

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان
Université Aboubekr Belkaid – Tlemcen
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



MÉMOIRE

Présenté par

ABBOU Nour El Houda & BENDELHOUM Wafaa

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Nutrition & Pathologie

Thème

**Etude phytochimique et Evaluation
de la Capacité Antioxydante des extraits
de plante *Ephédra alata***

Soutenu le /06/ 2023, devant le jury composé de :

Présidente	: LAISSOUF Ahlem	MCA - Université de Tlemcen
Encadreur	: BADID Naïma	MCA - Université de Tlemcen
Examinatrice	: MEDJDOUB Houria	MCA - Université de Tlemcen

Année universitaire 2022 – 2023

DEDICACES 1

Je tiens à remercier profondément *Dieu*, le tout-puissant, de nous avoir donné le courage, la volonté, ainsi que la santé pour réaliser ce travail.

Ce travail est dédié à :

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

A la fleur qui rehausse et aromatise mes jours, qui garde la nuit pour que me rendorme, à *ma très chère mère* je dédie ce travail et je lui souhaite une longue belle vie.

Aux personnes qui m'ont toujours aidée et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnée durant ma vie à ma sœur *Feriel* et mon frère *Akram*.

Je tiens à exprimer ma gratitude à *Karim*, mon fiancé, pour son soutien et son encouragement inébranlables.

A mes cousines *Bouchra, Loubna*.

A tous les famille *Bendelhoum* et *Bendaoudi*.

A mon binôme *Houda*.

A mon collègue *Moctar*.

A mes collègues de promotion de nutrition et pathologie.

A Tout le personnel de laboratoire biochimie pour leur accueil durant la réalisation de ce travail.

Mlle BENDELHOUM WAFAA



DEDICACES 2

Je tiens à remercier profondément *Dieu*, le tout-puissant, de nous avoir donné le courage, la volonté, ainsi que la santé pour réaliser ce travail.

Ce travail est dédié à :

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

A la fleur qui rehausse et aromatise mes jours, qui garde la nuit pour que me rendorme, à ma très chère mère je dédie ce travail et je lui souhaite une longue belle vie.

À ma chère sœur ; *Sara*.

À mes frères *Dia Eddine, Abd el Nour, Abdel bar*.

À mes oncles et mes tantes.

A toute la famille *ABBOU*.

A mes cousines d'amours *Hadjer, Fayza, Rania, Fatema, Sara, Khawla, Sabrine, Marwa, khadidja, Amina*.

À mon binôme Wafaa.

A mon collègue Moctar.

A mes collègues de la promotion de master "*Nutrition et pathologie* "

A Tout le personnel de laboratoire biochimie pour leur accueil durant la réalisation de ce travail.

Mlle ABBOU NOOR EL HOUDA



REMERCIEMENTS

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu tout-puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force, la patience, la volonté et la santé d'accomplir ce modeste travail, merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Au terme de ce projet de recherche, nous dédions nos plus sincères remerciements à tous ceux qui nous ont formés, conseillés, aidés et soutenus dans la réalisation de ce travail.

Nous exprimons nos vifs remerciements et notre profonde connaissance à :

Dr BADID Naima, Maitre de Conférences à l'université de Tlemcen, vous avez encadré et dirigé ce modeste travail avec une rigueur scientifique remarquable et crédible. Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude pour votre sympathie et la confiance que vous nous avez témoignée tout au long de ce parcours. Votre accompagnement précieux a été d'une grande valeur pour notre réussite.

Dr LAISSOUF Ahlem, Maitre de Conférences à l'université de Tlemcen, en tant que Présidente du jury, nous sommes emplis d'une profonde gratitude et d'un immense sentiment d'honneur d'avoir eu l'opportunité privilégiée d'avoir votre présidence lors de notre travail, et nous tenons à vous témoigner notre plus sincère reconnaissance ainsi que notre profond respect envers vous.

Dr MEDJDOUB Houria, Maitre de Conférences à l'université de Tlemcen, nous souhaitons exprimer notre sincère gratitude envers vous en tant qu'Examinatrice. Votre généreuse contribution, en consacrant votre précieux temps à la lecture et à l'évaluation minutieuse de notre travail, est hautement appréciée.

Nous tenons à saisir cette occasion pour adresser nos profonds remerciements et nos profondes reconnaissances aux responsables et au personnel de l'université de Tlemcen (Département de Biologie).

TABLES DES MATIERES

	P.
Dédicace 1.....	<i>i</i>
Dédicace 2.....	<i>ii</i>
Remerciements.....	<i>iii</i>
Liste des abréviations.....	<i>iv</i>
Liste des tableaux.....	<i>v</i>
Liste des figures.....	<i>vi</i>
Liste des photos.....	<i>vii</i>
Résumé.....	<i>viii</i>
Abstract.....	<i>ix</i>
المخلص.....	<i>x</i>
Chapitre 1 : Etat actuel de sujet	
Introduction général.....	1
Chapitre 2 : matériel et méthodes	
1. Préparation des échantillons végétaux.....	10
2. Optimisation des techniques d'extractions.....	10
3. Extraction des composés phénoliques <i>d'éphédra alata</i>	10
4. Détermination du rendement d'extraction	15
5. Analyse phytochimique.....	15
5.1 Dosage des phénols totaux.....	15
5.2 Dosage des flavonoïdes.....	15
5.3 Dosage des tannins condensés.....	16
6. Étude de l'activité antioxydante.....	16
6.1 Capacité antioxydante totale (CAT).....	16
7. Etude statistique	16
Chapitre 3 : Résultats & Interprétations	
1. Evaluation des rendements en masse des différents types d'extraction	18
2. Analyse phytochimique.....	18
2.1 Analyse quantitative des phénols totaux	18
2.2 Analyse quantitative des flavonoïdes	20
2.3 Analyse quantitative des tannins condensés.....	21
3. Évaluation de l'activité antioxydante.....	22

3.1 Mesure de la capacité antioxydante totale CAT.....	22
Chapitre 4 : Discussion	
Discussion.....	25
Conclusion et Perspectives.....	27
Références bibliographiques.....	29

LISTE DES ABREVIATIONS

N	:	L'azote
RC	:	Régulateurs de croissance
K	:	Potassium
Ca	:	Calcium
Ac	:	Acide
Anti. Ox	:	Antioxydante
DPPH	:	2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle
NO	:	Oxyde nitrique
LPS	:	Lipopolysaccharide
TNFα	:	Facteur de nécrose tumorale
IL :6	:	Interleukine 6
IL-10	:	Interleukine 10
ADN	:	Acide désoxyribonucléique
ARN	:	Acide ribonucléique
MEEa	:	Methanolic extract of <i>Ephedra alata</i>
EEEa	:	Ethanollic extract of <i>Ephedra alata</i>
ME	:	Methanolic extract
EP	:	Ephédrine
cp	:	Cisplatine
P53	:	Tumor Protein 53
Bax	:	La protéine Bcl-2-associated X
P21	:	Cyclin-dependent kinase inhibitor protein
RB1	:	Le gène du rétinoblastome
DCM	:	Dichlorométhane
°C	:	Degré Celsius
R	:	Rendement
Pe	:	Poids de l'extrait brut en gramme
Psp	:	Poids sec de la plante en gramme
μL	:	Microlitre
Na₂CO₃	:	Carbonate de sodium
nm	:	Nanomètre
NaNO₂	:	Nitrite de sodium
AlCl₃	:	Trichlorure d'aluminium

NaOH	:	Hydroxyde de sodium
MeOH	:	Méthanol
mg EC/g	:	Milligrammes d'équivalents catéchines par gramme de la matière sèche
MS	:	
HCl	:	Acide chlorhydrique concentré
ml	:	Millilitre
mM	:	Mili molaire
CAT	:	Capacité antioxydante totale
mg EAA/g	:	Milligrammes équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière sèche
DM	:	
AC	:	Absorbance du contrôle négatif
AE	:	Absorbance de l'échantillon.
EC50	:	Efficient Concentration value
Rdt	:	Rendement
E	:	Extrait

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	P.
Tableau 1	: La position systématique de <i>Ephédra alata</i>	2
Tableau 2	: Les Composés phénoliques de <i>l'Ephédra alata</i> et leurs intérêts.....	3
Tableau 3	: Les flavonoïdes de <i>l'Ephédra alata</i> et leurs intérêts / actions.....	4
Tableau 4	: Les alcaloïdes de <i>l'Ephédra alata</i> et leurs rôles biologiques.....	5
Tableau 5	: Les tanins de <i>l'Ephédra alata</i> et leurs intérêts.....	6
Tableau 6	: Les huiles essentielles de <i>l'Ephédra alata</i> et leurs intérêts.....	6
Tableau 7	: L'intérêt biologique de <i>l'Ephédra alata</i> , son principe et/ou site d'action	7

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Page
Figure 1	: Ephédra alata.....·	1
Figure 2	: Répartition géographique d' <i>Ephédra</i> dans le monde.....·	2
Figure 3	: Processus initial d'extraction par macération.....·	11
Figure 4	: Deuxième processus d'extraction par sonification·	12
Figure 5	: Troisième processus d'extraction par ultrason.....·	13
Figure 6	: Rendement en masse des différents types d'extractions...·	18
Figure 7	: Composés phénoliques issus de l'espèce <i>Ephedra alata</i> ...·	19
Figure 8	: Composés en flavonoïdes issus de l'espèce <i>Ephedra alata</i> ·	20
Figure 9	: Tanins condensés issus de l'espèce <i>Ephedra alata</i>·	21
Figure 10	: Capacité antioxydante totale des extraits d' <i>Ephedra alata</i> ·	22

LISTE DES PHOTOS

Photo	Titre	Page
Photo 1	: Matière végétale coupée et broyée (<i>Ephédra alata</i>)	10
Photo 2	: Les extraits filtrés après macération.....	14
Photo 3	: Phase Meoh filtrée.....	14
Photo 4	: Phase Dcm filtrée.....	14
Photo 5	: Phase acétone filtrée.....	14
Photo 6	: Évaporation sous vide des phases.....	14
Photo 7	: Préparation des extraits par l'ultrasons	14
Photo 8	: Sonification des extraits	14

Résumé

En Algérie, l'*Ephedra alata* (alenda) est une plante médicinale largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour diverses pathologies. Le but de ce travail est la caractérisation phytochimique et l'évaluation de la capacité antioxydante totale de cette espèce végétale.

Les objectifs ciblés concernent l'optimisation des techniques d'extraction (E) allant de E1-E15 via l'utilisation de solvants de polarité différentes, le dosage des composés phénoliques et l'évaluation de la capacité antioxydante totale de cette espèce végétale.

L'évaluation des rendements massiques des différentes méthodes d'extraction révèle des résultats notables, notamment pour l'extrait MeOH/H₂O sonifié à 31% et l'extrait MeOH sonifié à 26%. Les résultats prometteurs de notre étude ont révélé une richesse en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés, avec des valeurs respectives de 428,55 ± 138,66 (mg EAG /g MS), 14,66 ± 0,23 (mg EQ/g MS) et 54,13 ± 11,03 (mg EC/g MS). En ce qui concerne la capacité antioxydante totale, un potentiel antioxydant intéressant a été estimé à 334.10 ± 20.80 (mg EAA/g MS).

Cette évaluation préliminaire mérite l'implication d'autres test phytochimiques mettant en lumière d'autres propriétés de cette espèce végétale.

Les mots clés : *Ephedra alata* - dosages - composés phénoliques - capacité antioxydante totale.

Abstract

In Algeria, *Ephedra alata* (alenda) is a medicinal plant widely used in traditional medicine for various diseases. The aim of this study is the phytochemical characterization and evaluation of the total antioxidant capacity of this plant species.

The targeted objectives involve optimizing the extraction techniques (E) ranging from E1-E15 using solvents of different polarities, quantifying phenolic compounds, and evaluating the total antioxidant capacity of this plant.

The evaluation of the mass yields from the different extraction methods reveals notable results, especially for the MeOH/H₂O extract sonicated at 31% and the MeOH extract sonicated at 26%. The promising results of our study have revealed a richness in polyphenols, flavonoids, and condensed tannins, with respective values of 428.55 ± 138.66 (mg GAE/g DW), 14.66 ± 0.23 (mg QE/g DW), and 54.13 ± 11.03 (mg CE/g DW). As for the total antioxidant capacity, an interesting antioxidant potential was estimated at 334.10 ± 20.80 (mg AAE/g DW). This preliminary evaluation warrants further phytochemical tests to shed light on other properties of this plant species.

Keywords: *Ephedra alata* - quantification - phenolic compounds - biological activities - antioxidant activity.

المخلص

في الجزائر، تُستخدم نبتة الإفيدرا العلتا (العندة) على نطاق واسع في الطب التقليدي لعلاج مختلف الأمراض. هدف هذا العمل هو توصيف الخصائص الكيميائية للنبات وتقييم القدرة الكلية على مكافحة الأكسدة لهذا النوع النباتي. الأهداف باستخدام مذيبات ذات قطبية مختلفة، وقياس مستويات المركبات (E1-E15) المحددة تتضمن تحسين تقنيات الاستخلاص الفينولية، وتقييم القدرة الكلية على مكافحة الأكسدة للنبات. تُظهر نتائج تقييم العائدات الكتلية لطرق الاستخلاص المختلفة نتائج ملحوظة، وخاصةً بالنسبة لمستخلص الميثانول/الماء المصوّت عند 31% ومستخلص الميثانول المصوّت عند 26%. كشفت دراساتنا عن وفرة في البوليفينولات والفلافونويدات والتانين المكثف، بقيم متسلسلة تبلغ 428.55 ± 138.66 (ملغ/غرام من الجاف/EC ملغ)، و 54.13 ± 11.03 (غرام من الجاف/EQ ملغ) ± 0.23، و 14.66 (غرام من الجاف/EAG ملغ) ± 54.13 ± 11.03 (غرام من الجاف/EC ملغ). وبالنسبة للقدرة الكلية على مكافحة الأكسدة، تم تقدير إمكانية مكافحة الأكسدة الجيدة بمقدار 334.10 ± 20.80 (غرام من الجاف/EAA ملغ). تستحق هذه التقييمات الأولية مزيداً من الاختبارات الكيميائية النباتية التي تكشف عن خصائص أخرى لهذا النوع النباتي.

الكلمات المفتاحية: تقديرات - مركبات فينولية - أنشطة بيولوجية - نشاط مضاد للأكسدة - الإفيدرا.

ETAT ACTUEL DU SUJET

INTRODUCTION GENERALE

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales ont été une source précieuse de diverses thérapeutiques et représentent toujours un fonds essentiel de nouveaux produits naturels d'origine végétale ou de leurs dérivés ayant des activités biologiques significatives (Chouitah, 2019). Les remèdes traditionnels issus des plantes ont toujours guidé les scientifiques dans la recherche de nouveaux médicaments afin de maintenir et de promouvoir une vie saine pour les humains et les animaux (Achterberg, 2013). Selon l'Organisation mondiale de la santé plus de 80 % des populations africaines comptent sur la médecine et la pharmacopée traditionnelles pour faire face aux problèmes de santé (Salhi et al., 2010).

L'Algérie possède une richesse et une variété de la flore estimée à environ 3000 espèces de plantes dont 15% sont endémiques et appartiennent à différentes familles botaniques (Ouguirti et al., 2021). Plusieurs de ces plantes d'Algérie ont été peu étudiées, mais ont des effets pharmacologiques variés, C'est le cas de l'*Ephedra alata*.

Ephedra alata (Alanda en arabe) est une espèce pérenne appartenant à la famille des Ephedraceae et à l'ordre des Gnetales, est une plante vert clair, densément ramifiée, dioïque et de petite taille qui atteint environ 50-100 cm de haut, Elle a une forte odeur de pin et un goût astringent (Jaradat et al., 2021).



Figure 1 : *Ephedra alata* (Claude et Attioui, 2018)

Etat actuel du sujet

Cette espèce d'*Ephédra* est endémique en Algérie, et pousse abondamment dans des conditions arides sur des sols gravement rocheux, sablonneux et argileux, souvent à proximité de dunes de sable mouvantes (Ziani et al., 2019). Le genre éphédra est indigène aux latitudes tempérées et subtropicales de l'Europe, de l'Asie et de l'Amérique, et pousse surtout dans le nord et l'ouest de la Chine, dans le nord de l'Inde et en Espagne. Aux États-Unis, les plantes d'éphédra poussent le long des montagnes Rocheuses. (Al-Snafi, 2017).

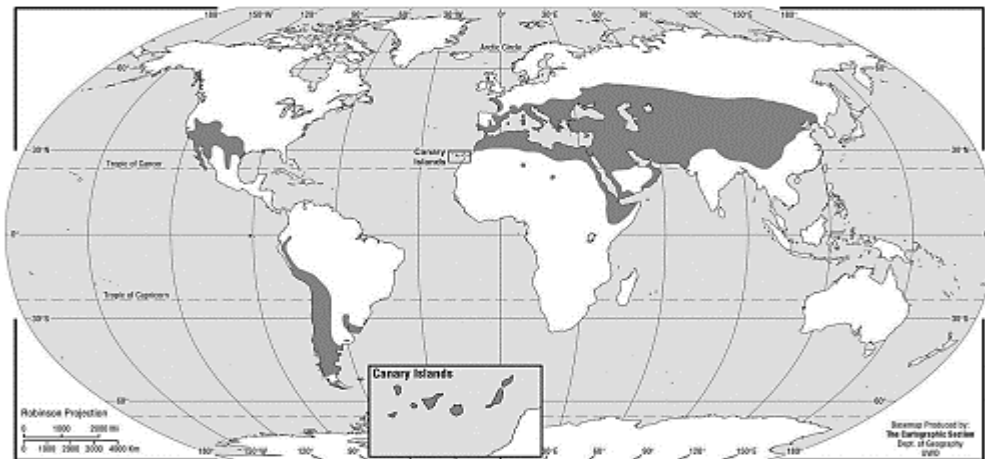


Figure 2 : Répartition géographique d'*Ephédra* dans le monde (Cavaney et al., 2001).

Tableau 1 : La position systématique d'*Ephédra alata* (Ozenda, 1991)

Règne	Végétal
Embranchement :	Spermaphytes
Sous Embranchement :	Gymnospermes
Classe :	Genetopsida
Ordre :	Ephedrales
Famille :	Ephedraceae
Genre :	Ephédra
Espèce :	Ephédra alata
Nom commun :	Alenda

Etat actuel du sujet

Les espèces d'*éphédra* sont des sources naturelles de multiples phyto constituants (Hegazi et El-Lamey, 2011). Diverses recherches antérieures menées sur l'*éphédra alata* ont révélé la présence de divers antioxydants, comprenant des alcaloïdes, des tanins, des saponines, des proanthocyanidines, des acides phénoliques et des flavonoïdes. Ces derniers sont d'une grande importance pour leurs activités antioxydantes et antibactériennes potentielles (Elhadef et al., 2020 ; Mighri et al 2019). Les alcaloïdes sont les principaux composants biologiques de ce genre, tels que l'éphédrine, pseudoéphédrine, noréphédrine, norpseudoéphédrine, méthyléphédrine et méthylpseudoéphédrine (Çetin et al., 2006).

L'*éphédra* contient également d'autres constituants considérés comme des parties non alcaloïdes, tels que des huiles volatiles, des stérols et des triterpènes, des glucides et des flavonoïdes (Ibragic et Sofić, 2015).

Tableau 2 : Les Composés phénoliques de l'*Ephédra alata* et leurs intérêts.

Composés phénoliques	Références	Intérêts	Références
Acide Trans-cinnamique	(Amakura <i>et al.</i> , 2013).	-Propriétés anti- antioxydantes	(Zhang et al., 2022)
Catéchine		- À consommation à long terme d'aliments riches en polyphénols végétaux améliorent diverses pathologies : diabète, le cancer, l'ostéoporose....	
Syringine		- Des prébiotiques potentiels	
Epicatéchine			
Eymplocoside			
Kaempférol 3-O-Rhamnoside 7-O-Glucoside			
Isovitexine 2-ORhamnoside			
Vanilic acid			

Tableau 3 : Les flavonoïdes de l'*Ephédra alata* et leurs intérêts / actions.

Flavonoïdes	Références	Intérêts / Actions	Références
L'herbacetine 8-methyl ether 3-O-glucoside-7-O-rutinoside	(Jaradat, 2015 ; Al-snafi, 2017).	Dans les plantes en tant que :	(Manach <i>et al.</i> , 2004) (Rijke <i>et al.</i> , 2006)
Herbacetin 7-O-(6''-quinynglucoside)		- Composés de défense et de signalisation dans la reproduction, la pathogenèse et la symbiose	
vicenin II		- Pigmentation des tissus végétaux, fleurs, fruits et parfois des feuilles.	
Lucenin III		- Protection contre les rayonnements UV	
le kaempferol 3-rhamnoside		-Affecte la santé humaine /animale en raison de :	
Quercetin 3-rhamnoside		- Propriétés antioxydantes	
Herbacetin 7-glucoside, 2,3-digalloylglucopyranose		- Activités antimicrobiennes	
(+)-syringaresinol		- Influencent directement les fonctions immunitaires de l'hôte	
Nilocitin,ephedrannine		- Leur action œstrogénique....	

Tableau 4 : Les alcaloïdes de l'*Ephédra alata* et leurs rôles biologiques.

Composé	Références	Rôles biologiques	Références
Ephedrine 0,05-0,19 %, 90% des AT	(Al-Snafi, 2017)	-Des produits finis du métabolisme ou des déchets -Des réservoirs de stockage de l'azote --- des agents de protection de la plante contre les attaques des prédateurs	(Waller et al., 1978)
Norephedrine		-Des régulateurs de croissance (puisque les structures de certains d'entre eux ressemblent aux structures des régulateurs de croissance connus), ou des substituts des minéraux dans les plantes, tels que le potassium et le calcium	
Pseudoephedrine > 0,5 % 90% des AT			
Norpseudoephedrine		-Activités anti-inflammatoires, anticancéreuses, analgésiques, anesthésiques locaux et analgésiques, neuropharmacologiques, antimicrobiennes, antifongiques et bien d'autres encore.	
Methylephedrine			
Methypseudoephedrine			
Alcaloïdes de type E, l'éphédroxane et les spermidines macrocycliques appelées éphédradine A-D, isolés à partir de certaines espèces d'éphédra eurasiennes			

Etat actuel du sujet

Tableau 5 : Les tanins de *Ephédra alata* et leurs intérêts.

Les tanins	Partie de la plante	Références	Intérêt	Références
Principalement les Proanthocyanidines	+++ dans les tiges, lui conférant son gout astreignant	(Zang <i>et al.</i> , 2013). (SONI <i>et al.</i> , 2004)	-Précipite les protéines -Propriétés anti-allergiques, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, anthelminthique, anti-hémorroïdaires, antidiarrhéiques	(Kartik <i>et al.</i> , 2019)

Tableau 6 : Les huiles essentielles de *Ephédra alata* et leurs intérêts.

Huile essentielle	Références	Intérêts des huiles essentielles	Références
α -thujène	(Chouitah O. 2019)	Antimicrobien	(Mancianti <i>et al.</i> , 2020)
Camphène		Antiparasitaire	
Sabinène		Antivirale	
β -pinène		Cicatrisation des plaies	
Terpinène		Substances allélochimiques	
Limonène		Effet antispasmodique	
α -Terpinyl acetate			
Borneol			
β -Selinène			
β -Cadinène			
α -Calacorene			

Les espèces d'*éphédra* sont précieuses comme antipyrétique, diaphorétique, stimulant circulatoire et sédatif contre la toux. Cependant, l'*éphédra* a été utilisée dans la médecine

traditionnelle chinoise pour traiter les allergies, l'asthme, la congestion pulmonaire, les frissons, le rhume, l'œdème, la fièvre, la grippe et les maux de tête. La plante est également utilisée traditionnellement en Russie pour les troubles respiratoires et les rhumatismes pendant de nombreux siècles. Les Amérindiens et les Espagnols du sud-ouest des États-Unis utilisaient l'éphédra à des fins médicinales, en particulier pour les maladies vénériennes (Al-Snafi, 1996 ; Bell et Bachman, 2011).

L'Algérie utilise *E. alata* pour traiter la grippe, le rhume et les troubles respiratoires, principalement sous forme de tisane (Lamine et al., 2019). Au Maroc, *Ephédra alata* est utilisée pour lutter contre le diabète (GHOURRI et al., 2013). En Arabie Saoudite, L'*Ephedra* est l'une des plantes de parcours les plus courantes. Elle a été utilisée comme pâturage pour de nombreux animaux attirés par son arôme acceptable (AL-Qarawi et al., 2012).

Tableau 7 : L'intérêt biologique de l'*Ephédra alata*, son principe et/ou site d'action.

Intérêt biologique	Principe et site d'action	Reference
Antioxydante	-Capacité anti Ox totale élevée de l'extrait aqueux et méthanolique d'E était presque six fois plus élevé que celle de l'acide ascorbique. -Activité de piégeage des radicaux DPPH. -Pouvoir réducteur.	(Benarba et al., 2021)
Anti-inflammatoire	-L'inhibition de la libération de NO dans les macrophages RAW 264.7 induits par le LPS par les extraits d'acétate d'éthyle étaient de 34 et 45 % -L'extrait éthanolique à 50 % de Palestinean <i>E. alata</i> a modulé les niveaux de sécrétion des cytokines inflammatoires TNF- α , IL-6 et IL-10 à 62 et 125 μ g/ml.	(Bourgou et al., 2020)
Antimicrobien	Les extraits aqueux et méthanoliques ont été efficaces sur les souches bactériennes Gram positives et négatives.	(Dbeibia et al., 2022)

Etat actuel du sujet

Antifongique	L'effet inhibiteur de l'extrait de la plante (<i>E. alata</i>) sur la synthèse des acides nucléiques (ADN et ARN) d' <i>Aspergillus flavus</i> .	(AL-QARAWI et al., 2012)
Hypoglycémiant	Le MEEa a réduit efficacement l'activité de l'α-amylase dans l'intestin, le pancréas et le sérum de 43 %, 26 % et 46 %, respectivement, et le taux de glucose sanguin de 35 %.	(Tiss et al., 2022)
Anti obésité	Diminution significative des activités de la lipase dans l'intestin et le pancréas de 33 et 36% respectivement.	(Saidi et al., 2022)
Néphroprotecteur /hépatoprotecteur	Effets protecteurs de l'extrait méthanolique (ME) et de l'éphédrine (EP) sur les dommages induits par le CP cisplatine.	(Sioud et al., 2020)
Anticancéreuse	L'EEEa a inhibé la croissance des cellules cancéreuses du foie (HepG2), du sein (MCF-7) et du côlon (Caco-2). Mécanisme : l'apoptose par le biais d'une manière dépendante de P53, qui implique des voies intrinsèques par l'induction de Bax, p21 et RB1.	(Bensam et al., 2023)

Les effets toxicologiques d'*Ephedra alata* sont apparemment attribués à ses alcaloïdes de type éphédrine, majoritairement et à la pseudoéphédrine (CHEN et al., 2010 ; LIMBERGER et al., 2013). A fortes doses, l'éphédrine induit une hépatotoxicité avec des nécroses massives visibles à l'examen histologique (ZHENG et NAVARRO, 2016), elle provoque également une nervosité, une insomnie, des maux de tête, des vertiges, des palpitations, des sueurs, des nausées et des Vomissements, quelquefois des douleurs précordiales et parfois des dermatites (PETERS et al., 2005).

Le but de cette étude est de caractériser phytochimiquement l'espèce *Ephedra alata* et d'évaluer sa capacité antioxydante potentielle en suivant les étapes suivantes :

- Optimisation des différentes techniques d'extraction.
- Quantification des composés phénoliques, flavonoïdes et tanins condensés.
- Détermination de sa capacité antioxydante totale (CAT).

MATÉRIELS & METHODES

1. Préparation des échantillons végétaux

Le matériel végétal utilisé correspond à la partie aérienne composée des jeunes tiges de l'espèce *Ephedra alata*.

L'échantillon prélevé a été ramené au laboratoire où ils ont été coupés en petits morceaux, après l'échantillon a été broyé en une fine poudre (Photo 1), puis stocké dans des bocaux hermétiquement fermés à l'abri de la lumière et de la chaleur, avant d'être utilisé.



Photo 1 : Matière végétale coupée et broyée (*Ephedra alata*)

2. Optimisation des techniques d'extractions

Afin d'optimiser les techniques d'extraction pour obtenir de meilleurs rendements de fractionnement d'*Ephedra alata*, des solvants de différentes polarités ont été utilisés, notamment le méthanol, le méthanol eau, l'acétate d'éthyle, l'acétone et le dichlorométhane.

3. Extraction des composés phénoliques

Pour chaque extraction, six grammes de poudre d'*Ephedra alata* ont été homogénéisés séparément dans 120 millilitres de 4 solvants différents (méthanol, acétone, acétate d'éthyle et dichlorométhane) et pour le 5^{ème} solvant l'extrait aqueux (le méthanol/eau), six grammes de poudre d'*Ephedra alata* ont été homogénéisés dans 84 ml de solvant méthanol et 36 ml d'eau distillée pour obtenir le volume global de 120 ml.

Les extraits préparés avec les 5 solvants différents sont traités par différentes méthodes d'extraction telles que la macération, la sonification, et l'ultrason. Chaque préparation a ensuite été filtrée à l'aide d'un papier-filtre et évaporée sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les extraits obtenus sont conservés au réfrigérateur à 4°C et seront utilisés par la suite pour réaliser des tests d'activité biologique.

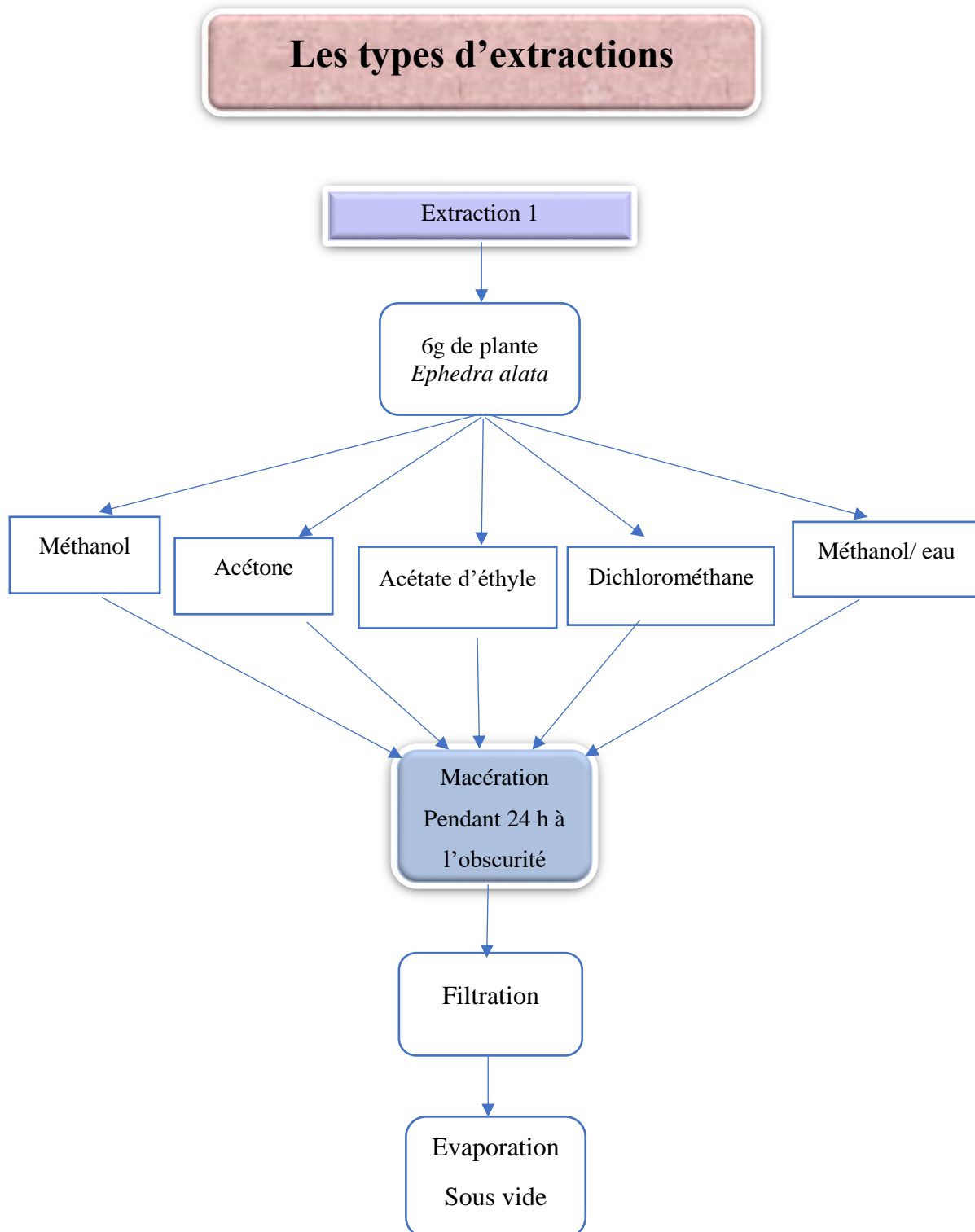


Figure 3 : Processus initial d'extraction par macération

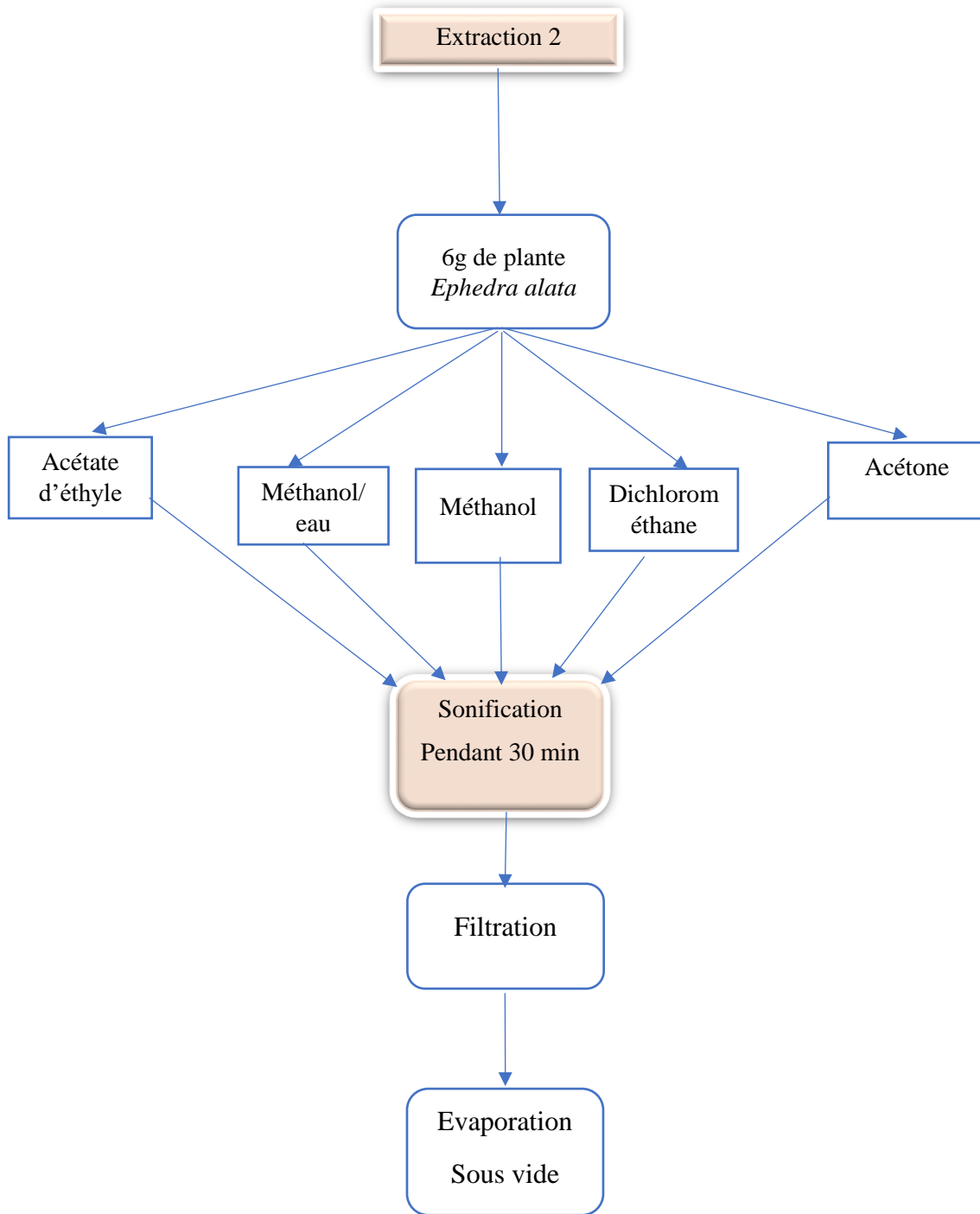


Figure 4 : Deuxième processus d'extraction par sonification

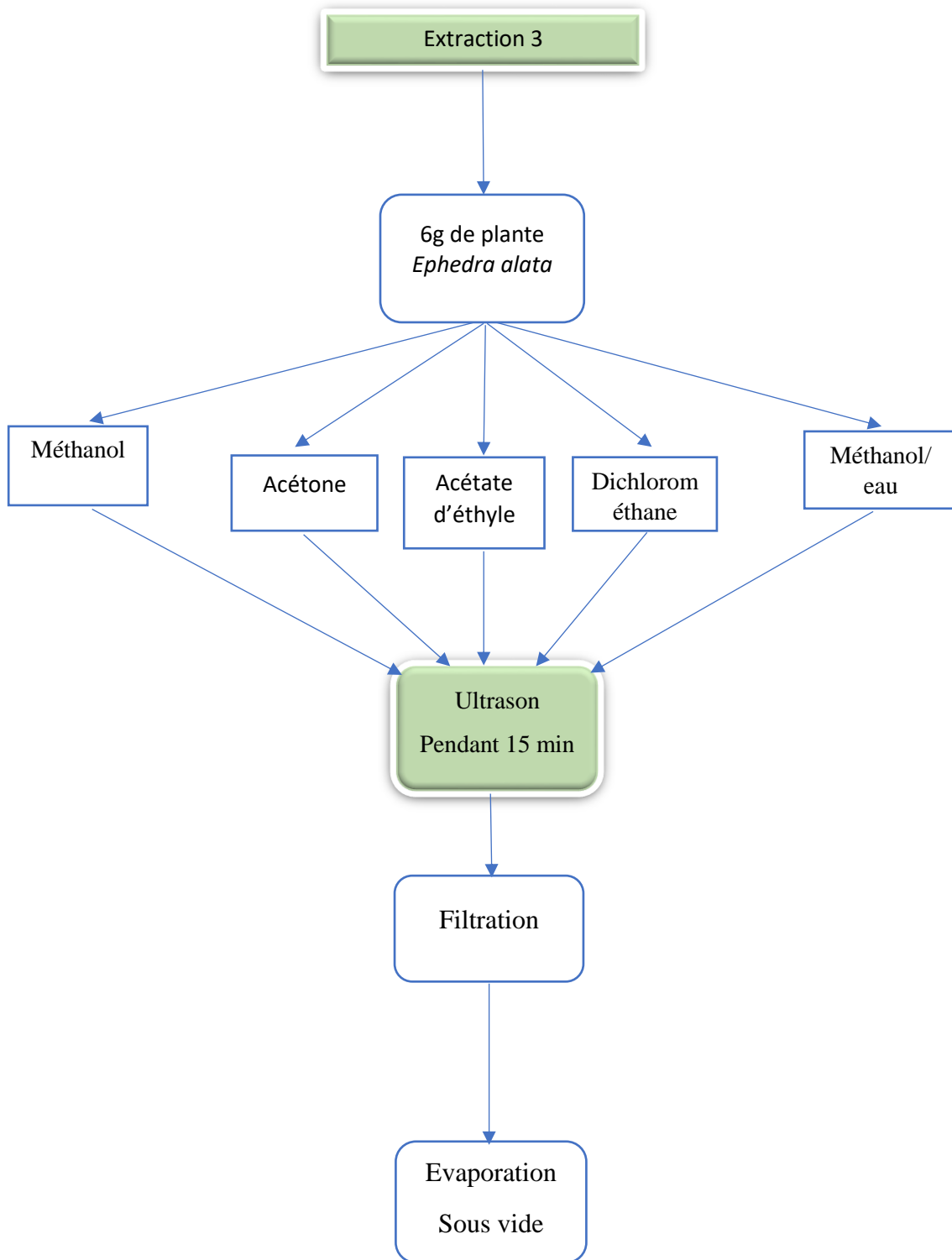


Figure 5 : Troisième processus d'extraction par ultrason.

Matériels & méthodes



Photo 2 : Extraits filtrés après macération



Photo 3 : Phase MEOH filtrée



Photo 4 : Phase DCM filtrée



Photo 5 : Phase acétone filtrée



Photo 6 : Évaporation sous vide des phases.



Photo 7 : Préparation des extraits par l'ultrasons.



Photo 8 : Sonification des extraits.

4. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement est le rapport entre le poids d'extraits brut et le poids sec de la plante à traiter. Le rendement est présenté par pourcentage et exprimer par la formule suivante (Okou et al., 2018) :

$$R (\%) = (Pe / Psp).100$$

R (%) : rendement d'extraction en pourcentage.

Pe : poids de l'extrait brut en gramme.

Psp : poids sec de la plante en gramme.

5. Analyse phytochimique

5.1 Dosage des phénols totaux

La détermination des phénols totaux est effectuée par le réactif de Folin-Ciocalteu en suivant la méthode de (Singleton et Rossi, 1965). Le réactif est réduit lors de l'oxydation du phénol, à un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène, l'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm.

➤ Mode opératoire

Un échantillon de 200 µL de l'extrait dilué a été mis dans des tubes à essai, puis 1000 µL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et 800 µL de carbonate de sodium à 7,5 % (Na₂CO₃) sont ajoutés. Les tubes sont maintenus en mouvement et placés dans l'obscurité à température ambiante pendant une période de 30 minutes. L'absorbance est mesurée à 765 nm par rapport au blanc à l'aide d'un spectrophotomètre SPECORTD 200 Plus.

5.2 Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est déterminé en utilisant la technique de (zhisher et al.1999).

➤ Mode opératoire

500 ul de l'extrait brut convenablement dilué sont mélangés à 1500 ul d'eau distillée, suivis de 150 ul de nitrite de sodium à 5% (NaNO₂). Après 5 min, 150 ul de trichlorure d'aluminium à 10% (AlCl₃) sont ajoutés au mélange. Après 6 minutes d'incubation à température ambiante, 500 µl d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4 % sont ajoutés. Immédiatement, le mélange est agité à fond pour homogénéiser le contenu. L'absorbance est déterminée à 510 nm par rapport au blanc à l'aide d'un spectrophotomètre SPECTROD 200 Plus. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligrammes (mg) d'équivalents catéchines par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS).

5.3 Dosage des tannins condensés

La détermination des tanins condensés est réalisée par la méthode décrite par JULKUNEN T. (1985), qui est basée sur la capacité de la vanilline en présence d'HCl, l'absorbance étant lue à 550 nm.

➤ Mode opératoire

Un volume de 50 µL de l'extrait dilué avec 1500 µL de la solution de vanilline/méthanol (4%) après mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 d'acide chlorhydrique concentré (HCl) sont incorporés. Le mélange préparé est laissé en réaction à température ambiante pendant une période de 20 minutes dans un environnement sombre. L'absorbance est ensuite mesurée à 550 nm par rapport au blanc à l'aide d'un spectrophotomètre. Les résultats sont obtenus en milligrammes (mg) équivalents de la catéchine utilisée comme étalon par gramme (g) de matière sèche (mg EC/g MS).

6. Étude de l'activité antioxydante

6.1 Capacité antioxydante totale (CAT)

La méthode du phosphomolybdène de PRIETO et al. (1999) a été appliquée pour étudier et déterminer quantitativement la CAT de la plante *Ephedra alata*.

➤ Mode opératoire

Une quantité de 300 µL de l'extrait dilué a été introduite dans 3 mL d'une solution réactive contenant de l'acide sulfurique à une concentration de 0,6M, du phosphate de sodium à une concentration de 28 mM et du molybdate d'ammonium de 4 mM. Les tubes ont été fermés et incubés à 95°C durant 90 minutes. Après refroidissement, Après que les solutions se sont refroidies, la mesure de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 695 nm par rapport au blanc incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon.

Une courbe d'étalonnage est réalisée simultanément, en suivant les mêmes conditions, en utilisant l'acide ascorbique comme étalon de référence. Les valeurs de la CAT sont exprimées en (mg) équivalents d'acide ascorbique par (g) de matière sèche (mg EAA/g DM).

7. Etude statistique

Le traitement des données est réalisé sur Excel, chaque valeur représente la moyenne ± Écart-type.

RESULTATS

&

INTERPRÉTATION

1. Evaluation des rendements en masse des différents types d'extractions

L'évaluation des rendements massiques des différentes méthodes d'extraction (E1-E15) révèle des résultats remarquablement élevés pour les extractions E9 (31%), E6 (26%), ainsi que pour les extractions E1 et E2 (24%). En revanche, les extractions E3, E11 et E12 ont montré des rendements légèrement inférieurs, se situant entre 10% et 20%. Les extractions E4, E5, E7, E8, E10, E13, E14 et E15, quant à elles, ont présenté des rendements massiques faibles, variant entre 1% et 8% chacune (Figure 6).

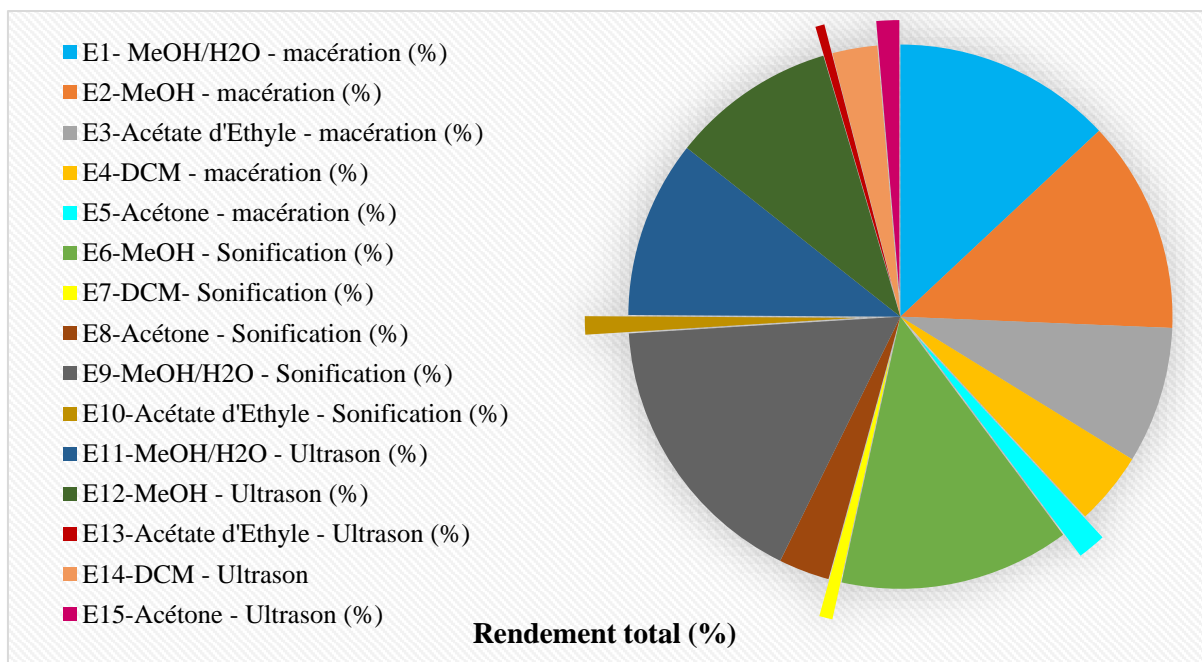


Figure 6 : Rendement en masse des différents types d'extractions

2. Analyse phytochimique

2.1 Analyse quantitative des phénols totaux

Le contenu phénolique total a été déterminé par colorimétrie à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu, selon l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage préparée en utilisant l'acide gallique comme étalon ($y = 2,6924x$, $R^2 = 0,9941$). Les résultats sont présentés en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG /g MS).

Résultats & interprétations

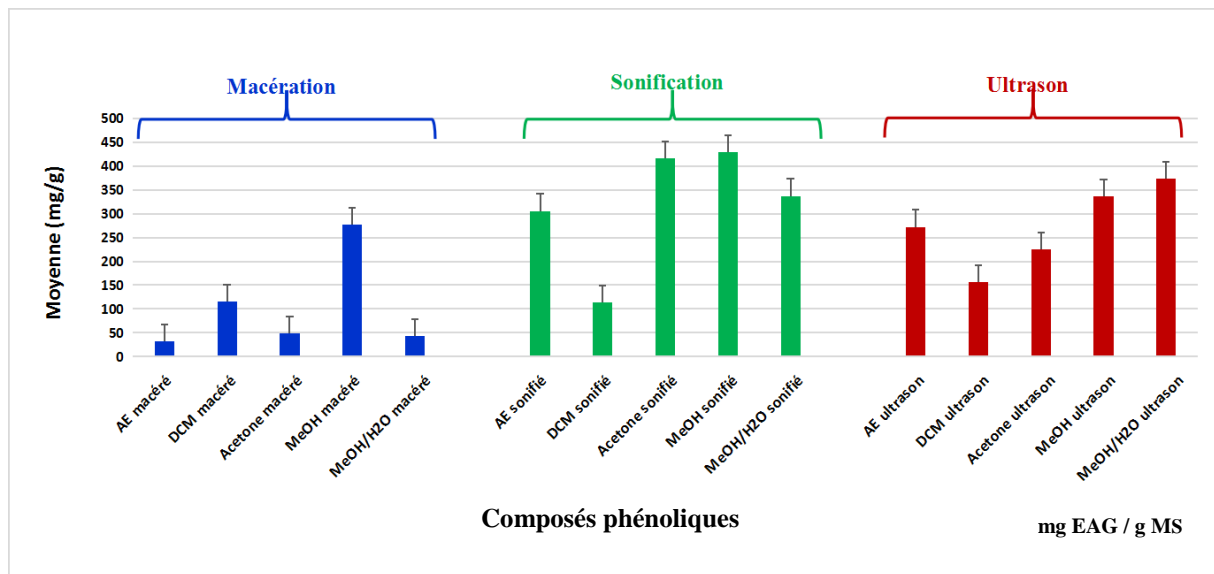


Figure 7 : Composés phénoliques issus de l'espèce *Ephedra alata*
Chaque valeur représente la moyenne ± Écart-type.

L'histogramme des teneurs en polyphénols (Figure 7) présente de différentes concentrations dans l'ordre de grandeur croissante pour chaque fraction.

- **Par macération :** le MeOH est responsable d'un pouvoir extracteur des fractions plus élevé ($276,3 \pm 18,385$ mg EAG/g MS) par rapport au DCM ($116 \pm 31,820$ mg EAG/g MS), à l'Acétone ($49,35 \pm 15,203$ mg EAG/g MS), au MeOH/H2O ($43,2 \pm 1,273$ mg EAG/g MS), et à l'Acétate d'éthyle ($31,9 \pm 8,910$ mg EAG/g MS).
- **Par sonification :** le MeOH est responsable d'un pouvoir extracteur des fractions plus élevé ($428,55 \pm 138,664$ mg EAG/g MS) par rapport à l'Acétone ($416,3 \pm 130,249$ mg EAG/g MS), au MeOH/H2O ($337,2 \pm 23,617$ mg EAG/g MS), à l'Acétate d'éthyle ($305,8 \pm 112,713$ mg EAG/g MS), et au DCM ($113,75 \pm 22,840$ mg EAG/g MS).
- **Par ultrasons :** le MeOH/H2O est responsable d'un pouvoir extracteur des fractions plus élevé ($372,85 \pm 45,184$ mg EAG/g MS) par rapport au MeOH ($337 \pm 12,304$ mg EAG/g MS), à l'Acétate d'éthyle ($272,35 \pm 54,377$ mg EAG/g MS), à l'Acétone ($224,8 \pm 23,900$ mg EAG/g MS). Et au DCM ($155,6 \pm 1,556$ mg EAG/g MS).

Le MeOH est chargé d'extraire la plus grande fraction de polyphénols par macération et sonification alors que par ultrasons c'est le MeOH/H2O. Le solvant de dernier recours c'est le DCM si l'extraction se fait par sonification ou ultrasons tandis que par macération c'est l'acétate d'éthyle.

2.2 Analyse quantitative des flavonoïdes

La quantité de flavonoïde a été déterminée en se référant à l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage utilisant la quercétine comme contrôle positif ($y = 1,8138x$, $R^2 = 0,998$) pour exprimer les résultats en milligrammes d'équivalents de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

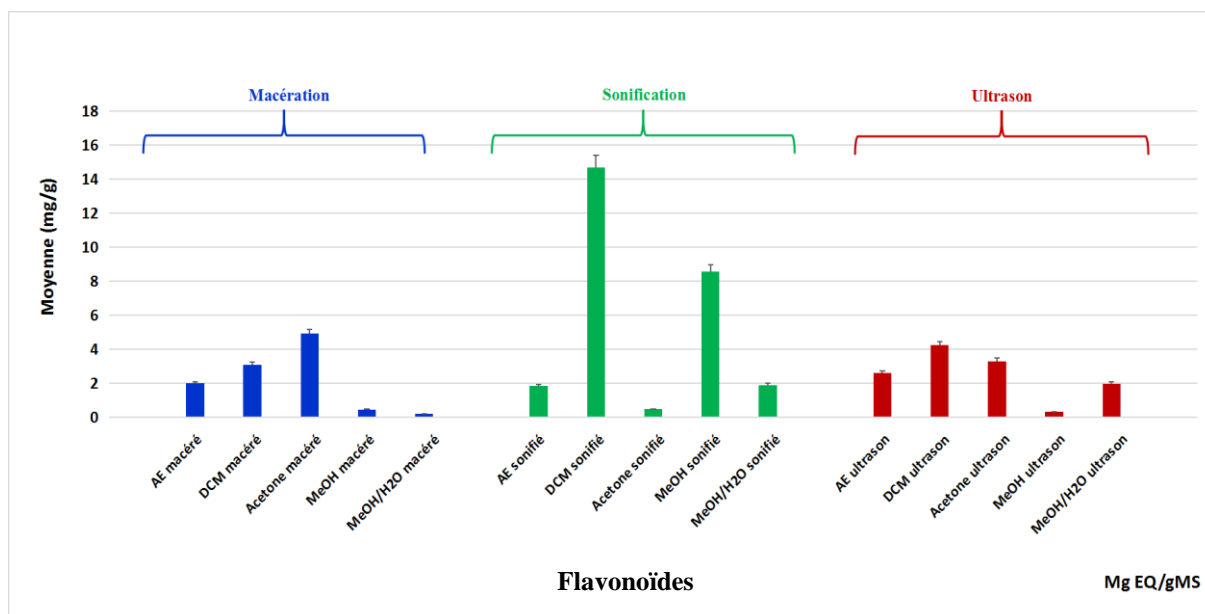


Figure 8 : Composés en flavonoïdes issus de l'espèce *Ephedra alata*
Chaque valeur représente la moyenne ± Écart-type.

Les teneurs totales en flavonoïdes résumés dans l'histogramme ci-dessus (figure 8) montrent une différence significative entre les moyennes pour chaque fraction dans un ordre croissant.

- **Par macération :** L'acétone macéré a enregistré une valeur plus élevée de (4.917 ± 2.527 mg EQ/g MS), par rapport au DCM (3.085 ± 3.273 mg EQ/g MS), à l'Acétate d'éthyle (1.987 ± 0.053 mg EQ/g MS), tandis que le MeOH et le MeOH/H2O quantifié la concentration des flavonoïdes à (0.4437 ± 0.0541 mg EQ/g MS et 0.1711 ± 0.01209 mg EQ/g MS).
- **Par sonification :** la plus forte valeur a été obtenue par le DCM (14.6625 ± 0.2368 mg EQ/g MS) suivi le MeOH (8.539 ± 3.00 mg EQ/g MS) par rapport au MeOH/H2O et à l'Acétate d'éthyle (1.874 ± 0.6392 mg EQ/g MS) et (1.824 ± 0.8032 mg EQ/g MS) suivi l'Acétone (0.451 ± 0.2022 mg EQ/g MS).

- **Par ultrason** : la capacité d'extraction du DCM et d'Acétone était plus élevée, estimée de $(4.215 \pm 3.0405 \text{ mg EQ/g MS})$ et $(3.285 \pm 0.0636 \text{ mg EQ/g MS})$ respectivement suivie par l'Acétate d'éthyle $(2.579 \pm 1.1073 \text{ mg EQ/g MS})$ et par MeOH/H₂O et MeOH $(1.9605 \pm 2.5137 \text{ mg EQ/g MS})$ et $(0.29275 \pm 0.02652 \text{ mg EQ/g MS})$.

Le DCM présente la teneur la plus élevée par les méthodes de sonification et d'ultrasons, suivi de l'acétone par la méthode de macération.

2.3 Analyse quantitative des tanins condensés

La quantification des tanins condensés a été réalisée selon la méthode de JULKUNEN (1985) qui se base sur la capacité de la vanilline en présence de HCl à réagir avec les tanins.

La teneur a été déterminée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage, en utilisant la catéchine comme étalon ($y = 0,218x$, $R^2 = 0,996$). Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de catéchine par gramme de matière sèche (mg EC /g MS).

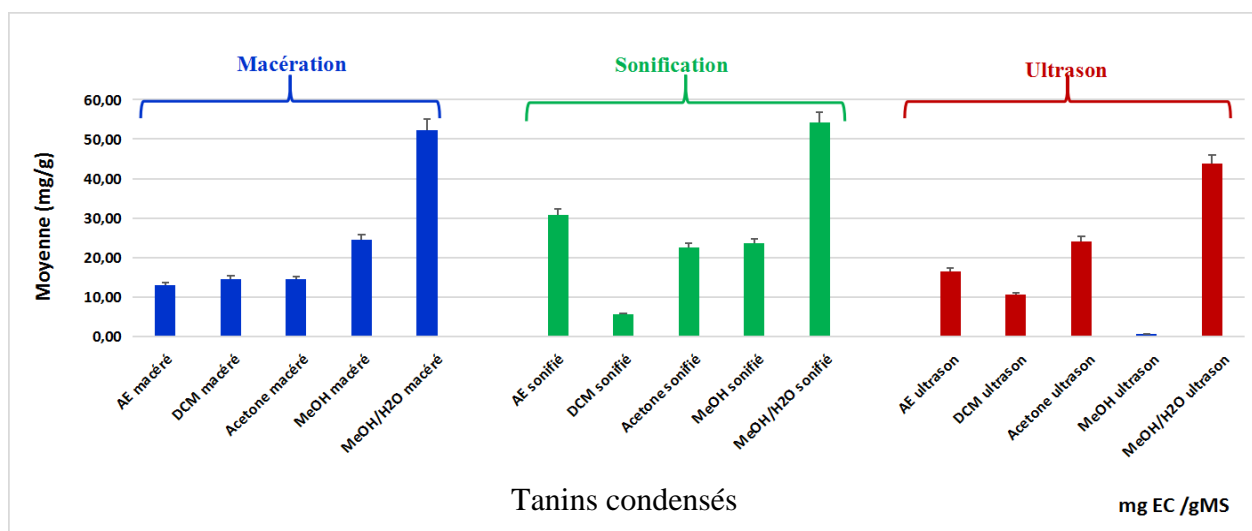


Figure 9 : Tanins condensés issus de l'espèce *Ephedra alata*
Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart-type.

L'histogramme de la teneur totale en tannins représenté ci-dessus (Figure 9) montre des différentes concentrations de chaque extrait augmentant par ordre de grandeur.

- **Par macération** : la capacité d'extraction de MeOH/H₂O est plus élevée estimée de $(52.39 \pm 7.53 \text{ mg EC/g MS})$ par rapport au MeOH et DCM $(24.53 \pm 31.74 \text{ mg EC/g MS})$, $(14.56 \pm 3.73 \text{ mg EC/g MS})$ respectivement, à l'Acétone et Acétate d'éthyle $(14.40 \pm 2.20 \text{ mg EC/g MS})$ et $(12.98 \pm 9.93 \text{ mg EC/g MS})$.

- **Par sonification** : le MeOH/H₂O est responsable d'un pouvoir extracteur des fractions plus élevé (54.13 ± 11.03 mg EC /g MS) par rapport à l'Acétate d'éthyle (30.69 ± 1.36 mg EC /g MS), au MeOH (23.62 ± 1.75 mg EC /g MS), à l'acétone (22.57 ± 0.39 mg EC /g MS), et au DCM (5.50 ± 6.62 mg EC /g MS).
- **Par ultrason** : la capacité d'extraction de MeOH/H₂O est plus élevée estimée de (43.89 ± 56.91 mg EC/g MS) par rapport à l'Acétone et Acétate d'éthyle (24.08 ± 0.32 mg EC/g MS) et (16.47 ± 0.71 mg EC/g MS) respectivement, au DCM et MeOH (10.55 ± 4.93 mg EC/g MS) et (0.28 ± 0.36 mg EC/g MS).

Le MeOH/H₂O est chargé d'extraire la plus grande fraction de tannins par macération, sonification et ultrasons.

3. Evaluation de l'activité antioxydante

3.1 Mesure de la capacité antioxydante totale (CAT)

La capacité antioxydante totale "CAT" de la plante *Ephedra alata* a été étudiée à l'aide de la méthode du phosphomolybdène de PRIETO et al. (1999). Les résultats sont présentés à l'aide de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage en utilisant l'acide gallique comme étalon antioxydant ($y = 2,1528 X + 0,4446$, $R^2 = 0,9958$).

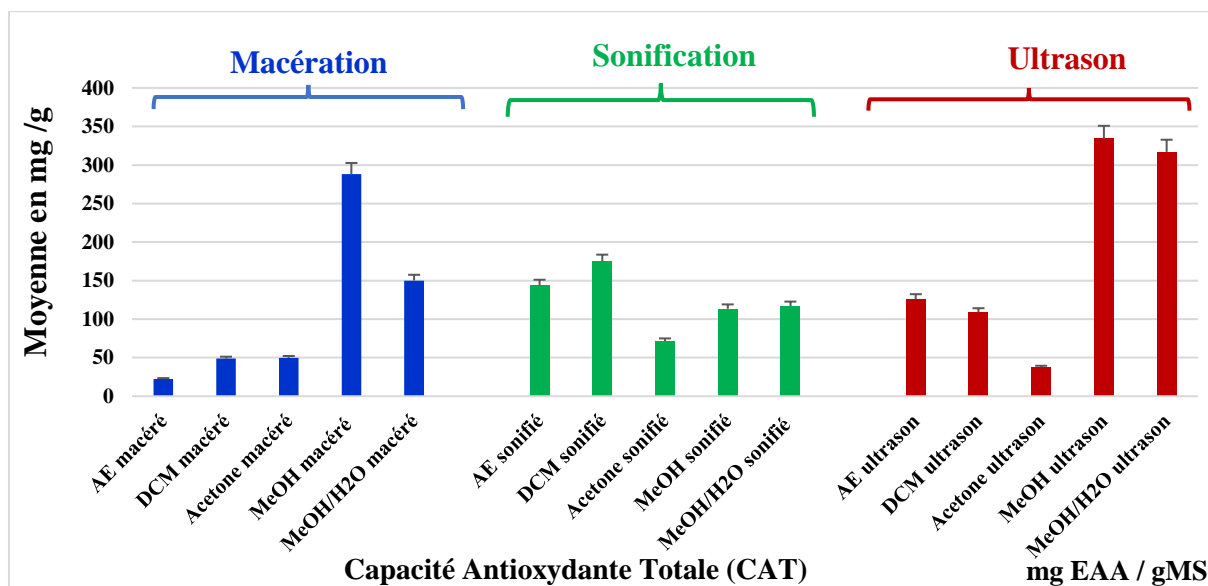


Figure 10 : Capacité antioxydante totale des extraits *d'Ephedra alata*
Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart-type.

Résultats & interprétations

L'histogramme ci-dessus (figure 10) confirme un pouvoir antioxydant des extraits testés à la concentration de 0.25 mg/ml.

- **Par macération** : La capacité antioxydante totale de MeOH enregistrée par les valeurs (288.22 ± 49.03 mg EAA/g MS) s'est révélée plus élevée comparée à celles du MeOH/H₂O (150.06 ± 44.32 mg EAA/g MS), d'Acétone (49.73 ± 9.90 mg EAA/g MS), du DCM (48.85 ± 11.14 mg EAA/g MS) et d'Acétate d'éthyle (22.41 ± 23.77 mg EAA/g MS).
- **Par sonification** : la capacité antioxydante totale du DCM est plus élevée estimée de (174.93 ± 0.24 mg EAA/g MS) par rapport à l'Acétate d'éthyle et MeOH/H₂O (143.93 ± 6.93 mg EAA/g MS) et (116.97 ± 12.87 mg EAA/g MS) respectivement, au MeOH et acétone (113.46 ± 2.97 mg EAA/g MS) et (71.44 ± 19.81 mg EAA/g MS).
- **Par ultrason** : la capacité antioxydante totale du MeOH est plus élevée (334.10 ± 20.80 mg EAA/g MS) par rapport au MeOH/H₂O (316.94 ± 21.79 mg EAA/g MS), à l'Acétate d'éthyle (126.07 ± 30.21 mg EAA/g MS), au DCM (108.74 ± 0.24 mg EAA/g MS), et à l'Acétone (37.64 ± 12.62 mg EAA/g MS).

Le pouvoir antioxydant de ces extraits est inférieur à celui de l'acide gallique (975 mg EAA/ g MS).

Le méthanol (MeOH) présente la plus grande capacité antioxydante totale lorsqu'il est utilisé pour la macération et l'utilisation des ultrasons, tandis que le dichlorométhane (DCM) montre cette capacité lorsqu'il est utilisé avec la sonification.

DISCUSSION

Le présent travail cible la caractérisation phytochimique de l'espece végétale *Ephedra alata* et d'évaluer sa capacité antioxydante totale.

Le rendement d'extraction est dépendant de plusieurs facteurs qui peuvent influencer les performances de l'extraction, tels que la nature du solvant, la température, le temps d'extraction et la taille des particules (Bourgon et al., 2020).

Les différents types d'extractions à base des solvants de différentes polarités amènent à des rendements massiques élevés pour les extraits : MeOH/H₂O agité (31%), MeOH sonifié (26%), MeOH/H₂O et MeOH macéré (24%), des rendements entre (10 et 20 %) issus du MeOH/H₂O, MeOH ultrason et l'Acétate d'éthyle. Ces données sont comparables à celle décrites par (Boussena et al., 2022).

Les résultats obtenus des analyses phytochimiques révèlent une composition intéressante en polyphénols, flavonoïdes, tanins condensés. Les meilleures fractions sont issues du traitement de sonification par rapport ceux de macération et ultrasons. Les teneurs en polyphénols, flavonoïdes, tanins condensés issus d'une concentration de 1mg/ml sont : $428,55 \pm 138,664$ mg EAG/g MS, $14,6625 \pm 0,2368$ mg EAG/g MS et $54,13 \pm 11,03$ mg EAG/g MS respectivement. Le taux des polyphénols étant le plus remarquable. Nos résultats sont plus élevés comparés à ceux obtenus par (Mahmoudi *et al.*, 2023) notamment pour les polyphénols et les tanins. Pour les teneurs en flavonoïdes, elles s'avèrent nettement supérieures à celles enregistrés par (Muna, 2022).

L'abondance en ces composés accorde à la plante des intérêts biologiques importants voir des propriétés pharmacologiques recherchée. Noter que les polyphénols sont considérés comme des prébiotiques potentiels et ont des propriétés anti- antioxydantes (Zhang *et al.*, 2022). Les flavonoïdes sont aussi dotés d'activités antimicrobiennes, immunitaires et œstrogénique (Rijke *et al.*; 2006). Quant aux tanins, ils se distinguent par des actions antiallergiques, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anti-hémorroïdaires (Kartik *et al.*, 2019).

L'activité antioxydante des extraits d'*Ephedra alata* marque un potentiel antioxydant impressionnant en ce qui concerne la capacité antioxydante totale avec une valeur de $334,10 \pm 20,80$ mg EAG/g MS pour le MeOH ultrason suivi par le MeOH macéré avec une valeur de $288,22 \pm 49,03$ mg EAG/ g MS, valeurs intéressantes par rapport à celle de l'acide ascorbique (AA). Il est à souligner que les résultats obtenus relatifs à la CAT sont mieux exprimés que ceux rapportés par (Bourgon et al., 2020 ; Al-Nemi *et al.*, 2022)

CONCLUSION

&

PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Les connaissances et l'utilisation des plantes médicinales sont un trésor inestimable pour l'humanité. Leur importance dans le domaine de la santé a été fortement soulignée ces dernières années, en raison des possibilités thérapeutiques qu'elles offrent.

Le but central de cette étude est d'effectuer une analyse phytochimique approfondie d'*ephedra alata* et d'explorer ses propriétés biologiques, en particulier leur activité antioxydante totale. Les résultats de nos extractions ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires contenant des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins condensés présentant un potentiel intéressant en termes d'activité antioxydante. Il est important de souligner que les métabolites susmentionnés ne constituent qu'une partie minime des composants globaux de la plante *Ephedra alata*. Ces composants nécessitent une exploration approfondie et une caractérisation complète, à la fois dans le contexte industriel et dans leur utilisation thérapeutique pour le traitement d'une multitude de pathologies affectant l'homme.

En perspective, concernant cette espèce végétale, nous recommandons de :

- Poursuivre l'étude à travers l'exploration d'autres méthodes notamment par le test de la réduction du fer (FRAP), le test de piégeage des radicaux libres du DPPH et le test du blanchiment du beta-carotène.
- Etudier la toxicité de la plante *in vivo*
- Explorer l'activité antimicrobienne, antidiabétique et autres
- Evaluer l'activité antioxydante en cas de stress oxydatif *in vivo*

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

- Achterberg J.,(2013) Imagery in healing: Shamanism and modern medicine. Shambhala Publications.
- Al-Nemi R , Arwa A. Makki, Khaled Sawalha, Dina Hajjar, Mariusz Jaremko.(2022) Targeted Metabolomic Profiling and Antioxidant Capacities of Different Solvent Crude Extracts of *Ephedra foeminea*. *Metabolites*, 12(5), 451
- Al-Qarawi, A.A., Abd Allah, E.F. et Hashem, A. (2012). Effect of *Ephedra alata* on nucleic acids and nitrogen metabolism of seedborne *Aspergillus flavus*. *Pak. J. Bot*; 44(1): pp. 425-428
- Al-Sanafi AE., (2017). Therapeutic importance of *Ephedra alata* and *Ephedra folita*-A review. *Indo Am. J. P. Sci*; 4(02), 399-406p.
- Al-Snafi Ae.,2017- phytochemical constituents and medicinal properties of *digitalis lanata* and *digitalis purpurea* - a review. *indo am j p sci* 2017; 4(02): 225-234
- Al-Snafi AE. Nutritional and pharmacological importance of *Ficus carica* - A review. *IOSR Journal of Pharmacy* 2017; 7(3): 33-48
- Amakura, Y., Yoshimura, M., Yamakami, S., Yoshida, T., Wakana, D., Hyuga, M., Hyuga, S., Hanawa, T. & Goda, Y- (2013). characterization of phenolic constituents from *ephedra* herb extract, *molecules*, 18, 5326-5334. 3
- Bell, A. & Bachman, S. 2011. *Ephedra alata*. The IUCN red list of threatened Species 2011
- Benarba, B.; Douad, O.; Gadoum, C.; Belhouala, K.; Mahdjour, S. 2021. Phytochemical Profile, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of *Ephedra alata* Decne Growing in South Algeria. *Preprints.org* 2021, 2021080296.
- Bensam Moufida ; Hocine Rechreche ; Abeer E. Abdelwahab , Marwa M. Abu-Serie, Safaa M. Ali., 2023. The role of Algerian *Ephedra alata* ethanolic extract in inhibiting the growth of breast cancer cells by inducing apoptosis in a p53- dependent pathway *Saudi Journal of Biological Sciences* Volume 30, Issue 6
- Bikash A., 2021. Roles of Alkaloids from Medicinal Plants in the Management of Diabetes Mellitus, *Journal of Chemistry*
- Bourgou Soumaya*, a, Ezzine Yosraa, Ben Mansour Rima, Dakhlaoui Sarraa, Selmi Sawsena, Bachkouel Sarrac, Msaada Kamela, Aidi-Wannes Wissema, Hiroko Isodab, Megdiche-Ksouri Wideda. (2020). Preliminary phytochemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of two Tunisian *Ephedra*

- species: *Ephedra alata* and *Ephedra fragilis*. *South African Journal of Botany* 135 (2020) 421_428.
- Boussena, A. abdelhadi, Bahri, F., Bouyahyaoui, A., Kouidri, M., & Meziane, M. (2022). screening of phytochemical, evaluation of phenolic content, antibacterial and antioxydant activities of ephedra alata from the algerian sahara. *Journal of Applied Biological Sciences*, 16(2), 220–229. Retrieved from <https://www.jabsonline.org/index.php/jabs/article/view/999>
 - Caveney, S., Charlet, D. A., Freitag, H., Maier-Stolte, M., & Starratt, A. N. (2001). New observations on the secondary chemistry of world *Ephedra* (*Ephedraceae*). *American journal of botany*, 88(7), 1199-1208.
 - Çetin R, Devrim E, Kılıçoğlu B, Avcı A, Çandır Ö, et al. (2006) Cisplatin impairs antioxidant system and causes oxidation in rat kidney tissues: possible protective roles of natural antioxidant foods. *Journal of Applied Toxicology* 26(1): 42-46
 - 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.
 - Chouitah O. 2019. The essential oil of Algerian *Ephedra alata* subsp. *alenda* and its antimicrobial properties. *J New Biol Rep* 8(3): 190-193.
 - Claude, C., & Attioui, Z. (2018). *Ephedra alata* Decaisne subsp. Maroc saharien.
 - Dbeibia A., Ben Taheur F., Khadijah A. Altammar b. et al. (2022) Control of *Staphylococcus aureus* methicillin resistant isolated from auricular infections using aqueous and methanolic extracts of *Ephedra alata*, *Saudi Journal of Biological Sciences* Volume 29, Issue 2, February 2022, Pages 1021-1028
 - Elhadef, Khaoula; Smaoui, Slim; Hlima, Hajer Ben; Ennouri, Karim; Fourati, Mariam; Mtibaa, Ahlem Chakchouk; Ennouri, Monia; Mellouli, Lotfi (2020). Effects of *Ephedra alata* extract on the quality of minced beef meat during refrigerated storage: A chemometric approach.
 - 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.

- Hegazi, G. A. E. M., & El-Lamey, T. M. (2011). In vitro Production of Some Phenolic Compounds from *Ephedra alata* Decne. *J. Appl. Environ. Biol. Sci*, 1(8), 158-163 (Hegazi et El-Lamey, 2011)
- Ibragic, S. and Sofić, E. (2015) 'Chemical composition of various *Ephedra* species', *Bosnian journal of basic medical sciences*, 15(3), pp. 21-2
- Jaradat, N., Dacca, H., Hawash, M., Abualhasan, MN. (2021): *Ephedra alata* fruit extracts: phytochemical screening, anti-proliferative activity and inhibition of DPPH, α -amylase, α glucosidase, and lipase enzymes. *Journal of BMC Chemistry* 15(1):41.
- Jaradat, N., Hussen, F. & Ali, A., 2015- preliminary phytochemical screening, quantitative estimation of total flavonoids, total phenols and antioxidant activity of *Ephedra alata* decne. *Materiel and equipement standard for matériel. International standard serial number: 2028-2508. Journal of materiel and environmental science*. 6 (6) 1771-1778
- Joanna K., 2019. Introductory Chapter: Alkaloids - Their Importance in Nature and for Human Life
- Kartik Sharma, Vikas Kumar, Jaspreet Kaur, Beenu Tanwar, Ankit Goyal, Rakesh Sharma, Yogesh Gat & Ashwani Kumar (2019): Health effects, sources, utilization and safety of tannins: a critical review, *Toxin Reviews*.
- Lamine, J.B., Boujbiha, M.A., Dahane, S., Cherifa, A.B., Khlifi, A., Chahdoura, H., Yakoubi, M.T., Ferchichi, S., El Ayeb, N., Achour, L. (2019): α -amylase and α glucosidase inhibitor effects and pancreatic response to diabetes mellitus on wistar rats of *ephedra alata* areal part decoction with immunohistochemical analyses. *Environ. Sci. Pollut. Res* 26: 9739-9754
- Limberger R. P., Jacques A. L. B., Schmitt G. C., Arbo M. D., 2013. Pharmacological effects of ephedrine, *Natural products (ouvrage)* : 1218-1237.
- Mahmoudi, M., Boughalleb, F., Maaloul, S. *et al.* Phytochemical Screening, Antioxidant Potential, and LC-ESI-MS Profiling of *Ephedra alata* and *Ephedra altissima* Seeds Naturally Growing in Tunisia. *Appl Biochem Biotechnol* (2023).
- 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.
- Mancianti, F.; Ebani, V.V. Biological Activity of Essential Oils. *Molecules* 2020, 25, 678.

- Mighri, H., Akrou, A., Bennour, N., Eljeni, H., Zammouri, T., & Neffati, M. (2019). LC/MS method development for the determination of the phenolic compounds of Tunisian *Ephedra alata* hydro-methanolic extract and its fractions and evaluation of their antioxidant activities. *South African Journal of Botany*, 124, 102-110.
- Muna Hasson Saoudi, Evaluation of Phytochemical, proximate analysis, mineral composition and polyphenolic contents of aqueous extract of (*Ephedra* (*Alata*) leaves, *J PHARM NEGATIVE RESULTS* 2022;13: 715-719.
- Okou O.C., Yapo S.E.S., Kporou S.K.E., Baibo G.L., Monthaut S., Djaman A.J, 2018 - Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de *Solanum torvum* Swartz (Solanaceae) sur la croissance in vitro de 3 souches d'entérobactéries, *N Journal of Applied Biosciences* 122: 12287-12295p.
- Ouguirti, N., Bahri, F., Bouyahyaoui, A., Wanner, J. (2021): Chemical characterization and bioactivities assessment of *Artemisia herba-alba* Asso essential oil from South-western Algeria. *Natural Volatiles, Essential Oils* 8(2): 27-36
- Ozenda, P.(1991). Flore et végétation du Sahara. Centre National De La Recherche Scientifique, Paris (3ème Ed.). 662p
- 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
- 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
- Saidi Saber Abdelkader, Turki M Al-Shaikh, Othman A Alghamdi, Khaled Hamden., 2022. *Ephedra alata* subsp. *alenda* (Ephedraceae) leaf extracts: phytochemical screening, anti-diabetic, anti-obesity and anti-toxic activities on diabetic-induced liver-kidney-testes toxicities and inhibition of α -amylase and lipase enzymes.
- Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L., Douira, A. 2010. Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa*, 31: 133-146
- Sioud, F., Ben Toumia, I., Lahmer, A. et al. Methanolic extract of *Ephedra alata* ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity through reducing oxidative stress and genotoxicity. *Environ Sci Pollut Res* 27, 12792–12801 (2020).

- 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
- Tiss, M., Souiy, Z., Achour, L. and Hamden, K. (2022), "Ephedra alata extracts exerts anti-obesity, anti-hyperglycemia, anti-antipyretic and analgesic effects", *Nutrition & Food Science*, Vol. 52 No. 1, pp. 119-128.
- Waller, G.R., Nowacki, E.K. (1978). The Role of Alkaloids in Plants. In: *Alkaloid Biology and Metabolism in Plants*. Springer, Boston, MA.
- Zang, X., Shang, M., Xu, F., Liang, J., Wang, X., Mikage, M. et Cai, S. (2013). A-Type Proanthocyanidins from the Stems of *Ephedra sinica* (Ephedraceae) and Their Antimicrobial Activities. *Molecules*;18 (5): pp. 5172-5189.
- Zhang, Z.; Li, X.; Sang, S.;McClements, D.J.; Chen, L.; Long, J.;Jiao, A.; Jin, Z.; Qiu, C. Polyphenols as Plant-Based Nutraceuticals:Health Effects, Encapsulation,Nano-Delivery, and Application. *Foods* 2022, 11, 2189.
- Zheng E., Navarro V., 2016. Liver injury due to herbal and dietary supplements: Areview of individual ingredients, *Clinical liver disease* 7: 81 p.
- Ziani, B.E.C., Heleno, S.A., Bachari, K., Dias, M.I., Alves, M.J., Barros, L., Ferreira, I.C.F.R. (2019): Phenolic compounds characterization by LC-DAD- ESI/MSn and bioactive properties of *Thymus algeriensis* Boiss. &Reut. and *Ephedra alata* Decne. *Food Research International*116: 312-319.

المخلص

في الجزائر، تُستخدم نبتة الإفيدرا العلتا (العنددة) على نطاق واسع في الطب التقليدي لعلاج مختلف الأمراض. هدف هذا العمل هو توصيف الخصائص الكيميائية للنبات وتقييم القدرة الكلية على مكافحة الأكسدة لهذا النوع النباتي. باستخدام مذيبات ذات قطبية مختلفة، وقياس (E1-E15) الأهداف المحددة تتضمن تحسين تقنيات الاستخلاص مستويات المركبات الفينولية، وتقييم القدرة الكلية على مكافحة الأكسدة للنبات. تُظهر نتائج تقييم العائدات الكتلية لطرق الاستخلاص المختلفة نتائج ملحوظة، وخاصةً بالنسبة لمستخلص الميثانول/الماء المصوّت عند 31% ومستخلص الميثانول المصوّت عند 26%. كشفت دراستنا عن وفرة في البوليفينولات والفلافونويدات والتانين المكثف، بقيم (غرام من الجاف/EQ ملغ) 0.23 ± 14.66 (غرام من الجاف/EAG ملغ) متسلسلة تبلغ 428.55 ± 138.66 ، على التوالي. وبالنسبة للقدرة الكلية على مكافحة الأكسدة، تم تقدير (غرام من الجاف/EC ملغ) 54.13 ± 11.03 تستحق هذه التقييمات. (غرام من الجاف/EAA ملغ) 20.80 ± 334.10 إمكانية مكافحة الأكسدة الجيدة بمقدار الأولية مزيداً من الاختبارات الكيميائية النباتية التي تكشف عن خصائص أخرى لهذا النوع النباتي.

الكلمات المفتاحية: تقديرات - مركبات فينولية - أنشطة بيولوجية - نشاط مضاد للأكسدة - الإفيدرا.

Résumé

En Algérie, l'*Ephedra alata* (alenda) est une plante médicinale largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour diverses pathologies. Le but de ce travail est la caractérisation phytochimique et l'évaluation de la capacité antioxydante totale de cette espèce végétale.

Les objectifs ciblés concernent l'optimisation des techniques d'extraction (E) allant de E1-E15 via l'utilisation de solvants de polarité différentes, le dosage des composés phénoliques et l'évaluation de la capacité antioxydante totale de cette espèce végétale.

L'évaluation des rendements massiques des différentes méthodes d'extraction révèle des résultats notables, notamment pour l'extrait MeOH/H₂O sonifié à 31% et l'extrait MeOH sonifié à 26%. Les résultats prometteurs de notre étude ont révélé une richesse en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés, avec des valeurs respectives de $428,55 \pm 138,66$ (mg EAG/g MS), $14,66 \pm 0,23$ (mg EQ/g MS) et $54,13 \pm 11,03$ (mg EC/g MS). En ce qui concerne la capacité antioxydante totale, un potentiel antioxydant intéressant a été estimé à $334,10 \pm 20,80$ (mg EAA/g MS).

Cette évaluation préliminaire mérite l'implication d'autres test phytochimiques mettant en lumière d'autres propriétés de cette espèce végétale.

Les mots clés : *Ephedra alata* - dosages - composés phénoliques - capacité antioxydante totale.

.....

Abstract

In Algeria, *Ephedra alata* (alenda) is a medicinal plant widely used in traditional medicine for various diseases. The aim of this study is the phytochemical characterization and evaluation of the total antioxidant capacity of this plant species.

The targeted objectives involve optimizing the extraction techniques (E) ranging from E1-E15 using solvents of different polarities, quantifying phenolic compounds, and evaluating the total antioxidant capacity of this plant.

The evaluation of the mass yields from the different extraction methods reveals notable results, especially for the MeOH/H₂O extract sonicated at 31% and the MeOH extract sonicated at 26%. The promising results of our study have revealed a richness in polyphenols, flavonoids, and condensed tannins, with respective values of 428.55 ± 138.66 (mg GAE/g DW), 14.66 ± 0.23 (mg QE/g DW), and 54.13 ± 11.03 (mg CE/g DW). As for the total antioxidant capacity, an interesting antioxidant potential was estimated at 334.10 ± 20.80 (mg AAE/g DW). This preliminary evaluation warrants further phytochemical tests to shed light on other properties of this plant species.

Keywords: *Ephedra alata* - quantification - phenolic compounds - biological activities - antioxidant activity.

