

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie



Laboratoire de recherche

« Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique »



**Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du
diplôme de Master**

DOMAINE : SNV

FILIERE : Sciences biologiques

SPECIALITE : « Biochimie »

**Analyse phytochimique et Evaluation de l'activité antioxydante
de quelques extraits d'*Ephedra alata*"**

Présenté par :

KOUDAD Nesrine et LAHMAR Dalal

Soutenu publiquement, le 11 juin 2026 Devant le jury :

<u>Nom et prénom</u>	<u>Grade</u>	<u>Qualité</u>	<u>Université</u>
Mlle MEZOUAR D.	MCA	Présidente	Université de Tlemcen
Mme ADIDA H.	MCA	Examinatrice	Université de Tlemcen
Mme BELKACEM N.	MCA	Promotrice	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2025-2026

فَرِحِينَ بِمَا آتَاهُمُ اللَّهُ مِنْ فَضْلِهِ .



Remerciements

Il est difficile de trouver les mots justes pour exprimer toute ma gratitude à l'issue de ce travail, qui représente l'aboutissement de plusieurs années d'études, d'efforts et de persévérance.

Tout d'abord, je remercie **Allah** le Tout-Puissant de m'avoir accordé la santé, la force, la patience et le courage nécessaires pour mener à bien ce mémoire.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mon encadrure **BELKACEM N.**, Maître de conférences A au Département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen, pour son accompagnement, sa disponibilité, ses précieux conseils et son soutien constant tout au long de la réalisation de ce travail. Son expertise et ses orientations ont largement contribué à l'aboutissement de cette étude.

J'adresse également mes sincères remerciements aux membres du jury Mlle **MEZOUAR D.**, Maître de conférences A au Département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen, pour avoir accepté de présider le jury Et Mme **ADIDA H.**, Maître de conférences A au Département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen pour avoir accepté d'examiner ce travail, pour l'honneur qu'ils me font en acceptant d'évaluer ce travail et pour l'intérêt qu'ils lui portent.

Je tiens à adresser mes plus vifs remerciements à **mes parents** et à toute ma famille pour leur amour, leurs sacrifices, leurs encouragements et leur soutien indéfectible. Leur confiance a toujours été une source de motivation et de détermination.

Je remercie aussi les membres du laboratoire ainsi que toutes les personnes qui m'ont aidée, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Enfin, j'adresse ma sincère reconnaissance à toutes les personnes qui ont participé à mon parcours académique et qui ont contribué, chacune à sa manière, à l'aboutissement de ce travail.

Veuillez accepter l'expression de ma profonde gratitude et de mes sincères remerciements.



DÉDICACE

Du profond de mon cœur je dédie ce travail :

*Avant tout je remercie **ALLAH** le très haut de nous avoir donné la force, la volonté et la patience de suivre nos études, réaliser et d'achever ce modeste travail*

J'ai passée des moments difficiles, plus d'une fois j'ai pensé que je ne verrai jamais le bout du tunnel. Chacun de ces moments tu étais là pour me réconforter et m'aider à trouver des solutions. Je ne te remercierai jamais assez pour tout ce que tu as fait pour moi tous les cinq épuisantes années « un grand merci à moi »

A ma famille, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui :

Particulièrement :

A ma très chère mère

La bougie de ma vie, la source d'amour, la chandelle qui m'a allumé le chemin vers la réussite, qui m'a toujours guidée avec ses précieux conseils, ma source de force qui m'a encouragé à aller de l'avant, quoi que je fasse ou que je dis, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Merci pour tout ce que vous m'avez donné depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours

A mon très cher papa

L'épaule solide, l'œil compréhensif et la personne le plus digne et mon estime de mon respect. Tous les jours, vous étiez là pour me protéger, m'éduquer, me guider, je veux vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi et pour votre présence à mes côtés qui a toujours été me soutenir et m'encourager

Mes parents nulle dédicace n'est susceptible de vous exprimer mes profondes affections et mes Immenses gratitudes pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour mes éducations et mes études, Puisse dieu prêter bonne santé et longue vie.

*A ma promotrice **Mme BELKACEM N**, merci beaucoup pour son encadrement, sa disponibilité et son soutien tout au long de ce travail*

*A mes chères frères **Salah Eddine** et **Oissini** . Merci d'être toujours avec moi que dieu vous garde pour moi*

*À mon cher membre de la famille, **Zalegh Habib** ainsi qu'à toute sa famille, qui m'a aidée avec générosité et bienveillance en me fournissant la plante utilisée dans cette étude. Je lui adresse mes sincères remerciements pour son soutien précieux et son aide appréciable dans la réalisation de ce travail.*

*A ma binôme "**Dafal**" que j'aime beaucoup et avec que j'ai partagé le bonheur et le malheur tout au long mon cursus d'études, merci pour tout ce que tu as fait pour la réussite de ce travail.*

*A mes chères copines avec lesquelles j'ai passé des moments agréables et inoubliables que je ne vais jamais oublier et avec qui j'ai partagé ces dernières années : **Amina, Chaïma, Samia, Hanaa, Hadjer, Soumia, Sarah** et **Douaa** Que nos liens restent toujours solides et que Dieu nous apporte bonheur et nous aide à réaliser tous nos vœux, Je vous aime énormément.*

A toutes mes connaissances merci pour votre soutien, vos encouragements et les agréables moments partagés tout au long de ce parcours. Votre présence a contribué, de près ou de loin, à l'aboutissement de ce travail

A toute la promotion A tout personne qui a un sentiment d'amour et de respect envers moi, je vous dis «merci»

Réalisé par : Nesrine



Tout d'abord, je remercie **Allah** le Tout-Puissant, le Miséricordieux, de m'avoir donné la force, la patience et la volonté pour mener à bien ce travail. Louange à Lui qui m'a guidée et éclairée tout au long de ce parcours.

— Je tiens à exprimer ma profonde gratitude :

À mon très cher père

Pour ton amour, tes sacrifices et tous les efforts que tu as consentis pour mon éducation et ma réussite. Merci pour ton soutien constant, tes conseils précieux et ta confiance en moi. Que Dieu te protège, te comble de bonheur, de santé et de longue vie.

À ma très chère mère,

Pour ton amour infini, ta tendresse, ta patience et tes encouragements qui m'ont accompagnée à chaque étape de mon parcours. Merci pour tous les sacrifices que tu as faits pour mon bonheur et ma réussite. Que Dieu te garde, te bénisse et t'accorde santé, bonheur et longue vie.

Aucun mot ne saurait exprimer toute ma gratitude et mon affection envers vous. Ce travail est le fruit de vos efforts, de votre soutien et de vos prières. Puisse Dieu vous préserver et vous récompenser pour tout ce que vous avez fait pour moi.

À Ma promotrice **madame Belkacem** Pour son encadrement précieux, sa disponibilité, ses conseils et sa patience.

À ma binôme **Koudad Nesrine** Partenaire de ce parcours, merci pour ton soutien, ta patience et ton travail acharné. Sans toi, ce mémoire n'aurait pas vu le jour. Que Dieu nous récompense toutes les deux,

À mes chères amies (**yousra, chaima, douaa, bouchra, samia, hadjer, manel**), Pour votre présence, vos encouragements et tous les moments de joie partagés. Vous êtes des sœurs que la vie m'a offertes.

À mes chers frères et à ma chère sœur, Pour vos encouragements et votre force qui m'ont aidée à avancer.

À toute ma grande famille, Mes oncles, mes tantes et leurs enfants, merci pour vos prières, vos conseils et votre soutien indéfectible. Que Dieu vous bénisse et vous rende heureux,

À tous les enseignants qui ont contribué à ma formation.

À toute personne qui, de près ou de loin, m'a aidée et soutenue pour la réalisation de ce mémoire. Merci à tous.

Réalisé par : Dalal



Résumé

Les plantes médicinales riches en métabolites secondaires représentent une source importante d'antioxydants naturels capables de limiter les dommages oxydatifs. Dans ce contexte, cette étude a porté sur l'évaluation de la composition phytochimique et de l'activité antioxydante des extraits aqueux d'*Ephedra alata* préparé par trois méthodes d'extraction (infusion, reflux et macération).

Les résultats ont montré que l'extrait obtenu par infusion présente le rendement d'extraction le plus élevé de l'ordre de 34,5 %, tandis que les extraits obtenus par reflux et macération présentent le même rendement de 24,5 %. L'analyse phytochimique a révélé une forte présence d'alcaloïdes et de composés réducteurs dans tous les extraits, ainsi que la présence de tanins et de terpénoïdes.

Le dosage des composés phénoliques a montré que l'extrait obtenu par reflux possède la teneur la plus élevée en polyphénols totaux de l'ordre $238,09 \pm 9,33$ mg EAG/gE. Concernant les flavonoïdes, l'extrait préparé par infusion présente la teneur la plus élevée de l'ordre de $41,80 \pm 7,24$ mg EQC/gE. Ce même extrait présente la teneur la plus élevée en tanins condensés de $482,83 \pm 89,78$ mg EQC/gE.

L'évaluation de l'activité antioxydante par les méthodes DPPH et FRAP a révélé une importante activité antioxydante des différents extraits, liée principalement à leur richesse en composés phénoliques. L'extrait préparé sous reflux a présenté la meilleure activité antioxydante vis-à-vis du radical DPPH ($IC_{50}=0,66$ mg/mL) et la réduction du fer ($EC_{50}=20,72$ mg/mL). Comparativement aux standards utilisés, l'acide ascorbique et le BHA présentent une très puissante activité ($IC_{50}=0,106$ mg/mL et $EC_{50}=1,85$ mg/mL, respectivement).

Cette étude confirme le potentiel antioxydant d'*Ephedra alata* et met en évidence l'influence de la méthode d'extraction sur la composition phytochimique et l'activité biologique des extraits.

Mots-clés : Stress oxydatif, *Ephedra alata*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, DPPH, FRAP.

Abstract

Medicinal plants rich in secondary metabolites represent an important source of natural antioxidants capable of limiting oxidative damage. In this context, the present study focused on evaluating the phytochemical composition and antioxidant activity of aqueous extracts of *Ephedra alata* prepared using three extraction methods: infusion, reflux, and maceration.

The results showed that the infusion extract exhibited the highest extraction yield, reaching **34.5%**, whereas the reflux and maceration extracts showed the same yield of **24.5%**. Phytochemical screening revealed a strong presence of alkaloids and reducing compounds in all extracts, as well as the presence of tannins and terpenoids.

The determination of phenolic compounds showed that the reflux extract possessed the highest total polyphenol content, reaching **238.09 ± 9.33 mg GAE/gE**. Regarding flavonoids, the infusion extract exhibited the highest content, amounting to **41.80 ± 7.24 mg CE/gE**. The same extract also showed the highest condensed tannin content, with a value of **482.83 ± 89.78 mg CE/gE**.

The evaluation of antioxidant activity using the DPPH and FRAP assays revealed significant antioxidant potential in all extracts, mainly associated with their richness in phenolic compounds. The reflux extract demonstrated the strongest antioxidant activity against the DPPH radical (**IC₅₀ = 0.66 mg/mL**) and ferric reducing power (**EC₅₀ = 20.72 mg/mL**). In comparison, the reference standards, ascorbic acid and BHA, exhibited very strong activities (**IC₅₀ = 0.106 mg/mL** and **EC₅₀ = 1.85 mg/mL**, respectively).

This study confirms the antioxidant potential of *Ephedra alata* and highlights the influence of the extraction method on the phytochemical composition and biological activity of the extracts.

Keywords: Oxidative stress, *Ephedra alata*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, DPPH, FRAP.

الملخص

تُعدّ النباتات الطبية الغنية بالمركبات الثانوية مصدراً مهماً لمضادات الأكسدة الطبيعية القادرة على الحد من الأضرار الناتجة عن الإجهاد التأكسدي. وفي هذا الإطار، هدفت هذه الدراسة إلى تقييم التركيب الكيميائي النباتي والنشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات المائية لنبات العلندة المحضّرة بثلاث طرق استخلاص مختلفة وهي: النقع، الغليان والنقع في الماء البارد.

أظهرت النتائج أن المستخلص المتحصل عليه بطريقة النقع أعطى أعلى مردود استخلاص بلغ 34,5 % في حين بلغ مردود الاستخلاص لكل من مستخلصي الغليان والنقع في الماء البارد 24,5 %. كما كشف التحليل الكيميائي النباتي عن وجود وفير للقلويدات والمركبات المرجعة في جميع المستخلصات، إضافة إلى وجود العفص والتربينويدات.

وبين تقدير المركبات الفينولية أن المستخلص المحضّر بطريقة الغليان يمتلك أعلى محتوى من البوليفينولات الكلية، حيث بلغ $238,09 \pm 9,33$ ملغ مكافئ حمض الغاليك/غ من المستخلص، فيما يخص الفلافونويدات فقد أعطى مستخلص النقع أعلى نسبة قدرت ب $41,80 \pm 7,24$ ملغ مكافئ الكاتشين/غ من المستخلص، نفس المستخلص أعطى أعلى نسبة من العفص بقيمة $482,83 \pm 89,78$ ملغ مكافئ الكاتشن/غ من المستخلص.

كما أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستعمال طريقتي الجذر الحر DPPH و إرجاع الحديد FRAP فعالية مضادة للأكسدة معتبرة لدى مختلف المستخلصات، ويُعزى ذلك أساساً إلى غناها بالمركبات الفينولية. وقد أظهرت الاختبارات أن مستخلص الغليان يمتلك أفضل نشاط مضاد للأكسدة، حيث بلغت قيمة التثبيط المتوسطة 0,66 ملغ/مل ضد الجذر الحر DPPH و $20,72$ ملغ/مل لإرجاع الحديد. مقارنة بالمراجع المستعملة، كانت فعالية المستخلصات منخفضة نوعاً حيث بلغت قيمة التثبيط المتوسطة لحمض الأسكوربيك 0,106 ملغ/مل ضد الجذر الحر DPPH و BHA $20,72$ ملغ/مل لإرجاع الحديد.

تؤكد هذه الدراسة الإمكانيات المضادة للأكسدة لنبات العلندة كما تبرز تأثير طريقة الاستخلاص في التركيب الكيميائي النباتي والنشاط البيولوجي للمستخلصات.

الكلمات المفتاحية: العلندة ، فرط الأكسدة ، البوليفينولات، الفلافونويدات، النشاط المضاد للأكسدة الجذر الحر

DPPH ، إرجاع الحديد FRAP

Liste des tableaux

Tableau 1: Fonction des antioxydants enzymatiques lors du stress abiotique chez les plantes.....	14
Tableau 2: Fonctions des antioxydants non enzymatiques lors du stress abiotique chez les plantes	15
Tableau 3: Rendements et caractéristiques des divers extraits d'<i>Ephedra alata</i>.	41
Tableau 4 : Résultats de l'analyse phytochimique des extraits aqueux d'<i>Ephedra alata</i>	42
Tableau 5: Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensé dans les différents extraits d'<i>Ephedra alata</i>	44
Tableau 6 : Valeurs IC₅₀ de différents extraits d'<i>Ephedra alata</i> et de la molécule de référence.....	49
Tableau 7: Valeurs EC₅₀ de différents extraits d'<i>Ephedra alata</i> et de la molécule de référence.....	54

Liste des figures

Figure 1: Sources exogènes et endogènes des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et leurs effets dans le stress oxydatif.....	4
Figure 2:Dommages oxydatifs aux biomolécules	7
Figure 3: Classification des antioxydants	9
Figure4 : les principaux éléments des mécanismes de défense antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.....	10
Figure 5 : Schématisation des molécules intervenant dans les protections des cellules procaryotes animales.	13
Figure 6 : Réduction du radical DPPH par un antioxydant	17
Figure 7 : Structure du radical-cation ABTS ⁺	18
Figure 8: Réduction du Fe ³⁺ en Fe ²⁺ par un antioxydant	18
Figure 9: <i>Ephedra alata</i> Decne	23
Figure 10 : <i>Ephedra fragilis</i>	23
Figure 11: <i>Ephedra nebrodensis</i> Tineo.....	23
Figure 12 : <i>Ephedra altissima</i>	24
Figure 13 : <i>Ephedra distachya</i> L	24
Figure 14 : Voies de biosynthèse des métabolites secondaires chez les plantes.	26
Figure 15 : Biosynthèse des composés phénoliques et des flavonoïdes.	28
Figure 16 : <i>Ephedra alata</i>	31
Figure 17: <i>Ephedra alata</i> broyée	31
Figure 18 : Schéma récapitulatif des différentes étapes du protocole expérimental réalisé sur <i>Ephedra alata</i>	33
Figure 19: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	43
Figure 20: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	43
Figure 21: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés ...	43
Figure 22: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'EA-inf d' <i>Ephedra alata</i>	45
Figure 23: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'EA-Ref d' <i>Ephedra alata</i> ..	46
Figure 24: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par L'EA-Mac d' <i>Ephedra alata</i> ..	47
Figure25: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique.....	48
Figure 26 : Réduction du fer par l'EA-Inf d' <i>Ephedra alata</i>	50

Figure 27: Réduction du fer par l'EA-Ref d'<i>Ephedra alata</i>	51
Figure 28 : Réduction du fer par l'EA-Mac d'<i>Ephedra alata</i>.....	52
Figure 29 : Réduction du fer par le BHA d'<i>Ephedra alata</i>	53

Liste des abréviations

%:pourcentage
¹O₂:Le singlet d'oxygène
ABTS:2,2'-azinobis,3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique
AlCl₃:trichlorure d'aluminium
APX:L'ascorbate peroxydase
AsA:Ascorbate
BHA:butylated hydroxyanisole
CAT:catalase
CUPRAC:Cupric Reducing Antioxi dant Capacity
DPPH:2,2diphényl-1-picrylhydrazyle
EAG:équivalent acide gallique
EC₅₀:concentration efficace à 50%
EQC:équivalent quercétine
ERO:espèces réactives de l'oxygène
Fe²⁺:fer ferreux
Fe³⁺:fer ferrique
FeCl₃:ferric chloride
FRAP:ferric reducing antioxidant power
Ge:gramme d'extrait
GPx:la glutathion peroxydase
GR:La glutathion réductase
GSH:Le glutathion réduit
GSSG:glutathion oxydé
GST:Glutathion S-transférases
H₂O₂:Le peroxyde d'hydrogène
H₃PMo₁₂O₄₀:phosphomolybdique
H₃PW₁₂O₄₀:phosphotungstique
HCl:acide chlorhydrique
HPLC et LC-MS:des analyses chromatographiques
HPLC, ELISA ou MS/MS:des méthodes analytiques
IC₅₀:concentration inhibitrice à 50%
LOO•:peroxydes, 4
LOOH:hydroperoxydes
MDA:malondialdéhyde
min:minute
ml:millilitre
Mn-SOD:superoxyde dismutase mitochondriale
Na₂CO₃:carbonate de sodium
NaOH:hydroxyde de sodium
NH₄OH:ammonium hydroxide
nm:nanomètre
O₂•⁻:Le superoxyde
OH•:Le radical hydroxyle
ph:potentiel hydrogène
ROS:espèces réactives de l'oxygène
SOD:La superoxyde dismutase
TCA:l'acide trichloracétique
TFC:total flavonoid content
TOSC:Total Oxyradical Scaveng ing Capacity
UV :ultraviolet

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

Partie synthèse bibliographie

CHAPITRE I : STRESS OXYDATIF

1. Définition.....	3
2. Sources et nature des espèces réactives de l'oxygène (ROS)	3
2.1. Définition des ROS	3
2.2. Les sources endogènes et exogènes	5
2.3. Rôles physiologiques des ROS	5
2.4. Rôle pathologique des ROS et implications	6
3. Dommages oxydatifs	6
3.1. Peroxydation lipidique.....	7
3.2. Dommages oxydatifs aux protéines.....	7
3.3. Dommages à l'ADN	7
4. Systèmes antioxydants	8
4.1. Antioxydants enzymatiques.....	9
4.2. Antioxydants non enzymatiques.....	10
4.3. Localisation cellulaire des antioxydants chez les plantes.....	10
4.4. Rôle des plants dans l'activité antioxydants.....	13
5. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydants	17
5.1 Méthodes <i>in vitro</i>	17
5.2 Méthodes <i>in vivo</i>	20

CHAPITRE II: *Ephedra alata*

1. Introduction.....	22
2. Répartition géographique et écologie	22
3. Classification botanique et position systématique	22
4. Diversité des espèces du genre <i>Ephedra</i>	22
5. Composition phytochimique	24
6. Intérêt des métabolites secondaires d' <i>Ephedra alata</i> et leurs activités biologiques ..	24
7. Usages traditionnels	25

8. Toxicité et précautions d'emploi	25
--	-----------

CHAPITRE III : Métabolites secondaires végétaux et leur contribution à l'activité antioxydante

1. Généralités sur les métabolites secondaires	26
2. Principales classes de métabolites secondaires	27
2.1. Composés phénoliques	27
2.2 .Alcaloïdes	28
2.3. Terpènes et terpénoïdes	28
3. Contribution des métabolites secondaires à l'activité antioxydante	29
4. Intérêt des métabolites secondaires dans la recherche biomédicale.....	29

Partie experimentale

Matériel et Méthodes

1. Récolte et préparation du matériel végétale	31
2.Extraction du matériel végétale.....	32
3. Calcul des rendements d'extraction	34
4.Analyse phytochimique.....	34
5.Dosage des composés phénoliques	35
5.1. Dosage des polyphénols totaux	35
5.2. Dosage des Flavonoïdes	36
5.3. Dosage des tanins condensés	37
6. Evaluation de l'activité antioxydante	38
6.1. Piégeage du radical libre DPPH· (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	38
6.2. Réduction du fer par la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	39

Résultats et interprétations

1.Rendements d'extraction	41
2.Analyse phytochimique.....	41
3.Teneurs en composés phénoliques	42
4.Résultats de l'activité antioxydante	45
4.1.Piégeage du radical DPPH les extraits aqueux d' <i>Ephedra alata</i>	45
4.2.Piégeage du radical libre DPPH par l'acide ascorbique	48

4.3.Calcul des IC_{50}	49
4.4 Réduction du fer	50
4.5.Calcul des EC_{50}	53
Discussion.....	55
Conclusion.....	59
Références bibliographiques	60

Introduction

Introduction

Le stress oxydatif représente aujourd'hui l'un des principaux mécanismes impliqués dans le développement de nombreuses pathologies chroniques et dégénératives. Il résulte d'un déséquilibre entre la production excessive des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les systèmes de défense antioxydants de l'organisme. Lorsque ce déséquilibre persiste, les ROS provoquent des altérations des lipides membranaires, des protéines et de l'ADN, favorisant ainsi le vieillissement cellulaire et l'apparition de maladies cardiovasculaires, neurodégénératives, inflammatoires et cancéreuses (**Betteridge, 2000 ; Halliwell et Gutteridge, 2015**).

Face à ces effets néfastes, les antioxydants jouent un rôle essentiel dans la protection des cellules contre les dommages oxydatifs. Bien que l'organisme possède des systèmes de défense enzymatiques et non enzymatiques, ceux-ci peuvent devenir insuffisants lors d'une production importante de radicaux libres. Dans ce contexte, les composés naturels d'origine végétale suscitent un intérêt croissant grâce à leur richesse en métabolites secondaires bioactifs, notamment les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et certains alcaloïdes, reconnus pour leurs propriétés antioxydantes importantes (**Panche et al., 2016 ; Shahidi et Ambigaipalan, 2015**).

Les plantes médicinales constituent ainsi une source prometteuse de molécules naturelles capables de neutraliser les radicaux libres et de prévenir les effets du stress oxydatif. Parmi ces plantes, *Ephedra alata* occupe une place particulière en raison de son utilisation traditionnelle dans plusieurs régions arides d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient. Cette espèce appartenant à la famille des Ephedraceae est adaptée aux conditions climatiques extrêmes et possède une richesse remarquable en métabolites secondaires, tels que les alcaloïdes, les composés phénoliques et les flavonoïdes (**Hibi et al., 2022**). Plusieurs travaux récents ont rapporté que les extraits d'*Ephedra alata* présentent diverses activités biologiques, notamment antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires, ce qui renforce son intérêt dans le domaine biomédical et pharmaceutique (**Benarba et al., 2025 ; Wink, 2015**).

L'activité biologique des extraits végétaux dépend fortement de la méthode d'extraction utilisée, celle-ci influençant la nature et la quantité des composés bioactifs extraits. Les méthodes d'extraction telles que l'infusion, la macération et le reflux sont largement utilisées en phytothérapie et en recherche scientifique pour l'extraction des substances hydrosolubles. Ces techniques peuvent entraîner des variations importantes des rendements d'extraction ainsi

Introduction

que des teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes, influençant directement le potentiel antioxydant des extraits obtenus (**Azmir *et al.*, 2013**).

Dans ce contexte, le présent travail s'intéresse à l'étude phytochimique et à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux d'*Ephedra alata* obtenus par différentes méthodes d'extraction. Cette étude vise principalement à comparer les rendements d'extraction, à caractériser les principaux groupes de métabolites secondaires présents dans les extraits, à quantifier les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés, puis à évaluer le pouvoir antioxydant à l'aide des méthodes DPPH et FRAP. Les résultats obtenus permettront de mieux comprendre l'influence du procédé d'extraction sur la composition phytochimique et l'activité biologique de cette plante médicinale.

Partie Synthèse
bibliographie

CHAPITRE I : STRESS
OXYDATIF

1. Définition

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la production d'espèces réactives oxygénées (ROS) et la capacité des systèmes antioxydants à les neutraliser, **(Betteridge, 2000)**. Ce déséquilibre entraîne une accumulation des radicaux libres qui peuvent endommager les lipides, les protéines et l'ADN des cellules **(Betteridge, 2000)**.

Ce phénomène est aussi lié à une altération de l'homéostasie redox, qui perturbe les fonctions métaboliques normales des cellules **(Ji et Yeo, 2021)**.

Ainsi, le stress oxydatif est impliqué dans le développement de nombreuses pathologies dégénératives, cardiovasculaires et du vieillissement cellulaire **(Jomova et al., 2023)**.

2. sources et nature des espèces réactives de l'oxygène (ROS)

2.1. Définition des ROS

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont un ensemble de molécules et de radicaux oxygénés hautement réactifs, générés comme sous-produits normaux du métabolisme cellulaire ou en réponse à des stress internes et externes **(Sies, 2017)**.

Elles possèdent au moins un électron non apparié, ce qui leur confère une grande réactivité chimique et la capacité d'oxyder rapidement d'autres molécules biologiques.

Les ROS comprennent plusieurs types :

❖ Radicaux libres oxygénés :

- Le superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), produit principalement par les mitochondries et certaines enzymes oxydantes **(Lambeth, 2004)**.
- Le radical hydroxyle ($OH^{\bullet}$), extrêmement réactif, formé par la décomposition du peroxyde d'hydrogène en présence de fer ou de cuivre (réaction de Fenton) **(Halliwell et Gutteridge, 2015)**.

❖ Molécules non radicalaires oxygénées :

- Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), qui est moins réactif que les radicaux mais peut traverser les membranes et générer d'autres ROS à travers des réactions catalysées par des métaux **(Finkel et Holbrook, 2000)**.
- Le singlet d'oxygène (1O_2), une forme excitée de l'oxygène qui participe à l'oxydation des lipides et des protéines **(Winterbourn, 2008)**.

- Les ROS sont produites dans des conditions physiologiques normales et jouent un rôle essentiel dans la signalisation cellulaire, la régulation de la transcription des gènes, l'apoptose et la défense immunitaire (Sena et Chandel, 2012).

Cependant, lorsque leur production devient excessive ou que les systèmes antioxydants échouent à les neutraliser, elles induisent un stress oxydatif, entraînant des dommages aux lipides, aux protéines et à l'ADN, et contribuant à de nombreuses maladies chroniques et processus de vieillissement (Halliwell et Gutteridge, 2015).

Plusieurs facteurs endogènes et exogènes contribuent à la formation excessive d'ERO. Tout déséquilibre entre la production de radicaux libres et d'ERO et leur élimination par les systèmes antioxydants peut provoquer un stress oxydatif qui, à terme, favorise l'accélération des phénotypes de vieillissement par le biais d'altérations macromoléculaires oxydatives, telles que les altérations exemplaires (fig.1) (Iakovou et Kourti, 2022).

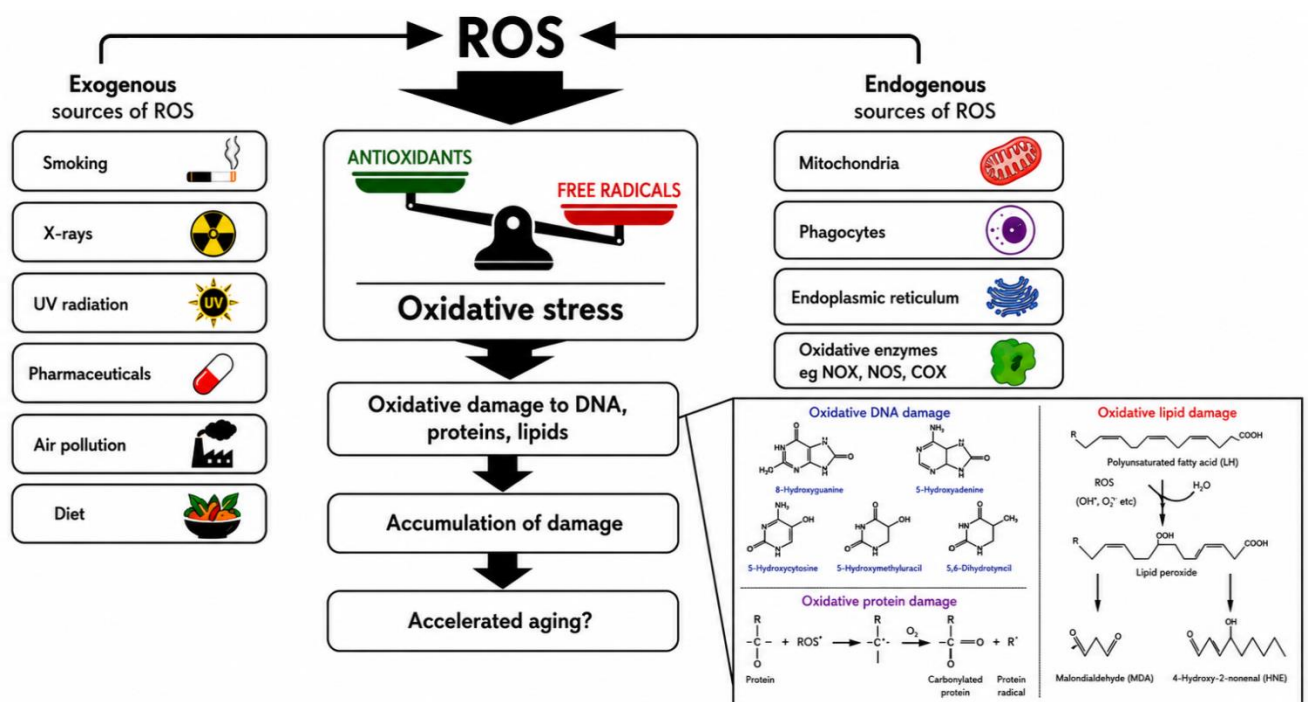


Figure 1: Sources exogènes et endogènes des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et leurs effets dans le stress oxydatif (Iakovou et Kourti, 2022)

2.2. Les sources endogènes et exogènes

- **Sources endogènes**

Métabolisme mitochondrial : la chaîne respiratoire produit des ROS comme sous-produit de la production d'énergie (**Palma et al., 2024**).

Enzymes oxydantes : NADPH oxydases, xanthine oxydase, et synthase d'oxyde nitrique désappariée peuvent générer des ROS par fuite d'électrons (**Sies et al., 2023**).

Organelles spécifiques : peroxysomes et réticulum endoplasmique participent à la production de ROS par leurs processus oxydatifs (**Sikder et al., 2025**).

Réponse immunitaire : macrophages et neutrophiles produisent des ROS pour neutraliser les pathogènes lors de l'inflammation (**Di Meo et al., 2022**).

- **Sources exogènes**

- ✓ Pollution et radiations : pollution de l'air, radiations UV ou ionisantes, et métaux lourds stimulent la production de ROS (**Skider et al., 2025**).
- ✓ Mode de vie : tabagisme et consommation d'alcool augmentent la génération de radicaux libres (**Sies et al., 2023**).
- ✓ Médicaments et traitements : certains médicaments, la chimiothérapie et la radiothérapie peuvent induire un stress oxydatif médicamenteux (**Sies et al., 2023**).
- ✓ Alimentation et toxines : aliments transformés, fumés ou exposés à des toxines augmentent les ROS (**Sies et al., 2023**).

2.3. Rôles physiologiques des ROS

À faible concentration, les ROS jouent un rôle clé dans la signalisation cellulaire, permettant aux cellules de répondre à des stimuli et de réguler leur activité métabolique (**Sena et Chandel, 2012**).

Elles interviennent dans la régulation de la transcription des gènes, notamment ceux liés à la défense antioxydante et à la réparation cellulaire (**Sies, 2017**).

Les ROS participent aussi à l'apoptose, un processus de mort cellulaire programmée qui élimine les cellules endommagées ou inutiles (**Halliwell et Gutteridge, 2015**).

Enfin, elles contribuent à la défense immunitaire, en permettant aux macrophages et neutrophiles de détruire les agents pathogènes (**Lambeth, 2004**).

2.4. Rôle pathologique des ROS et implications

Une production excessive de ROS entraîne un stress oxydatif, qui peut endommager les lipides, les protéines et l'ADN, perturbant ainsi le fonctionnement cellulaire normal. Le stress oxydatif provoque la peroxydation lipidique, altérant la structure et la fonction des membranes cellulaires (**Winterbourn, 2008 ; Halliwell et Gutteridge, 2015**).

Il peut également induire l'altération des protéines, compromettant leur activité enzymatique et leur structure. De plus, l'ADN peut subir des mutations, favorisant le développement de cancers et de troubles liés au vieillissement (**Sies, 2017 ; Finkel et Holbrook, 2000**).

Ces effets sont impliqués dans le vieillissement cellulaire et dans plusieurs maladies chroniques, telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète, les troubles neurodégénératifs et certains cancers (**Sena et Chandel, 2012 ; Halliwell et Gutteridge, 2015**).

3. Dommages oxydatifs

Les dommages oxydatifs affectent l'ADN, les protéines et les lipides, provoqués par les radicaux libres et autres espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. Ces altérations entraînent des mutations, l'inactivation des enzymes et la désorganisation des membranes, contribuant au développement de maladies chroniques, notamment neurodégénératives et cancers. L'inflammation augmente la production de ROS et RNS, via des enzymes pro-oxydantes telles que iNOS, COX-2 et MPO, et génère des molécules fortement oxydantes comme le peroxynitrite. La synthèse des principaux mécanismes impliqués dans les dommages oxydatifs touchant les lipides, les protéines et l'ADN. Ces mécanismes conduisent à des modifications structurelles et favorisent, à long terme, l'émergence de maladies associées au stress oxydatif (fig.2) (**Ames, Shigenaga et Hagen, 1993 ; Raynoo et al., 2015**).

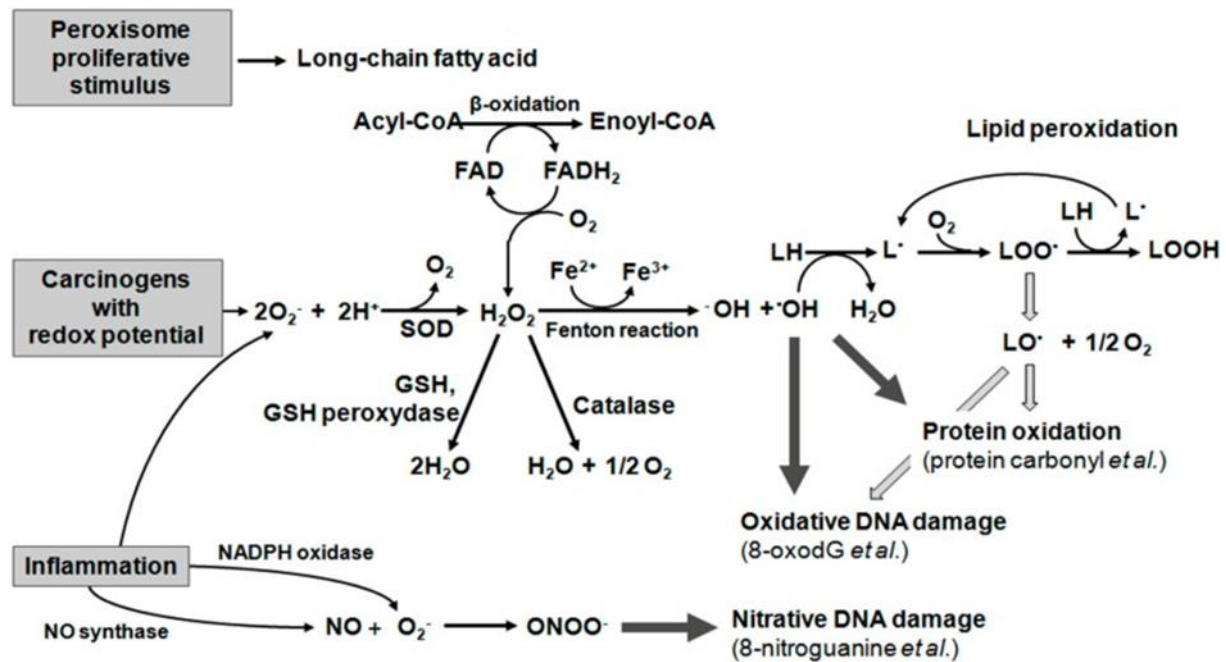


Figure 2: Dommages oxydatifs aux biomolécules (Raynoo et al., 2015).

3.1. Peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique résulte de l'attaque des radicaux libres sur les acides gras polyinsaturés des membranes. Ce processus en chaîne produit des radicaux peroxydes ($LOO\cdot$) et hydroperoxydes ($LOOH$), altérant la fluidité et la perméabilité membranaires. Les produits finaux, tels que le malondialdéhyde (MDA) et le 4-HNE, réagissent avec les protéines et l'ADN, formant des adduits toxiques et servant de biomarqueurs du stress oxydatif. Les systèmes antioxydants, notamment la vitamine E et la vitamine C, interrompent la propagation de ces réactions et préservent l'intégrité membranaire (Raynoo et al., 2015).

3.2. Dommages oxydatifs aux protéines

Les ROS et RNS modifient oxydativement et nitrativement les protéines, affectant leur fonction et contribuant à des pathologies inflammatoires chroniques et neurodégénératives. Les acides aminés sensibles, comme la cystéine et la méthionine, subissent oxydation, tandis que la nitration produit des marqueurs comme la 3-nitrotyrosine. Les protéines carbonylées, résultant de l'oxydation ou de la peroxydation lipidique, sont irréversibles et servent de biomarqueurs fiables du stress oxydatif. Des méthodes analytiques, telles que l'oxyblot, HPLC, ELISA ou MS/MS, permettent leur détection et identification, améliorant la compréhension de leur rôle physiopathologique (Raynoo et al., 2015).

3.3. Dommages oxydatifs à l'ADN

Les ROS et RNS induisent des altérations de l'ADN, incluant l'oxydation des bases, la formation de sites apuriques/apyrimidiniques et des cassures simples ou double brin. La 8-oxodG est un biomarqueur majeur du stress oxydatif sur l'ADN, détectable dans l'ADN nucléaire et mitochondrial ainsi que dans les fluides biologiques. Le peroxynitrite provoque des lésions nitratives, comme la 8-nitroguanine, favorisant l'instabilité génomique et la mutagenèse, notamment dans des gènes clés liés au cancer tels que KRAS et TP53. Les systèmes de réparation, comme l'excision de base, limitent ces dommages, mais leur déficit favorise la persistance des lésions et le développement de pathologies (**Raynoo et al., 2015**).

4.Système antioxydants

Les mécanismes de défense antioxydante permettent aux cellules de maintenir l'équilibre redox et de protéger les biomolécules essentielles (protéines, lipides, membranes, ADN) contre les dommages oxydatifs. Cette protection est renforcée lors de stress abiotiques ou biotiques grâce à la régulation génique et post-traductionnelle des enzymes clés. Le système comprend des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (fig.3), opérant dans différents compartiments cellulaires, et régulés par des réseaux de signalisation complexes (**Jomová et al., 2023 ; Bizoń et al., 2023**).

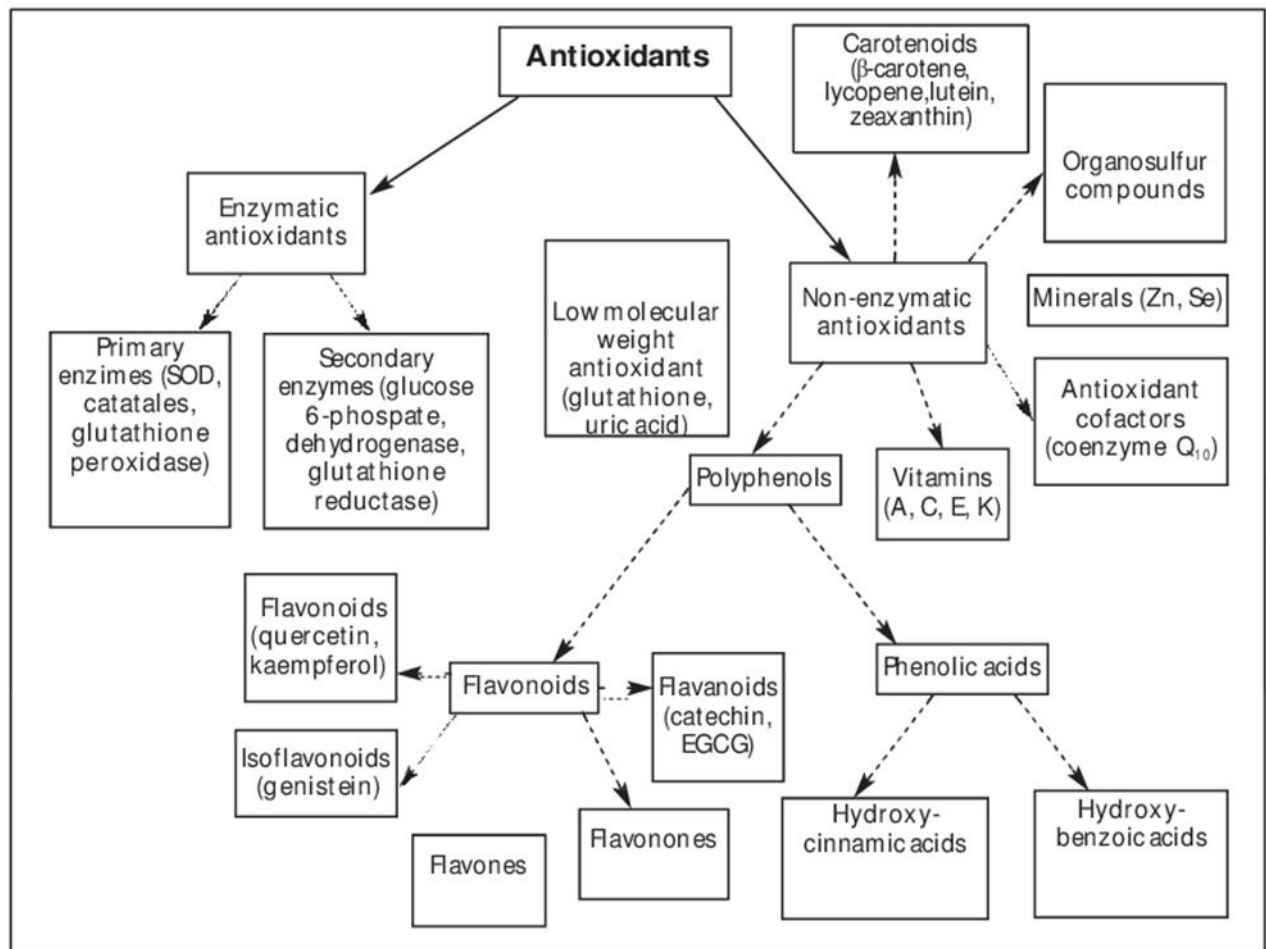


Figure 3: Classification des antioxydants (Flieger et al., 2021)

4.1. Antioxydants enzymatiques

Les enzymes constituent la première ligne de défense contre les ROS, neutralisant les radicaux avant qu'ils n'endommagent les composants cellulaires (**Jomová et al., 2023 ; Bizoń et al., 2023**). La superoxyde dismutase (SOD) convertit l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et oxygène, limitant la peroxydation lipidique. La catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) décomposent le H_2O_2 , protégeant ainsi les membranes et l'ADN. D'autres enzymes comme la peroxiredoxine participent à la réduction des peroxydes et à la régulation du signal redox, soutenant la transcription et la prolifération cellulaires. La coopération de ces enzymes (SOD, CAT, GPx) est essentielle pour maintenir l'homéostasie redox et prévenir les pathologies liées au stress oxydatif (fig.4) (**Chandimali, 2025 ; Ighodaro et Akinloye, 2018 ; Rao, 2025**).

4.2. Antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques complètent la défense enzymatique en neutralisant directement les ROS. Le glutathion réduit (GSH) joue un rôle central, réagissant avec les peroxydes et formant du GSSG (glutathion oxydé). Les vitamines liposolubles, comme la vitamine E (α -tocophérol), protègent les membranes contre la peroxydation lipidique, tandis que la vitamine C régénère la vitamine E oxydée et piège les ROS hydrosolubles. Les polyphénols, caroténoïdes et composés bioactifs végétaux comme le resvératrol et la quercétine stabilisent également les radicaux libres, renforçant la défense globale. La synergie entre antioxydants enzymatiques et non enzymatiques assure le maintien de l'équilibre redox même sous stress oxydatif prolongé (fig.4) (Chandimali et al., 2025).

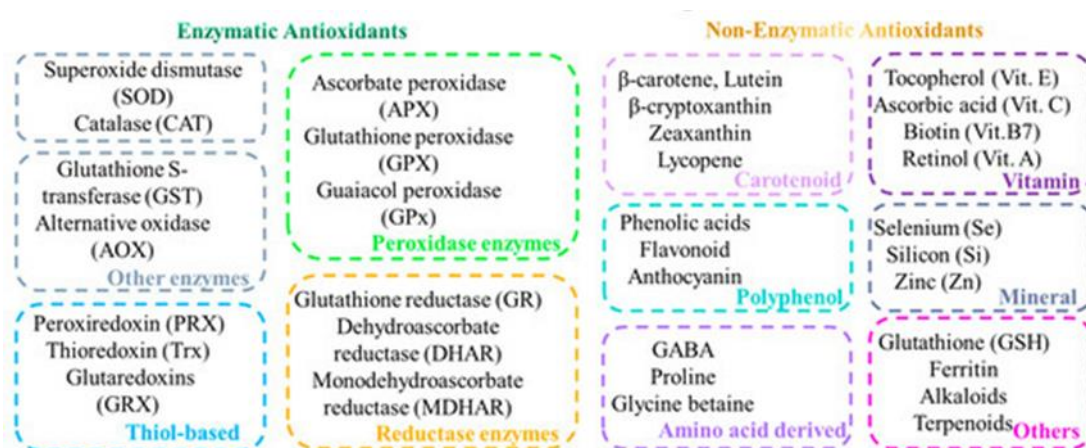


Figure 4 : les principaux éléments des mécanismes de défense antioxydante enzymatiques et non enzymatiques (Rao et al., 2022).

4.3. Localisation cellulaire des antioxydants chez les plantes

La production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les cellules végétales se déroule surtout dans plusieurs parties de la cellule comme les chloroplastes, les mitochondries, les peroxysomes, le cytosol et la paroi cellulaire. Pour maintenir l'équilibre oxydo-réducteur et éviter les dommages liés au stress oxydatif, les plantes disposent d'un système complexe d'antioxydants, à la fois enzymatiques et non enzymatiques, répartis dans divers compartiments cellulaires (Gill et Tuteja, 2010 ; Mittler, 2017).

• Chloroplastes

Les chloroplastes sont l'un des principaux endroits où les ROS sont produits, grâce aux réactions photochimiques de la photosynthèse, en particulier dans les photosystèmes I et II. La chaîne de transport des électrons peut créer des radicaux superoxydes et du peroxyde

d'hydrogène quand l'énergie lumineuse est trop forte pour être utilisée par la plante (**Gill et Tuteja, 2010 ; Hasanuzzaman *et al.*, 2020**).

Pour éliminer ces ROS, divers antioxydants sont présents dans les chloroplastes, notamment :

- La superoxyde dismutase (SOD) transforme les radicaux superoxydes en peroxyde d'hydrogène.
- L'ascorbate peroxydase (APX) transforme le H_2O_2 en eau avec l'aide de l'ascorbate.
- La glutathion réductase (GR) permet de reconstituer le glutathion réduit (GSH).
- Les caroténoïdes et le tocophérol (vitamine E) aident à protéger les membranes thylakoïdiennes contre l'oxydation des lipides.
- Acide ascorbique (vitamine C) : agit comme un antioxydant soluble dans l'eau et est impliqué dans le cycle ascorbate-glutathion.

Ces molécules aident à protéger le système d'absorption de la lumière contre les dommages causés par l'oxydation et assurent la bonne tenue des membranes des thylakoïdes (**Foyer et Noctor, 2005**).

- **Mitochondries**

Les mitochondries produisent également beaucoup de ROS pendant la respiration cellulaire, surtout lors du fonctionnement de la chaîne de transport d'électrons. Les électrons peuvent fuir et cela peut entraîner la création de superoxyde.

Dans ce compartiment, différents antioxydants aident à éliminer les ROS :

- Mn-SOD (superoxyde dismutase mitochondriale)
- Glutathion (GSH)
- Glutathion peroxydase (GPX)
- Glutathion réductase (GR)

Thioredoxines et peroxyrédoxines

Ces systèmes enzymatiques transforment les ROS en molécules moins agressives et aident à garder l'équilibre des réactions oxydant-réductrice dans les mitochondries (**Mittler, 2017**).

- **Peroxisomes**

Les peroxysomes jouent un rôle important dans les métabolismes liés à l'oxygène, notamment durant la photorespiration et la dégradation des acides gras par la β -oxydation. Ces processus produisent beaucoup de peroxyde d'hydrogène.

Pour éliminer ce H_2O_2 , les peroxysomes contiennent en majorité :

- L'enzyme catalase (CAT) est une enzyme importante qui transforme le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène.
- Ascorbate peroxydase (APX)
- Monodéhydroascorbate réductase (MDHAR)

Ces enzymes sont très importantes pour empêcher les dégâts causés par l'oxydation et pour contrôler la quantité de H_2O_2 à l'intérieur des cellules (**Del Río *et al.*, 2006**).

- **Cytosol**

Le cytosol joue un rôle essentiel dans le système antioxydant de la cellule, car il permet l'échange d'informations liées aux réactions oxydantes entre les différents compartiments cellulaires.

Les principaux antioxydants présents dans le cytosol sont :

- Glutathion (GSH)
- Ascorbate (AsA)
- Glutathion S-transférases (GST)
- Glutaredoxines et thioredoxines
- Flavonoïdes et composés phénoliques

Ces molécules aident le corps à éliminer les ROS, à contrôler les signaux liés aux réactions oxydantes et à protéger les grandes molécules cellulaires contre l'oxydation (**Noctor *et al.*, 2012**).

- **Vacuole**

La vacuole agit comme un espace de stockage pour plusieurs métabolites secondaires qui ont des propriétés antioxydantes.

Parmi les principaux composés présents dans la vacuole :

- Flavonoïdes
- Composés phénoliques
- Anthocyanines

Ces substances aident à éliminer les ROS, à protéger contre les rayons UV et à combattre les stress provoqués par des facteurs non vivants ou vivants (**Agati *et al.*, 2012**).

- **Paroi cellulaire et apoplaste**

La paroi cellulaire et l'apoplaste participent aussi à la protection contre les oxydants. Certaines enzymes y sont présentes pour contrôler les ROS qui participent à la communication cellulaire et au renforcement des structures.

Ils retrouvent notamment :

- Peroxydases de la paroi cellulaire
- Polyphénol oxydases
- Composés phénoliques

Ces systèmes aident à durcir la paroi des cellules, à se défendre contre les maladies et à contrôler les composés oxygénés dans l'espace autour des cellules (**Passardi et al., 2005**).

La répartition des principaux antioxydants enzymatiques et non enzymatiques dans les différents compartiments cellulaires afin de protéger la cellule contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS). Les antioxydants tels que la vitamine C, la vitamine E, les polyphénols, le glutathion, la catalase et la superoxyde dismutase agissent au niveau des membranes, des mitochondries, des peroxysomes et du noyau pour limiter les dommages oxydatifs et préserver l'intégrité cellulaire, notamment celle de l'ADN (fig.5).

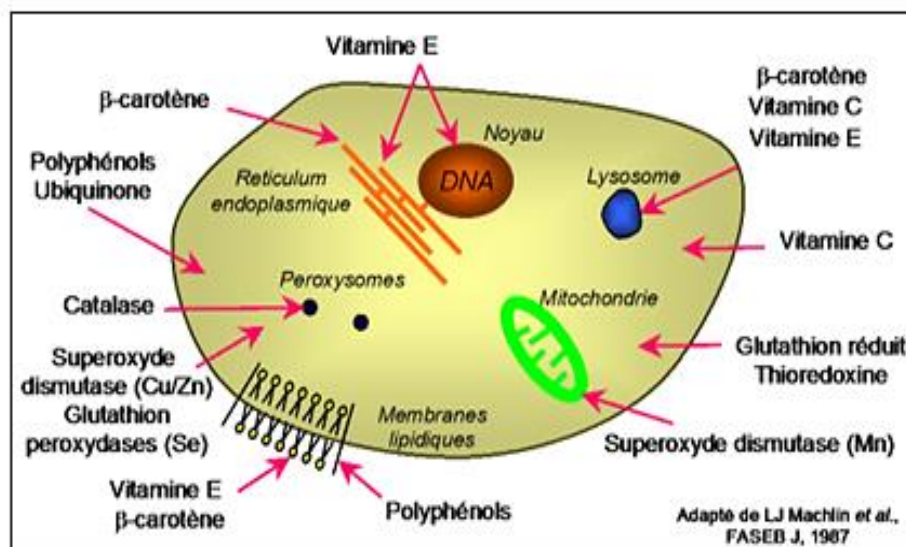


Figure 5 : Schématisation des molécules intervenant dans les protections des cellules procaryotes animales (Machlin et al., 1987).

4.4. Rôle des plantes dans l'activité antioxydante

Les antioxydants enzymatiques constituent la première ligne de défense des plantes contre le stress oxydatif. Ils participent à l'élimination des espèces réactives de l'oxygène et

contribuent à la protection des cellules végétales. Le tableau suivant (Tab.1) présente les principaux antioxydants enzymatiques et leurs fonctions.

Tableau 1: Fonction des antioxydants enzymatiques lors du stress abiotique chez les plantes (Siddiqui et al.,2025).

Antioxydants enzymatiques	Fonction	Réponse au stress
Superoxyde dismutase (SOD)	Catalyse la dismutation de $O_2^{\bullet -}$ en H_2O_2 et O_2	Augmente lors du stress de sécheresse, de salinité et de chaleur
Catalase (CAT)	Convertit H_2O_2 en H_2O et O_2	Régulation à la hausse lors des conditions de stress oxydatif
Peroxydase au gaïacol (GPx)	Lignification ; renforcement de la paroi cellulaire ; élimination de H_2O_2	Réponse au stress mécanique et au stress des métaux lourds
Ascorbate peroxydase (APX)	Réduit H_2O_2 en H_2O en utilisant l'ascorbate comme donneur d'électrons	Activité accrue lors du stress dû au froid et à la sécheresse
Glutathion peroxydase (GPX)	Réduit H_2O_2 et les hydroperoxydes lipidiques	Activée lors du stress des métaux lourds et du stress UV
Glutathion réductase (GR)	Maintient le rapport GSH/GSSG en réduisant le GSSG en GSH	Niveaux élevés lors du stress salin et métallique
Déhydroascorbate réductase (DHAR)	Régénère l'ascorbate à partir du déhydroascorbate ; maintient le pool d'ascorbate	Améliore la tolérance à la sécheresse et au sel ; protège l'appareil photosynthétique
Monodéhydroascorbate réductase (MDHAR)	Réduit le monodéhydroascorbate en ascorbate en utilisant le NADPH ; maintient l'équilibre redox cellulaire	Améliore la tolérance au stress oxydatif et au stress de l'aluminium
Peroxyrédoxine (PRX)	Réduit le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes organiques	Élimine les peroxydes et le peroxynitrite ($ONOO^-$) ; améliore la tolérance à la chaleur, à la sécheresse et au froid
Thiorédoxine (Trx)	Maintient l'équilibre thiol-disulfure des protéines ; régule les activités enzymatiques	Réduction des ponts disulfure des protéines et régulation redox ; améliore la tolérance à la sécheresse et au sel
Glutarédoxines (GRX)	Catalyse les réactions d'échange thiol-disulfure ; déglutathionylation des protéines	Réparation des protéines dépendante du glutathion et assemblage des centres fer-soufre (Fe-S) ; améliore la tolérance aux métaux lourds
Glutathion S-transférase (GST)	Conjugué le glutathion à divers substrats pour la détoxification	Conjugaison du GSH et détoxification des produits de peroxydation lipidique ; améliore la résistance à la sécheresse et au sel

Oxydase alternative (AOX)	Enzyme de la voie respiratoire alternative ; réduit la production de ROS	Contourne les complexes III/IV de la chaîne de transport d'électrons mitochondriale ; améliore la tolérance à la sécheresse et à la salinité
Polyphénol oxydase (PPO)	Oxyde les composés phénoliques en quinones	Oxydation des composés phénoliques en quinones

Les antioxydants non enzymatiques jouent un rôle essentiel dans la protection des plantes contre le stress abiotique (Tab.2) présente leurs principales fonctions et leur contribution à la tolérance au stress.

Tableau 2: Fonctions des antioxydants non enzymatiques lors du stress abiotique chez les plantes (Siddiqui *et al.*,2025).

Antioxydants non enzymatiques	Fonction	Tolérance au stress
Acide ascorbique (Vitamine C)	Neutralise les ROS ; régénère la vitamine E ; agit comme cofacteur enzymatique dans plusieurs processus physiologiques ; joue un rôle clé dans la photoprotection	Première ligne de défense contre les ROS ; protège l'appareil photosynthétique lors du stress thermique et de la sécheresse ; maintient l'intégrité des membranes cellulaires sous stress salin ; améliore la tolérance au froid ; rôle important dans la régulation stomatique lors du stress hydrique
Glutathion (GSH)	Maintient l'équilibre redox cellulaire ; détoxifie les métaux lourds ; protège les protéines contre l'oxydation ; régénère l'ascorbate (cycle AsA-GSH)	Défense principale contre la toxicité des métaux lourds ; maintien de l'état redox pendant le stress oxydatif ; rôle clé dans la détoxification des xénobiotiques ; protection des groupements thiols des protéines lors du stress thermique ; essentiel pour la tolérance à la sécheresse
Tocophérols (Vitamine E)	Protège les lipides membranaires ; piège les radicaux peroxydes lipidiques ; maintient la stabilité membranaire ; protège le photosystème II	Empêche la peroxydation lipidique ; stabilise les membranes lors de variations extrêmes de température ; protège la fonction des chloroplastes sous forte lumière ; améliore la résistance à la sécheresse ; important pour la tolérance au froid
Caroténoïdes	Éteignent l'oxygène singulet ; protègent la chlorophylle ; dissipent l'excès d'énergie lumineuse	Protègent l'appareil photosynthétique contre la photo-oxydation ; dissipent l'énergie lumineuse excédentaire sous forme de chaleur ; stabilisent les thylakoïdes à haute température ; adaptation au stress lumineux
Composés phénoliques	Piégeage des ROS ; chélation des métaux ; protection contre les UV ; lignification de	Protection contre les stress abiotiques ; résistance accrue aux

	la paroi cellulaire	pathogènes ; protection contre les rayonnements UV ; activité antioxydante
Flavonoïdes	Protection contre les rayonnements UV-B ; piégeage des ROS ; fonction d'osmolyte lors de la sécheresse ; chélation des métaux	Forte protection contre les UV-B ; tolérance à la sécheresse ; atténuation du stress salin ; chélation des métaux toxiques
GABA (acide γ-aminobutyrique)	Régule la fermeture des stomates ; protège les membranes cellulaires ; maintient l'homéostasie ionique ; stabilise l'intégrité membranaire ; élimine les ROS ; augmente l'activité des enzymes antioxydantes ; maintient l'homéostasie redox	Chélation des métaux lourds ; améliore la tolérance au gel ; augmente la tolérance au sel et à la sécheresse ; agit comme protecteur contre le stress thermique ; maintient l'efficacité photosynthétique sous stress
Proline	Fonction d'osmolyte ; stabilisateur de membranes ; piègeur de ROS ; chélateur de métaux ; stabilisateur de la structure des protéines	Osmorégulation lors du stress de sécheresse et de salinité ; stabilisation des membranes à températures extrêmes ; élimination des ROS lors du stress oxydatif ; stabilisation des protéines lors de la déshydratation ; tolérance au stress métallique
Glycine bêtaïne	Ajustement osmotique ; protection de la structure des protéines ; maintien de l'intégrité membranaire ; protection de l'appareil photosynthétique ; détoxification des ROS	Tolérance au stress thermique ; réduction des ROS lors du déficit hydrique ; protection contre le stress du froid
Sélénium (Se)	Active les mécanismes de défense antioxydants ; améliore l'efficacité photosynthétique ; stimule les sélénoprotéines qui combattent les ROS	Augmente la tolérance à la sécheresse en régulant l'état hydrique ; protège contre les dommages oxydatifs lors du stress salin ; améliore la tolérance au stress des métaux lourds
Zinc (Zn)	Cofacteur des enzymes antioxydantes ; maintient la stabilité membranaire ; régule la fonction stomatique en condition de sécheresse ; favorise la croissance racinaire et l'absorption d'eau	Régule l'ouverture stomatique pendant la sécheresse ; impliqué dans le métabolisme des auxines et la signalisation du stress ; protège les structures des chloroplastes lors du stress thermique
Silicium (Si)	Renforce les parois cellulaires ; améliore la rétention d'eau ; forme une couche protectrice dans les parois cellulaires ; améliore l'absorption de l'eau et des nutriments	Améliore l'efficacité d'utilisation de l'eau lors de la sécheresse ; réduit la toxicité des métaux ; renforce la stabilité structurale des plantes ; régule l'accumulation des osmolytes sous stress salin
Thiamine et acide nicotinique	Modulent les voies MAPK et ABA ; augmentent la synthèse des phytochelatines ; stimulent GR, APX et les composés phénoliques ; chélatent le plomb (Pb) via les systèmes phénoliques/NADPH	Réduction des dommages oxydatifs induits par le Pb (diminution de H_2O_2 et MDA) ; augmentation de l'activité de SOD, CAT et POD améliorant l'équilibre redox ; efficacité photosynthétique plus élevée

5. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante vise à déterminer la capacité des composés ou des extraits naturels à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et à limiter les dommages oxydatifs au niveau cellulaire. Pour cela, plusieurs approches analytiques ont été développées afin d'estimer le potentiel antioxydant de différentes substances. Ces approches sont généralement regroupées en deux grandes catégories : les méthodes *in vitro*, réalisées en conditions expérimentales contrôlées, et les méthodes *in vivo*, qui permettent d'étudier l'effet des antioxydants dans des systèmes biologiques vivants (Prior et Schaich, 2005).

5.1. Méthodes *in vitro*

Les méthodes *in vitro* constituent des outils largement utilisés pour l'évaluation de l'activité antioxydante. Elles reposent principalement sur des réactions chimiques permettant de mesurer la capacité des composés étudiés à piéger les radicaux libres ou à réduire certains agents oxydants. Ces techniques présentent l'avantage d'être rapides, sensibles et relativement simples à mettre en œuvre, ce qui les rend particulièrement adaptées au criblage préliminaire de l'activité antioxydante des extraits végétaux et des composés bioactifs (Apak *et al*, 2016).

Les méthodes *in vitro* les plus couramment utilisées sont :

- **Test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)**
 Cette méthode est basée sur la réduction du radical stable DPPH par les composés antioxydants. La réaction entraîne une diminution de la coloration violette caractéristique du DPPH, qui devient jaune après réduction. Cette variation de couleur peut être quantifiée par spectrophotométrie et reflète la capacité des antioxydants à neutraliser les radicaux libres. (Brand-Williams, Cuvelier, et Berset, 1995).

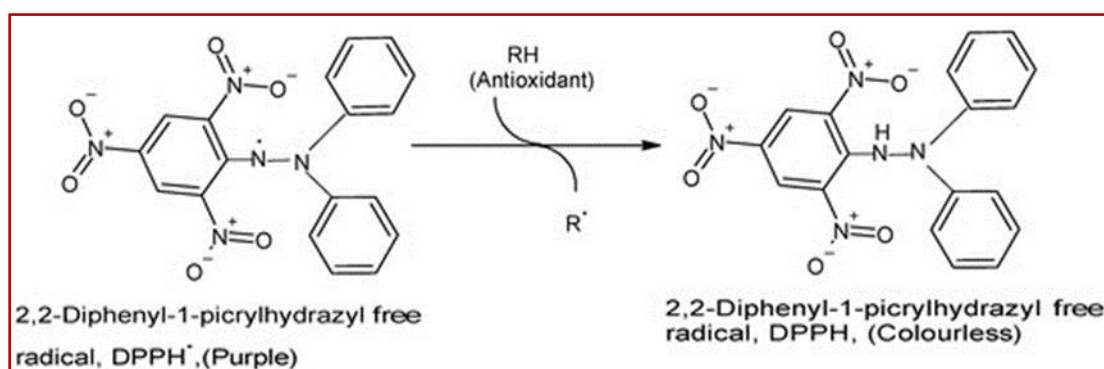


Figure 6 : Réduction du radical DPPH par un antioxydant (Brand-Williams, Cuvelier, et Berset, 1995).

➤ **Test ABTS (2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique))**

Cette méthode repose sur la génération du radical cation ABTS^+ , de couleur bleu-vert, qui peut être neutralisé par les composés antioxydants. La réduction de ce radical se traduit par une diminution de l'absorbance de la solution, proportionnelle à la capacité antioxydante de l'échantillon analysé (Re et al., 1999).

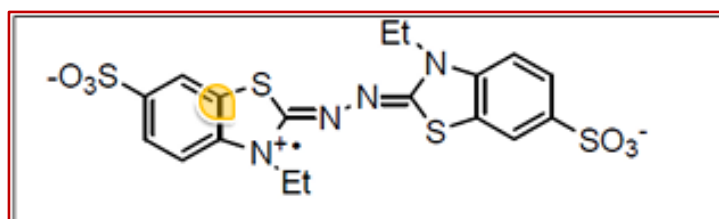


Figure 7 : Structure du radical-cation $\text{ABTS}^+ \cdot$ (Miller et Evans, 1997).

➤ **Test de réducteur de fer (FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power)**

Le test **FRAP** permet d'évaluer la capacité antioxydante des composés en mesurant leur aptitude à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}) par transfert d'un électron. Cette réduction conduit à la formation d'un complexe coloré, le **bleu de Prusse**, résultant de la conversion du ferricyanure en ferrocyanure qui se lie au Fe^{3+} libre dans la solution (Topçu et al., 2007). L'intensité de la coloration obtenue est ensuite quantifiée par spectrophotométrie et reflète le **pouvoir réducteur** des antioxydants étudiés (Benzie et Strain, 1996).

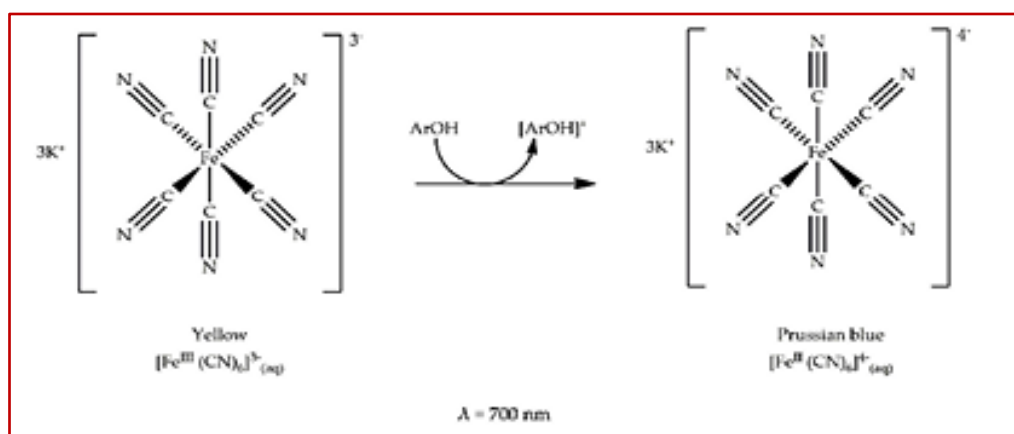


Figure 8: Réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} par un antioxydant (Bibi Sadeer et al., 2020)

➤ **Test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)**

La méthode ORAC permet d'estimer la capacité des antioxydants à inhiber l'oxydation induite par les radicaux peroxydes. Elle mesure la protection exercée par

les antioxydants contre l'oxydation d'un substrat fluorescent, fournissant ainsi une estimation globale du potentiel antioxydant des échantillons (**Prior et al., 2005**).

➤ **Test HORAC**

Le test HORAC mesure la capacité des antioxydants à prévenir la formation des radicaux hydroxyles via des mécanismes de chélation métallique (**Ou et al., 2019**).

Il est basé sur un système de type réaction de Fenton générant des radicaux hydroxyles (**Ou et al., 2019**).

La protection d'un substrat fluorescent permet d'évaluer l'efficacité antioxydante (**Leopoldini et al., 2020**).

➤ **Test TRAP**

Le test TRAP évalue la capacité totale des antioxydants à piéger les radicaux peroxydes dans un système oxydatif (**Serafini et al., 2019**).

Il repose sur la mesure du temps d'induction pendant lequel l'oxydation est inhibée (**Serafini et al., 2019**).

Une augmentation de ce temps reflète une activité antioxydante élevée (**Shahidi et Zhong, 2020**).

➤ **Test TOSC (Total Oxyradical Scavenging Capacity)**

Le test TOSC permet d'évaluer la capacité globale des antioxydants à neutraliser différents radicaux oxygénés (**Munteanu et Apetrei, 2021; Gülçin, 2020**).

Il est basé sur l'inhibition de la formation de produits d'oxydation tels que l'éthylène généré lors des réactions radicalaires (**Munteanu et Apetrei, 2021; Talanta Open, 2026**).

L'analyse de l'aire sous la courbe de production permet de quantifier l'activité antioxydante de l'échantillon (**Gülçin, 2020; Talanta Open, 2026**).

➤ **Test CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity)**

Le test CUPRAC est basé sur la réduction des ions cuivre (Cu^{2+} en Cu^+) par les antioxydants via un mécanisme de transfert d'électrons (**Munteanu et Apetrei, 2021; Gülçin, 2020**).

Cette réaction conduit à la formation d'un complexe coloré avec la néocuproïne, mesurable spectrophotométriquement (**Gülçin, 2020; Apak *et al.*, 2021**).

L'intensité de la coloration est proportionnelle au pouvoir réducteur et à l'activité antioxydante des composés étudiés (**Munteanu et Apetrei, 2021; Apak *et al.*, 2021**).

➤ **Catalase (CAT)**

La catalase décompose le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène, limitant ainsi les effets toxiques des espèces réactives de l'oxygène dans les cellules (**Aebi, 1984**).

5.2. Méthodes *in vivo*

Les méthodes *in vivo* permettent d'évaluer l'activité antioxydante dans un organisme vivant (animaux de laboratoire ou humains). Elles reposent principalement sur la mesure de biomarqueurs du stress oxydatif dans différents tissus biologiques comme le sang, le foie, le cerveau ou les reins. Ces biomarqueurs permettent d'estimer l'équilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène et les systèmes de défense antioxydants (**Halliwell et Gutteridge, 2015**).

Principaux paramètres mesurés *in vivo*

○ **Malondialdéhyde (MDA)**

La MDA est un produit final de la peroxydation lipidique et constitue l'un des biomarqueurs les plus utilisés pour évaluer les dommages oxydatifs des membranes cellulaires. Une augmentation de sa concentration indique un niveau élevé de stress oxydatif (**Ohkawa *et al.*, 1979**).

○ **Superoxyde dismutase (SOD)**

La SOD est une enzyme antioxydante qui catalyse la transformation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène. L'activité de cette enzyme reflète la capacité de défense de l'organisme contre les radicaux libres (**Birben *et al.*, 2012**).

○ **Glutathion peroxydase (GPx)**

Cette enzyme réduit les peroxydes lipidiques et le peroxyde d'hydrogène en utilisant le glutathion réduit, jouant un rôle essentiel dans la protection contre le stress oxydatif (**Birben *et al.*, 2012**).

- **Glutathion réduit (GSH)**

Le glutathion est un antioxydant non enzymatique majeur qui participe à la détoxification des radicaux libres et au maintien de l'équilibre redox cellulaire.

Les analyses *in vivo* utilisent généralement des échantillons biologiques tels que le sérum, le plasma ou différents tissus pour mesurer ces biomarqueurs et évaluer l'effet protecteur des composés antioxydants (**Ellman, 1959**).

CHAPITRE II :

Ephedra alata

1. Introduction

Ephedra alata Decne. Est une plante médicinale appartenant à la famille des Ephedraceae, largement distribuée dans les zones arides et semi-arides. Elle est connue pour sa richesse en métabolites secondaires et pour ses usages traditionnels anciens dans plusieurs régions d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient. L'intérêt scientifique pour cette espèce a considérablement augmenté ces dernières années en raison de ses propriétés biologiques variées, notamment antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires (Hibi *et al.*, 2022).

2. Répartition géographique et écologie

Cette espèce est largement répandue dans les régions désertiques et steppiques d'Afrique du Nord, notamment en Algérie, au Maroc, en Tunisie et en Libye. En Algérie, *E. alata* est fréquemment rencontrée dans les zones sahariennes, sur des sols sableux ou caillouteux pauvres en matière organique. Sa résistance à la sécheresse et à la salinité lui permet de survivre dans des conditions climatiques extrêmes, caractérisées par de faibles précipitations et de fortes amplitudes thermiques (Benarba *et al.*, 2025).

3. Classification botanique et position systématique

Sur le plan taxonomique, *Ephedra alata* est une gymnosperme appartenant à l'ordre des Ephedrales. Le genre *Ephedra* comprend plusieurs espèces adaptées aux milieux désertiques, caractérisées par des tiges articulées et des feuilles réduites. Cette classification reflète les adaptations morphologiques et physiologiques de la plante aux conditions environnementales extrêmes (Chouikh, 2020).

4. Diversité des espèces du genre *Ephedra*

Le genre *Ephedra* est caractérisé par une grande diversité spécifique. Selon les données botaniques et phylogénétiques, ce genre comprend plus de 60 espèces réparties principalement dans les régions arides et semi-arides d'Afrique du Nord, d'Asie, d'Europe et d'Amérique du Nord. Cette diversité morphologique et écologique témoigne de la capacité d'adaptation remarquable des espèces du genre *Ephedra* à des conditions climatiques extrêmes telles que la sécheresse, la salinité et les fortes variations de température (Ickert-Bond et Wojciechowski, 2004).

Parmi les espèces les plus connues du genre *Ephedra*, on peut citer *Ephedra alata* Decne., *Ephedra altissima* Desf., *Ephedra distachya* L., *Ephedra fragilis* Desf. et *Ephedra nebrodensis* Tineo. Ces espèces présentent des différences notables au niveau de la morphologie des tiges, de la couleur, de la taille et de la structure des cônes reproducteurs. Cette variabilité justifie l'utilisation de supports iconographiques afin d'illustrer la diversité du genre et de situer *Ephedra alata* parmi les autres espèces apparentées (Nouioura *et al.*, 2019).

4.1 . Illustration de la diversité des espèces du genre *Ephedra*

Les figures suivantes illustrent quelques espèces représentatives du genre *Ephedra*. Elles mettent en évidence la diversité morphologique des tiges et des structures reproductrices observée au sein de ce genre(fig.9,10,11,12,13).



Figure 9: *Ephedra alata* Decn
<https://floraupload.s3.amazonaws.com>



Figure 10 : *Ephedra fragilis*
<https://wastemagazine.es/fotos/ephedrafragilis.jpg> a fragilis



Figure 11: *Ephedra nebrodensis* Tineo.
<https://www.biodiversidadcanarias.es/biota/especie/F00067/imagenes/194379776>



Figure 12 : *Ephedra altissima*



Figure 13 : *Ephedra distachya* L

<https://static.teline.fr/cache/1920/ephedraceae> https://earthone.io/_next/image?url

5. Composition phytochimique

Les études phytochimiques ont montré que *Ephedra alata* est riche en divers composés bioactifs. Parmi les principaux métabolites identifiés figurent les alcaloïdes de type éphedrine et pseudo-éphedrine, ainsi que des composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins. Ces composés sont principalement responsables des activités biologiques attribuées à la plante (Hibi *et al.*, 2022).

Des analyses chromatographiques avancées, notamment par HPLC et LC-MS, ont permis d'identifier plusieurs flavonoïdes tels que la quercétine, la catéchine et l'épicatéchine, connus pour leur fort pouvoir antioxydant. La richesse en polyphénols confère à *E. alata* un potentiel thérapeutique important dans la prévention du stress oxydatif (Benarba *et al.*, 2025).

6. Intérêt des métabolites secondaires d'*Ephedra alata* et leurs activités biologiques

Les métabolites secondaires d'*Ephedra alata* présentent un intérêt scientifique majeur en tant que sources potentielles d'antioxydants naturels. Il a été démontré que les extraits de cette plante possèdent une activité antioxydante significative *in vitro*, mise en évidence par différentes méthodes, notamment les tests DPPH, ABTS et FRAP. Cette activité est principalement attribuée à la richesse de la plante en composés phénoliques et flavonoïdes, capables de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène et de réduire le stress oxydatif (Hibi *et al.*, 2022 ; Wink, 2015).

De plus, l'étude a mis en évidence l'activité antibactérienne de l'extrait d'éphédra contre certaines bactéries pathogènes, telles que *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, attribuée

à l'effet synergique des alcaloïdes et des polyphénols (**Al Shalmania et al., 2025**). Par ailleurs, des études récentes ont démontré ses potentiels effets anti-inflammatoires et antiprolifératifs, soulignant ainsi l'intérêt de cette plante pour le développement de composés bioactifs naturels (**Benarba et al., 2025 ; Ziani et al., 2024**).

7. Usages traditionnels

Traditionnellement, *Ephedra alata* est utilisée en phytothérapie pour le traitement de diverses affections, notamment les troubles respiratoires, les douleurs articulaires et certaines infections. Les décoctions et infusions préparées à partir des parties aériennes de la plante sont couramment employées dans la médecine populaire saharienne (**Hibi et al., 2022**).

8. Toxicité et précautions d'emploi

Malgré ses effets bénéfiques, l'utilisation d'*Ephedra alata* doit être prudente en raison de la présence d'alcaloïdes pouvant entraîner des effets indésirables, en particulier au niveau cardiovasculaire et neurologique. Une consommation excessive peut provoquer des palpitations, une hypertension artérielle et des troubles du sommeil. Ainsi, une évaluation rigoureuse des doses est indispensable avant toute utilisation thérapeutique (**Chouikh, 2020**).

CHAPITRE III :
Métabolites secondaires
végétaux et leur
contribution à l'activité
antioxydante

1. Généralités sur les métabolites secondaires

Les plantes synthétisent une grande variété de composés chimiques appelés métabolites secondaires. Contrairement aux métabolites primaires impliqués directement dans les processus essentiels tels que la croissance et la reproduction, ces molécules interviennent principalement dans les mécanismes d'adaptation et de défense de la plante face aux contraintes environnementales et biologiques (fig.14) (Wink, 2010).

Ces composés jouent un rôle important dans la protection cellulaire en raison de leurs propriétés biologiques variées. Parmi celles-ci, l'activité antioxydante occupe une place essentielle, car plusieurs métabolites secondaires possèdent la capacité de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène et de limiter les dommages oxydatifs au niveau cellulaire (Panche *et al.*, 2016).

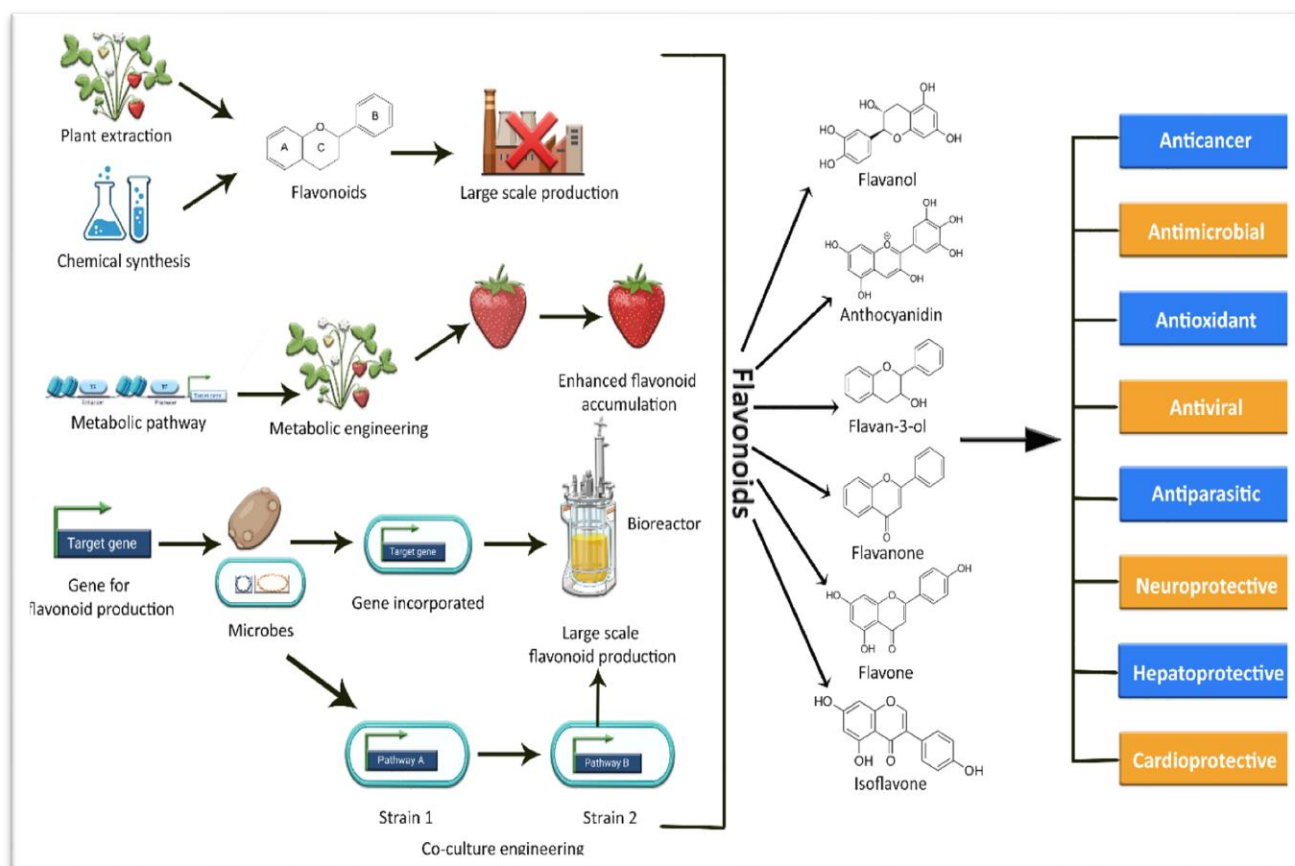


Figure 14 : Voies de biosynthèse des métabolites secondaires chez les plantes.(Wink, 2010)

2. Principales classes de métabolites secondaires

Les métabolites secondaires d'origine végétale peuvent être regroupés en plusieurs catégories selon leur structure chimique et leur voie de biosynthèse. Les groupes les plus étudiés incluent les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpènes.

2.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques représentent une famille très répandue dans le règne végétal. Ils comprennent notamment les flavonoïdes, les acides phénoliques, les tanins et les lignanes (fig.15).

Ces molécules sont particulièrement reconnues pour leur capacité à agir comme antioxydants naturels. Leur structure chimique, caractérisée par la présence de groupes hydroxyles, leur permet de piéger les radicaux libres et de stabiliser les espèces réactives, ce qui contribue à réduire les phénomènes d'oxydation au niveau biologique (**Rice-Evans *et al.*, 1997**).

Par ailleurs, plusieurs études ont montré que les polyphénols d'origine végétale peuvent exercer un effet protecteur contre diverses pathologies liées au stress oxydatif, notamment les maladies cardiovasculaires et certains troubles métaboliques (**Pandey et Rizvi, 2009**).

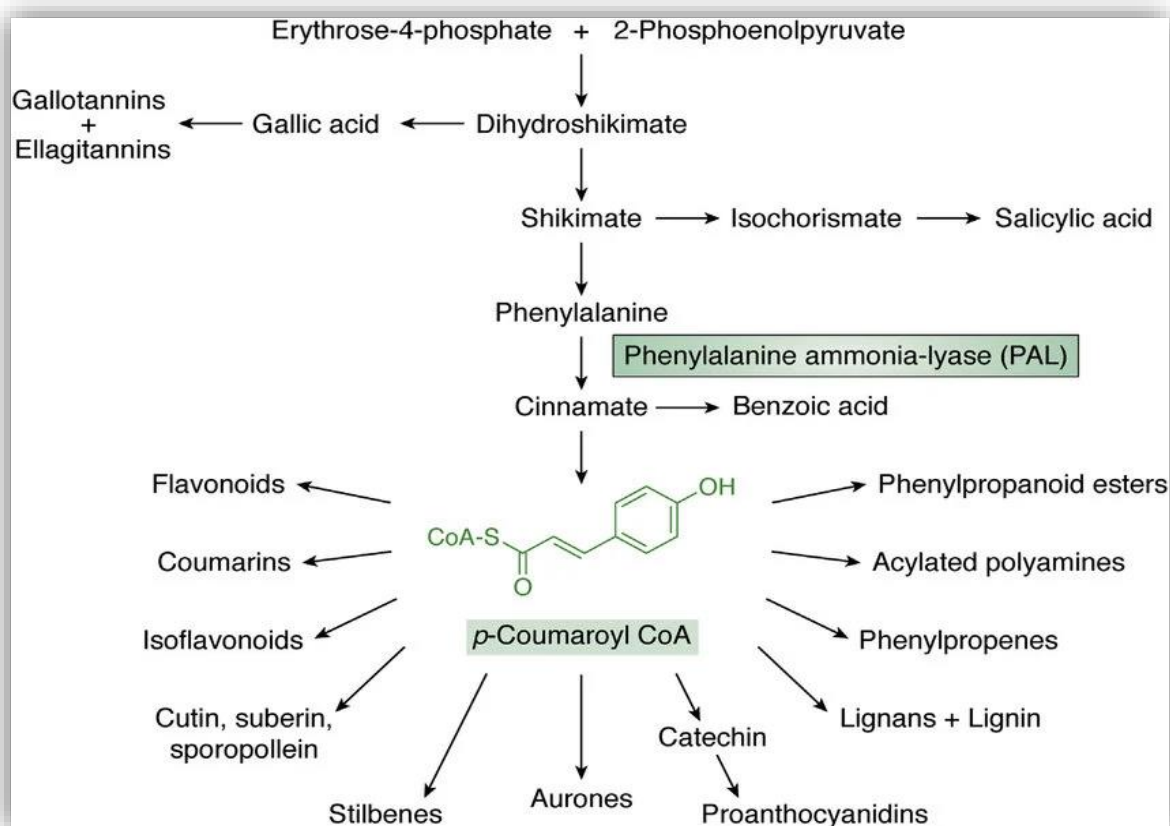


Figure 15 : Biosynthèse des composés phénoliques et des flavonoïdes (Panche et al., 2016)

2.2. Alcaloïdes

Les alcaloïdes constituent une autre classe importante de métabolites secondaires. Ce sont des composés azotés souvent caractérisés par une activité biologique marquée. Dans les plantes, ils participent principalement aux mécanismes de défense contre les herbivores et certains micro-organismes (Wink, 2010).

Outre leurs effets pharmacologiques bien connus, certains alcaloïdes présentent également des propriétés antioxydantes. Ils peuvent contribuer à limiter l'action des radicaux libres et à protéger les biomolécules contre les altérations oxydatives (Cushnie et al., 2014).

2.3. Terpènes et terpénoïdes

Les terpènes et leurs dérivés oxygénés appelés terpénoïdes forment l'une des plus vastes familles de composés naturels produits par les plantes. Ils sont biosynthétisés à partir d'unités

isopréniques et comprennent plusieurs sous-groupes tels que les monoterpènes, les sesquiterpènes et les diterpènes.

Ces molécules possèdent une diversité d'activités biologiques, dont certaines sont associées à des propriétés antioxydantes. Leur action peut se manifester par la neutralisation directe des radicaux libres ou par l'interaction avec différents systèmes enzymatiques impliqués dans la défense antioxydante de l'organisme (**Tholl, 2015**).

3. Contribution des métabolites secondaires à l'activité antioxydante

Les métabolites secondaires présents dans les plantes jouent un rôle déterminant dans l'activité antioxydante des extraits végétaux. Leur action repose sur plusieurs mécanismes biochimiques.

D'une part, ces composés peuvent agir comme donneurs d'électrons ou d'atomes d'hydrogène, ce qui permet de neutraliser les radicaux libres et d'interrompre les réactions d'oxydation en chaîne. D'autre part, certains métabolites, en particulier les polyphénols, ont la capacité de complexer les ions métalliques tels que le fer ou le cuivre, réduisant ainsi la formation de radicaux hautement réactifs (**Panche *et al.*, 2016**).

En outre, plusieurs études suggèrent que certains composés végétaux peuvent moduler les systèmes antioxydants endogènes en influençant l'activité d'enzymes telles que la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase (**Shahidi et Ambigaipalan, 2015**).

4. Intérêt des métabolites secondaires dans la recherche biomédicale

Les métabolites secondaires d'origine végétale suscitent un intérêt croissant dans les domaines pharmaceutique et nutritionnel en raison de leurs nombreuses propriétés biologiques. Les extraits riches en composés phénoliques et en flavonoïdes sont particulièrement étudiés pour leur potentiel dans la prévention des maladies associées au stress oxydatif.

Plusieurs travaux ont démontré que la consommation de composés antioxydants d'origine végétale peut contribuer à réduire les dommages cellulaires liés aux radicaux libres et participer à la protection contre certaines maladies chroniques, notamment les maladies cardiovasculaires, les cancers et les affections neurodégénératives (**Scalbert *et al.*, 2005**).

Ainsi, l'étude des métabolites secondaires constitue un axe important de recherche dans le développement de nouvelles substances naturelles possédant des propriétés thérapeutiques potentielles.

Partie expérimentale

Matériel et Méthodes



Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire de recherche «Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique » (LAPSAB). Université Abou Baker Belkaïd -Tlemcen-.

1. Récolte et préparation du matériel végétale

Le matériel végétal comprend les tiges de la plante, *Ephedra alata*, qui ont été récoltées dans la région de Béchar (sud-ouest de l'Algérie) au mois de février (fig.16).

Après la récolte, les échantillons ont été nettoyés afin d'éliminer les impuretés, puis séchés à l'ombre, à température ambiante et à l'abri de la lumière.

Les échantillons séchés ont été broyés à l'aide d'un mortier afin d'obtenir une poudre (fig.17), La poudre obtenue a été conservée dans des boîtes fermées hermétiquement, jusqu'à utilisation.



Figure 16 :*Ephedra alata* (photo prise au laboratoire,2026)



Figure17: *Ephedra alata* broyée (photo prise au laboratoire,2026)

2. Extraction du matériel végétal

Le matériel végétal est soumis à différents types d'extraction en utilisant l'eau distillée comme solvant.

2.1. Préparation de l'extrait aqueux par infusion

Une infusion a été réalisée en introduisant 20 g de matière végétale dans 300mL d'eau distillée bouillante. Le mélange a ensuite été laissé en contact jusqu'à refroidissement afin de favoriser l'extraction des composés hydrosolubles. Après cela, il a été laissé refroidir à température ambiante. Puis sec dans une étuve à 40 °C jusqu'à évaporation complète du solvant.

2.2. Préparation de l'extrait aqueux par décoction

Une extraction sous reflux a été réalisée en introduisant 20 g de matière végétale dans 300mL d'eau distillée. Le mélange a été porté à ébullition sous reflux pendant 1 heure. Après refroidissement, le mélange a été filtré afin d'éliminer les résidus solides. L'extrait obtenu a ensuite été sec dans une étuve à 40 °C afin d'éliminer totalement l'eau.

2.3. Préparation de l'extrait aqueux par macération

La première étape consiste à mélanger 20 g de matériel végétal avec 300mL d'eau distillée. Le mélange est ensuite laissé macéré à température ambiante, sous agitation intermittente pendant 24 heures. Après macération, il est filtré afin d'obtenir un extrait aqueux brut, lequel est ensuite à sec dans une étuve réglée à 40 °C.

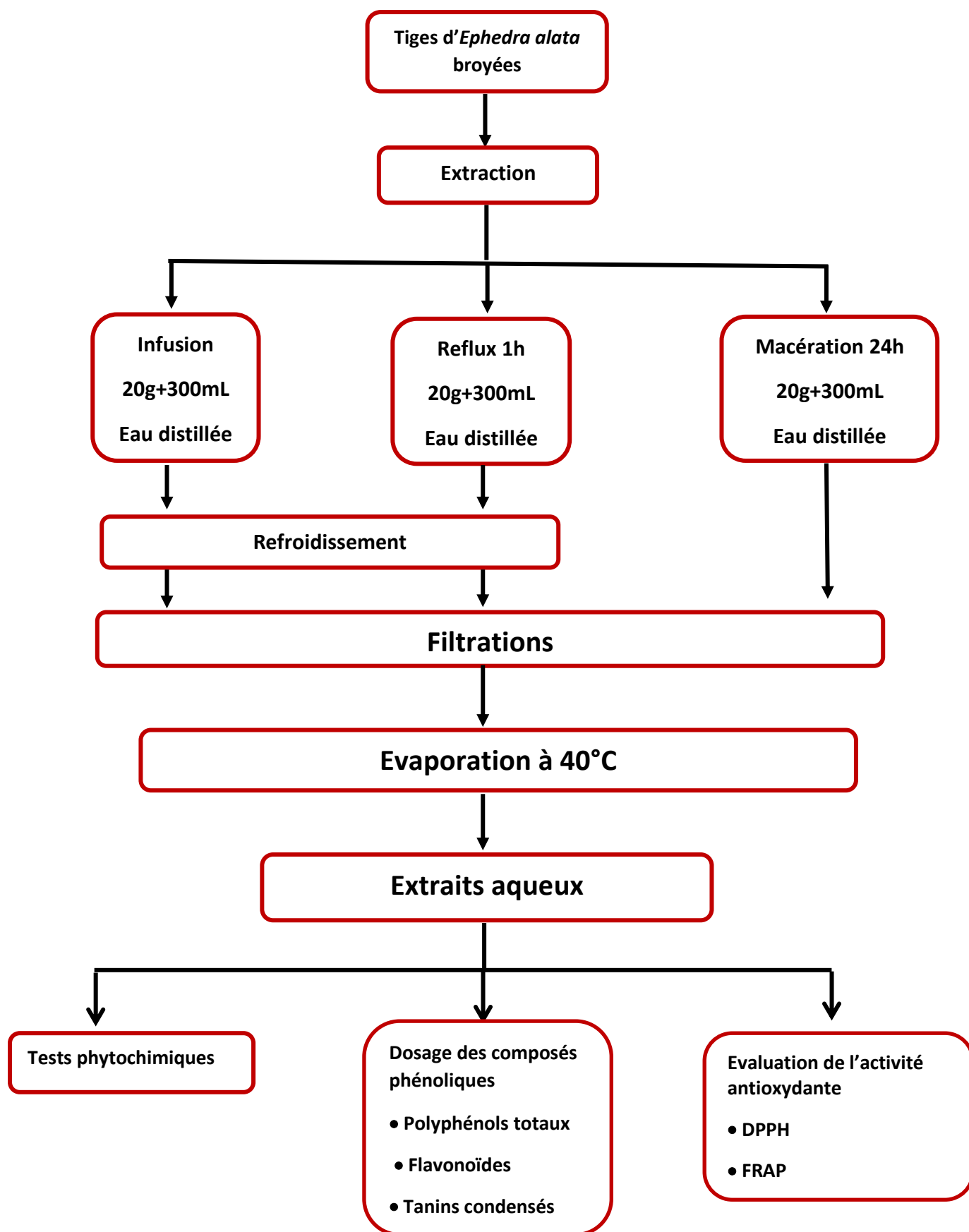


Figure 18 : Schéma récapitulatif des différentes étapes du protocole expérimental réalisé sur *Ephedra alata*

3. Calcul des rendements d'extraction

La quantité d'extraits secs obtenus à partir de la matière végétale exprime le rendement d'extraction calculé selon la formule :

$$\text{Rdt (\%)} = [P_2 / P_1] \times 100$$

Rdt : Rendement

P1 : Poids de la matière végétale (g).

P2 : Poids d'extraits sec.

4. Analyse phytochimique

Les extraits préparés ont été soumis à des tests de coloration et de précipitation en tubes, à fin de détecter la présence ou l'absence des groupes de familles chimiques tel que : les tanins, les flavonoïdes, les quinones libres, les anthraquinones, les terpénoïdes, les saponosides, les alcaloïdes et les composés réducteurs (**Bruneton, 1999**)

- **Tanins**

L'ajout de 0,125 mL d'une solution aqueuse de FeCl_3 (1%) à 0,5 mL de chaque extrait permet de mettre en évidence la présence de tanins, le mélange étant ensuite incubé à température ambiante pendant 15 minutes. L'émergence d'une teinte bleu-noirâtre ou verdâtre signale la présence de tanins.

- **Flavonoïdes**

Pour effectuer l'analyse, une certaine quantité d'extrait est combinée avec 1 mL d'acide chlorhydrique pur (HCl), puis quelques fragments de magnésium sont ajoutés. L'apparition de teintes comme le jaune, le rouge, l'orange ou le rose signale la présence de flavonoïdes.

- **Quinones libres**

Dans un tube de laboratoire, versez 1mL d'extrait puis incorporez 0,1mL d'hydroxyde de sodium (NaOH à 1 %). La manifestation d'une couleur jaune, rouge ou violette signale la présence de quinones libres.

- **Les anthraquinones**

Les anthraquinones ont été mises en évidence en ajoutant 1 mL de NH_4OH (10 %). Après agitation, l'apparition d'une couleur violette, indique la présence des anthraquinones.

- **Les terpénoïdes**

La recherche des terpénoïdes a été effectuée avec le test de Slakowski, en incorporant 0,4 mL de chloroforme et 0,6 mL d'acide sulfurique concentré à 1mL d'extrait. L'émergence de deux phases avec une teinte brune à l'interface signale la présence de terpénoïdes.

- **Les saponosides**

Les saponosides ont été recherchés par le test de mouse, après agitation de 10 mL de chaque extrait, une mousse supérieur à 1 cm et qui persiste entre 10 et 20 min confirme la présence des saponosides .

- **Les alcaloïdes**

Les analyses ont été effectuées par des réactions de précipitation en utilisant le réactif de Mayer et Wagner.

Tube 1 : comprenant 0,5 mL d'extrait associé à 0,5 mL du réactif de Mayer.

Tube 2 : contenant 0,5 mL d'extrait et 0,5 mL du réactif de Wagner.

L'apparition d'un précipité blanc et marron indique la présence des alcaloïdes.

- **Les composés réducteurs**

Leur détection consiste à introduire 1 mL d'extrait dans un tube à essai, puis 2 mL de liqueur de Fehling (1 mL de réactif A et 1 mL de réactif B). Ensuite, l'ensemble était porté au bain-marie bouillant durant 10 min. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs

5.Dosage des composés phénoliques

5.1. Dosage des polyphénols totaux

5.1.1. Principe

Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode décrite par Vermerius et Nicholson en 2006. Le réactif utilisé est le Folin-Ciocalteu, qui est un mélange d'acides phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de couleur jaune.

Le principe de cette méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif précédent. Elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 725 nm (**Vermerius et Nicholson, 2007**)

5.1.1. Mode opératoire

0,1 mL de chaque extrait est mélangé avec 2 mL d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 2% ;

- tubes sont agités puis incubés pendant 5 min ;
- 100 μL de réactif de Folin-Ciocalteu (1N) sont ajoutés au mélange ;
- Les tubes sont incubés pendant 30 min à température ambiante ;
- La lecture des densités optiques est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 700 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations (0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 mg/mL).

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/gE).

5.2. Dosage des Flavonoïdes

5.2.1. Principe

Le dosage des flavonoïdes est réalisé selon la méthode décrite par Ardestani et Yazdanparast en 2007.

C'est une méthode spectrophotométrie utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et la soude (NaOH) qui forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm (**Ardestani et Yazdanparast , 2007**)

5.2.2. Mode opératoire

- 500 μL de chaque extrait sont mélangés avec 2 mL d'eau distillée ;
- 150 μL d'une solution de nitrite de sodium (NaNO_2) à 15 % sont ajoutés au mélange ;
- Les tubes sont incubés pendant 6 min à température ambiante ;
- 150 μL de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) à 10% sont ajoutés ;
- Les tubes sont incubés pendant 6 min à température ambiante ;
- 2 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% sont ajoutés immédiatement ;
- Le volume total est ajusté à 5 mL avec l'eau distillée ;
- Les tubes sont agités, puis incubés pendant 15 min ;

- La lecture des densités optiques est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 510 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations (0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 ; 0,6 ; 0,8 mg/mL).

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg EQC/gE).

5.3. Dosage des tanins condensés

5.3.1. Principe

Le dosage des tanins condensés est réalisé selon la méthode utilisant la vanilline. En milieu acide, les tanins condensés se dépolymérisent et par réaction avec la vanilline se transforment en anthocyanidols de couleur rouge. Mesurables par spectrophotométrie à 500 nm (**Sun et al., 1998**).

5.3.1. Mode opératoire

- 50 µL de chaque extrait est mélangé avec 1500 µL de la solution vanilline/méthanol (4 %, m/v) ;
- Les tubes sont agités, ensuite 750 µL d'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné ;
- Le mélange est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min ;
- La lecture de l'absorbance est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 550 nm ;

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations (0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 mg/mL).

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg EQC/gE).

5.4. Expression des résultats

Les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés, sont calculées selon la formule suivante :

$$T = a \cdot f / b$$

T : Teneur en composés phénoliques ;

a : Concentration à partir de la courbe d'étalonnage respective ;

f : Facteur de dilution ;

b : Concentration initiale de l'extrait.

6. Evaluation de l'activité antioxydante

6.1. Piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

6.1.1. Principe

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•), est un radical libre instable qui absorbe dans le visible à une longueur d'onde de 515 à 520 nm (**Bandoniene *et al.*, 2002**). Afin de mesurer la capacité à réduire le radical DPPH• par des molécules dites « antioxydant », le test consiste à mettre une solution méthanolique de DPPH• de couleur violette à une concentration connue, en présence de différentes concentrations de la molécule testée. La forme réduite de couleur jaune n'absorbe plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à la longueur d'onde définie (**Atoui *et al.*, 2005 ; Majhenić *et al.*, 2007**).

6.1.2. Mode opératoire

- 50 µL de chaque extrait à différentes concentrations sont ajoutés à 1950 µL d'une solution méthanolique de DPPH• à ($6,34 \cdot 10^{-5}$ M) ;
- Pour chaque concentration un blanc est préparé contenant 50 µL de chaque extrait et 1950 µL de méthanol ;
- Le contrôle négatif est préparé, en mélangeant 50 µL de méthanol avec 1950 µL d'une solution méthanolique de DPPH• ;
- Après incubation à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre;
- L'acide ascorbique, est utilisé comme contrôle positif dans les mêmes conditions opératoires.

6.1.3. Expression des résultats

- **Calcul des pourcentages d'inhibition**

Les résultats du test DPPH• sont exprimés en pourcentage d'inhibition calculés à partir de la formule suivante :

$$\% I = [(AC - AT) / AC] \times 100$$

% I: Pourcentage d'inhibition.

AC : Absorbance du contrôle.

AT : Absorbance du test effectué.

- **Calcul des IC₅₀**

L'IC₅₀ (concentration inhibitrice de 50%) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH•. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés. (Maisuthisakul *et al.*, 2007 ; Fabri *et al.*, 2009 ; Scherer *et al.*, 2009).

6.2. Réduction du fer par la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

6.2.1. Principe

Activité réductrice du fer des extraits est déterminée selon la méthode décrite par (Oyaizu 1986), qui est basée sur la réaction chimique de réduction du fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe K₃Fe(CN)₆ en fer ferreux (Fe²⁺). La densité du milieu réactionnel de la couleur bleu du complexe ferreux (bleu de prussien due au FeCl₃) est déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Ozturk *et al.*, 2007).

6.2.2. Mode opératoire

- 1 mL d'échantillon à différentes concentrations est mélangé avec 2,5 mL une solution tampon phosphate (0,2 M ; pH 6,6) ;
- 2,5 mL une solution de ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ à 1% sont ajoutés au mélange ;
- Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 minutes, puis refroidi à température ambiante ;
- 2,5 mL de l'acide trichloracétique (TCA) à 10% sont ajoutés ;
- Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min ;
- 2,5 mL du surnageant sont ajoutés à 2,5 mL d'eau distillée ;
- 500 µL une solution de trichlorure du fer (FeCl₃) à 0,1% sont ajoutés en dernier ;
- La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Karagözler *et al.*, 2008) ;
- Le BHA est utilisé comme contrôle positif dans les mêmes conditions opératoires.

6.2.3. Expression des résultats

Pour la méthode FRAP, une augmentation de l'absorbance indique une augmentation du pouvoir réducteur du fer par les échantillons testés (extraits ou contrôle positif).

Afin de comparer entre le pouvoir réducteur de ces échantillons, le paramètre calculé est l'EC₅₀ ou concentration efficace qui indique la concentration de l'échantillon nécessaire pour obtenir une absorbance de 0,5 sur les graphes [Absorbances=f(concentrations)] à 700 nm (Ferreira *et al.*, 2007 ; Tamuly *et al.*, 2014).

Résultats

et interprétations

Résultats et interprétations

L'objectif de ce travail est d'établir une comparaison entre les rendements des trois extraits préparés par 3 méthodes d'extraction différentes. D'évaluer leurs compositions phytochimiques ainsi que les variations des teneurs en composés phénoliques, et enfin d'analyser leur pouvoir antioxydant à l'aide de deux méthodes complémentaires : DPPH et FRAP.

1. Rendements d'extraction

Le rendement de l'extrait sec, obtenu après évaporation du solvant, a été calculé en fonction du poids initial de la matière végétale pour chaque type d'extrait.

Tableau 3: Rendements et caractéristiques des divers extraits d'*Ephedra alata*.

Extraits aqueux	Rendement	Aspect	Couleur	Solubilité
EA-inf	34,5%	Cristallisé	Marron	Eau distillée
EA-ref	24,5%	Cristallisé	Marron clair	Eau distillée
EA-mac	24,5%	Cristallisé	verte	Eau distillée

EA-inf : extrait aqueux infusion

EA-ref : extrait aqueux reflux

EA-mac: extrait aqueux macération

D'après ces résultats, l'extrait aqueux préparé par infusion présente le rendement le plus élevé (34,5 %), suivi par les extraits préparés par macération et reflux avec le même rendement (24,5 %)

Les trois extraits présentent une forme cristallisée et sont solubles dans l'eau distillée. L'extrait préparé par macération affiche une couleur verte, l'extrait préparé par infusion présente une couleur marron et l'extrait préparé sous reflux se manifeste marron clair.

2. Analyse phytochimique

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les trois extraits sont compilés dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Résultats de l'analyse phytochimique des extraits aqueux d'*Ephedra alata*

Tests	EA-inf	EA-ref	EA-mac
Tanins	+	+++	+
flavonoïdes	+	-	+++
Quinones libres	-	-	-
Anthraquinones	-	-	-
Terpénoïdes	+	+++	+
Saponosides	-	+	-
Alcaloïdes	+++	+++	+++
Composés réducteurs	+++	+++	+++

Présence : (+) ; Absence : (-)

EA-inf : extrait aqueux infusion

EA-ref : extrait aqueux reflux

EA-mac: extrait aqueux macération

Les résultats montrent que *Ephedra alata* est riche en alcaloïdes et en composés réducteurs, présents fortement dans tous les extraits. Les tanins et les terpénoïdes sont également présents, avec une extraction plus efficace par reflux, suggérant l'effet positif de la température. Les flavonoïdes sont présente dans l'EA-mac et absent avec la chaleur, les quinones et les anthraquinones indique qu'ils sont révélés négatifs.

3.Teneurs en composés phénoliques

Les différents extraits bruts étudiés ont été soumis à une quantification par spectrophotométrique, afin de déterminer les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés.

Les concentrations de ces composés ont été évaluées à l'aide de courbes d'étalonnage : l'acide gallique (fig.19) pour les polyphénols totaux, et la catéchine (fig.20 et 21) pour les flavonoïdes et les tanins condensés, respectivement. Les valeurs obtenues sont indique dans le tableau 5

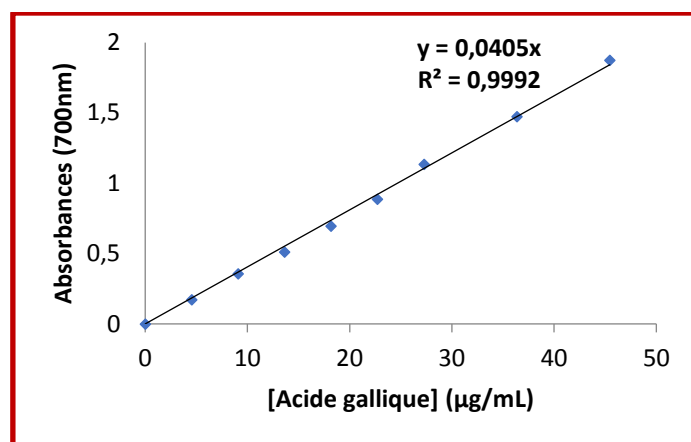


Figure 19: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

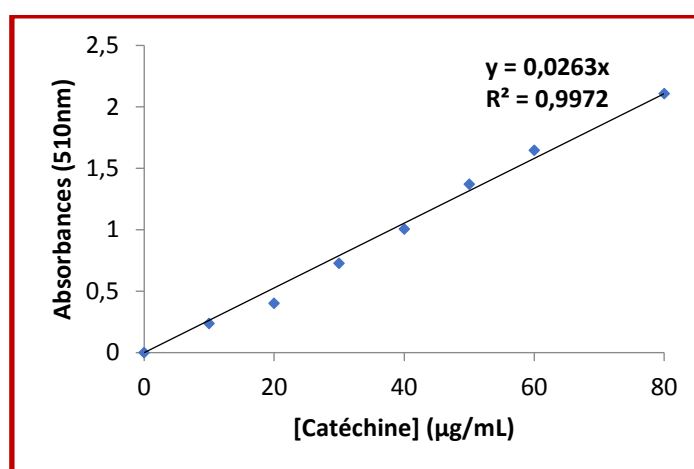


Figure 20: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

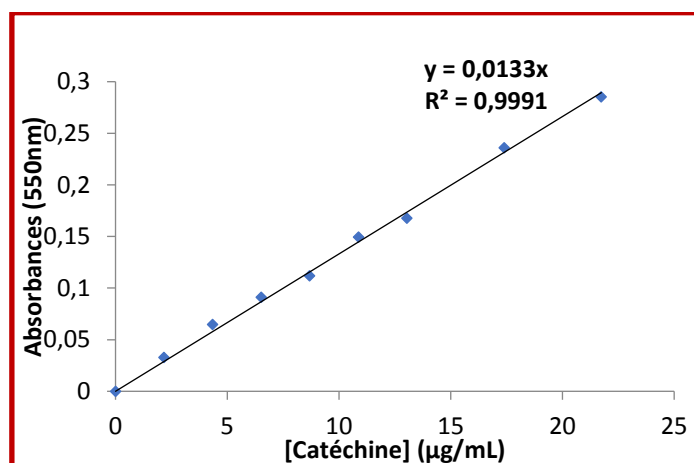


Figure 21: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés

Tableau 5: Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensé dans les différents extraits d'*Ephedra alata*

	EA-Inf	EA-Ref	EA-Mac
Polyphénols (mgEAG/gE)	130,77 ± 4,80	238,09± 9,33	153,09 ± 12,30
Flavonoïdes (mgEQC/gE)	41,80 ± 7,24	27,93 ± 4,78	28,52 ± 0,63
Tanins (mgEQC/gE)	482,83 ± 89,78	187,80 ± 32,49	140,54 ± 23,37

Les résultats présentés dans le tableau 5 indiquent que les teneurs en composés phénoliques varient d'un extrait à l'autre.

- **Polyphénols totaux**

Les teneurs en polyphénols totaux sont différents entre les trois échantillons. L'Extrait préparé par décoction affiche la teneur la plus élevée en polyphénols (238,09± 9,33mg EAG/gE), suivi de l'Extrait préparé par macération qui présente un contenu moyen de (153,09 ± 12,30mg EAG/gE). L'Extrait préparé par infusion a révélé la concentration la plus faible (130,77 ± 4,80mg EAG/gE).

- **Flavonoïdes**

Les teneurs en flavonoïdes des extraits fluctuent entre 28 et 42 mgEQC/gE. L'Extrait préparé par infusion a révélé la concentration la plus importante en flavonoïdes, atteignant 41,80 ± 7,24 mg EQC/gE. Tandis que les extraits préparés par macération et reflux contenaient des teneurs plus faibles de (28,52 ± 0,63 et 27,93 ± 4,78 mg EQC/gE) respectivement.

- **Tanins condensés**

Les teneurs de tanins condensés présents dans les divers extraits montrent également une variabilité. L'Extrait préparé par infusion présente la concentration la plus élevée avec une valeur de 482,83± 89,78 mg EQC/gE. En comparaison, l'extrait préparé par macération a montré la plus faible concentration en tanins, avec une valeur de 140,54 ± 23,37 mg EQC/gE, alors que l'extrait préparé sous reflux affiche une valeur intermédiaire (187,80 ± 32,49 mg EQC/gE).

4. Résultats de l'activité antioxydante

Pour cette étude, deux méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des extraits d'*Ephedra alata* : la méthode DPPH, et la méthode FRAP. Les résultats obtenus par ces méthodes ont été comparé par un composé de référence, à savoir l'acide ascorbique et le BHA respectivement

4.1. Piégeage du radical DPPH les extraits aqueux d'*Ephedra alata*

4.1.1. Piégeage du radical DPPH par l'EA-inf

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux obtenu par infusion a été réalisée par le test du DPPH afin de déterminer sa capacité à piéger les radicaux libres (fig.22).

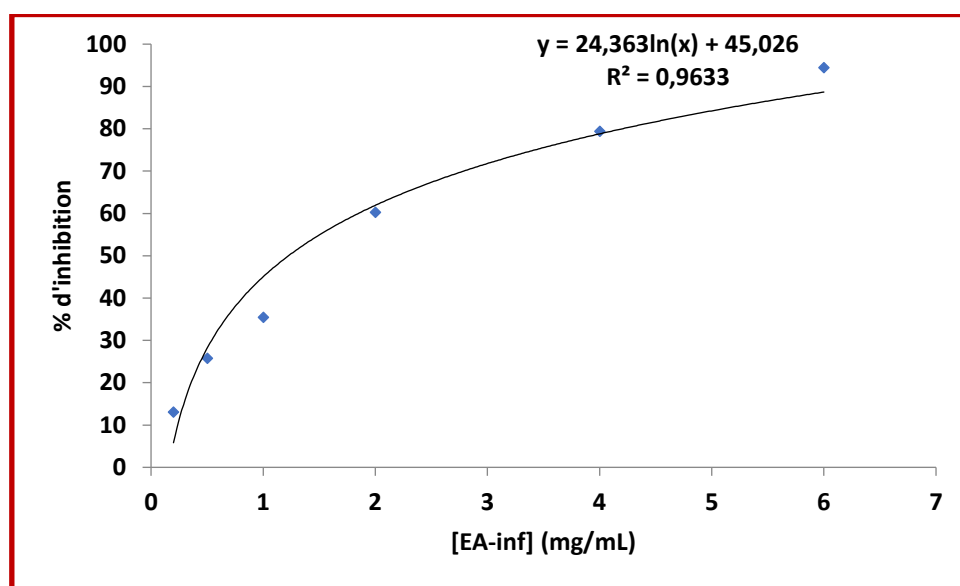


Figure 22: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'EA-inf d'*Ephedra alata*

Selon la figure 22, le pourcentage d'inhibition du radical DPPH• augmente progressivement avec l'augmentation de la concentration de l'extrait, ce qui traduit une activité antioxydante dépendante de la dose. À une faible concentration de 0,2 mg/mL, l'inhibition est d'environ 13,08 %, puis elle passe à 25,75 % à 0,5 mg/mL et à 35,44 % à 1 mg/mL. Cette augmentation devient plus marquée à 2 mg/mL, où l'inhibition atteint 50,69 %.

Aux concentrations plus élevées, l'activité antioxydante devient très importante, avec 79,39 % à 4 mg/mL et un maximum de 94,46 % à 6 mg/mL.

Par ailleurs, l'équation de la courbe ($y = 24,368 \ln(x) + 43,026$) ainsi que le coefficient de corrélation élevé ($R^2 = 0,9633$) montre que la relation entre la concentration et le pourcentage d'inhibition suit une évolution logarithmique.

4.1.2. Piégeage du radical DPPH par l'EA-Ref

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux obtenu par décoction a été réalisée par le test du DPPH afin de déterminer sa capacité à piéger les radicaux libres (fig.23).

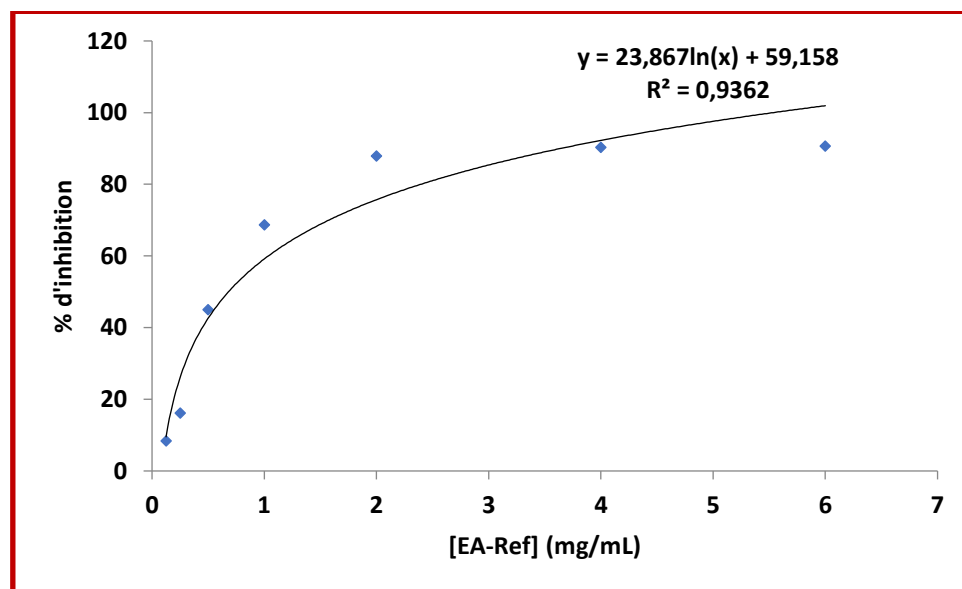


Figure 23: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'EA-Ref d'*Ephedra alata*

Le graphique montre que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH• augmente progressivement avec l'augmentation de la concentration de l'extrait EA-Ref, indiquant une activité antioxydante dose dépendante.

À très faible concentration, l'inhibition reste faible, avec environ 8 % à 0,125 mg/mL et près de 16 % à 0,25 mg/mL. Lorsque la concentration atteint 0,5 mg/mL, le pourcentage d'inhibition augmente nettement jusqu'à environ 45 %, puis atteint près de 69 % à 1 mg/mL.

Aux concentrations plus élevées, l'activité antioxydante devient très importante, avec environ 88 % d'inhibition à 2 mg/mL. À 4 mg/mL et 6 mg/mL, les valeurs se maintiennent autour de 90 %, traduisant une tendance vers la stabilisation de l'effet antioxydant.

La courbe présente ainsi une augmentation rapide aux faibles concentrations suivie d'un ralentissement progressif aux concentrations élevées, ce qui suggère une saturation graduelle des radicaux DPPH•. L'équation logarithmique ($y = 23,867\ln(x) + 59,158$) ainsi que le coefficient de corrélation élevé ($R^2 = 0,9362$) montrent une bonne corrélation entre la concentration de l'extrait et le pourcentage d'inhibition.

Globalement, l'extrait de référence présente une forte capacité antioxydante, caractérisée par une inhibition élevée même à des concentrations relativement faibles.

4.1.3. Piégeage du radical DPPH par l'EA-Mac

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux obtenu par macération d'*Ephedra alata* a été réalisée par le test du DPPH afin de déterminer sa capacité à piéger les radicaux libres (fig.24).

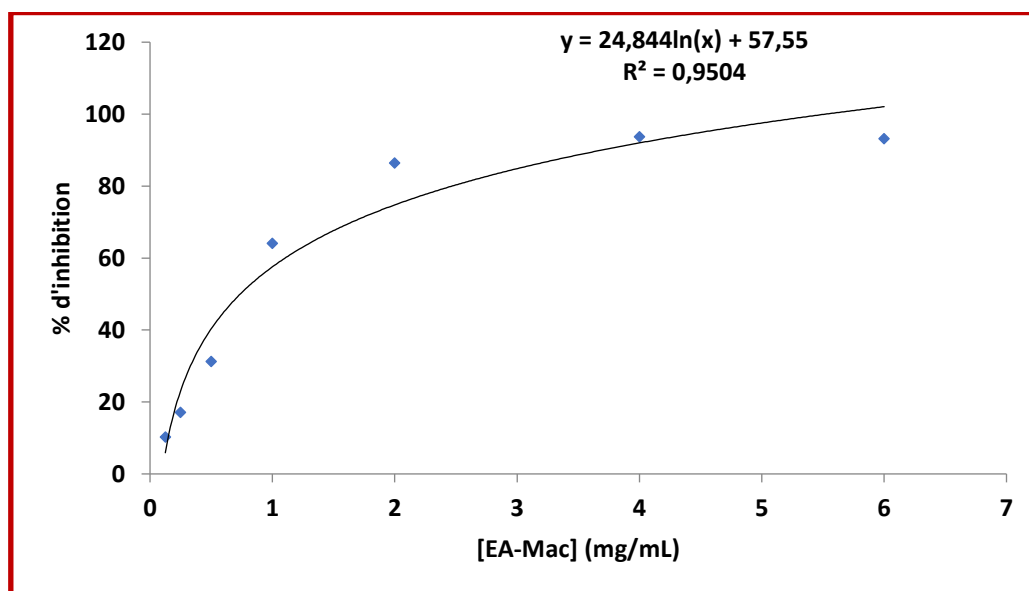


Figure 24: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par L'EA-Mac d'*Ephedra alata*

Le graphique montre que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH• augmente avec l'élévation de la concentration de l'extrait de macération (EA-Mac), traduisant une activité antioxydante dépendante de la dose.

À faible concentration, l'activité antioxydante reste modérée, avec une inhibition d'environ 10 % à 0,125 mg/mL, 17 % à 0,25 mg/mL et près de 31 % à 0,5 mg/mL. Lorsque la concentration atteint 1 mg/mL, le pourcentage d'inhibition augmente nettement pour atteindre environ 64 %.

Aux concentrations intermédiaires et élevées, l'activité devient très importante, avec environ 86 % d'inhibition à 2 mg/mL et près de 94 % à 4 mg/mL. À 6 mg/mL, le taux d'inhibition reste élevé, autour de 93 %, indiquant une stabilisation de l'effet antioxydant.

La courbe présente ainsi une augmentation rapide aux faibles concentrations suivie d'un ralentissement progressif aux concentrations élevées, ce qui suggère une saturation graduelle des radicaux DPPH•. L'équation logarithmique ($y = 24,844\ln(x) + 57,55$) ainsi que le coefficient de corrélation élevé ($R^2 = 0,9504$) confirment une bonne corrélation entre la concentration de l'extrait et le pourcentage d'inhibition. Ces résultats montrent que l'extrait

Résultats et interprétations

préparé par possède une forte activité antioxydante, particulièrement marquée à partir des concentrations intermédiaires.

4.2. Piégeage du radical libre DPPH par l'acide ascorbique

La molécule d'acide ascorbique, utilisée pour piéger le radical libre DPPH •, présente des pourcentages d'inhibition indiqués sur la figure 25.

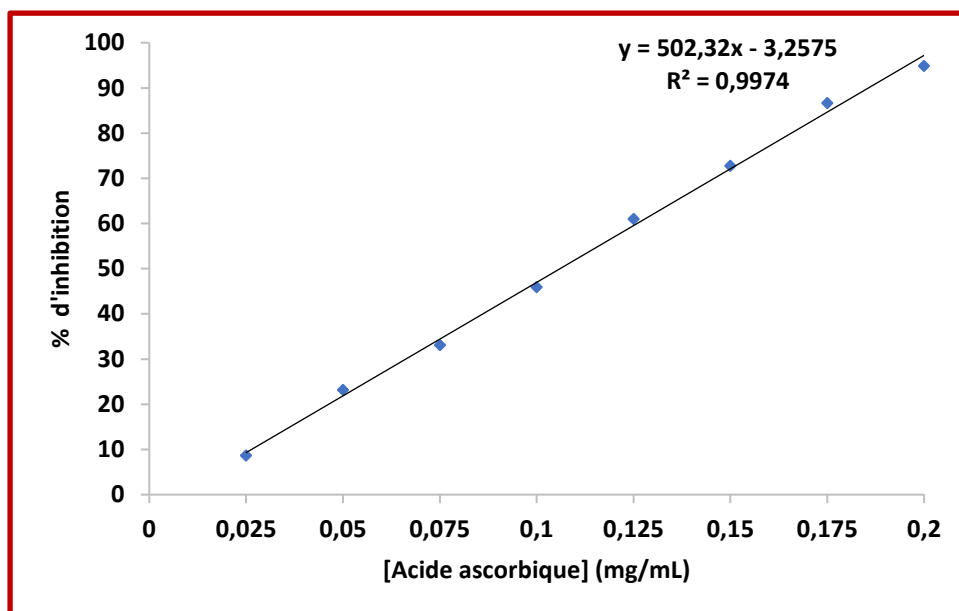


Figure 25: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par d'acide ascorbique

D'après la figure 25, l'acide ascorbique présente une augmentation progressive du pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction de l'augmentation de la concentration, ce qui traduit une activité antioxydante dépendante de la dose.

À la plus faible concentration (0,025 mg/mL), le pourcentage d'inhibition est d'environ 9 %. Lorsque la concentration augmente à 0,05 mg/mL, l'inhibition atteint près de 23 %, puis environ 33 % à 0,075 mg/mL. Cette augmentation se poursuit avec des valeurs proches de 46 % à 0,1 mg/mL et 61 % à 0,125 mg/mL.

Aux concentrations plus élevées, l'activité antioxydante devient plus importante, avec environ 73 % d'inhibition à 0,15 mg/mL, 87 % à 0,175 mg/mL et près de 95 % à 0,2 mg/mL. La droite de régression obtenue ($y = 502,32x - 3,2575$) ainsi que le coefficient de corrélation élevé ($R^2 = 0,9974$) montrent une forte corrélation linéaire entre la concentration de l'acide ascorbique et le pourcentage d'inhibition du DPPH•. Ces résultats confirment le fort pouvoir antioxydant de l'acide ascorbique, utilisé comme molécule de référence.

4.3. Calcul des IC_{50}

L'activité antioxydante de l'acide ascorbique et des extraits a été mesurée en termes de valeurs IC_{50} , (Une valeur IC_{50} basse indique une grande efficacité dans l'inhibition des radicaux libres, alors qu'une valeur élevée révèle une activité antioxydante plus faible.

Les résultats IC_{50} , dérivés des équations de régression linéaire des courbes précédemment tracées, sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6 : Valeurs IC_{50} de différents extraits d'*Ephedra alata* et de l'acide ascorbique

Extraits	IC_{50} (mg/ml)
infusion	1,22
Reflux	0,66
macération	0,73
Acide ascorbique	0,106

Les valeurs d' IC_{50} montrent que tous les extraits possèdent une activité antioxydante, mais avec une efficacité différente. L'acide ascorbique est utilisé comme référence, car il présente une très forte capacité à piéger le radical DPPH• ($IC_{50} = 0,106$ mg/mL).

Ainsi, même si aucun extrait n'atteint l'efficacité de l'acide ascorbique, l'extrait obtenu sous reflux apparaît comme le plus performant avec une IC_{50} de 0,66 mg/mL suivi par l'extrait préparé par macération (0,73 mg/mL), tandis que l'extrait préparé par l'infusion (1,22 mg/mL) reste le moins actif.

4.4. Réduction du fer (FRAP)

4.4.1. Réduction du fer (FRAP) par l'EA-inf d'*Ephedra alata*

La figure 26 représente le pouvoir réducteur du fer de l'EA-inf évalué par le test FRAP

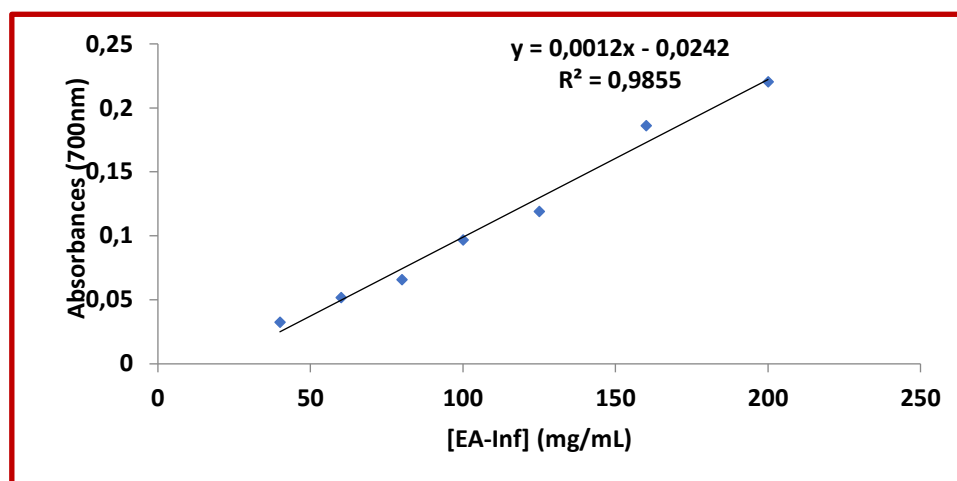


Figure 26 : Réduction du fer par l'EA-Inf d'*Ephedra alata*

Les résultats obtenus montrent une augmentation progressive de l'absorbance à 700 nm avec l'augmentation de la concentration de l'extrait, passant de 0,03 à 0,22. Cette augmentation traduit une activité réductrice dose-dépendante de l'extrait préparé par infusion.

À une concentration de 40 mg/mL, l'absorbance atteint une valeur de 0,035 et passe, à une concentration de 125 mg/mL à 0,119. À la concentration la plus élevée (200 mg/mL) l'absorbance est de 0,22.

Ces résultats de courbe linéaire suggèrent que l'extrait préparé par infusion possède une activité antioxydante intéressante, pouvant être liée à sa richesse en molécules bioactives capables de transformer les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}).

4.4.2. Réduction du fer (FRAP) par l'EA-Ref d'*Ephedra alata*

La figure 27 illustre le pouvoir réducteur du fer de l'extrait obtenu par reflux à travers le test FRAP

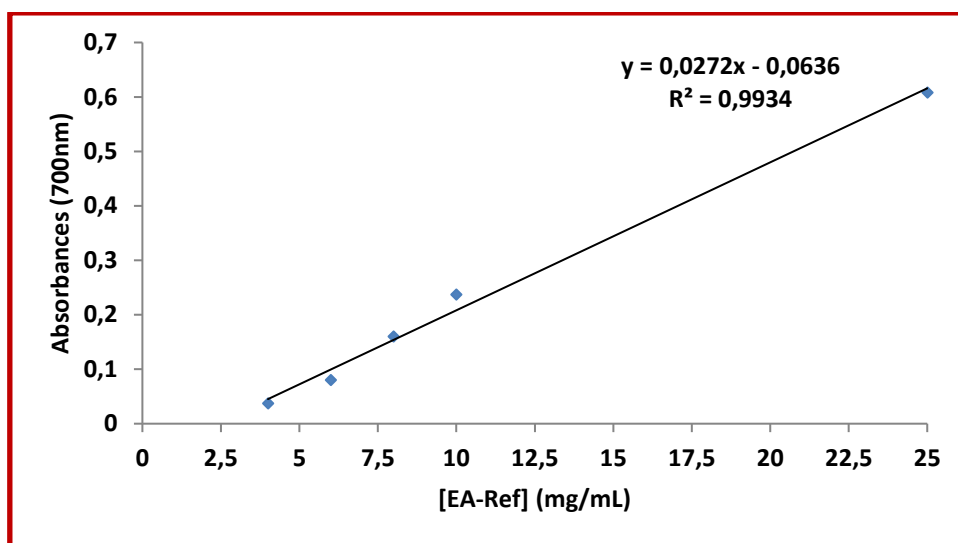


Figure 27: Réduction du fer par l'EA-Ref d'*Ephedra alata*

Les résultats montrent une augmentation progressive de l'absorbance à 700 nm en fonction de l'augmentation de la concentration de l'extrait. Cette évolution traduit une activité réductrice croissante et met en évidence une relation dose-dépendante.

À une concentration de 4 mg/mL l'absorbance atteint une valeur de 0,037 et passe, à une concentration de 8 mg/mL, à 0,16. À la concentration la plus élevée 25 mg/mL l'absorbance est de 0,61

Par ailleurs, la linéarité observée entre la concentration de l'extrait et l'absorbance suggère une bonne corrélation entre la quantité d'extrait utilisée et son pouvoir réducteur. Ainsi, l'extrait obtenu par reflux présente une capacité antioxydante intéressante, pouvant être liée à une meilleure extraction des composés phénoliques capables de réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}), ce qui reflète une activité antioxydante importante.

4.4.3. Réduction du fer (FRAP) par l'EA-Mac d'*Ephedra alata*

La figure 28 représente le pouvoir réducteur du fer de l'extrait obtenu par macération évalué par le test FRAP

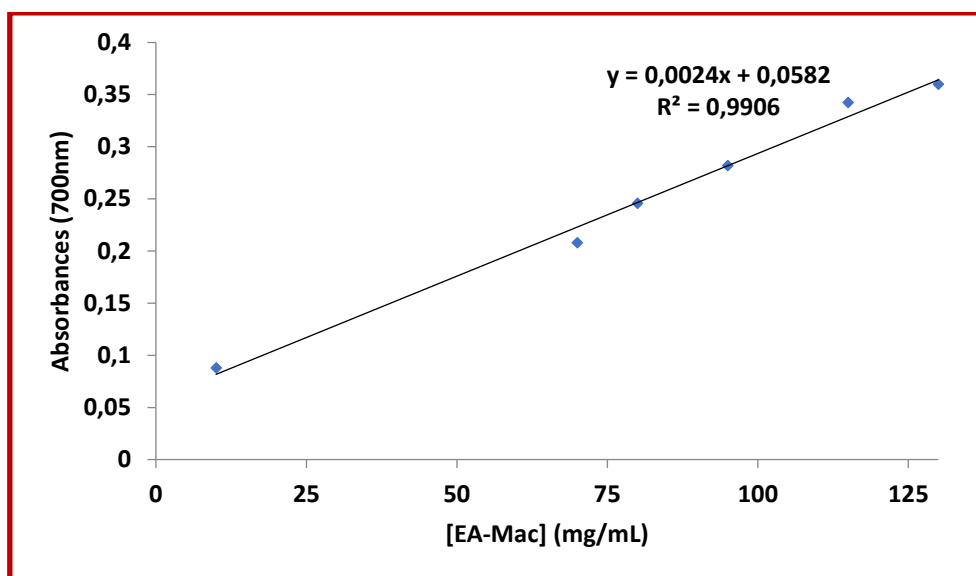


Figure 28 : Réduction du fer par l'EA-Mac d'*Ephedra alata*

Les résultats montrent une augmentation progressive de l'absorbance à 700 nm avec l'augmentation de la concentration de l'extrait, indiquant ainsi une activité antioxydante dose-dépendante.

À une concentration de 10 mg/mL l'absorbance atteint une valeur de 0,087 et passe, à une concentration de 80 mg/mL de 0,24. À la concentration la plus élevée (130 mg/mL) l'absorbance est de 0,26.

L'élévation de l'absorbance traduit la capacité de l'extrait de macération à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}). Cette activité réductrice confirme la richesse de l'extrait en molécules bioactives à potentiel réducteur.

4.5. Réduction du fer par le BHA

La molécule BHA, utilisée comme réducteur du fer, présente des absorbances indiquées sur la figure 29.

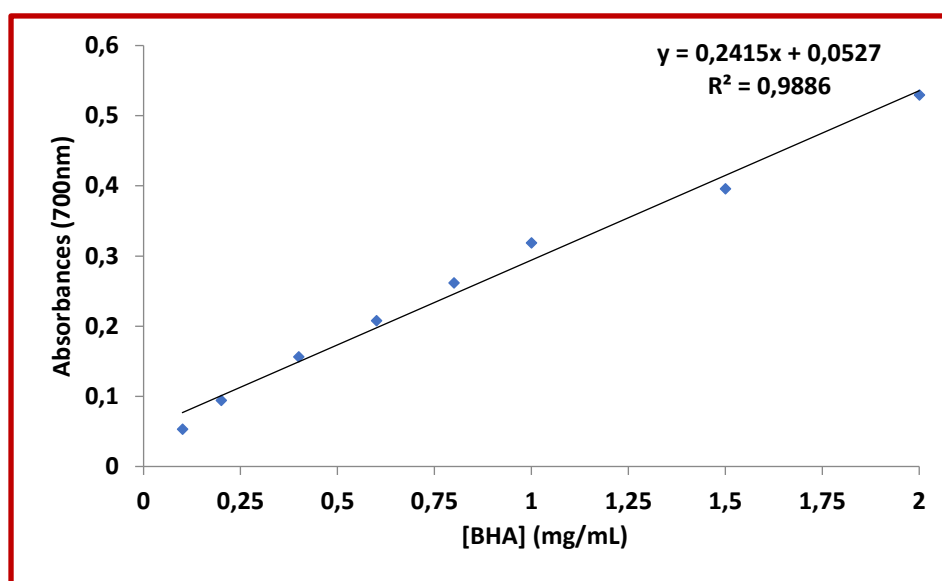


Figure 29 : Réduction du fer par le BHA

D'après la figure 29, l'absorbance augmente progressivement avec l'augmentation de la concentration du BHA, ce qui indique une augmentation du pouvoir réducteur en fonction de la dose. À faible concentration, les valeurs d'absorbance sont faibles, puis elles augmentent progressivement pour atteindre une absorbance maximale d'environ 0,53 à 2 mg/mL.

La relation linéaire obtenue : $y=0,2415x+0,0527$ avec un coefficient de corrélation élevé : $R^2=0,9886$ montre une forte corrélation entre la concentration du BHA et l'absorbance. Ces résultats confirment le fort pouvoir réducteur du BHA, utilisé comme composé de référence dans l'évaluation de l'activité antioxydante.

4.3.Calcul des EC_{50}

L'activité antioxydante de BHA et des extraits a été mesurée en termes de valeurs EC_{50} . Les résultats EC_{50} , dérivés des équations de régression linéaire des courbes précédemment tracées, sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 7: Valeurs EC_{50} de différents extraits d'*Ephedra alata* et de la molécule de référence.

Extraits	EC_{50} (mg/mL)
Infusion	463,83
Reflux	20,72
Macération	184,08
BHA	1,85

Le tableau 7 présente les valeurs d' EC_{50} des différents extraits d'*Ephedra alata* ainsi que le BHA. La valeur d' EC_{50} correspond à la concentration nécessaire pour obtenir 50 % d'activité antioxydante. Plus cette valeur est faible, plus l'activité antioxydante est élevée.

Parmi les extraits étudiés, l'extrait obtenu par reflux a montré la meilleure activité antioxydante avec une valeur d' EC_{50} de 20,72 mg/mL. Cette activité reste toutefois inférieure à celle du BHA, utilisé comme référence, qui présente la plus faible valeur d' EC_{50} (1,85 mg/mL), indiquant ainsi une activité antioxydante très importante.

L'extrait obtenu par macération présente une activité antioxydante modérée avec une valeur d' EC_{50} de 184,08 mg/mL, tandis que l'extrait préparé par infusion a enregistré la valeur la plus élevée (463,83 mg/mL), traduisant une faible capacité antioxydante.

Ces résultats montrent que la méthode d'extraction influence fortement l'activité antioxydante des extraits d'*Ephedra alata*. La méthode de reflux semble être la plus efficace pour extraire les composés antioxydants responsables de cette activité.

Discussion

Les résultats obtenus au cours de cette étude montrent clairement que la méthode d'extraction utilisée influence fortement le rendement, la composition phytochimique ainsi que l'activité antioxydante des extraits d'*Ephedra alata*. Les différences observées entre la macération, l'infusion et le reflux peuvent être expliquées par plusieurs facteurs, notamment la température d'extraction, la durée du contact entre le solvant et le matériel végétal ainsi que la capacité du solvant à pénétrer les tissus végétaux et à solubiliser les métabolites secondaires.

Les résultats relatifs aux rendements d'extraction montrent que l'extrait obtenu par infusion présente le rendement le plus élevé avec une valeur de 34,5 %, tandis que les extraits obtenus par macération et reflux affichent des rendements identiques de 24,5 %. Cette différence pourrait être attribuée à l'utilisation de l'eau chaude lors de l'infusion, qui facilite l'hydratation et la perméabilisation des membranes cellulaires végétales, favorisant ainsi la diffusion des substances solubles dans le milieu aqueux. Des résultats comparables ont été rapportés par Hibi et ses collaborateurs sur *Ephedra alata* récoltée dans la région de Béchar. Ces auteurs ont obtenu un rendement de 16,08 % pour l'extrait aqueux obtenu par macération et de 17,27 % pour l'extrait aqueux obtenu sous reflux. Bien que les valeurs obtenues dans notre étude soient plus élevées, les différences enregistrées peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, notamment l'origine géographique du matériel végétal, les conditions climatiques, la période de récolte, la granulométrie de la poudre végétale ainsi que les paramètres d'extraction utilisés (Hibi *et al.*, 2022).

L'analyse phytochimique réalisée sur les trois extraits a montré la présence de plusieurs groupes de composés bioactifs, notamment les alcaloïdes, les tanins, les terpénoïdes, les flavonoïdes et les composés réducteurs. Les alcaloïdes et les composés réducteurs ont été fortement détectés dans tous les extraits, ce qui indique que *Ephedra alata* constitue une source importante de substances biologiquement actives. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Jaradat et ses collaborateurs aussi par Hibi et ses collaborateurs, qui ont montré que les extraits d'*Ephedra alata* possèdent une richesse importante en alcaloïdes et en composés phénoliques responsables de plusieurs propriétés biologiques telles que les activités antioxydantes, antimicrobiennes et cytotoxiques (Jaradat *et al.*, 2021). Le genre *Ephedra* est particulièrement connu pour contenir des alcaloïdes de type éphédrine et pseudoéphédrine, largement utilisés dans le domaine pharmaceutique pour leurs propriétés stimulantes et bronchodilatatrices (Hibi *et al.*, 2022).

Les résultats phytochimiques montrent également que les flavonoïdes sont davantage présents dans l'extrait obtenu par macération, alors qu'ils diminuent progressivement dans les extraits obtenus par chauffage, notamment celui préparé par reflux. Cette diminution pourrait être liée à la thermosensibilité de certains flavonoïdes qui peuvent subir des transformations chimiques ou des dégradations sous l'effet prolongé de températures élevées. Des observations similaires ont été rapportées par Bourgou et collaborateurs, qui ont montré que les conditions thermiques influencent significativement la stabilité des flavonoïdes présents dans les espèces du genre *Ephedra* (**Bourgou et al., 2020**). Les auteurs ont indiqué que certains flavonoïdes peuvent être oxydés ou hydrolysés sous l'effet de la chaleur, entraînant une diminution de leur concentration dans les extraits chauffés.

Concernant les tanins et les terpénoïdes, les résultats montrent une extraction plus importante dans l'extrait obtenu par reflux. Cela pourrait être expliqué par l'effet combiné de la chaleur et du reflux continu, qui favorisent une meilleure rupture des structures cellulaires végétales et facilitent ainsi la libération des composés fortement liés aux tissus végétaux. Les tanins étant des molécules polyphénoliques relativement complexes, leur extraction nécessite souvent des conditions thermiques favorables afin d'améliorer leur solubilisation dans les solvants aqueux.

Le dosage des polyphénols totaux a révélé que l'extrait préparé par reflux possède la concentration la plus élevée avec une valeur de $238,09 \pm 9,33$ mg EAG/gE, suivi de l'extrait macération puis de l'extrait infusion. Cette richesse importante en composés phénoliques pourrait être attribuée à l'action prolongée de la chaleur durant le reflux, qui favorise la diffusion et la solubilisation des polyphénols liés aux structures cellulaires végétales. Des résultats similaires ont été rapportés par Boussena et collaborateurs dans une étude menée sur *Ephedra alata* du Sahara algérien, où les auteurs ont montré que les extraits aqueux chauffés présentaient des teneurs élevées en composés phénoliques ainsi qu'une activité antioxydante importante (**Boussena et al., 2022**).

Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans la protection des cellules contre le stress oxydatif grâce à leur capacité à céder des électrons ou des atomes d'hydrogène afin de neutraliser les radicaux libres. La richesse de l'extrait préparé par reflux en polyphénols pourrait donc expliquer son activité antioxydante importante observée dans les tests DPPH et FRAP. Plusieurs études ont montré l'existence d'une corrélation positive entre la teneur en polyphénols et le potentiel antioxydant des extraits végétaux.

Les résultats obtenus pour les flavonoïdes montrent que l'extrait préparé par infusion possède la teneur la plus élevée de $41,80 \pm 7,24$ mg EQC/gE. Cette valeur est légèrement supérieure à celle rapportée par Belazougui et ses collaborateurs qui ont obtenu une teneur maximale de $38,45 \pm 0,05$ mg QE/g d'extrait d'*Ephedra alata*. Cette similitude confirme la richesse de cette espèce en flavonoïdes. Les différences observées peuvent être liées à la méthode d'extraction, à l'origine géographique de la plante ainsi qu'aux conditions environnementales influençant la biosynthèse des métabolites secondaires (**Belazougui et al.,2023**)

Les tanins condensés ont également montré des variations importantes selon la méthode d'extraction. L'extrait infusion a présenté la teneur la plus élevée en tanins condensés $482,83 \pm 89,78$ mg EQC/gE, suivi de l'extrait préparé par reflux $187,80 \pm 32,49$ mg EQC/gE puis de l'extrait obtenu par macération $140,54 \pm 23,37$ mg EQC/gE. Des résultats comparables ont été rapportés par Bourgou et ses collaborateurs, qui ont obtenu une teneur maximale de $19,59 \pm 0,05$ mg CE/g d'extrait.. Ces différences pourraient être liées aux caractéristiques structurales des tanins ainsi qu'à leur sensibilité aux conditions thermiques et au temps d'extraction. Les tanins sont connus pour leurs propriétés antioxydantes importantes grâce à leur capacité à former des complexes avec les radicaux libres et les ions métalliques responsables des réactions d'oxydation. (**Bourgou et al.,2020**)

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH a montré que tous les extraits possèdent une activité inhibitrice dépendante de la concentration. Les extraits reflux et macération ont présenté les meilleures activités avec des valeurs IC_{50} respectives de 0,66 mg/mL et 0,73 mg/mL, tandis que l'extrait infusion a montré une activité plus faible avec une IC_{50} de 1,22 mg/mL. Ces résultats sont proches de ceux rapportés par Hibi et ses collaborateurs, qui ont obtenu des valeurs IC_{50} de 0,49 mg/mL pour l'extrait aqueux, 0,56 mg/mL pour l'extrait méthanolique et 0,42 mg/mL pour l'extrait à l'acétate d'éthyle. Les faibles valeurs d' IC_{50} observées dans les deux études confirment le potentiel antioxydant important de l'espèce *Ephedra alata*. Les différences constatées entre les résultats peuvent être expliquées par les variations de composition phytochimique, les conditions d'extraction, les solvants utilisés ainsi que l'origine géographique des échantillons végétaux. (**Hibi et al., 2022**).

Les résultats du test FRAP confirment également cette activité antioxydante importante. L'extrait reflux a montré la meilleure activité réductrice avec une valeur EC_{50} de 20,72 mg/mL, alors que l'infusion a présenté la plus faible activité avec une EC_{50} de 436,8 mg/mL.

Discussion

Cette différence importante pourrait être liée à la forte concentration en polyphénols présents dans l'extrait préparé par reflux. Les composés phénoliques possèdent en effet une forte capacité de transfert d'électrons permettant de réduire Fe^{3+} en Fe^{2+} , ce qui explique l'augmentation du pouvoir réducteur observée dans le test FRAP. Des résultats similaires ont été rapportés par Bourgou et collaborateurs, qui ont montré que les extraits d'*Ephedra alata* les plus riches en polyphénols présentent également les meilleures activités dans les tests FRAP et DPPH (**Bourgou et al., 2020**).

Dans l'ensemble, les résultats obtenus dans cette étude montrent que *Ephedra alata* représente une source importante de composés bioactifs possédant un potentiel antioxydant élevé. Les différences observées entre les méthodes d'extraction confirment l'importance du choix de la technique utilisée pour optimiser la récupération des métabolites secondaires d'intérêt biologique. La méthode de reflux apparaît comme la plus efficace pour l'extraction des polyphénols responsables de l'activité antioxydante, alors que l'infusion semble mieux adaptée à l'extraction des flavonoïdes et des tanins condensés. Ces résultats restent globalement en accord avec les études antérieures publiées sur cette plante médicinale saharienne et confirment son intérêt potentiel dans les domaines pharmaceutique, nutritionnel et thérapeutique.

Conclusion

Conclusion

Cette étude réalisée sur *Ephedra alata* a permis d'évaluer l'influence de différentes méthodes d'extraction aqueuse (macération, infusion et reflux) sur le rendement d'extraction, la composition phytochimique, la teneur en composés phénoliques ainsi que l'activité antioxydante des extraits obtenus.

Les résultats obtenus ont montré que l'infusion présente le rendement d'extraction le plus élevé (34,5 %), alors que la macération et le reflux ont donné des rendements similaires (24,5 %). L'analyse phytochimique a révélé la présence de plusieurs groupes de métabolites secondaires biologiquement actifs, notamment les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les terpénoïdes et les composés réducteurs.

Les composés phénoliques varient selon l'extraction. Le reflux donne le plus de polyphénols, tandis que l'infusion donne plus de flavonoïdes et de tanins. Les conditions thermiques influencent donc leur extraction et stabilité dans *Ephedra alata*.

L'évaluation de l'activité antioxydante par les méthodes DPPH et FRAP a démontré que tous les extraits possèdent une activité antioxydante. Toutefois, l'extrait préparé par décoction a présenté la meilleure activité antioxydante avec une IC_{50} de 0,66 mg/mL contre le DPPH et une $d'EC_{50}$ 20,72 mg/mL contre le fer, ce qui pourrait être directement lié à sa richesse élevée en composés phénoliques.

Les résultats obtenus confirment ainsi l'existence d'une relation entre la teneur en polyphénols et le potentiel antioxydant des extraits étudiés.

Enfin, il serait intéressant de compléter ce travail par des analyses chromatographiques et des études pharmacologiques approfondies afin d'identifier précisément les molécules actives responsables des activités observées et de mieux valoriser cette plante dans le domaine des substances naturelles d'intérêt thérapeutique.

Références

bibliographiques

-A-

- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121–126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S., & Tattini, M. (2012). Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Science*, 196, 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.07.014>
- Al-Shalmania, S. K., Bengleilb, M. S., & Elshibania, F. A. (2025). Antimicrobial, antioxidant and anticancer activity of *Ephedra alata* growing in East of Libya. *Libyan Journal of Science and Technology*, 11(2), 77–89.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(17), 7915–7922. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.17.7915>
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement: Principles and classification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5), 997–1027. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04739>
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2021). Antioxidant activity/capacity measurement. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c06608>
- Ardestani, A., & Yazdanparast, R. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chemistry*, 104(1), 21–29.
- Atoui, A. (2005). Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89(1), 27–36.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Azwanida N. N. (2015). A review on the extraction methods used in medicinal plants: Principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4(3).

-B-

- Bandoniene, D., & Murkovic, M. (2002). The detection of radical scavenging compounds in crude extract of borage (*Borago officinalis* L.) by using an on-line HPLC-DPPH method. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 53, 45–49.
- Belazougui, K., Mesrouk, S., & Mahammedi, H. (2023). Phytochemical analysis, mineral composition, assessment of antioxidant properties and cytotoxic potential of *Ephedra alata* subsp. *alenda* secondary metabolites. *Food Bioscience*, 53, 102657.
- Benarba, B., Belhouala, K., Korkmaz, C., Taş-Küçükaydin, M., Küçükaydin, S., & Duru, M. E. (2025). Phytochemical composition and biological activities of *Ephedra alata* Decne.: Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer potentials. *Journal of Science and Mathematics Letters*, 13(2), 45–58. <https://doi.org/10.37134/jsml.vol13.2.3.2025>

Références bibliographiques

- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress? *Metabolism*, 49(2), 3–8. [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(00\)80077-3](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(00)80077-3)
- Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The Versatility of Antioxidant Assays in Food Science and Safety—Chemistry, Applications, Strengths, and Limitations. *Antioxidants (Basel)*, 9(8), 709. <https://doi.org/10.3390/antiox9080709>
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9–19. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>
- Bizoń, A., Chojdak-Łukasiewicz, J., Budrewicz, S., Pokryszko-Dragan, A., & Piwowar, A. (2023). Exploring the Relationship between Antioxidant Enzymes, Oxidative Stress Markers, and Clinical Profile in Relapsing–Remitting Multiple Sclerosis. *Antioxidants*, 12(8), 1638. <https://doi.org/10.3390/antiox12081638>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Bruneton, J. (1999). *Pharmognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 2eme édition, Paris : Editions médicales internationales, Tec. Et Doc Lavoisier, p 1120.
- Bourgou S, Ezzine, Y., Ben Mansour, R., & Ghali, W. (2020). Preliminary phytochemical analysis and antioxidant activities of Tunisian Ephedra species. *South African Journal of Botany*, 135, 421–428. *South African Journal of Botany*
- Boussena A, Bahri, F., Kouidri, M., & Meziane, M. (2022). Screening of phytochemical content and antioxidant activity of Ephedra alata from Algerian Sahara. *Journal of Applied Biological Sciences*, 16(2), 220–229. *Journal of Applied Biological Sciences*

-C-

- Chongo K. (2025). Passive diffusion in maceration extraction of bioactive compounds. In: *Frontiers in Pharmacology*.
- Chandimali, N., Bak, S. G., Park, E. H., Lim, H. J., Won, Y. S., Kim, E. K., Park, S. I., & Lee, S. J. (2025). Free radicals and their impact on health and antioxidant defenses: A review. *Cell Death Discovery*, 11(1), 19. <https://doi.org/10.1038/s41420-024-022788>
- Chouikh, A. (2020). Phytochemical profile, antioxidant, analgesic and hypolipidaemic effects of *Ephedra alata* Decne. female cones extract. *Farmacía*, 68(6), 1011–1020.
- Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M., & Lunec, J. (2003). Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. *The FASEB Journal*, 17(10), 1195–1214. <https://doi.org/10.1096/fj.02-0752rev>

- Cushnie, T., Cushnie, B., & Lamb, A. (2014). Alkaloids: an overview of their antibacterial properties. *International Journal of Antimicrobial Agents*. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.10.001>

-D-

- Dai J., & Mumper R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352.
- Del Río, L. A., Sandalio, L. M., Corpas, F. J., Palma, J. M., & Barroso, J. B. (2006). Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. *Plant Physiology*, 141(2), 330–335. <https://doi.org/10.1104/pp.106.078204>
- Di Meo, S., Napolitano, G., & Venditti, P. (2022). Physiological and Pathological Role of ROS: Benefits and Limitations of Antioxidant Treatment 2.0. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 9437. <https://doi.org/10.3390/ijms23169437>

-E-

- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82(1), 70–77. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)

-F-

- Fabri, R. L., Nogueira, M. S., Braga, F. G., Coimbra, E. S., & Scio, E. (2009). *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial and antioxidant effects. *Bioresource Technology*, 100(1), 428–433. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.05.053>
- Ferreira, I. C., Baptista, P., Vilas-Boas, M., Barros, L., & Barreira, J. C. (2007). Free radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: individual cap and stipe activity. *Food chemistry*, 100(4), 1511–1516
- Finkel, T., & Holbrook, N. J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408(6809), 239–247. <https://doi.org/10.1038/35041687>
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials*, 14(15), 4135. <https://doi.org/10.3390/ma14154135>
- Foyer, C. H., & Noctor, G. (2005). Oxidant and antioxidant signalling in plants. *Plant, Cell & Environment*, 28, 1056–1071. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01327.x>

-G-

- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
- Gülçin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of Toxicology*, 94, 651–715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>

-H-

- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (5e éd.). Oxford University Press.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Zulfiqar, F., et al. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress. *Antioxidants*, 9(8), 681. <https://doi.org/10.3390/antiox9080681>
- Hibi, Z., Makhoulfi, A., & Azzi, R. (2022). Ethnobotanical, phytochemical characterization and biological activities of *Ephedra alata* Decne extracts growing wild in Bechar region, southwest of Algeria. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 12(1), 35–45. [https://doi.org/10.38150/sajeb.12\(1\).p35-45](https://doi.org/10.38150/sajeb.12(1).p35-45)

-I-

- Iakovou, E., & Kourti, M. (2022). A Comprehensive Overview of the Complex Role of Oxidative Stress in Aging, The Contributing Environmental Stressors and Emerging Antioxidant Therapeutic Interventions. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 14, 827900. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.827900>
- Ickert-Bond, S. M., & Wojciechowski, M. F. (2004). Phylogenetic relationships in *Ephedra* (Gnetales): Evidence from nuclear and chloroplast DNA sequence data. *Systematic Botany*, 29(4), 834–849. <https://doi.org/10.1600/0363644042451143>
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants—Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT) and Glutathione Peroxidase (GPx): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>

-J-

- Jaradat, N. Hawash, M., Hussein, F., & Qneibi, M. (2021). Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic effects of *Ephedra alata* extracts. *BMC Chemistry*, 15(41), 1-12. *BMC Chemistry*
- Ji, L. L., & Yeo, D. (2021). Oxidative stress: An evolving definition. *Faculty Reviews*. <https://doi.org/10.12703/r/10-13>
- Jomová, K., Raptova, R., Alomar, S. Y., et al. (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: Chronic diseases and aging. *Archives of Toxicology*, 97, 2499–2574. <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03562-9>

-L-

- Lambeth, J. D. (2004). NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nature Reviews Immunology*, 4(3), 181–189. <https://doi.org/10.1038/nri1312>
- Lefebvre A., Martin, N., & Dubois, P. (2022). Hot water extraction techniques for plant bioactive compounds: Infusion and decoction mechanisms. *Journal of Herbal Medicine*.
- Leopoldini, M., et al. (2020). Antioxidant mechanisms of phenolic compounds. *Molecules*.

-M-

- Machlin, L. J., & Bendich, A. (1987). Free radical tissue damage: Protective role of antioxidant nutrients. *FASEB Journal*, 1(6), 441–445. <https://doi.org/10.1096/fasebj.1.6.3315807>
- Maisuthisakul, P., Suttajit, M., & Pongsawatmanit, R. (2007). Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry*, 100(4), 1409–1418. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.032>
- Majhenič, L., Škerget, M., & Knez, Ž. (2007). Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, 104(3), 1258–1268. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.074>
- Mittler, R. (2017). ROS are good. *Trends in Plant Science*, 22(1), 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>
- Miller, N. J., & Rice-Evans, C. A. (1997). Antioxidant activity of phenolic compounds and the ABTS radical cation assay: factors influencing measurement of antioxidant capacity. *Free Radical Research*, 26(3), 195–199. <https://doi.org/10.3109/10715769709097799>
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>

-N-

- Noctor, G., Mhamdi, A., & Foyer, C. H. (2012). The roles of reactive oxygen metabolism in drought. *Plant Physiology*, 164, 1636–1648. <https://doi.org/10.1104/pp.113.233478>
- Nouioura, H., Napoli, E., Sarri, M., & Saija, A. (2019). Essential oil from aerial parts of wild Algerian rosemary: Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(1), 1–12. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2019.1590246>

-O-

- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351–358. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)
- Ou, B., et al. (2019). Advances in antioxidant assays. *Journal of Food Composition and Analysis*.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44, 307–315. <https://doi.org/10.5264/eiyogakuzashi.44.307>
- Ozturk, M., Aydogmus-Ozturk, F., Duru, M. E., & Topçu, G. (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chemistry*, 103(2), 623–630. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.052>

-P-

- Palma, F. R., Gantner, B. N., Sakiyama, M. J., Kayzuka, C., Shukla, S., Lacchini, R., Cunniff, B., & Bonini, M. G. (2024). ROS production by mitochondria: function or dysfunction?. *Oncogene*, 43, 295–303. <https://doi.org/10.1038/s41388-023-02907-z>
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. <https://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9498>
- Passardi, F., Cosio, C., Penel, C., & Dunand, C. (2005). Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Reports*, 24, 255–265. <https://doi.org/10.1007/s00299-005-0972-6>
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>

-R-

- Rao, M. J. (2025). Antioxidant Defense system in plants: reactive oxygen species production, signaling, and scavenging. <http://www.mdpi.com/2311-7524/11/5/477>
- Rao, M. J., Duan, M., Zhou, C., Jiao, J., Cheng, P., Yang, L., et al. (2022). Antioxidant defense system in plants: Reactive oxygen species production, signaling, and scavenging during abiotic stress-induced oxidative damage. *Horticulturae*, 11(5), 477. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11050477>
- Raynoo, T., et al. (2015). Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 193–217. <https://doi.org/10.3390/ijms16010193>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Ribeiro C., Silva, M., & Costa, J. (2024). Recent advances in aqueous extraction methods of medicinal plants. *Phytochemistry Reviews*
- Rice-Evans, C., Miller, N., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)01018-2](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)01018-2)

-S-

- Scalbert, A., Johnson, I., & Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. *American Journal of Clinical Nutrition*. <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.215S>
- Scherer, R., & Godoy, H. T. (2009). Antioxidant Activity Index (AAI) by the 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl Method. *Food Chemistry*, 112(3), 654–658. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.026>
- Sena, L. A., & Chandel, N. S. (2012). Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. *Molecular Cell*, 48(2), 158–167. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.09.025>
- Serafini, M., et al. (2019). Total antioxidant capacity in foods. *Nutrition Research*.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods. *Journal of Functional Foods*. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2020). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*.
- Siddiqui, M. H., et al. (2025). Antioxidant Defense System in Plants: Reactive Oxygen Species Production, Signaling, and Scavenging During Abiotic Stress-Induced Oxidative Damage. *Horticulturae*, 11(5), 477.

Références bibliographiques

- Sies, H. (2017). Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule. *Redox Biology*, 11, 613–619. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.035>
- Sies, H. (2023). Oxidative eustress: the physiological role of oxidants. *Science China Life Sciences*, 66(8), 1947–1948. <https://doi.org/10.1007/s11427-023-2336-1>
- Sikder, M. M., Li, X., Akumwami, S., & Labony, S. A. (2025). Reactive Oxygen Species: Role in Pathophysiology, and Mechanism of Endogenous and Dietary Antioxidants during Oxidative Stress. *Chonnam Medical Journal*, 61(1), 32–45. <https://doi.org/10.4068/cmj.2025.61.1.32>
- Sun, B., Ricardo-da-Silva, J.M., Spranger, I. (1998). Facteurs critiques de l'essai sur la vanilline pour catéchines et proanthocyanidines. *Journal de chimie agricole et alimentaire*, 46, 4267-4275.

-T-

- Tamuly, C., Hazarika, M., & Boruah, P. (2014). Antioxidant potential and phytochemical screening of different parts of *Centella asiatica* (Linn.) Urban collected from Dibrugarh district, Assam, Northeast India. *International Journal of Herbal Medicine*, 2(3), 01-05.
- Talanta Open. (2026). Conventional methods and new trends for antioxidant analyses. *Talanta Open*, 13, 100636. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2026.100636>
- Tholl, D. (2015). Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. https://doi.org/10.1007/10_2014_295
- Topçu, G., Ay, A., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., & Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*, 103(3), 816–822. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.028>

-V-

- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- Vermeris, W., & Nicholson, R. (2007). Phenolic compound biochemistry. Springer Science & Business Media.

-W-

- Wink, M. (2015). Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. *Medicines*, 2(3), 251-286.
- Winterbourn, C. C. (2008). Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. *Nature Chemical Biology*, 4(5), 278–286. <https://doi.org/10.1038/nchembio.85>

-Z-

- Zhang M., Zhao, J., Dai, X., & Li, X. (2023). Extraction and analysis of chemical compositions of natural products and plants. *Separations*, 10(12), 598.
- Ziani, B. E., et al. (2024). Phytochemical composition and biological activities of *Ephedra alata*. *Plants*, 13(4), 1-15.

Résumé

Les plantes médicinales riches en métabolites secondaires représentent une source importante d'antioxydants naturels capables de limiter les dommages oxydatifs. Dans ce contexte, cette étude a porté sur l'évaluation de la composition phytochimique et de l'activité antioxydante des extraits aqueux d'*Ephedra alata* préparé par trois méthodes d'extraction (infusion, reflux et macération). Les résultats ont montré que l'extrait obtenu par infusion présente le rendement d'extraction le plus élevé de l'ordre de 34,5 %, tandis que les extraits obtenus par reflux et macération présentent le même rendement de 24,5 %. L'analyse phytochimique a révélé une forte présence d'alcaloïdes et de composés réducteurs dans tous les extraits, ainsi que la présence de tanins et de terpénoïdes. Le dosage des composés phénoliques a montré que l'extrait obtenu par reflux possède la teneur la plus élevée en polyphénols totaux de l'ordre $238,09 \pm 9,33$ mg EAG/gE. Concernant les flavonoïdes, l'extrait préparé par infusion présente la teneur la plus élevée de l'ordre de $41,80 \pm 7,24$ mg EQC/gE. Ce même extrait présente la teneur la plus élevée en tanins condensés de $482,83 \pm 89,78$ mg EQC/gE. L'évaluation de l'activité antioxydante par les méthodes DPPH et FRAP a révélé une importante activité antioxydante des différents extraits, liée principalement à leur richesse en composés phénoliques. L'extrait préparé sous reflux a présenté la meilleure activité antioxydante vis-à-vis du radical DPPH ($IC_{50}=0,66$ mg/mL) et la réduction du fer ($EC_{50}=20,72$ mg/mL). Comparativement aux standards utilisés, l'acide ascorbique et le BHA présentent une très puissante activité ($IC_{50}=0,106$ mg/mL et $EC_{50}=1,85$ mg/mL, respectivement). Cette étude confirme le potentiel antioxydant d'*Ephedra alata* et met en évidence l'influence de la méthode d'extraction sur la composition phytochimique et l'activité biologique des extraits.

Mots-clés : Stress oxydatif, *Ephedra alata*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, DPPH, FRAP.

Abstract

Medicinal plants rich in secondary metabolites represent an important source of natural antioxidants capable of limiting oxidative damage. In this context, the present study focused on evaluating the phytochemical composition and antioxidant activity of aqueous extracts of *Ephedra alata* prepared using three extraction methods: infusion, reflux, and maceration. The results showed that the infusion extract exhibited the highest extraction yield, reaching **34.5%**, whereas the reflux and maceration extracts showed the same yield of **24.5%**. Phytochemical screening revealed a strong presence of alkaloids and reducing compounds in all extracts, as well as the presence of tannins and terpenoids. The determination of phenolic compounds showed that the reflux extract possessed the highest total polyphenol content, reaching **238.09 ± 9.33 mg GAE/gE**. Regarding flavonoids, the infusion extract exhibited the highest content, amounting to **41.80 ± 7.24 mg QE/gE**. The same extract also showed the highest condensed tannin content, with a value of **482.83 ± 89.78 mg QE/gE**. The evaluation of antioxidant activity using the DPPH and FRAP assays revealed significant antioxidant potential in all extracts, mainly associated with their richness in phenolic compounds. The reflux extract demonstrated the strongest antioxidant activity against the DPPH radical (**$IC_{50} = 0.66$ mg/mL**) and ferric reducing power (**$EC_{50} = 20.72$ mg/mL**). In comparison, the reference standards, ascorbic acid and BHA, exhibited very strong activities (**$IC_{50} = 0.106$ mg/mL** and **$EC_{50} = 1.85$ mg/mL**, respectively). This study confirms the antioxidant potential of *Ephedra alata* and highlights the influence of the extraction method on the phytochemical composition and biological activity of the extracts.

Keywords: Oxidative stress, *Ephedra alata*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, DPPH, FRAP.

المخلص

تُعدّ النباتات الطبية الغنية بالمركبات الثانوية مصدراً مهماً لمضادات الأكسدة الطبيعية القادرة على الحد من الأضرار الناتجة عن الإجهاد التأكسدي. وفي هذا الإطار، هدفت هذه الدراسة إلى تقييم التركيب الكيميائي النباتي والنشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات المائية لنبات العنّدة المحضّرة بثلاث طرق استخلاص مختلفة وهي: النقع، الغليان والنقع في الماء البارد.

أظهرت النتائج أن المستخلص المتحصل عليه بطريقة النقع أعطى أعلى مردود استخلاص بلغ 34,5 % في حين بلغ مردود الاستخلاص لكل من مستخلصي الغليان والنقع في الماء البارد 24,5 %. كما كشف التحليل الكيميائي النباتي عن وجود وفير للقلويدات والمركبات المرجعة في جميع المستخلصات، إضافة إلى وجود العفص والتربينويدات.

وبين تقدير المركبات الفينولية أن المستخلص المحضّر بطريقة الغليان يمتلك أعلى محتوى من البوليفينولات الكلية، حيث بلغ $238,09 \pm 9,33$ ملغ مكافئ حمض الغاليك/غ من المستخلص، فيما يخص الفلافونويدات فقد أعطى مستخلص النقع أعلى نسبة قدرت ب $41,80 \pm 7,24$ ملغ مكافئ الكاتشين/غ من المستخلص، نفس المستخلص أعطى أعلى نسبة من العفص بقيمة $482,83 \pm 89,78$ ملغ مكافئ الكاتشين/غ من المستخلص.

كما أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستعمال طريقتي الجذر الحر DPPH و إرجاع الحديد FRAP فعالية مضادة للأكسدة معتبرة لدى مختلف المستخلصات، ويُعزى ذلك أساساً إلى غناها بالمركبات الفينولية. وقد أظهرت الاختبارات أن مستخلص الغليان يمتلك أفضل نشاط مضاد للأكسدة، حيث بلغت قيمة التثبيط المتوسطة 0,66 ملغ/مل ضد الجذر الحر DPPH و 20,72 ملغ/مل لإرجاع الحديد. مقارنة بالمراجع المستعملة، كانت فعالية المستخلصات منخفضة نوعاً حيث بلغت قيمة التثبيط المتوسطة لحمض الأسكوربيك 0,106 ملغ/مل ضد الجذر الحر DPPH و BHA 20,72 ملغ/مل لإرجاع الحديد.

تؤكد هذه الدراسة الإمكانات المضادة للأكسدة لنبات العنّدة كما تبرز تأثير طريقة الاستخلاص في التركيب الكيميائي النباتي والنشاط البيولوجي للمستخلصات.

الكلمات المفتاحية: العنّدة، فرط الأكسدة، البوليفينولات، الفلافونويدات، النشاط المضاد للأكسدة الجذر الحر DPPH، إرجاع الحديد FRAP.