



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministères de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقا يـ تلمسان

Université ABOUBAKER BELKAID-TLEMEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des sciences de la nature et de la vie, et des sciences de la terre et de
L'Univers

Département de Biologie

Laboratoire des substances naturelles et bioactives

MEMOIRE

Présenté Par

Melle **NEHARI Ibtissam**

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Spécialité :

Nutrition et Pathologie

Thème

Effet hémolytique et antioxydant des extraits
phénoliques d'*Ephedra Alata*

Soutenu le 29/06/2022 devant le jury compose de :

Présidente	Mme Boudghen stambouli A.	MCA	Université de AinTémouchent
Encadrante	Mme Ghalem M.	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme Merzouk A.	MCB	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2021-2022

Remerciement

A Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage, la force, la patience et accordé son soutien durant les périodes les plus difficiles.

Ce travail a été réalisé au laboratoire des substances naturelles et bioactives (LASNABIO).

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude à **Mme Ghalem Meriem**, professeur à l'université Abou Baker belkaid Tlemcen pour son encadrement, pour son implication et la patience don elle a fait preuve. Je le remercie aussi de son suivi permanent de mon travail, ses remarques et suggestion.

J'adresse mes sincères remerciements à **Mme Boudghen stambouli A**, d'avoir accepté de présider le jury de mon soutenance.

Mes remerciements vont également à **Mme Merzouk A**, pour avoir d'examiner ce travail.

Je remercie très respectueusement à **Mr Ghalem S**, le directeur de laboratoire des substances naturels et bioactives (LASNABIO), Université de Tlemcen. Pour son accueil au laboratoire et tout personnel au laboratoire (LASNABIO) pour leurs aides précieuses.

Je remercie notre responsable de Master Nutrition & pathologie **Mme Badid Naima** professeur à l'université de Tlemcen faculté SNV- STU pour tous ses efforts durant ces deux années.

Au terme de ce projet de fin d'étude, je veux remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin à L'aboutissement de ce travail

A mes parents pour leurs contributions dans chaque travail que j'ai effectué.

A Tous Mes collègues et Mes amies.

Merci

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mon cher papa Abderezzak, l'homme de ma vie

Ma source d'inspiration, mon exemple éternel, mon soutien moral, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, j'espère qu'il sera toujours fier à moi

A ma très chère Maman Fouzia, la lumière de mes jours

Tu représente pour moi la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Ta prière et ta bénédiction m'ont beaucoup aidé à terminer bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance et même à l'âge adulte.

Que dieu leur prête une longue vie et une bonne santé.

A mes chers grands parents maternels et à ma chère grand-mère paternelle

Qu'Allah vous accorde une longue vie.

A Ma très chère sœur : Meriem

A mes chère frères : Zaki & Anis

A Mon cher fiancé : Marwen

Merci pour votre soutien moral et votre présence à mes côtés.

A tous que j'aurais oublié de citer mais qui existent au fond de mon cœur.

Ibtissam

Résumé

La présente étude s'inscrit dans le cadre de l'évaluation de l'activité antioxydante et l'effet hémolytique de l'extrait phénolique d'une plante médicinale *Ephedra alata* a une grande importance thérapeutique dans le monde. C'est une plante largement utilisé en Médecine traditionnelle. La première partie de cette étude concerne l'extraction et la quantification des phénols totaux. La deuxième partie, on a évalué l'activité antioxydante par la CAT et la Cytotoxicité de l'extrait phénolique par (test hémolytique) de la plante.

Le rendement en polyphénols totaux est de 24% et la teneur en polyphénols totaux a été déterminé en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu elle est de 34.4mg EAG/mg ES. Les résultats de l'activité antioxydante montrent que la plante *Ephedra alata* possède une capacité antioxydante de 1.006 mg/ml. Le test hémolytique montre que la plante n'a pas un effet toxique a des concentrations comprises (0.25- 2 mg/ml). En conclusion, l'étude a révélé qu'*Ephedra alata*, plante largement utilisés en pharmacopée sûr si elle est utilisée correctement.

Mots clés : *Ephedra alata*, hémolyse, polyphénols, activité antioxydante, extrait phénolique.

Abstract

The present study is part of the evaluation of the antioxydant activité and the hémolytique effet of the phénolique extrant of a médicinal plant *Ephedra alata* has gréât thérapeutique importance in the world. It Is a plant Widal use in Traditionnel Médecine. The first part of This sud concernas the extraction and quantification of total phénols. The second part, the antioxydant activité wasp évaluâtes by CAT and Cytotoxicité of the phénolique extrant by (hémolytique test) of the plant. The Field of total polyphénols Is 24% and the total polyphénols content has been détermine usina the Folin-Ciocalteu ragent It Is 34.4mg EAG/mg ES. The résulta of the antioxydant activité show That the *Ephedra alata* plant has an antioxydant capacité of 1,006 mg/ml. The hémolytique test shows That the plant dose not have a toxique effet at. concentrations inclue (0.25- 2 mg / ml). In conclusion, the sud fond That *Ephedra alata*, plant Widal use in safe pharmacopoeia if used correctly.

ملخص

هذه الدراسة هي جزء من تقييم النشاط المضاد للأكسدة والتأثير الانحلالي للمستخلص الفينولي للنبات الطبي *ardehpE atala* له أهمية علاجية كبيرة في أنحاء العالم. وهو نبات يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي. يتعلق الجزء الأول من هذه الدراسة باستخراج وتقدير إجمالي الفينول. في الجزء الثاني قمنا بتقييم النشاط المضاد للأكسدة بواسطة TAC والسمية الخلوية بواسطة (انحلال الدم) للنبات. يبلغ إجمالي عائد البوليفينول 24% وتم تحديد إجمالي محتوى البوليفينول باستخدام كاشف *niloF-uetlacociC* وهو 34.4 مجم/مجم. تظهر نتائج المضاد للأكسدة أن نبات *atala ardehpE* لديه قدرة مضادة للأكسدة تبلغ 1.006 ملغم/مل. يُظهر اختبار انحلال الدم أن النبات ليس له تأثير سام بتركيزات (2-0.25 ملغم/مل). في الختام كشفت الدراسة أن نبات *atala ardehpE*، المستعمل على نطاق واسع في الأدوية الآمنة إذا تم استخدامه بشكل صحيح.

Résumé

La présente étude s'inscrit dans le cadre de l'évaluation de l'activité antioxydante et l'effet hémolytique de l'extrait phénolique d'une plante médicinale *Ephedra alata* a une grande importance thérapeutique dans le monde. C'est une plante largement utilisée en Médecine traditionnelle. La première partie de cette étude concerne l'extraction et la quantification des phénols totaux. La deuxième partie, on a évalué l'activité antioxydante par la CAT et la Cytotoxicité de l'extrait phénolique par (test hémolytique) de la plante.

Le rendement en polyphénols totaux est de 24% et la teneur en polyphénols totaux a été déterminé en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu elle est de 34.4mg EAG/mg ES. Les résultats de l'activité antioxydante montrent que la plante *Ephedra alata* possède une capacité antioxydante de 1.006 mg/ml. Le test hémolytique montre que la plante n'a pas un effet toxique a des concentrations comprises (0.25- 2 mg/ml). En conclusion, l'étude a révélé qu'*Ephedra alata*, plante largement utilisés en pharmacopée sûr si elle est utilisée correctement.

Mots clés : *Ephedra alata*, hémolyse, polyphénols, activité antioxydante, extrait phénolique.

Abstract

The present study is part of the evaluation of the antioxidant activity and the hemolytic effect of the phenolic extract of a medicinal plant *Ephedra alata* has great therapeutic importance in the world. It is a plant widely used in Traditional Medicine. The first part of this study concerns the extraction and quantification of total phenols. The second part, the antioxidant activity was evaluated by CAT and Cytotoxicity of the phenolic extract by (hemolytic test) of the plant. The yield of total polyphenols is 24% and the total polyphenols content has been determined using the Folin-Ciocalteu reagent. It is 34.4 mg EAG/mg ES. The results of the antioxidant activity show that the *Ephedra alata* plant has an antioxidant capacity of 1,006 mg/ml. The hemolytic test shows that the plant does not have a toxic effect at concentrations included (0.25- 2 mg / ml). In conclusion, the study found that *Ephedra alata*, plant widely used in safe pharmacopoeia if used correctly.

ملخص

هذه الدراسة هي جزء من تقييم النشاط المضاد للأوكسدة والتأثير الانحلالي للمستخلص الفينولي للنبات الطبي ardehpE atala له أهمية علاجية كبيرة في أنحاء العالم. وهو نبات يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي. يتعلق الجزء الأول من هذه الدراسة باستخراج وتقدير إجمالي الفينول. في الجزء الثاني قمنا بتقييم النشاط المضاد للأوكسدة بواسطة TAC والسمية الخلوية بواسطة (انحلال الدم) للنبات.

يبلغ إجمالي عائد البوليفينول 24% وتم تحديد إجمالي محتوى البوليفينول باستخدام كاشف niloF-uetlacociC وهو 34.4 مجم/مجم. تظهر نتائج المضاد للأوكسدة أن نبات atala ardehpE لديه قدرة مضادة للأوكسدة تبلغ 1.006 ملغم/مل. يُظهر اختبار انحلال الدم أن النبات ليس له تأثير سام بتركيزات (2-0.25 ملغم/مل). في الختام كشفت الدراسة أن نبات atala ardehpE، المستعمل على نطاق واسع في الأدوية الأمانة إذا تم استخدامه بشكل صحيح.

Liste des Abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

Cu : Cuivre

Cu/Zn-SOD : Superoxyde dismutase aux ions cuivre et zinc

ERO : espèce réactive de l'oxygène

Fe²⁺ : Fer réduit

G6PD : glucose-6-phosphate déshydrogénase

GPx : Glutathion peroxydase

GRh : globule rouge

GSH : glutathion réduit

GSSG : Glutathion oxydé

H₂O₂ : Oxygène Singlet

Mn : Manganèse

Mn-SOD : Superoxyde dismutase associé au manganèse

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

NO : Nitric Oxide

O₂⁻ : Anion Superoxyde

O₂ : Oxygène Singlet

O₂^{°-} Radical Superoxyde

OH^{°-} : Hydroxyle

PH : potentiel d'hydrogène

ROO : groupement peroxyde

ROS : Reactive oxygen Species

Se : Sélénium

SOD : Superoxyde dismutase

UV : Ultraviolet

Zn : Zinc

Liste des figures

Figure 1: le déséquilibre entre la production des radicaux libres (oxydant) et les mécanismes de défense (antioxydant) au sein d'un même organisme engendre le stress oxydant	06
Figure 2: origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactive de l'oxygène impliqué en biologie.....	07
Figure 3: Répartition des principales défenses antioxydants dans la cellule.....	10
Figure 4: Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques	11
Figure 5: structure chimique du phénol.....	16
Figure 6 : structure chimiques des acides hydroxbenzoïque	17
Figure 7 : structures chimiques des acides hydroxycinnamique	18
Figure 8 : structure chimique de Stilbènes	18
Figure 9 : structure chimique d'une lignine	19
Figure 10 : structure chimique de base des flavonoïdes.....	20
Figure 11 : structure chimiques de Flavonols	20
Figure 12 : structure chimique d'un glotanin.....	22
Figure 13 : structure chimique d'un tanin condensé (proanthocyanidine).....	22
Figure 14 : schéma général de la biodisponibilité des polyphénols	23
Figure 15 : répartition géographique de l'Ephédra dans le monde	26
Figure 16 : arbuste d'éphédra alata	28
Figure 17 : branches fleuries d'Ephedra alata	28
Figure 18 : Structure d'éphédrine.....	29
Figure 19 : Ephedra alata en poudre.....	35
Figure 20 : Ephedra alata.....	35
Figure 21 : les étapes d'extraction de polyphénols	36
Figure 22 : protocole d'évaluation de la capacité antioxydante totale de l'extrait phénolique d'Ephedra alata.....	38
Figure 23 : Protocole d'évaluation de test de Cytotoxicité sur l'extrait d'Ephedra alata	39
Figure 24 : Pourcentage de l'hémolyse en fonction les concentrations de l'acide gallique et E.alata	
Figure 25 : Courbe d'étalonnage pour le dosage de l'activité antioxydante totale (CAT).....	58
Figure 26 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux .58	

Liste des tableaux

Tableau 1: liste de quelques espèces réactives	8
Tableau 2: propriétés Biologiques des polyphénols	24
Tableau 3: la position systématique d'éphédra	27
Tableau 4: Rendement de l'extrait phénolique d'Ephedra alata	42
Tableau 5: la teneur polyphénols de l'extrait phénolique d'Ephedra alata	42
Tableau 6: l'activité antioxydante totale de l'extrait phénolique.....	43

Liste des matières

Liste des Abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....	1-2
----------------------------	-----

Synthèse Bibliographique

Chapitre 01 : Stress oxydatif.....	5
.1.1 Définition :	6
2.1 Radicaux libres :.....	6
2.1.1 Nature des radicaux libres :.....	8
3.1 Cible cellulaire de L'ERO :.....	9
3.1.1 Peroxydation lipidique :	9
3.1.2 Oxydation des protéines :	9
3.1.3 Dommages de l'ADN :	9
4. Maladies liées au stress oxydants :.....	10
5. Antioxydants :	10
5.1 Définition :.....	10
5.2 Systèmes antioxydant endogènes :	11
5.2.2 Antioxydant enzymatiques:.....	11
5.3 Systèmes antioxydants exogène :.....	12
Antioxydant non enzymatiques:.....	12
Chapitre 02 : Les polyphénols.....	15
1.1. Définition :	16
1.2. Classifications des polyphénols :.....	16
1.2.1 Polyphénols simples (Non flavonoïdes) :.....	17
1.2.1.1 Acide phénolique :.....	17
✓ Acide phénols dérivées d'acide benzoïque :.....	17
✓ Acide phénols dérivées d'acide cinnamique :.....	18
1.2.1.2 Stilbènes :	18
1.2.1.3 Lignines :	18
1.2.2. Flavonoïdes :	19

1.2.2 Polyphénols complexes :	21
3. Biodisponibilité des polyphénols :	23
4. Effet thérapeutiques des polyphénols :	24
Chapitre 03 : <i>Ephedra alata</i>	25
1 Genre Ephédra :	26
1.1 Ephédra alata Alenda :	27
1.2 Position systématique :	27
1.1.2 Nom vernaculaire d'Ephédra alata alenda :	27
.2 Description botanique :	27
.3 Répartition géographique :	28
.4 Chimie de la plante :	29
.5 Utilisation :	29
.6 Pharmacologie :	30
.7 Toxicologie :	31
3. Activité biologique de la plante :	31
3.1 Effet antioxydant :	31
3.3 Effet hypoglycémiant :	32
3.4 Effet sur la masse corporelle :	32

La partie expérimentale

Matériel et Méthode:

1. Préparation du matériel végétal :	35
2. Méthodes d'analyses :	35
Extraction des polyphénols totaux :	35
Dosage des polyphénols totaux :	37
4 .Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait phénolique d' <i>Ephedra alata</i> :	38
4.1 La capacité antioxydante totale (CAT) :	38
4.2 Test de Cytotoxicité :	39
* Expression des résultats :	40
5 .Etude statistique :	41
Discussion	46
Conclusion générale	50
Références Bibliographique	52
Annexes	60

Introduction générale

Les plantes médicinales représentent le premier réservoir de médicaments et sont considérées comme une source importante de matières premières pour la découverte de nouvelles molécules indispensables au développement (**Maurice, 1997**).

Bien que la recherche phytochimique soit ancienne, elle a toujours attiré beaucoup d'attention. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante de molécules bioactives

Parmi ces composés, on retrouve les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, alcaloïdes (**Bahorun et al., 1996**). Certains nutriments semblent être aujourd'hui découverts et connus pour leurs effets thérapeutiques. Il s'agit en particulier des vitamines et des oligo-éléments ayant une activité antioxydante permettant de lutter contre les radicaux libres. En raison de la grande réactivité et de l'effet néfaste de ce dernier sur les systèmes biologiques, ces derniers sont incriminés dans les mécanismes du vieillissement et interviennent dans la physiopathologie des maladies. Par conséquent, les antioxydants semblent un enjeu majeur pour préserver la santé (**Pastre Justine et al., 2005**). Les mécanismes généraux d'action des polyphénols peuvent jouer un rôle physiologique différent selon sa composition chimique, sa disponibilité biologique et son métabolisme (**Savini et al., 2013**). Les polyphénols possèdent de multiples propriétés biologiques tels que l'effet antioxydant, antimicrobien, anti-inflammatoire (**Arribas, Alberto Sanchez, et al., 2013**). Ces dernières ont également des propriétés thérapeutiques contre les maladies cardiovasculaires, neuro-dégénératives et divers types de cancer et de diabète.

Malgré les progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très fréquent dans certains pays du monde, en particulier dans ces pays en développement (**Tabuti et al., 2003**). Parmi les plantes les plus répandues dans le désert du Sahara algérien, l'*Ephedra alata* est connue pour son utilisation en médecine traditionnelle contre le cancer, la grippe, et les rhumes.

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante et hémolytique des extraits phénoliques d'*Ephedra alata*.

Cette étude est subdivisée en deux parties :

Une première partie consacrée à l'étude bibliographique de trois chapitres :

- Stress oxydatif

- Les polyphénols
- La plante *Ephedra Alata*

La deuxième partie décrit les différentes étapes de matériel et les méthodes utilisées dans notre travail expérimental :

- Préparation du matériel biologique végétal
- Extraction des polyphénols totaux
- Dosage des polyphénols totaux
- La capacité antioxydante totale (CAT)
- Test de Cytotoxicité.

Enfin, une conclusion générale qui portera les différents résultats obtenus et quelques perspectives.

Synthèse Bibliographique

Chapitre 01 : Stress oxydatif

.1.1 Définition :

Le stress oxydatif, se définit par un déséquilibre entre la production des radicaux libres et les défenses antioxydants de l'organisme (**figure01**), ce qui conduit à des dommages important sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles tells que : protéines, lipides et acides nucléique (**Soares, 2005**).

Plusieurs facteurs influencent le stress oxydatif, certains augmentant la production des ERO comme la consommation élevée d'O₂ au cours d'une activité sportive Consommatrice d'énergie, et d'autre réduisent les capacités antioxydants tels que le déficit enzymatique en G6PD (**Bensakhria, 2018**).



Figure 01 : le déséquilibre entre la production des radicaux libres (oxydant) et les mécanismes de défense (antioxydant) au sein d'un même organisme engendre le stress oxydant (**Favier, 2006**).

2.1 Radicaux libres :

Un radical libre est une espèce chimique, contenant un ou plusieurs électrons non apparié. L'appellation « espèces réactives d'oxygène (ERO) » inclut les radicaux libres de l'oxygène qui représentent la classe la plus importante d'espèces radicalaires générées dans les systèmes vivants : Superoxyde (O₂⁻), radical hydroxyle (OH⁻) mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). L'ion Superoxyde O₂[°] et le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ signifie une classe moins active. O₂[°] peut interagir avec H⁺ pour générer H₂O[°] et sera la forme réactive d'O₂[°] ce qui peut induire une peroxydation lipidique. O₂[°] peut disproportionner en H₂O₂ et réagir avec le NO[°] pour former

du Peroxynitrite ONOO^- ou avec des métaux de transition en formant des radicaux libre plus actifs (Valko *et al.*, 2007 ; Martinez-Cayuela, 1995).

Le radical hydroxyle OH° est plus réactif il peut attaquer la plupart des biomolécules et forment des radicaux libres secondaires. Ces ROS peuvent être convertis en Intervention de la Superoxyde dismutase (SOD) et des métaux de transition tels que Fe^{2+} ou Cu^{2+} , libres ou complexés (hème), qui sont des activateurs de l'oxydation. L'oxygène Singulet peut être produit par des réactions photochimiques et chimiques (par exemple, la réaction de H_2O_2 avec OCl^- produit 1 Oxygène (Negre-Salvayre, A., & Salvayre, R. (2005). Ces réactions sont présents en **figure 02**.

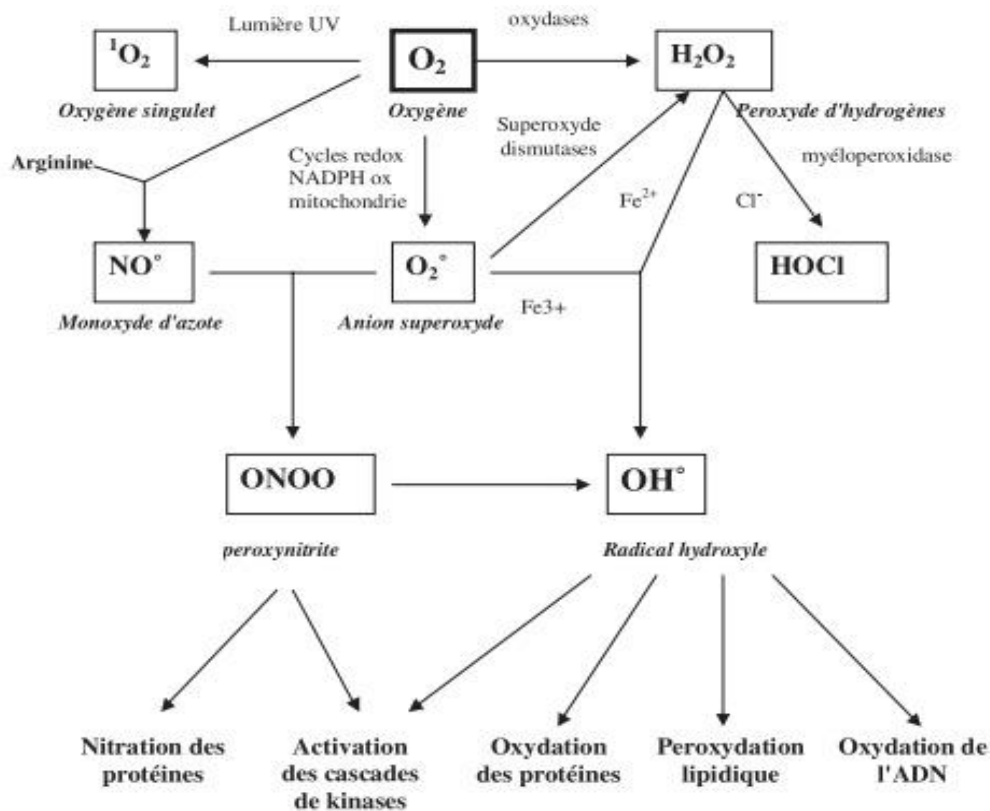


Figure 02 : origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactive de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, A (2003).

2.11 Nature des radicaux libres :

2.1.1.1 Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO) :

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

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

- la défense antimicrobienne.
- processus de réponse cytotoxique aux agents pathogènes, perturbation de l'apoptose.
- La destruction des cellules tumorales.
- La transduction du signal cellulaire et la régulation du métabolisme cellulaire (**Bensakhria, 2018**). Le Tableau (1) montre une liste de quelques espèces chimiques réactives :

Tableau (1) :

Liste de quelques espèces réactives (**Mercan, D. (2010)**).

Espèce Radicalaire		Espèce non Radicalaire	
$O_2^{\circ-}$	Superoxyde	H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène
$OH^{\circ-}$	Hydroxyle	$ROOH$	Peroxyde organique
$ROO^{\circ-}$	Peroxyle	$ONOO^-$	peroxynitrite
$NO^{\circ-}$	Oxyde nitrique	O_2NOO	peroxynitrate
$NOO^{\circ-}$	Dioxyde de nitrogène	NO_2Cl	chlorure de nitrile
$NO_3^{\circ-}$	Nitrate	HNO_2	Acide nitreux
$CO_3^{\circ-}$	Carbonate	ClO_2	Dioxyde de chlore

2.2.2.2 Espèces réactives de l'azote (ERN) :

Son principal représentant est le monoxyde d'azote NO° , il est impliqué dans la neurotransmission et produit lors du métabolisme de l'arginine en citrulline par l'oxyde nitrique synthétases (NOS). Le NO° peut se combiner avec les radicaux d'oxygène pour former des molécules toxiques telles que l'anion peroxynitrite ($ONOO^-$) (**Valko et al., 2007**).

3.1 Cible cellulaire de L'ERO :

L'oxydation peuvent s'attaquer à des multiples cible dans l'organisme tels que : une peroxydation des lipides, une oxydation des protéines, des mutations de l'ADN.

3.1.1 Peroxydation lipidique :

Les lipides, principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée pour l'attaque des radicaux hydroxyles, elles ont la capacité à extraire l'hydrogène du carbone situé entre deux doubles liaisons, un radical diène conjugué, oxydés en radical peroxyde (**Favier, A. (2003)**).

Cette réaction est appelée « peroxydation lipidique » il s'agit d'une réaction en chaine de formation de lipides via ROS. La réaction en chaine est l'une des plus importantes sources de radicaux libres dans l'organisme, principalement des groupes alkyle, alkoxy et peroxyde .Ce phénomène entraine des dommages irréversibles à la membrane cellulaire entraînent la mort cellulaire (**Valko, M, et al., 2006**). Il provoque des changements dans la Fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes.

3.1.2 Oxydation des protéines :

Les ERO peuvent oxyder les protéines et les acides aminés pour former des produits carbonyles ou hydroxyles. Ces modifications entraineront une altération des protéines et ainsi le système enzymatique associé en les activant ou en les inactivant .Les protéines les plus sensibles aux attaques des radicaux libres surtout ceux qui forment un groupe sulfhydrile (SH) c'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont donc oxyder et inactivé (**Desmier, 2016**).

D'autres dommages irréversibles conduisant à la formation d'intermédiaires radicalaires. Les protéines peuvent alors : Soit subir des réticulations par formation de ponts bi-tyrosine Ou former des coupures en cas d'agression forte (**Favier, A. (2003)**).

3.1.3 Dommage de l'ADN :

L'ADN mitochondriale est une cible privilégiée les espèces oxygénées activées.

Le stress oxydant étant principalement d'origine mitochondriale, ses organites sont les premières cibles des ERO. Ainsi, le génome mitochondriale présente une susceptibilité au stress oxydant qui est 10 fois supérieure au génome nucléaire (**Richter et al, 1988**).

4. Maladies liées au stress oxydants :

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses maladies comme facteur déclenchant à des complications de l'évolution tels que : le diabète, l'athérosclérose, le vieillissement, cancer, sclérose latérale, maladie d'Alzheimer, insuffisance rénale, stérilité masculine, maladie de Parkinson (**Bensakhria, 2018**). La plupart des maladies induites apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux (**Favier, A. (2003)**).

5. Antioxydants :

5.1 Définition :

Les antioxydants sont définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, ils sont capables de ralentir ou inhiber l'oxydation de ce dernier (**Mercan, D. (2010)**).

Les antioxydants réduisent le stress oxydatif dans l'organisme (figure 03). Par conséquent, ils peuvent : prévenir les radicaux libres en inhibant l'initiation des chaînes de réaction ou inactivant directement les ROS (**Desmier, 2016**).

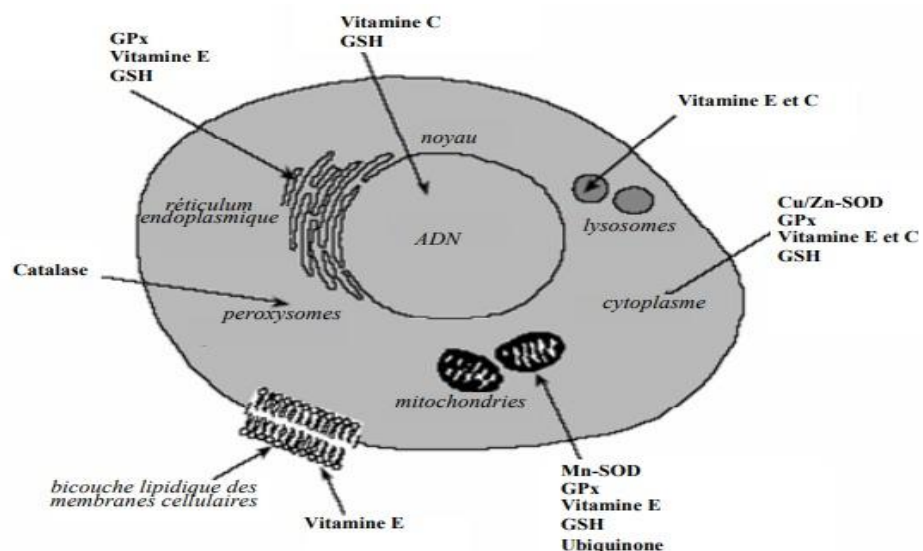


Figure 03 : Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule (**Garait, B. (2006)**).

Les antioxydants sont classés selon leur mode d'action :

5.2 Systèmes antioxydant endogènes :

5.2.2 Antioxydant enzymatique :

Les antioxydants enzymatiques sont considérés comme la première ligne de défense (**figure04**) et sont principalement représentée par :

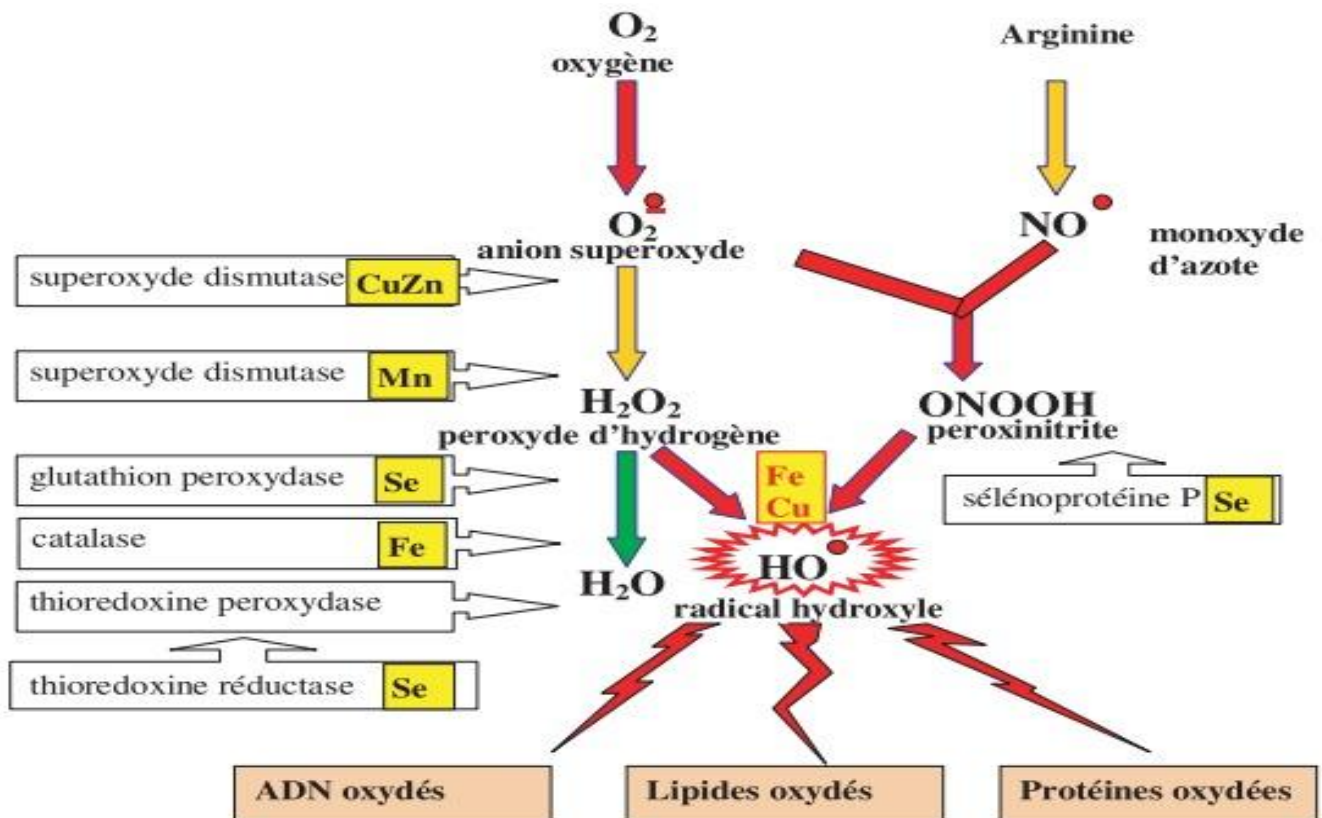


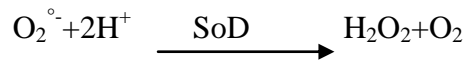
Figure 04 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, A. (2003)).

Superoxyde dismutase :

Les Superoxyde dismutase (SOD) sont des métallo enzymes qui catalysent la dismutation des ions Superoxyde en molécules de peroxyde d'hydrogène et d'oxygène. Chez l'homme on distingue trois iso enzymes : Cu/Zn-SOD1 cytosol, Mn-SOD2 Mitochondries et Cu/Zn-SOD3. Qui diffèrent grâce a la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique,

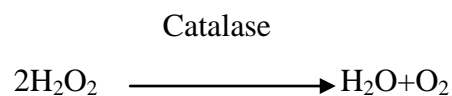
leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire (**Durand, G., & Beaudoux, J.L. (2011).**)

Elle élimine l'anion Superoxyde selon la réaction suivante : (**Bensakhria, 2018).**)



Catalase :

Le catalase est une enzyme hémique ubiquitaire capable de transformer le peroxyde en eau et en oxygène. Selon la réaction : (**Durand, G., & Beaudoux, J.L. (2011).**)



Glutathion peroxydase :

La GPx est un tripeptide antioxydant que l'on retrouve dans toutes les cellules de notre organisme. Elle réduit les peroxydes au dépend de son substrat spécifique, sa principale fonction est d'éliminer des peroxydes de lipide résultant du stress oxydatif sur les acides gras polyinsaturés. (**Haleng, J et al., 2007).**)

5.3 Systèmes antioxydants exogène :

5.3.1 Antioxydant non enzymatique :

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

vitamine E (α -tocophérol) :

La vitamine E est une vitamine liposoluble qui se lie aux membranes cellulaires afin de pouvoir séquestrer, les radicaux libres empêchent la propagation de la peroxydation lipidique. Il est présent en grande quantité dans les huiles de légume et il agit comme un antioxydant (**Desmier, 2016).**)

Vitamine c (acide ascorbique) :

La vitamine c est une molécule hydrophile présente dans de nombreux fruits, comme les oranges, citrons et les fraises. (**Desmier, 2016).** Il se lie à la membrane afin d'isoler les radicaux, il inhibe aussi la peroxydation des lipides en régénérant la vitamine E à partir de formes dérivées de radicaux libres, ses fonctions sont nombreuses : contribuer au bon

fonctionnement du système immunitaire, impliqué dans la synthèse du collagène et des globules rouges, et participe au métabolisme du fer (**Haleng, J et al., 2007**).

Vitamine A (rétinoïdes) :

La vitamine A est une vitamine liposoluble présente en grande quantité dans l'organisme, notamment dans le foie son principal lieu de stockage. Nous distinguons deux groupes, (rétinol, trétinoïne) et la provitamine A (principalement les α - ; β - carotènes). Les rétinoïdes sont présents dans les aliments d'origine animale (œufs, lait, viande...). La provitamine A se trouve principalement dans les végétaux et surtout dans les carottes et la citrouille (**Desmier, 2016**).

Oligoéléments :

Le cuivre (Cu), le Zinc (Zn), le Manganèse (Mn), le sélénium (Se), et le Fer (Fe) sont des métaux essentiels contre le stress oxydatif. Toutes les enzymes anti oxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir son activité catalytique (**Desmier, 2016**).

Par conséquent, la SOD mitochondriale nécessite du manganèse, du cuivre Cytosolique, de la catalase de fer et de la GPx du sélénium. Cependant, certains oligo-éléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous sa forme réduite, peut avoir un effet pro-oxydant (réaction de fenton, d'Haber-Weiss) (**Haleng, J et al., 2007**).

Caroténoïdes :

Les caroténoïdes tels que le β -carotène peut agir comme un inhibiteur de la peroxydation des lipides à une faible pression partielle d'oxygène. Il peut être oxydé comme un acide gras, il a donc un effet pro-oxydant. Son activité s'explique en partie par ses propriétés lipophiles qui lui permettant de traverser les membranes cellulaires à travers son système lui permettant d'interagir avec les radicaux libres pour former des adduits (**Desmier, 2016**).

Le β - carotène également appelé la provitamine A, car après hydrolyse par le foie, elle produit deux molécules de vitamine A. cependant, tous les caroténoïdes ne contiennent pas cette propriété, elle se retrouve en abricots, melons, carottes et légumes verts (**Haleng, J et al., 2007**).

Glutathion :

Le glutathion est le Tripeptide majeur au niveau intracellulaire (albumine est son équivalent Plasmatique), Dans lequel il existe sous forme réduite (GSH). Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est très faible .le rapport GSH/GSSG sont

considérés comme Excellent marqueur de la peroxydation lipidique et permettent d'objectiver l'importance du stress au cours du vieillissement (**Haleng, J *et al.*, 2007**).

Composés phénoliques :

Ils constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les plantes. L'alimentation fournit environ 1g de polyphénols par jour principalement en mangeant des fruits et en céréales. Ils sont présents sous forme d'anthocyanine dans les fruits rouges et le vin rouge sous forme de flavonoïdes dans les agrumes, l'huile de lin et sous forme d'épicatéchine dans le vin, le thé, chocolat, pomme, oignon et algue (**Haleng, J *et al.*, 2007**).

Chapitre 02 :

Les Polyphénols

1.1. Définition :

Les plantes produisent des composés phytochimiques appelés polyphénols, qui sont formés à partir des cycles aromatiques des voies shikimiques et acétates (**figure 05**). Ces voies, qui produisent des métabolites secondaires, sont très important pour les plantes car ils réagissent au stress et offrent une protection contre les rayons UV et agent pathogène (**Cullen *et al.*, 2020**).

Les polyphénols sont des métabolites secondaires végétaux présents dans divers aliments et boissons tels que le thé, café, vin, fruits, légumes, grains entiers et cacao (**Zamora *et al.*, 2014**).

Environ 8000 structures phénoliques des centaines d'entre eux ont été identifiés à ce jour les polyphénols végétaux se caractérisent par la présence de plusieurs groupements phénoliques. Ils sont forts et ils existent de nombreuses variétés. En outre, les polyphénols peuvent être divisés en plusieurs sous-groupes, en fonction du nombre d'anneaux phénoliques qu'ils contiennent et des éléments structurels qui relient ces anneaux entre eux (**Goszcz *et al.*, 2017**).

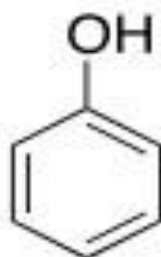


Figure 05 : structure chimique du phénol (**Desmier, 2016**).

1.2. Classifications des polyphénols :

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

1.2.1 Polyphénols simples (Non flavonoïdes) :

1.2.1.1 Acides phénoliques :

Sont des composés organiques possédant une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-groupes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique (**Bruneton, 2008**)

Les acides phénoliques, connu pour servir de composés bioactif polyvalents ils sont largement répandus dans tous le règne végétal la plupart d'entre eux font partie de l'alimentation humaine (**Shahidi, 2015**).

✓ *Acide phénols dérivés d'acide benzoïque :*

Sont des acides très courant, soit sous forme libre, soit avec statu ester ou hétéroside (**Bruneton, 2008**).cette catégorie est trouvé dans les plantes et les aliments, y compris épices, fraises, certains fruits rouge et oignons, dont la concentration peuvent atteindre des dizaines de milligrammes par kilogramme de fruit coût (**Manach, et al., 2004**).les dérivés d'acide hydroxybenzoïque les plus courants sont présentés à la figure 6 suivant :

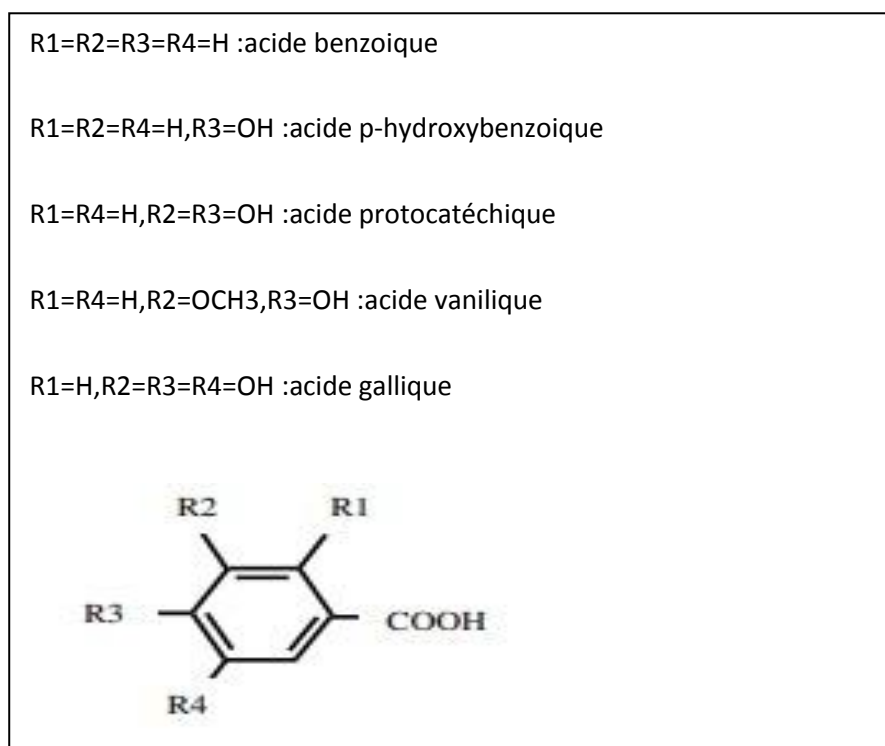


Figure 06 : structure chimiques des acides hydroxybenzoïque (**Bruneton, 2008**).

✓ *Acide phénols dérivés d'acide cinnamique :*

Ces composés sont très largement distribués. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés (Skerget *et al.*, 2005). Il peut aussi être amidé ou conjugué avec des sucres (O-acylglycosides, O-arylglucosides) ou des polyols comme l'acide quinique (Fig. 7) (Bruneton, 2008).

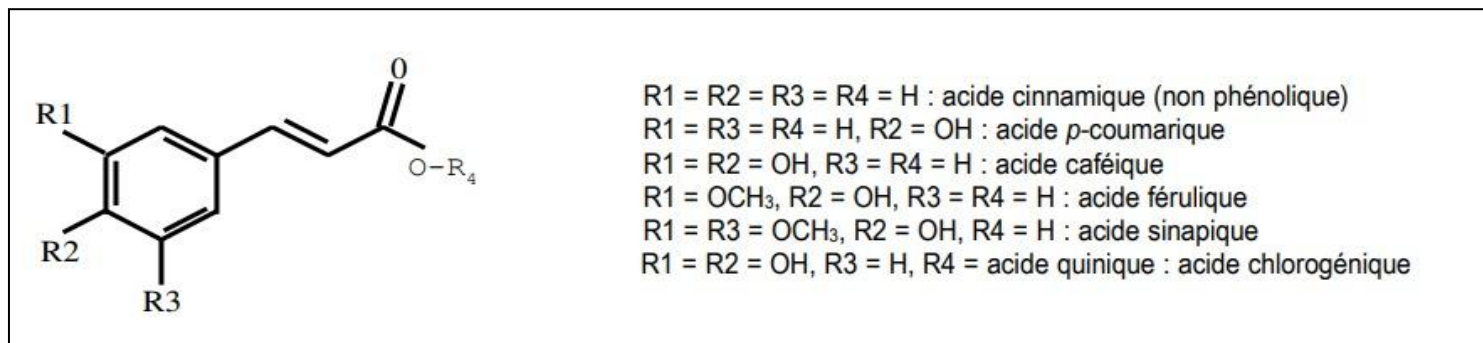


Figure 07 : structures chimiques des acides hydroxycinnamique (Han *et al.*, 2007).

1.2.1.2 Stilbènes :

Les Stilbènes sont des composés poly phénoliques et phytoalexines .ils sont produits par des plantes réagissent aux attaques d'agents pathogènes fongiques. Le Stilbène le plus commun. Il est présent dans les tissus végétaux principalement sous forme de trans-resvératrol-3-O-glucoside, connu sous le nom de piceid et polydatine, les principales sources alimentaires de Stilbène sont le raisin, le vin, le soja et les arachides. Particulièrement riche en trans-resvératrol et ses glucosides (Crozier *et al.*, 2008).

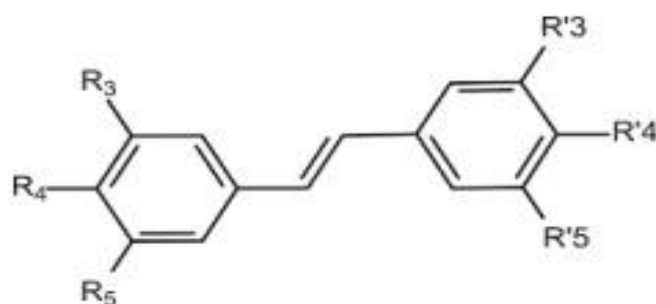


Figure 08 : structure chimique de Stilbènes (Perret, C. (2001).

1.2.1.3 Lignines :

La lignine est une classe importante de polymère complexe qui constitue le matériau structural des tissus de soutien des plantes, et ils sont particulièrement importants dans la formation des parois cellulaires telles que l'écorce (Desmier, 2016).

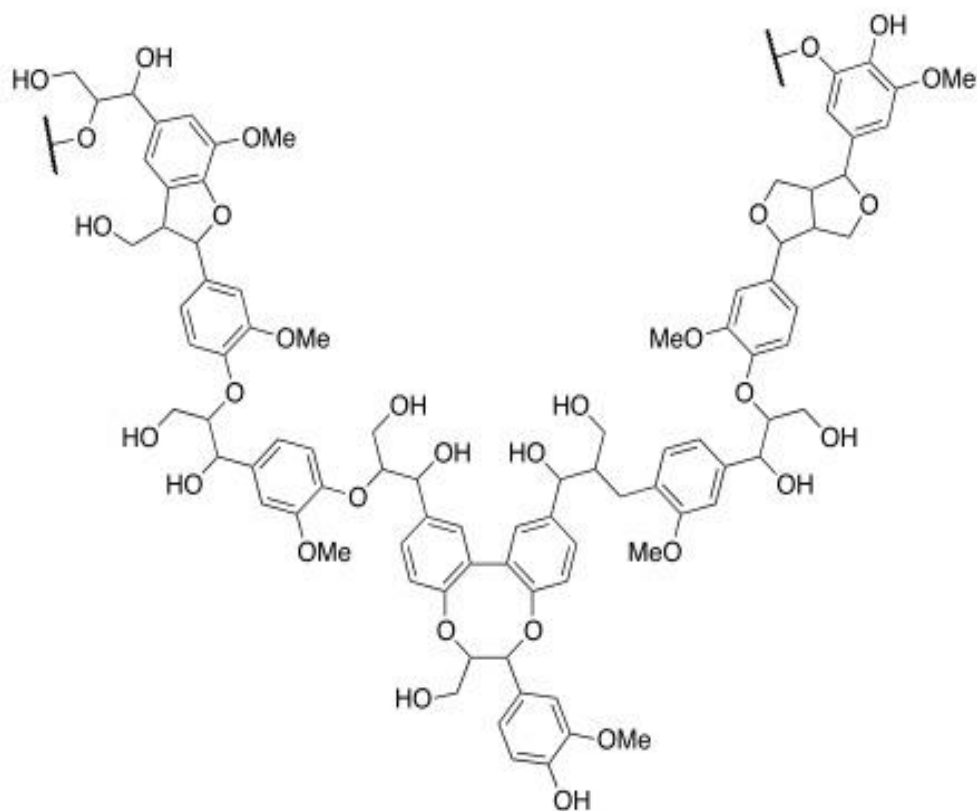


Figure 09: structure chimique d'une lignine (Desmier, 2016).

1.2.2. Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des composés poly phénoliques, composés de quinze carbones avec deux hydrocarbures aromatiques les anneaux sont reliés par trois ponts de carbone .ce sont des substances phénoliques les plus abondantes présentes dans tout la règne végétal. Ils ont des concentrations élevées présentes dans l'épiderme des feuilles et l'épiderme des fruits et ont un rôle important varié en tant que métabolites secondaires (Crozier *et al.*, 2008).

En général, tous les flavonoïdes sont des dérivés de la 2-phénylchromone (composé de trois anneaux phénoliques (A, B et C) (figure 10) qui présentent tous différents niveaux d'hydroxylation et la méthylation. Les activités biochimiques des flavonoïdes et de leurs métabolites dépendent de leurs propriétés chimique (Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Chez les plantes, les flavonoïdes sont impliqués dans une variété de processus, tels que la protection UV, la pigmentation, la promotion de la fixation de l'azote dans les nodules racinaires et la résistance aux maladies. Les principales sous-classes de flavonoïdes sont : les flavonoïdes, les Flavonols, les Flavonols, les isoflavones, les Flavanones et anthocyanes. D'autres groupes de flavonoïdes qui sont quantitativement en comparaison des composants

mineurs de l'alimentation, sont dihydroflavonols, flavan-3,4-diols, coumarines, chalcones, dihydrochalcones et aurones (Crozier et al., 2008).

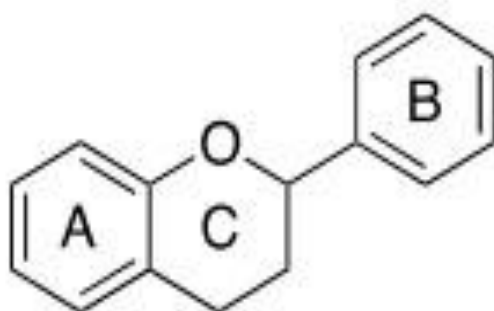


Figure 10 : structure chimique de base des flavonoïdes (Desmier, 2016).

1.2.2.1 Flavonols :

Les Flavonols sont des pigments jaunes qui s'accumulent dans les baies mûres, en particulier en réponse à l'exposition aux rayons UV (Gomez, 2009) elles sont les plus répandus dans le règne végétal, à l'exception des champignons et des algues, elles sont présentes par la myricétine (37%), la quercitrine (44%), l'isorhamnétine et le kaempferol (17%) (Crozier et al., 2008).leur structure est présenter à double liaison en C2-C3 (Crozier, 2003) (figure.11).la conjugaison se produit le plus souvent à la position 2 de l'anneau C (Crozier et al., 2008).

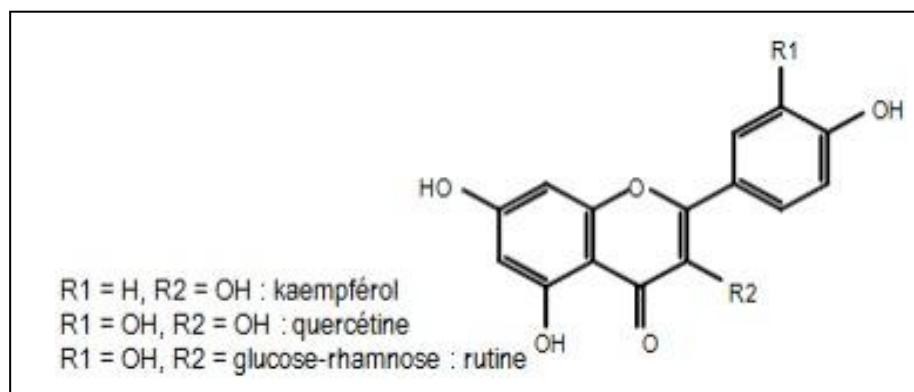


Figure 11 : structure chimiques de Flavonols (Crozier, 2003).

1.2.2.2 Flavanones :

Les Flavanones sont caractérisées par l'absence d'une double liaison 2,3 et la présence d'un centre chiral à C2.les Flavanones sont des composants alimentaires présents en concentrations particulièrement élevées dans les agrumes (Crozier et al., 2008).

1.2.2.3 Flavan-3-ols :

Les Flavan-3-ols sont la catégorie la plus complexe de flavonoïdes. Ces composés vont des simples monomères, (+)-catéchine et son isomère (-)-épicatéchine à l'oligomère et polymérique (Crozier et al., 2008). Les Flavan-3-ols peuvent être estérifiés ou hydroxylés par le gallate pour former les gallo-catéchines (Chira et al., 2008).

1.2.2.4 Anthocyanidines :

Les anthocyanes, principalement en tant que leurs dérivés conjugués, les anthocyanes, sont largement distribués dans tout le règne végétal, en particulier dans les tissus des fruits et des fleurs. La principale caractéristique des anthocyanes sont responsables des couleurs rouge, bleu et violet. De plus, ils ont également été trouvés dans les feuilles, les tiges, les graines, et les tissus racinaires. Ils aident à protéger les plantes contre la lumière excessive en ombrageant les cellules du mésophylle de la feuille (Crozier et al., 2008).

Leur structure distinguée selon le nombre et la position des groupes hydroxyle et méthyle sur le cycle B. Les anthocyanes sont le plus souvent glycosylés aux positions 3 et 5 des monosaccharides et des di et tri-saccharides formés par les monosaccharides (Gomez, 2009).

Les anthocyanes les plus courantes sont la pélagonine, l'anthocyanine, la delphinidine, la pétonidine et la malvidine dans les tissus végétaux, ces composés sont invariablement conjugués de sucre connus sous le nom d'anthocyanes (Crozier et al., 2008).

1.2.2.5 Isoflavones :

Les isoflavones sont caractérisées par la présence d'un cycle B attaché à C3, plutôt que par la position C2 on les trouve presque dans les légumineuses (Crozier et al., 2008). Les isoflavones sont une sous-classe très unique.

1.2.2 Polyphénols complexes :

1.2.2.1 Tannins :

Tannins. « Tannins » est un nom descriptif général pour un groupe de substances phénoliques polymères capable de tanner le cuir ou les gélatines précipitent hors de la solution, elles sont présentes dans toutes les parties des végétaux : écorce, bois, molécules telles que les feuilles, les fruits et les racines (elles possèdent de nombreuses fonctions hydroxyles et phénoliques, qui vont leur permettre de se complexer avec de nombreuses macromolécules comme les protéines (Cowan, 1999) ils ont aussi la capacité de chélater les ions fer et cuivre (Desmier, 2016). Ils sont divisés en deux types radicaux : tanins hydrolysables et condensés.

✓ **Tanins hydrolysables :**

Sont à base d'acide gallique, généralement sous la forme de divers ester avec D-glucose (Cowan, 1999) (figure 12).

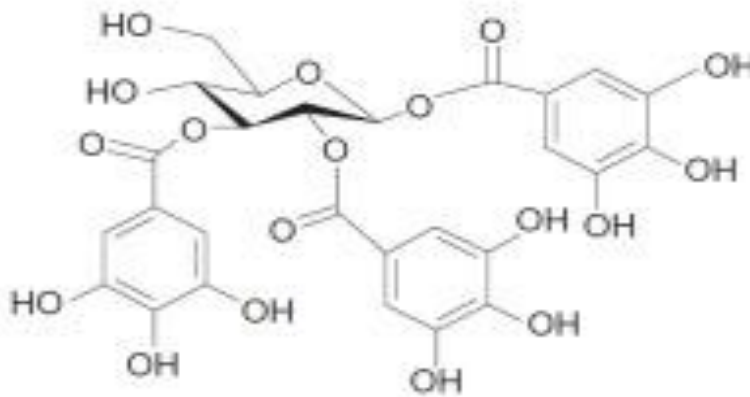


Figure 12: structure chimique d'un gllotanin

✓ **Tanins condensés :**

Dérivés de monomères flavonoïdes (Cowan, 1999) avec des unités Flavanes liées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 (figure.13) (De Bruyne *et al.*, 1999).

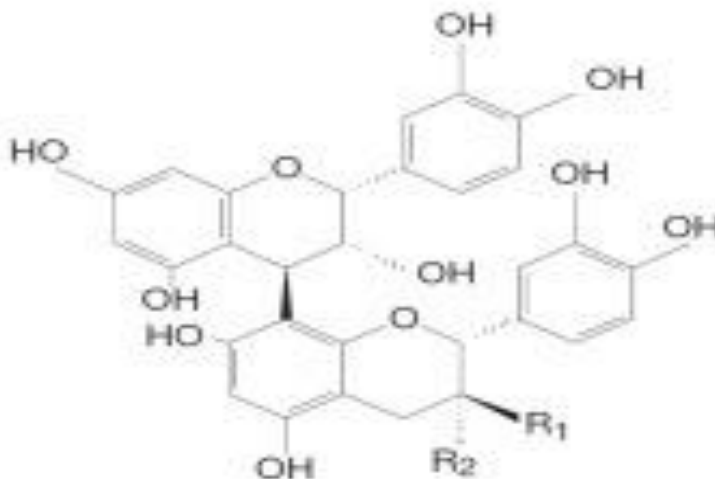


Figure 13 : structure chimique d'un tanin condensé (proanthocyanidine) (ACHAT, S, 2013)

Les tanins présenteront de diverses propriétés biologiques .le plus important est l'effet astringent, la capacité de précipiter les glycoprotéines, propriété antiseptique, antioxydants et même cicatrisantes (Desmier, 2016).

3. Biodisponibilité des polyphénols :

Les polyphénols sont généralement absorbés dans l'intestin grêle. Ils sont presque entièrement métabolisés dans la muqueuse intestinale et le foie puis conjugués avec glucuronide, au sulfate ou méthyle. Ils atteignant le côlon sont largement transformés par la microbiote, leur principaux produits des acides phénoliques, sont eux-mêmes absorbés et présents dans la circulation systémique (Figure.14). Enfin, la plupart de ces métabolites sont excrétés par l'urine et la bile (Zamora *et al.*, 2014).

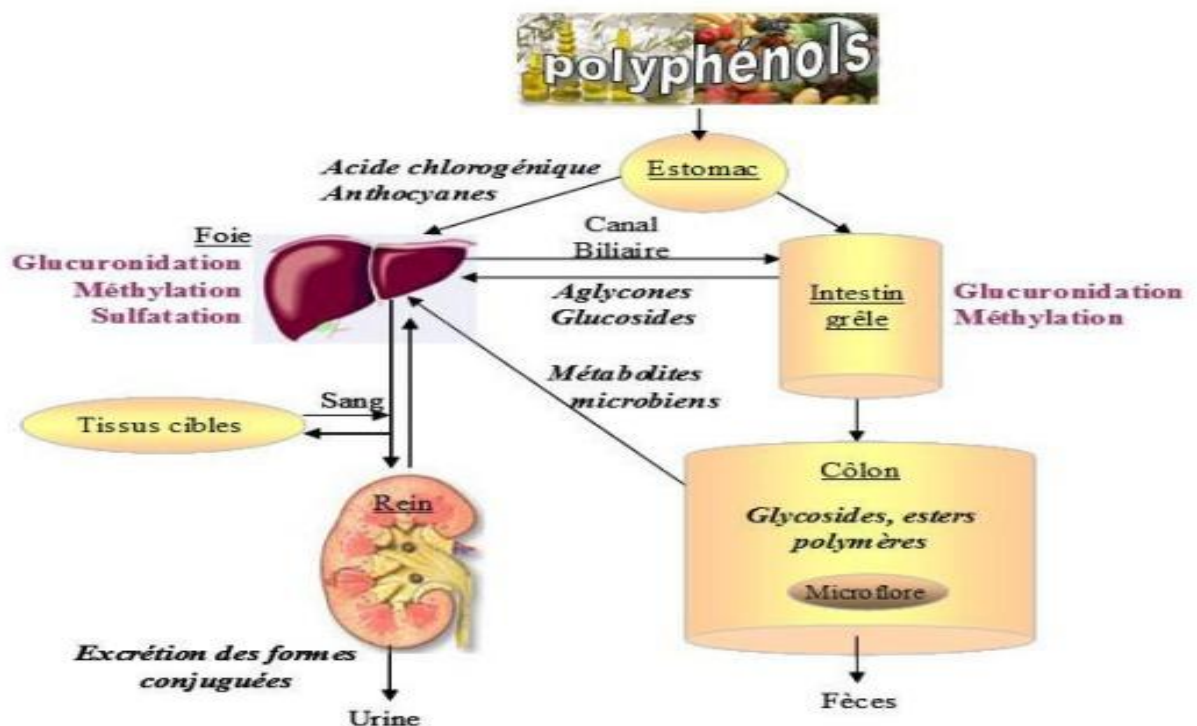


Figure14 : schéma général de la biodisponibilité des polyphénols (Manach *et al.*, 2006).

4. Effet thérapeutique des polyphénols :

Les effets thérapeutiques des polyphénols (tableau 02) proviennent essentiellement de leurs activités réductrices et de leur affinité.

Tableau 02 : propriétés Biologiques des polyphénols

Polyphénols en tant qu'antioxydants	Leur action antioxydante joue un rôle important dans les dommages oxydatifs en neutralisant les radicaux libres, en piégeant ou en décomposant les peroxydes (Nijveldt et al, 2001)
Polyphénols en tant qu'anti-inflammaoire	Les polyphénols présents dans différentes parties de la plante ont une activité anti-inflammatoire. Certain flavonoïdes inhibent la production des prostaglandines (Monthey, 2000 ; Bozorgi et al, 2013).
Polyphénols en tant qu'antimicrobiens	Certains composés phénoliques favorisent les réponses aux les micro-organismes Le nombre de groupe hydroxyle augmente la toxicité pour les micro-organismes par des interactions non Spécifiques (Cowan, 1999).
Polyphénols en tant qu'anti cancer	Les polyphénols peuvent déclencher l'apoptose dans les cellules cancéreuses en modulant de nombreux éléments majeurs des signes cellulaires (Linke et al, 2010)

Chapitre 03 :
Ephedra alata

1 Genre Ephédra :

Ephédra alata appartenant à la famille des éphédraceae (**Hegazi, G.A.E., & El-Lamey, T.M (2011)**), qui comprend environ 50 espèces en Afrique du nord, en Asie, en Europe, en Amérique du nord et centrale et dans les régions semi-arides (**Price, 1966 ; Caveney et al., 2011**), ces espèces sont des arbustes persistant vivaces pouvant dépasser 1m de hauteur avec des tiges photosynthétiques minces et jointes (**Gourai et al., 2015**). il est couramment utilisé dans la médecine chinoise depuis 5000ans comme bronchodilatateur pour traiter les allergies, asthme bronchique, rhumes, fièvre, grippe, maux de tête et congestion nasale (**O'Dowd et al., 1998**).

La plante d'éphédra est fortement aromatique avec un goût amer. la tige séchée est la partie de l'arbuste utilisé. C'est un groupe d'arbustes primitifs évolués qui poussent sur des terrains secs, rocheux, ou sablonneux dans les déserts ou les zones arides (**Hegazi, G.A.E., & El-Lamey, T.M. (2011)**).

La figure montre la répartition géographique du genre *Ephedra* dans le monde.

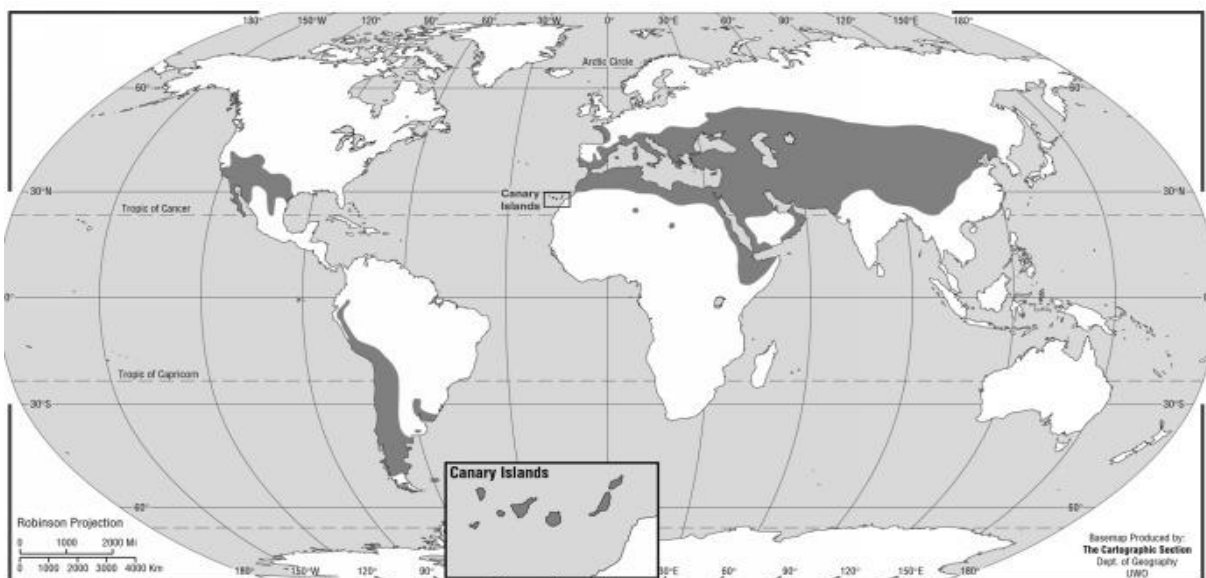


Figure 15 : répartition géographique de l'Ephédra dans le monde (**Caveney et al., 2011**).

.1.1 Ephédra alata Alenda :**.1.2 Position systématique :**

Selon (Ozenda ; 1991) la position systématique d'éphédra alata Alenda est donnée dans le tableau (3) :

Règne	Plantae
Embranchement :	Spermaphytes
Sous embranchement :	Gymnospermes
Classe :	Gnetopsida
Ordre :	Ephedrales
Famille :	Ephédraceae
Genre :	Ephédra
Espèce :	Ephédra alata
Sous espèce :	Ephédra alata alenda

.1.1.2 Nom vernaculaire d'Ephédra alata alenda :

Nom arabe : *alenda*

Nom français : *Ephédra*

Nom anglais : *Ephédra (Ma-Huang)*.

.2 Description botanique :

La famille Ephedraceae comprend ça 45 espèces du genre Ephedra .les plantes sont des vivaces herbacées qui peuvent dépasse 1 à 3 mètres de hauteur (**figure 16**) avec une forte odeur de pin et un goût astringent (**Morton, 1977 ; Leung et Foster, 1966**).

Tige très ramifiées à rameaux articulés. Les feuilles sont opposées, alternant d'un nœud à l'autre, réduite, soudées en gaine à leur base. Les fleurs sont de petits cônes blanchâtres, les mâles et femelles sont généralement sur la tige différents (**Chehna, 2006**).les fruit largement entouré de bractées membraneux. Il a un système racinaire latéral extrêmement fort (**Derbel et al., 2010**).représenté dans la figure 17.

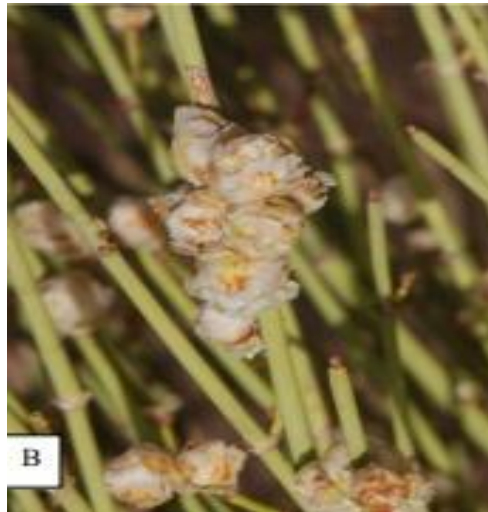
Le terme « *ma Huang* » peut être plus ou moins traduit par « astringent jaune », « prêle jaune » ou « chanvre jaune » (Huang est jeune ; ma a des significations différents) (**Bensky & Gamble, 1993**).



Figure 16 : arbuste d'éphédra alata (Chehma, 2006).



A : fleurs mâles d E. alata



B : fleurs femelles d E. alata

Figure 17 : branches fleuries d'Ephedra alata (Chaieb *et al.*, 2008).

.3 Répartition géographique :

L'espèce *E.alata* est un genre de gymnospermes qui sont largement distribuées dans Les régions tempérées et subtropicales (Kubitzki ,1990 ; Price, 1966) originaire d'Asie, y compris l'Arabie Saoudite (al-Qarawi *et al* 2011), commun dans le désert du Sahara du Maroc à la Libye jusqu'a l'Egypte.

En Algérie, *E.alata* est répartie dans le Sahara septentrional et occidental au niveau des terrains sableux, regs et lits sableux dans l'oued. Elle est même rencontrée sur la plage planchers tropicaux et la Hamada de tinghert (**Ozenda, 1991**).

.4 Chimie de la plante :

E.alata est une plante médicinale qui pousse principalement dans le désert, il a été fréquemment utilisé dans la médecine traditionnelle dans la chine et la plupart des pays arabes pour diverses intentions médicales. A d'autres égards, de nombreux métabolites secondaires d'*E.alata* comptant, les tannins, les saponines, les proanthocyanidine, acides phénoliques, flavonoïdes et huiles essentielles, les alcaloïdes (**Caveney et al**), dont l'éphédrine, La pseudoéphédrine, la noréphédrine, la norpseudoéphédrine, la méthyléphédrine et la méthylpseudoéphédrine (**Al-Snafi, 2017**). Si elle est utilisée à des fins thérapeutiques avec contrôle de la dose, l'éphédrine n'a pas de potentiel (figure 18). Cette amine peut être exprimée dans les surdosages qui peut conduire à une psychose paranoïaque, des illusions et des hallucinations (**Limberger., et al 2013**).

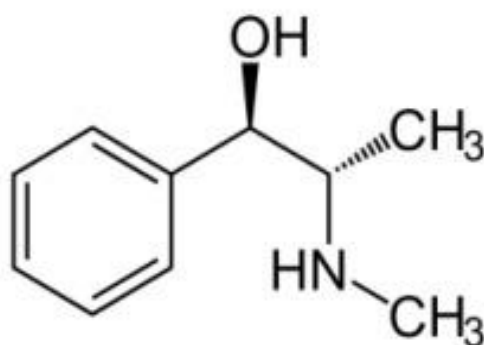


Figure 18 : Structure d'éphédrine (**Al-Snafi, 2017**).

.5 Utilisation :

L'espèce du genre éphédra est l'une des plus anciennes herbes médicinales connues de l'humanité *E.sinica* est la principale espèce qui a été utilisée en chine depuis plus de 5000ans.

E. gerardiana est également utilisée depuis longtemps dans la médecine indienne. L'éphédra était bien connue même pendant l'empire Romain (**Abourashed et al., 2003**). De plus, cette plante médicinale qui pousse principalement dans le désert et est connue pour inclure environ 40 espèces réparties dans des environnements secs (**Khatabi et al.**). Différentes parties de la plante ont montré de nombreux effets biologiques comme effet antioxydant, effet hypoglycémique, effet antimicrobiens (**Rashed, 2021**).

En Chine, les gens avaient l'habitude de l'appliquer comme médecine traditionnelle dans le traitement des allergies, de l'asthme bronchique, frisson, rhumes, toux, œdème, fièvre, grippe, des maux de tête et de la congestion nasale (**Hagazi, G.A.E., & El-Lamey, T.M. (2011)**).

En Arabie Saoudite, le feuillage d'E. alata a un arôme acceptable elle a été utilisée comme pâturage pour de nombreux animaux (**Al-Qarawi et al., 2012**). En Egypte, E. alata est utilisé en médecine traditionnelle comme dépurative, hypotensive, antiasthmatique et agent astringent (**Nawwar et al., 1984**). En Algérie, elle est connue pour son usage dans plusieurs régions, la population de la région d'Ourgla l'utilisent pour soigner la grippe, la coqueluche, la faiblesse et le rhume (**Ouled el Hadj et al., 2003 ; Chehma & REDA DJEBAR, 2008**). Dans la région d'El Oued, la plante est utilisée pour contre les avortements, le cancer, les gaz intestinaux, l'obésité, ainsi que l'insuffisance rénale et cardiaque (**BELGACEMI & DOU, 2019**). Le cancer n'est traité qu'avec des sous-espèces d'éphédra pour la communauté des Touareg de la région d'Illizi (**MIARA et al., 2019**).

Au Maroc, Ephedra alata est utilisée pour lutter contre le diabète (**GHOURI et al., 2013**).

Les organes utilisés dans la médecine traditionnelle sont les tiges vertes séchées qui sont généralement bouillies dans l'eau pendant environ 30 minutes et administrées comme thé chaud (**Abourashed et al., 2003**).

.6 Pharmacologie :

Ma Huang est l'une des plus anciennes drogues connues et a été utilisé comme médicament dans la Chine depuis plus de 5000 ans. Son utilisation en médecine moderne a commencé en 1923 avec la découverte des propriétés précieuses de l'éphédrine (**Limberger, 2013**).

L'éphédrine est un agoniste sympathomimétique aux deux récepteurs adrénergique α et β .

Il affiche également une symétrie indirecte activation pathétique, en ce qu'il améliore la libération de norépinéphrine de neurones sympathiques. Cette mécanisme pharmacologique expliquer la plupart de l'efficacité thérapeutique de l'éphédrine. La stimulation des récepteurs

β -adrénergiques comprend une amélioration de la fréquence cardiaque et contractilité vasculaire (**Abourashed et al., 2003**). Les autres présentations d'éphédrine ont des utilisations cliniques identiques : le sulfate d'éphédrine, par exemple est utilisé pour combattre les états bronchiques. Le chlorhydrate d'éphédrine est utilisé en tant qu'agent sympathomimétique (bronchodilatateur) d'autres utilisations comprennent l'œdème neuropathique diabétique, personne souffrant d'hypertension ou d'autres maladies cardiovasculaires (**Limberger, 2013**).

.7 Toxicologie :

Plusieurs études ont montré que les effets secondaires causés par l'éphédra augmentent avec une mauvaise utilisation et des doses toxiques (**Al –Snafi, 2017**). les effets toxicologiques de l'éphédra semblent être attribuées à ses alcaloïdes de l'éphédrine principalement la pseudoéphédrine (**CHEN et al., 2010 ; LIMBERGER et al., 2013**). A fortes doses, l'éphédrine provoque une hépatotoxicité avec une nécrose massive visible lors de l'examen histologique (**ZHENG & NAVARRO, 2016**), elle induit aussi la nervosité, l'insomnie, des maux de tête, des vertiges, palpitations, sueurs, nausées et des vomissements, parfois des douleurs précordiales et quelquefois des dermatites (**PETERS et al., 2005**).

3. Activité biologique de la plante :

3.1 Effet antioxydant :

L'activité antioxydante d'*Ephedra alata* a été évaluée par 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl-hydrate. l'extrait méthanoïque d'*E.alata* a montré une activité antioxydante élevée et un puissant radical libre d'oxygène, l'IC50 de la plante était presque équivalente à l'antioxydant standard trolox (**Jaradat et al., 2015**)

.3.2 Effet antimicrobiens :

L'effet antimicrobienne de différents extraits de tige d'*Ephedra* a été étudié contre les bactéries Gram+ et Gram- et les champignons. Dans l'extrait d'*E.alata* d'acétonitrile a montré la présence de sept fractions. Toutes les fractions ont montré une activité antimicrobienne a quatre fraction (**Ghanem et El-Magly (2008)**). avec de forts effet inhibiteurs contre le HSV (**Soltan et Zaki, 2009**).

3.3 Effet hypoglycémiant :

Un extrait alcoolique d'Ephedra induit une hypoglycémie une heure après administration à des rats à jeun. Le même extrait n'a pas réussi à réduire la glycémie chez les rats alloxanes par rapport au témoin positif (**Shabana et al.**).

3.4 Effet sur la masse corporelle :

L'Ephédra favorise efficacement la perte de poids à court terme (8semaine) la perte de poids chez des sujets en surpoids .Cet effet est principalement dû à l'augmentation de la tonicité sympathomimétique entraîne une augmentation de la lipolyse et glyco-génolyse, et une stimulation sympathique de la satiété centrale, conduisant à la suppression de l'appétit (**Boozer et al., 2011**).

La partie expérimentale

Matériel et Méthode

.1 Préparation du matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé correspond à la partie aérienne de la plante de l'espèce *Ephedra alata* Alenda. La plante est achetée chez l'herboriste (**figure 19**), le matériel végétal est séché à l'ombre, à l'aire libre, à température ambiante. Les tiges sont broyées finement (**figure 20**) et conservées dans des boîtes fermées.



Figure 19 : Ephedra alata en poudre



figure 20 : Ephedra alata

.2 Méthodes d'analyses :

Extraction des polyphénols totaux :

Avant l'extraction des polyphénols, une étape de dégraissage a été réalisée, pour éliminer les graisses, la poudre végétale ainsi récupérée va être soumise à une macération hydro alcoolique.

L'extraction des composés phénoliques consiste à macérer l'échantillon (la poudre dégraissée) à analyser dans une solution aqueuse de méthanol pendant 24 heures.

Après filtration, la solution est évaporée à sec par un évaporateur rotatif sous pression réduite à 40°C (Yu et Dahlgren, 2005).

- **Mode opératoire :**

5g de la matière végétale dégraissée a été soumise à une macération dans un mélange méthanol/eau (70/30 : v/v) à température ambiante et sous agitation pendant 24 heures. Cela permet une meilleure extraction des composés phénoliques. Après filtration, la solution est évaporée à sec par un évaporateur rotatif sous pression réduite 40°C (**figure 21**).

A la fin l'extrait récupérés est placé dans les boîte de Pétri, on le mit dans l'étuve à 37°C jusqu'à séchage.



1. Dégraissage des lipides.

2. Macération

3. filtration



4. Evaporation

Figure 21 : les étapes d'extraction de polyphénols

- **Détermination du rendement :**

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

Le rendement d'extractions est calculé suivant la formule ci-dessous :

$$\text{Rdt}\% = \frac{M \text{ Ballon après évaporation} - M \text{ Ballon vide}}{M \text{ échantillon}} * 100$$

Avec :

- ✓ M extrait (M ballon après évaporation-M ballon vide) : masse de l'extrait en gramme.
- ✓ M échantillon : masse de l'échantillon en gramme (**Boubekri, 2014**).

Dosage des polyphénols totaux :

- **Principe :**

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif Folin Ciocalteu selon la méthode décrite par **Singleton et Rossi (1965)**.

Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungestique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant la couleur bleu constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés.

L'absorption est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Charpentier et Biozot, 2006**).

- **Mode opératoire :**

Une courbe d'étalonnage a été obtenue à partir de solution d'acide gallique de différentes concentrations préparées d'une solution mère de 2mg d'acide gallique/ml de méthanol.

0,1ml de chaque solution a été introduit dans des tubes à essai. Un volume de 0,25ml du réactif de Folin-Ciocalteu (10fois dilué dans l'eau) a été additionné dans chaque tube. Après 2min, 2ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 25% (m/v) ont été ajoutés. Par la suite ces solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 60 minutes à température ambiante.

La lecture de l'absorbance de chaque solution a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760nm contre un blanc qui contient du méthanol à la place de l'acide gallique

La concentration des polyphénols totaux a été déduire à partir de la courbe d'étalonnage. Le résultat a été exprimé en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/ml}$).

4 .Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait phénolique d'*Ephedra alata* :

Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes, tels que des radicaux libres ou des complexes métalliques oxydés, avec un échantillon qui contient des antioxydants capables d'inhiber la génération des radicaux (**Prior *et al.*, 2005**).

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait phénolique d'*Ephedra alata* a été réalisée par une seule technique chimique à savoir : la capacité antioxydante totale (CAT).

4.1 La capacité antioxydante totale (CAT) :

La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène de **Prieto *et al.* (1999)**. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} au molybdène Mo (V) MoO_2^+ en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/Mo (V) à pH acide. L'absorbance du milieu est déterminée à 695nm.

La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/g MS).

- **Mode opératoire :**

Un volume de 0,3 ml de chaque extrait est mélangé avec 3ml de solution du réactif (0,6M acide sulfurique, 28mM phosphate de sodium et 4mM molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés au bain marie à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695nm contre le blanc qui contient 3ml de la solution du réactif et 0,3ml du méthanol, ensuite il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon.

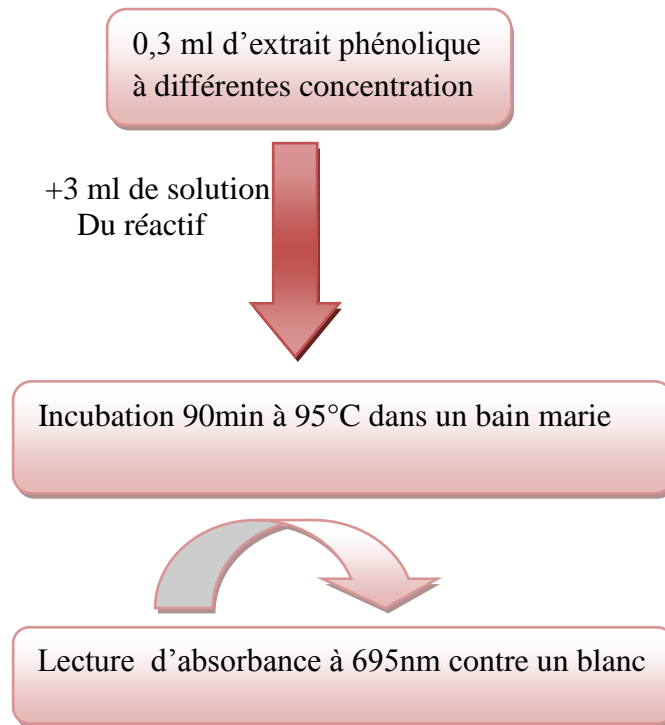


Figure 22 : protocole d'évaluation de la capacité antioxydante totale de l'extrait phénolique d'*Ephedra alata*.

4.2 Test de Cytotoxicité :

- **Principe :**

Le principe de ce test est de mettre en contact des hématies avec l'extrait méthanolique à différentes concentrations (50-2000 μ g/ml) dans une solution isotonique et de suivre le taux d'hémoglobine libérée par les cellules hémolysées, dans le but d'évaluer la Cytotoxicité de l'extrait, vis-à-vis des GRh.

- **Mode opératoire :**

Le protocole suivi est celui de **Bulmus** et ses collaborateurs (2003).

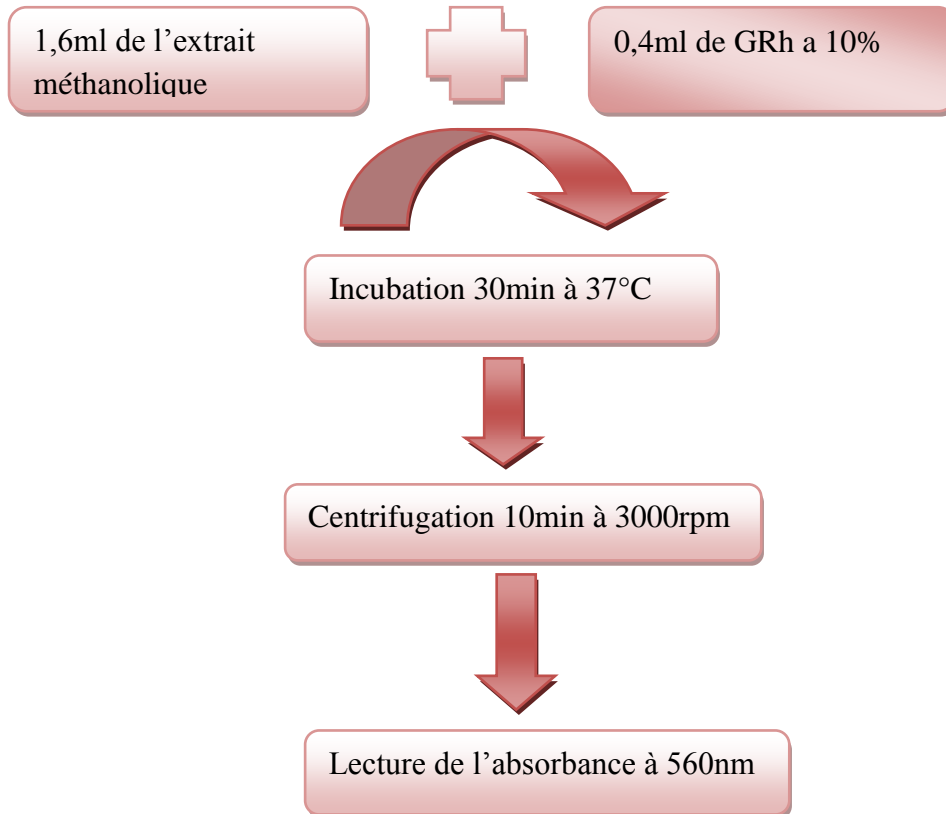


Figure 23 : Protocol d'évaluation de test de Cytotoxicité sur l'extrait d'*Ephedra alata*.

* **Expression des résultats :**

Le pourcentage d'hémolyse a été calculé à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ d'hémolyse} = (At/Ac) \times 100$$

Où Ac = Absorbance du contrôle ; At = Absorbance du test

5 .Etude statistique :

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écartype. La comparaison des moyennes entre les témoins et expérimentaux est réalisée de deux à deux par le test de student « t ». Les valeurs sont considérées significative lorsque $P \leq 0.05$ (*), très significatives lorsque $P \leq 0.01$ (**), hautement significatives lorsque $P \leq 0.001$ (***), et non significative si : $P > 0.05$.

Résultats et interprétations

I-Rendement de l'extrait phénolique d'*Ephedra alata* :

Après l'extraction et la récupération de l'extrait, son rendement a été déterminé par rapport à la matière végétale sèche, exprimé en pourcentage et représenté dans le tableau(4) :

Tableau 04 : Rendement de l'extrait phénolique d'*Ephedra alata*.

Plante	Rendement en %
<i>Ephedra Alata</i>	24%

Les résultats montrent que notre plante renferme un rendement important en polyphénols totaux de l'ordre de 24%.

II-Dosage des polyphénols totaux :

Le tableau 5 résume le résultat obtenu en teneur en phénols totaux de l'extrait phénolique de la plante étudiée.

Tableau 05 : la teneur polyphénols de l'extrait phénolique d'*Ephedra alata*.

Plante	Phénols totaux ($\mu\text{g EAG/ml MS}$)
<i>Ephedra alata</i>	34,4mg EAG/mg ES

Les analyses quantitatives des phénols totaux au moyen de dosage sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire de courbe d'étalonnage exprimées en μg équivalent d'acide gallique (figure A1 Annexe).

Les résultats montrent que notre plante étudiée renferme des teneurs importantes en polyphénols totaux (34,4mg EAG/mg ES).

III- Activité Antioxydante : Capacité antioxydante totale (CAT)

La mise en évidence du pouvoir antioxydant de l'extrait phénolique d'*Ephedra Alata* a été étudiée par la technique chimique : la capacité antioxydante totale (CAT).

Le tableau 06 montre que notre extrait phénolique a un pouvoir antioxydant important est de l'ordre 1.006 EAAmg/g MS

Tableau 06 : l'activité antioxydante totale de l'extrait phénolique.

Plante	CAT (EAAmg/g MS)
<i>Ephedra alata</i>	1.006 EAAmg/g MS

IV-Test de Cytotoxicité :

Le test de Cytotoxicité a été réalisé *in vitro* en utilisant des globules rouges humains (GRh 10%) pour différentes concentrations de l'extrait d'*Ephedra alata*, ainsi qu'une molécule de référence l'acide gallique.

Le pourcentage de l'hémolyse a été évalué pour chaque concentration (250-2000 µg/ml), en mesurant l'absorbance de l'hémoglobine échappée des globules rouges, les résultats obtenus sont représentés dans la figure (24) :

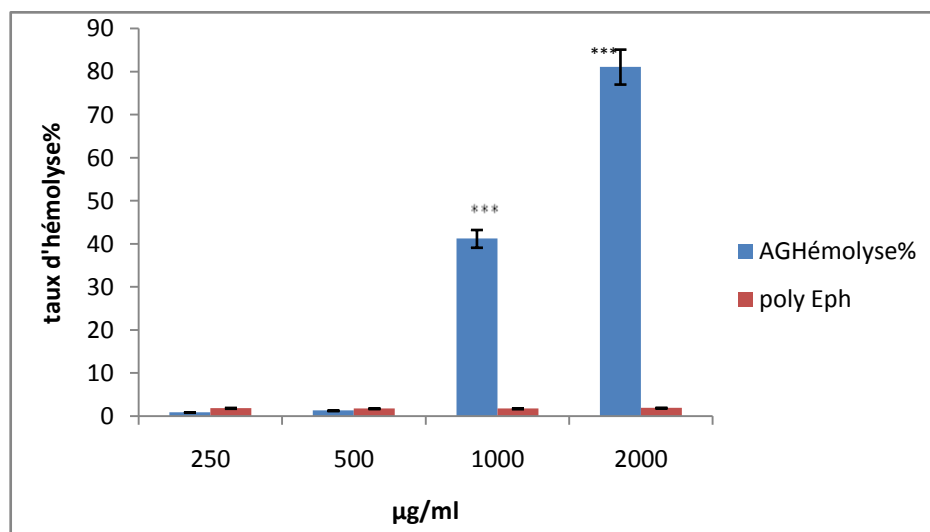


Figure 24: Pourcentage de l'hémolyse en fonction des concentrations de l'acide gallique et E.alata.

Les colonnes graphiques montrent une différence hautement significative dans le taux d'hémolyse pour les différentes concentrations comparés à la molécule de référence l'acide gallique.

À la concentration de 250µg/ml, le taux d'hémolyse de l'extrait phénolique d'*E.alata* de 1,889% comparés à l'acide gallique (0,912%). Cependant à partir de la concentration de 1000µg/ml, le taux d'hémolyse de notre extrait est inférieure celui de l'acide gallique.

Le test de Cytotoxicité sur les globules rouges humaine montre que l'extrait phénolique d'*E.alata* n'exerce aucun effet toxique à des concentrations comprises entre 250µg/ml et 2000µg/ml.

Discussion

La connaissance et l'utilisation des plantes médicinales constituent un véritable patrimoine de l'humanité. Leur importance dans le domaine de santé a été fortement soulignée ces dernières années en raison des thérapies qu'elles proposent. Cette diversité de propriétés biologiques est certainement liée aux avantages thérapeutiques d'un éventail remarquable des molécules bioactives synthétisées par les plantes non seulement comme agents chimiques contre les maladies, les herbivores et les prédateurs, mais aussi comme des agents médicinaux tels que les antioxydants et anti-inflammatoires.

Ces molécules bioactives sont très recherchées en phytothérapie vue les effets secondaires des médicaments et des antioxydants à savoir le BHA et le BHT (**Benhammou, 2011**).

Les polyphénols sont des métabolites secondaires synthétisés dans les plantes à cause de stress écologiques et physiologiques (**Khoddami et al., 2013**). Ils possèdent un ou plusieurs cycles aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyles allant de molécules phénoliques simples (**Bravo, 1998**).

Ils sont généralement impliqués dans : la croissance et la reproduction des plantes, la défense contre les rayonnements ultraviolets, la défense contre l'agression des pathogènes et la germination des graines avant la récolte (**Bravo, 1998 ; Dai et Mumper, 2010**).

Notre travail est une contribution à l'étude des extraits phénoliques de la plante *Ephedra alata* appartenant à la famille des Ephedraceae qui sont à l'origine de nombreuses activités thérapeutiques, pour comprendre l'utilité de cette plante, nous sommes intéressés à quantifié les polyphénols, tester l'activité antioxydante et voir l'effet hémolytique par des méthodes colorimétriques.

La détermination de rendement de l'extraits phénolique a permis d'obtenir un bon rendement en polyphénols : 24% et cela ressort que la macération par méthanol est la meilleure technique d'extraction des polyphénols. Ce résultat est comparable à celle obtenus par les travaux de **Dbeibia et al. (2022)** sur *Ephedra alata*, les résultats du criblage phytochimiques des parties aérienne montrent un rendement de 38,29%. A partir de ces résultats obtenus, le rendement d'extraction varie en fonction de l'espèce végétale utilisé dans l'extraction, des conditions de séchage, ainsi que la nature de solvant utilisé dans l'extraction.

Afin de caractériser quantitativement l'extrait préparé à partir des parties aériennes d'*E.alata*, un dosage a été effectué pour déterminer la teneur en polyphénols totaux.

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux a montré que l'extrait phénolique renferme des teneurs de 34,4mg EAG/mg ES, alors que les résultats de **kebili (2016)** montrent une teneur plus élevée de 291.45 ± 4.37 mg EAG/g MS. Nos résultats sont supérieurs à ceux déterminés par **Mahmoudi et al (2013)** qui ont obtenus des concentrations de 19.88 pour la macération contre 17.53 mg éq AG/g PS pour la décoction. Selon **Mahmoudi et al (2013)** l'extraction des composés phénoliques est une étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, en fonction de la méthode utilisée et du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques.

En ce qui concerne la capacité antioxydante totale, nos résultats montrent que notre extrait phénolique possède un pouvoir antioxydant important est de l'ordre 1.006 EAA mg/g MS. La forte activité antioxydante d'*E.alata alata*, peut être due aux fortes teneurs en composés polyphénoliques (flavonoïdes, des tanins, phénols ...). Les activités antioxydantes des extraits de plantes sont principalement attribuées à des composés présents dans l'extrait. Cela peut être dû à la présence d'autres constituants ou familles de composés en petites quantités ou à une synergie entre eux et à la structure chimique surtout la position de OH, selon **Gordon (1990)**, le pourcentage d'inhibition, augmente avec la substitution des mono phénols avec le groupement hydroxyle en position ortho. La substitution du groupe hydroxyle est plus efficace qu'avec le groupement méthoxy.

Pour le teste de la Cytotoxicité d'*Ephedra alata*, nos résultats montrent que le test des globules rouges par l'acide gallique provoque une augmentation hautement significative du taux d'hémolyse pour les différentes concentrations comparés à la molécule de référence l'acide gallique. Cette molécule de référence présente un effet hémolytique.

À la concentration 250µg/ml, le taux d'hémolyse de l'extrait phénolique d'*E.alata* est de 1.889% comparés à l'acide gallique 0.912%, à partir de la concentration de 1000µg/ml le taux d'hémolyse augmente maximum à 42%, le taux d'hémolyse de notre extrait est inférieure celui de l'acide gallique. D'après nos résultats on constate que le test de Cytotoxicité sur les globules rouges montre que l'extrait phénolique d'*E.alata* n'exerce aucun effet toxique à des concentrations comprises entre 250µg/ml et 2000µg/ml. Nos résultats sont nettement égaux à ceux obtenus par **Atatra et al** effectuées *in vitro* sur l'extrait d'*E.alata* selon la méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges après induction de l'hémolyse, ils ont obtenus une forte activité anti-hémolytique à la concentration de 500µg/ml (48.97%) puis augment significativement à 1500µg/ml (78.43%).

Afin de maintenir notre santé et bien-être, nous recommandons d'utiliser cette plante médicinale comme tisane pour aider à dormir, se détendre, calmer l'anxiété et réduire le stress d'où l'intérêt d'approfondir les connaissances de cette plante et le soutien de son usage thérapeutique traditionnel.

Conclusion générale

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales jouent un rôle important pour l'humanité par exemple ils sont utilisés en tant qu'aliments, un traitement de nombreuses maladies telle que le diabète, cancer, maladies cardiovasculaires...etc. sont aussi utilisées dans la préparation pharmaceutique. L'espèce végétale *Ephedra alata* est une plante très répandue dans le monde.

Notre travail est une contribution à l'étude de l'évaluation de l'activité antioxydante et hémolytique des extraits phénoliques d'*Ephedra alata*.

La sélection de notre plante est principalement basée sur leur valeur thérapeutique.

Dans un premier temps, Nous avons constatés que l'extraction des polyphénols par macération de la plante a fourni un bon rendement en polyphénols. Ensuite, l'évaluation quantitative des polyphénols totaux par la méthode colorimétrique au réactif de Folin-Ciocalteu a révélé que notre extrait contient une teneur importante en polyphénols totaux (34,4mg EAG/mg ES).

De plus, l'évaluation de l'activité antioxydante par la CAT a permet de montrer que notre extrait phénolique possède un pouvoir antioxydant important. Nous avons aussi testé la Cytotoxicité de notre extrait par évaluation de stabilisation des globules rouges. La sensibilité érythrocytaire a été relevée à différentes concentrations, cette étude à montrer que l'extrait ne provoque qu'une hémolyse à des concentrations comprises entre (0.25- 2 mg/ml).

Nos résultats nous permettent de conclure que la partie aérienne d'*E.alata* représente une source naturelle d'antioxydants qui peut utiliser comme traitement préventif contre le stress oxydatif.

Notre travail reste une étape préliminaire pour des études plus large, plus approfondies incluent :

- Evaluer l'activité biologique éventuelle telle que l'activité anti hémolytique, anti inflammatoire.
- Tester la toxicité des extraits d'*Ephedra alata in vivo* afin de vérifier les propriétés biologiques des différents composants de la plante étudiée.
- Caractérisation des principes actifs.

Références Bibliographique

A

A. Favier. Stress oxydant et pathologies humaines : annales pharmaceutiques française ; (64) : 6 :390-396, 2006.

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

ACHAT, S. (2013). Polyphénols de l'alimentation: extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Thèse de doctorat, Université de Bejaia.

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

Al-Snafi, A. E. (2017). Therapeutic importance of Ephedra alata and Ephedra foliata-A review. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(2) : 399-406.

B

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C. et Pinkas M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*. 46:1086-1089.

Bensakhria, A. (2018). Le stress oxydatif. *Toxicologie générale* , 70-86.

Bensky D, Gamble A. 1993. *Chinese Herbal Medicine: Materia Medica*. Eastland Press: Seattle, WA.

Boozer C.N., Nasser JA., Heymsfield S.B., Wang V., Chen G. et Solomon J.L., 2001- An herbal supplement containing Ma Huang-Guarana for weight loss: a randomized, doubleblind trial. *Int J Obes Relat Metab Disord.*, Vol. 25; N°3, pp. 316-324.

Boubekri C. 2014. Etude de l'activité antioxydant des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat, université Mohamed khider, Biskra, 160 p.

Bozorgi M., Memariani Z., Mobli M., Salehi Surmaghi M. H., Shams Ardekani M. R., Rahimi R. (2013). Five Pistacia species (P. verq, P . atlantica , P . terebinthus, P khinjuk, and P. Lentiscus): a review of their traditional uses , phytochemistry, and pharmacology . *The Scientific World Journal*

Bracke M, Vyncke B, Opdenakker G, Foidart J-M, De Pestel G et Mareel M. Effect of catechins and citrus flavonoids on invasion in vitro. *Clinical&experimental metastasis*, 9(1). Page : 13-25. 1991.

Bravo L. (1998).polyphénols : chemistry,dietary sources, metabolism, and nutritionalsignificance. *Nutrition reviews* (56) :317-333.

Bruneton J. (2008). Acides phénols. In: *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales*. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp 198-260.

C

Caveney, S., Charlet, D.A., Freitag, H., Maier-Stolte, M., Starratt, A.N., 2001. New observations on the secondary chemistry of world Ephedra (Ephedraceae). *Am. J. Bot.* 88, 1199–1208.

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

Charpentier J-P., Boizot N. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Amélioration génétique et physiologie forestières. *Le Cahier des Techniques de l'Inra* 79-82.

CHEHMA A., RÉDA DJEBAR M., 2008. Les espèces médicinales spontanées du Sahara septentrional algérien: distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique. *Revue Synthèse* 17: 36-45.

Chehma, A. (2006). Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Éditions universitaires européennes.

CHEN W. L., TSAI T. H., YANG C. C. H., KUO T. B. J., 2010. Effects of Ephedra on autonomic nervous modulation in healthy young adults. *Journal of Ethnopharmacology* 130 : 563–568.

Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissèdre, P. L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.

Cowan M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* ; 12: 564-582.

Crozier A. (2003). Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants" Diet and Health"*. Ed. Goldberg. pp: 27- 48.

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

Cullen, Abigail E., et al. (2020). The impact of dietary supplementation of whole foods and polyphenols on atherosclerosis. *Nutrients* , 12 (7), 2069.

D

Dai J., & Mumper R.J. (2010). Plant phenolics : extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* (15) :7313-7352.

De Bruyne, T., Pieters, L., Deelstra, H., & Vlietinck, A. (1999). Condensed vegetable tannins: biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27(4), 445-459.

Derbel, S., Touzard, B., Triki, M. A., & Chaieb, M. (2010). Seed germination responses of the Saharan plant species *Ephedra alata* ssp. *alenda* to fungicide seed treatments in the laboratory and the field. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 205(7), 471-474.

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

Durand, G., & Beaudeau, J. L. (2011). Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives. Lavoisier.

F

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. l'actualité chimique , 108 (10), 863-832.

G

Garait, B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin® (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).

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

Ghanem S and El-Magly UIA. Antimicrobial activity and tentative identification of active compounds from the medicinal Ephedra alata male plant. J T U Med Sc 2008; 3(1): 7-15

GHOURRI M., ZIDANE L., DOUIRA A., 2013. Usage des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Sahara marocain. Journal of Animal & Plant Sciences 17 : 2388-2411.

Gomez, C. (2009). Etude des mecanismes de stockage des anthocyanins dans la baie de raison: caracterisation fonctionnelle des genes impliquees dans ces mecanismes. thèse de doctorat, Montpellier SUPAGRO.france

Gorai, M., Laajili, W., Santiago, L. S., & Neffati, M. (2015). Rapid recovery of photosynthesis and water relations following soil drying and re-watering is related to the adaptation of desert shrub Ephedra alata subsp. alenda (Ephedraceae) to arid environments. Environmental and Experimental Botany, 109, 113-121.

Goszcz, K. a. (2017). Bioactive polyphenols and cardiovascular disease: chemical antagonists, pharmacological agents or xenobiotics that drive an adaptive response? British journal of pharmacology , 174 (11), 1209-.

H

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. Revue médicale , 62 (10), 628-38.

Han X.H., Hong S.S., Hwang J.S., Lee M.K., Hwang B.Y., Ro J.S. (2007). Monoamine oxidase inhibitory components from Cayratia japonica. Archives Pharmacal Research. 30: 07- 13.

Hegazi, G. A. E., & El-Lamey, T. M. (2011). In vitro production of some phenolic compound from Ephedra alata Decne. J Appl Environ Biol Sci, 1(8), 158-163.

J

Izzo A-A. PAF and the digestive tract. A review. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 48(11). Page : 1103-1111. 1996.

Jaradat N, Hussen F and Al-Ali A. Preliminary phytochemical screening, quantitative estimation of total flavonoids, total phenols and antioxidant activity of *Ephedra alata* Decne. *J Mater Environ Sci* 2015; 6 (6):1771-1778.

Jiangrong L et Yueming J. Litchi Flavonoids: Isolation, Identification and Biological Activity. *Molecules*. 12(4). Page : 745-758. 2007.

Jodoin J, Demeule M et Béliveau R. Inhibition of the multidrugresistance P- glycoprotein activity by green tea polyphenols. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-MolecularCellResearch*, 1542(1-3). Page : 149-159. 2002.

K

Khattabi, L., Boudiar, T., Bouhenna, M. M., Chettoum, A., Chebrouk, F., Chader, H., ... & Akkal, S. (2022). RP-HPLC-ESI-QTOF-MS Qualitative Profiling, Antioxidant, Anti-Enzymatic, Anti-Inflammatory and Non-Cytotoxic Properties of *Ephedra alata* Monjauzeana. *Foods*, 11(2), 145.

Khoddami A., Wilkes M. A., and Roberts T.H. (2013). Techniques for analysis of plant phénolique compound. *Molecules* (18) : 2328-2375.

Kubitzki, K. 1990. Gnetatae. Pp. 378–391 in K. U. Kramer and P. S. Green, eds. *The families and genera of vascular plants, vol. 1, Pteridophytes and gymnosperms*. Springer-Verlag, Berlin.

L

Leung AY, Foster S. 1996. *Encyclopedia of Common Natural Ingredients*. John Wiley & Sons: New York.

Limberger R. P., JACQUES A. L. B., SCHMITT G. C., ARBO M. D., 2013. Pharmacological effects of ephedrine, *Natural products (ouvrage)* : 1218-1237.

Link A., Balaguer F. & Goel A. (2010). Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: Promising role for epigenetics. *Biochemical Pharmacology*, 80, 1771-1792.

M

Mahmoudi, S., Khali, M., • & Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*, (9), 35

Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79: 727-747.

Manach C., Scalbert A., Remesy C., Morand C. (2006). Consommation et disponibilité des polyphénols. In: *Les polyphénols en agroalimentaire*. P. Sarni-Manchado and V. Cheynier (Ed). Paris, Lavoisier. 361–380.

Martinez-Cayuela M., 1995- Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, Vol. 77, pp: 147-161.

Maurice N. (1997). *L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI siècle*. Ed. Lavoisier, Paris.

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

MIARA M. D., TEIXIDOR-TONEU I., SAHNOUN T., BENDIF H., AIT HAMMOU M., 2019. Herbal remedies and traditional knowledge of the Tuareg community in the region of Illizi (Algerian Sahara). *Journal of Arid Environments* 167 : 65-73.

Morton JF. 1977. *Major Medicinal Plants*. Charles C. Thomas: Illinois.

N

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

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

Nijveldt R.J., Nood E., Hoorn D.E., Boelens P.G., Norren K., Leeuwen P. (2001) .Flavonoids : A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am.J.Clin Nutr* ;74:418-425.

O

O'Dowd, N.A., G. McCauley, J.A.N. Wilson, T.A.K. Parnell and D. Kavanaugh, 1998. In vitro culture, micropropagation and the production of ephedrine and other alkaloids. In: *Biotechnology in Agriculture and Forestry* (ed Y.P.S. Bajaj) pp: 41. Springer: Berlin, Germany

OULD EL HADJ M. D., HADJ MAHAMMED M., ZABEIROU H., 2003. Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d'Ouargla (Sahara septentrional est). *Courrier du savoir* 3 : 47-51.

Ozenda P. 1991. *Flore et végétation du Sahara*: Centre National De La Recherche Scientifique. 3éme édition, Paris, p. 662.

P

Pastre Iustine., Odile., Carole. (2005). Intérêt de a supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques, thèse de doctorat des sciences vétérinaires. Université Paul-Sabatier, Toulouse ,p.12.

Perret, C. (2001). Analyse de tannins inhibiteurs de la Stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea* Pers.: Fr (Doctoral dissertation, Université de Neuchâtel).

PETERS C. M., O'NEILL J. O., YOUNG J. B., 2005. Is there an association between *Ephedra* and heart failure? A case series. *Journal of cardiac failure* 11 (1) : 1-9.

Price, R.A., 1996. Systematics of the Gnetales: a review of morphological and molecular evidence. *Int. J. Plant Sci.* 157, 40–49.

Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*, 269(2), 337-341.

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

R

Rashed, K. (2021). PHYTOCHEMICAL AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF EPHEDRA ALATA: A, 10(3), 175-178.

Richter C, Park JW and Ames BN (1988) Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85, 6465-6467.

S

Savini I., Catani M. V., Evangelista D., Gasperi V. et Avigliano L. (2013). Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. *Int. J. Mol. Sci.* 14: 10497-10538.

Scutt A, Meghji S, Canniff J-P et Harvey W. Stabilisation of collagen by betelnut polyphenols as a mechanism in oral submucous fibrosis. *Experientia*, 43(4). Page :391-393. 1987.

Shabana MM. Study into wild Egyptian plants of potential medicinal activity. Hypoglycaemic activity of some selected plants in normal fasting and alloxinated rats. *Arch Exp Veterinar Med* 1990; 44: 389.

Shahidi, F. a. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of functional foods* , 18, 820-897.

Singleton V. L., Rossi J.A.J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult* 16:144-58.

Skerget M., Kotnik P., Hadolin B., Hras A.-R., Simonic M. et Knez Z. (2005). Phenols, proanthocyanidines, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. 89: 191-198.

Soares, A. F. (2005). Effets du stress oxydant sur le fonctionnement des adipocytes: adiponectine et prostaglandines (Doctoral dissertation, Villeurbanne, INSA).
Soltan, M. M., & Zaki, A. K. (2009). Antiviral screening of forty-two Egyptian medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 126(1), 102-107.

T

TABUTI J. R. S., LYE K. A., DHILLION S. S., 2003. Traditional herbal drugs of Bulamogi Uganda : plants, use and administration. *Journal of Ethnopharmacology* 88 : 19-44.

Y

Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 10 mars 2006;160(1):1-40.

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.

Y

Yu, Z., & Dahlgren, R. A. (2005). Evaluation of methods for measuring polyphenols in conifer foliage. *Journal of Chemical Ecology*, 26(9), 2119-2140.

Z

Zamora-Ros, Raul, et al. (2014). Measuring exposure to the polyphenol metabolome in observational epidemiologic studies: current tools and applications and their limits. *The American journal of clinical nutrition* , 100 (1), 11-26.

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

Annexes

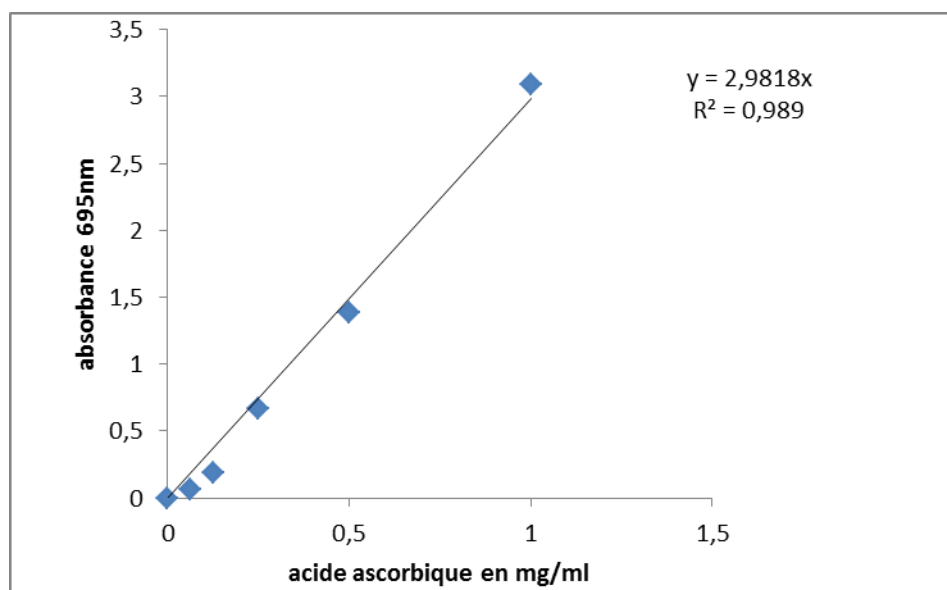


Figure 25 : Courbe d'étalonnage pour le dosage de l'activité antioxydante totale (CAT).

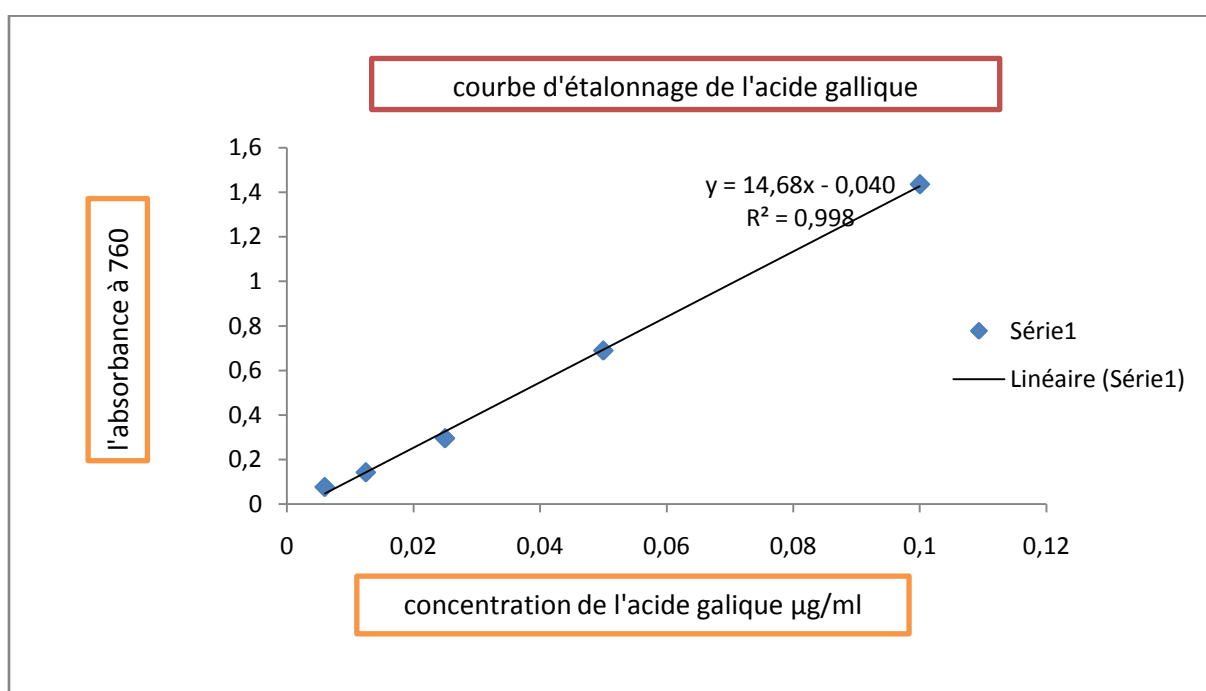


Figure 26 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux