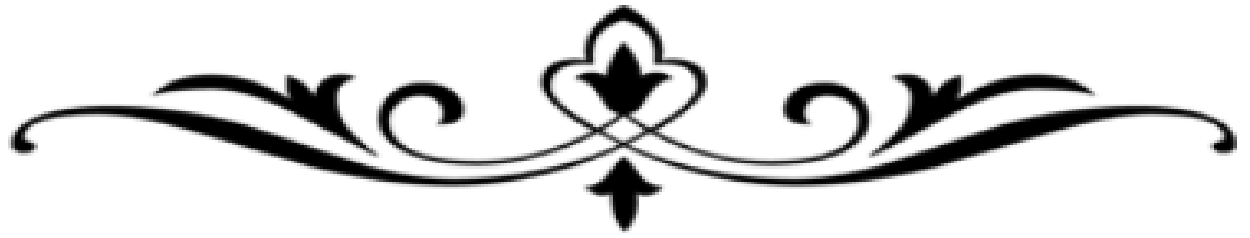
Conclusion

Ce travail dont l'objectif était de contribuer à la valorisation de l'une des espèces de la famille des Ephedraceae, *Ephedra alata* de la région de kenchela, nous a permis d'aboutir à des résultats intéressants. Avec une valeur de rendement de 16,38% d'extrait sec d'*E. alata* qu'est importante en la comparant avec les autres études réalisées sur la même plante.

Le criblage phytochimique a montré que l'extrait de plante *Ephedra alata* contient un mélange de composés phytochimiques tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les saponosides, les sucres réducteurs et les terpénoïdes.

L'extrait d'*Ephedra alata* est riche en composés flavonoïdes qui sont révélés par une analyse quantitative des composés flavonoïdiques.

Sur la base de ces études, il est à conclure que l'*Ephedra alata* constitue une source naturelle d'antioxydants puissants pouvant prévenir de nombreuses maladies, et dus à nos résultats obtenus par l'évaluation de l'activité antibactérienne on peut dire que cette plante est capable d'interférer de certains médicaments comme l'antibiotique la gentamicine, et pouvant être potentiellement utilisée dans la production alimentaire, cosmétique et pharmaceutique.



Références bibliographiques



Références bibliographiques

- 1- Abourashed E.A., El-Alfy A.T., Khan I.A. et Walker L., 2003- *Ephedra* in perspective—a current review. *Phytother. Res.*, Vol. 17, PP. 703-712
- 2- AL-Qarawi A.A., Abd_Allah E.F. et Abeer H., 2011- *Ephedra alata* as biologically-based strategy inhibit aflatoxigenic seedborne mold. *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 5, N°16, pp. 2297-2303
- 3- Al-Snafi AE. Therapeutic Importance of *Ephedra Alata* And *Ephedra Foliata*- A Review, *Indo Am. J. P. Sci*, 2017; 4(02).
- 4- Attou A., 2011- Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Rutachalepensis*(Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Mémoire de magister. " *Produits naturels : Activités biologiques et synthèses*". Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. P 93.
- 5- Balasundram N., Sundram K. et Samman S., 2006- Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, Vol. 99, N°1, pp. 191–203
- 6- Benabbou T.A., 2012- Antibiorésistance des bactéries lactiques isolées de produits artisanaux algériens. Mémoire de magister. "Ecosystèmes microbiens complexes". Université d'Oran. P 06.
- 7- Benhouhou S., Benghanem A. N., Flore et végétation du Sahara algérien : synthèse et perspectives de recherche, colloques Sahara, IMBE, 28-29 Nov 2013, Aix en Provence, Marseille.
- 8- Bensegueni A., 2007- Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking (arrimage) moléculaire sur la lipoxygénase et la cyclooxygénase. Thèse de doctorat. "Biochimie Appliquée". Université Mentouri Constantine, P. 05.

- 9- Bussmanna R.W., Sharon D., Perez F., Diaz D., Ford T., Rasheed T., Barocio Y. et Silva R., 2008- Antibacterial activity of northern-peruvian medicinal plants. *Arnaldoa*, Vol.15, N°1, pp. 127 – 148
- 10- BO UZIANE Mebarka, Extraction et analyse de la composition chimique de plantes sahariennes d'intérêt médicinal, these pour l'obtention du diplôme de doctorat ès sciences en chimie, universitekasdimerbah – ouargla, 2015.
- 11- Caveny S., Charlet D.A., Freitag H., Maier-Stoete M. et Starratt A. N., 2001- New observations on the secondary chemistry of world *Ephedra* (Ephedraceae). *American Journal of Botany*. Vol.88, N°7. PP. 1199–1208.
- 12- Chebrouk F., 2009- Caractérisations analytiques de quelques composés polyphénoliques et terpéniques issus de la plante *Marrubiumdesertide* la région de Ghardaïa. Mémoire de magister."Chimie organique appliquée". Université KasdiMerbah Ouargla. P.60.
- 13- Chen W.L, Tsai T.H., Yang C.C.H., Kuo T.B.J., 2010- Effects of *ephedra* on autonomic nervous modulation in healthy young adults. *Journal of ethnopharmacology*, Vol. 130, pp. 563–568
- 14- Chopra C., Abrol B. K. et Handa K. L., 1960.- Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue botanique: 1ière partie. Recherche sur les zones arides XIII. Ed. UNESCO, Rome, 97 p.
- 15- Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2002- *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin--United States, 2002. *Morb Mortal Wkly Rep. MMWR*. Vol. 51, N°26, pp: 565-567.
- 16- Chebouat E., Dadamoussa B., Gharabli S., Gherraf N., Allaoui M., Cheriti A., Lahham A. et Zellagui A., 2014- Assessment of antimicrobial activity of flavonoids extract from *Ephedra alata*. *Der Pharmacia Lettre*, Vol. 6, N°3, pp. 27-30

- 17- Chebouat E et al *Der Pharmacia Lettre* 56,2014;6 (3):27-30.
- 18- Christensen P., Lam J., 1991, *Phytochem.*, 30(8), 2453-2476.
- 19- Derbel S., Touzard B., Triki MA. et Chaieb M., 2010- Seed germination responses of the Saharan plant species *Ephedra alata ssp. alendato* fungicide seed treatments in the laboratory and the field. *Flora*, Vol. 205, pp. 471–474
- 20- Dzidic S., Suskovic J. et Kos B.,2008- Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects. *Food Technol. Biotechnol*, Vol.46, N°1, PP.11–21.
- 21- Emerenciano V.P., Milit J.S.L.T., Campos C.C., Romoff P., Kapland M.A.C., Zambond M., Branta A.J.C., 2001, *Biochem. Syst. Ecol.*, 29, 947-957.
- 22- Evans W.C., 2009- *Trease and Evans' Pharmacognosy*. Saunders (16eme Ed).
- 23- Ghourri M., Zidane L., Douira A., 2013- Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). *Journal of Animal & Plant Sciences*, Vol.17, pp. 2388-2411.
- 24- Gupta R.S., 2011- Origin of diderm (Gram-negative) bacteria: antibiotic selection pressure rather than endosymbiosis likely led to the evolution of bacterial cells with two membranes. *Antonie Van Leeuwenhoek*, Vol, 100, pp: 171–182.
- 25- Halliwell B., 2006- Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *Journal of Neurochemistry*, Vol. 97, pp. 1634–1658.
- 26- Halliwell B. et Gutteridge J.M.C., 1990- The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of biochemistry and biophysics*, Vol. 280, N°. 1, pp. 1-8.
- 27- Hammoudi R., 2009-Contribution à la mise en évidence de principes actifs de plante *Teucriumpoliumgeyrii*provenant de la région Tamanrasset. mémoire magister. "Biochimie et Analyse des Bio-produits". UnoversitéKasdiMerbah-Ouargla.Mem. p.52.

- 28- Hegazi G.A.E. et El-Lamey T.M., 2011- In vitro Production of Some Phenolic Compounds from *Ephedra alata* Decne. J. Appl. Environ. Biol. Sci., Vol,1, N°8, pp.158-163
- 29- Huang J. et Price R.A., 2003- Estimation of the Age of Extant *Ephedra* Using Chloroplast *rbcL* Sequence Data. Mol. Biol. Evol., Vol. 20, N°3, pp435–440.
- 30- Ikan R., 1991- Natural Products: a laboratory guide. Academic Press (2e Ed.), pp 357.
- 31- Inra.2006. Deuxième rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques, Juin 2006, INRAA..
- 32- Iwashina T., 2000- The Structure and Distribution of the Flavonoids in Plants. Journal of Plant Research, Vol. 113, pp. 287-299.
- 33- Konno C., Taguchi T., Tamada M. et Hikino H., 1979- Ephedroxane, anti-inflammatory principle of *Ephedra* herbs. Phytochemistry, Vol. 18, pp. 697-698.
- 34- Konno C., Mizuno T., Hikino H., 1985- Isolation and hypoglycemic activity of ephedrins A, B, C, D and E, glycosides of *Ephedra distachya* Herbs. Plantamedica, vol. 51, N°2, pp. 162-163
- 35- Kebili Z., 2016. Contribution à l'étude de quelques activités biologiques des extraits de *Ephedra alata*, *Launaea arvensis* et *Oudneya africana*. Diplôme d'ingénieur d'Etat. Université des bioproduits. Université Kasdi Merbah-Ouargla. 102p
- 36- Kessal A. et Bouafia O., 2003- Phytoscreening and antibacterial activity of the plants *Ephedra alata*, *Launaea arvensis* and *Oudneya africana*. Diplôme d'ingénieur d'Etat. Université Kasdi Merbah-Ouargla. Mem. p. 66.
- 37- Konkon N.G., Simaga D. et Adjoungova A.L., 2006- Etude Phytochimique de *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Ktze (Rubiaceae), plante à feuille antidiabétique. Pharm. Méd. Trad. Afr. 2006, Vol. 14, pp. 73-80.

- 38-** Limberger R.P., Jacques ALB, Schmitt GC. et Arbo MD., 2013 - Pharmacological Effects of Ephedrine. *Natural Products*, pp. 1218- 1237.
- 39-** Ling M., Piddlesden S. J. et Morgan B. P., 1995- A component of the medicinal herb *ephedra* blocks activation in the classical and alternative pathways of complement. *Clinical&Experimental Immunology*, Vol. 102, N° 3, p. 582–588
- 40-** Macheix J.J., 1996- Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle?, *Acta bot. Gallica*, Vol.143, N°6, pp. 473-479.
- 41-** Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jimenez L., 2004- Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr.*, Vol.79, pp. 727–747.
- 42-** Martínez-Cayuela M., 1995- Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, Vol. 77, pp: 147-161.
- 43-** Moure A., Cruz J. M., Franco D., Dominguez J. M., Sineiro J., Dominguez H., Nunez M.J. et Parajo J. C., 2001- Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, Vol. 72, PP, 145-171.
- 44-** Nawwar M. A. M., Barakat H. H., Buddrust J. et Linscheidt M., 1985- Alkaloidal, lignan and phenolic constituents of *Ephedra alata*. *Phytochemistry*, Vol. 24, N°. 4, pp. 818-819
- 45-** Nawwar M.A.M, El-Sissi H.I., Barakat H.H., 1984- Flavonoid constituents of *Ephedra alata*. *Phytochemistry*, Vol. 23, N°. 12, pp. 2937-2939
- 46-** Nikaido H., 1989- Outer Membrane Barrier as a Mechanism of Antimicrobial Resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, Vol. 33, No. 11, p. 1831-1836
- 47-** Ould El Hadj M.D., Hadj-Mahammed M. et Zabeirou H., 2003- place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (sahara septentrional est). *Courrier du savoir*. n°3, pp. 47-51

- 48-** Ozenda P., 1991- Flore et végétation du Sahara. Centre National De La Recherche Scientifique, Paris (3^{ème} Ed.). 662 p
- 49-** Ozkan G., Sagdic O., Gokturk R.S., Unal O. et Albayrak S., 2010- Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extract from *Salvia pisidica*. LWT - Food Science and Technology, Vol. 43, N°1, pp. 186–190
- 50-** Peters C.M., O'Neill J.O. et Young J.B., 2005- Is there an association between *ephedra* and heart failure? a case series. Journal of Cardiac Failure, Vol. 11, N°1, pp.9-11.
- 51-** Pharmacopée française, 1989-Indice De Mousse.
- 52-** Phinney K.W., Ihara T. et Sander L.C., 2005- Determination of ephedrine alkaloid stereoisomers in dietary supplements by capillary electrophoresis. Journal of Chromatography A, Vol. 1077, pp. 90–97
- 53-** Rijke E., Out P., Niessen W.M.A., Ariese F., Gooijerb C., Brinkman U.A.Th., 2006- Analytical separation and detection methods for flavonoids. Review. Journal of Chromatography A, Vol. 1112, pp.31–63.
- 54-** Safer, A.M. et A.J. Al-Nughamish, 1999- Hepatotoxicity induced by the anti-oxidant food additive butylated hydroxyl toluen (BHT) in rats: An electron microscopical study. Histology and Histopathology, Vol. 14; pp. 391-406.
- 55-** Sies H., 1997- Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp. Physiol.*, Vol. 82, pp. 291-295.
- 56-** Singleton V.L. et Rossi J.A., 1965- Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdiphosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Vitic., Vol. 16, pp. 144-158.
- 57-** Song F.L., Gan R.Y., Zhang Y., Qin Xiao, Kuang L. et Li H.B., 2010-Total Phenolic Contents and Antioxidant Capacities of Selected Chinese Medicinal Plants. Int. J. Mol. Sci, Vol.11, pp. 2362-2372.

Références bibliographiques

- 58-** Soni M.G, Carabin I.G., Griffiths J.C., et Burdock G.A., 2004- Safety of *ephedra*: lessons learned. *Toxicology Letters*, Vol. 150, pp. 97–110
- 59-** Thaipong K., Boonprakob U., Crosby K., Cisneros-Zevallos L. et Byrne D.H., 2006- Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 19, pp. 669–675.
- 60-** Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M. et Telser J., 2007- Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, Vol. 39, pp. 44-84.
- 61-** Ozenda P., « Flore et végétation du Sahara », 1983, 2 ème éd, CNRS., Paris, pp. 622.