

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR
KHENCHELA

FACULTE DES SCIENCES & DE
LA TECHNOLOGIE

DEPARTEMENT DE GENIE
INDUSTRIEL



جامعة عباس لغرور خنشلة

كلية العلوم و التكنولوجيا

قسم: الهندسة الصناعية

No. Réf. :/...../2017

Mémoire

Pour obtenir le diplôme de **MASTER (LMD)**

Option : Génie Des Procédés et L'environnement

Présenté par: **Hakkar Razika & Dekhil Nassima**

Thème

**Etude phytochimique et activités
biologique de l'*Ephédra sinica* une plante
médicinale de l'Est d'Algérie**

Soutenu publiquement le.01/07/2017

Devant le jury :

Président :	Mr. MAKHLOUF AZEDDINE	U.A.L.K
Rapporteur :	Mr. MAKHLOUFI A/SLEM	U.A.L.K
Examineur :	Mr. BAHLOULI SAFIEDDINE	U.A.L.K

Année universitaire : 2016 – 2017

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR
KHENCHELA

FACULTE DES SCIENCES & DE
LA TECHNOLOGIE

DEPARTEMENT DE GENIE
INDUSTRIEL



جامعة عباس لغرور خنشلة

كلية العلوم و التكنولوجيا

قسم: الهندسة الصناعية

No. Réf. :/...../2017

Mémoire

Pour obtenir le diplôme de **MASTER (LMD)**

Option : Génie Des Procédés et L'environnement

Présenté par: **Hakkar Razika & Dekhil Nassima**

Thème

**Etude phytochimique et activités
biologique de l'*Ephédra sinica* une plante
médicinale de l'Est d'Algérie**

Soutenu publiquement le.01/07/2017

Devant le jury :

Président :	Mr. MAKHLOUF AZEDDINE	U.A.L.K
Rapporteur :	Mr. MAKHLOUFI A/SLEM	U.A.L.K
Examineur :	Mr. BAHLOULI SAFIEDDINE	U.A.L.K

Année universitaire : 2016 – 2017





Remerciement

En terminant notre thèse de fin d'études, il nous est agréable d'adresser nos vifs remerciements au dieu, de nous avoir donné la force, la volonté et le courage pour complétez ce travail.

*Nous remercions en particulier notre encadreur : Mr
A.Makhloufi.*

Nous tenons à exprimer notre gratitude à tous les ingénieurs qui ont collaboré avec nous durant ces jours d'exploration.

Nous souhaitons de remercier notre collègues Mlle W.Nassima & Mlle B.Sabah & Mr Achref et les enseignants de faculté science de la nature et de vie

Dr. Bousaa, Dr. Falous et Dr. Zraieb

Pour nous aider.

Et a tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à élaborer cet ouvrage.

Ainsi que toutes nos professeures qui nous ont enseigné durant nos études à la faculté des sciences et techniques

À la fin nous tenons a remercier nos collègues d'étude, particulièrement notre promotion.



Dédicace

A ma raison de vivre, d'espérer

A ma source de courage, à ceux que j'ai de plus cher

Ma mère, mon père

Mes chères sœurs :

Nedjwa et ses enfants

Salima & Ahlem & Bessma et Nouha

Mon fiancé

A mes meilleurs amis

A mes collègues de la promotion de master

"Génies des procédés"

A toutes personnes qui m'ont soutenu

De près au de loin tout au long de ce projet .

D.NASSIMA



Dédicace

Je dédie ce travail :

A mes Parents

Qu'ils trouvent ici toute ma gratitude

Pour leur soutien tout le long de mes études.

À mes soeurs; Samah et Hanan.

À mes frères; Mehdi et Zinddine.

A toute ma famille Hakkar .

A mon cher binôme Nassima et toute sa famille.

*A tous mes enseignants de l'université abbes laghrour
- Khenchela -*

A mes collègues de la promotion de master "Génies des procédés".

A mes chères amies : Hayet , Siham.

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour.

H.RAZIKA

Liste des tableaux

Tableau II-1 : Noms vernaculaires de sous espèce *éphédra sinica*.

Tableau III.1-1 : le volume total de chaque macération.

Tableau III.1-2 : Température d'ébullition des solvants.

Tableau III.1-3 : Les systèmes utilisés pour les quatre extraits.

Tableau III.1-4 : Concentrations des extraits pour le test antioxydant avec DPPH.

Tableau III.2-1 : le rendement des extraits méthanolique, éthanolique, d'acétone et de H₂O distillée d'*Ephédra sinica*.

Tableau III.2-2 : résultat des tests photochimiques des composés constituant des extraits (Méthanol, Ethanol, Acétone et de H₂O distillée) d'*Ephédra sinica*.

Tableau III.2-3 : Photo de résultat des tests phytochimiques des composés constituant des extraits (Méthanol, Ethanol, Acétone et de H₂O distillée) d'*Ephédra sinica*.

Tableau III.2-4 : Révélation par UV (365nm) des différents extraits (Méthanol, Ethanol, Acétone et de H₂O distillée) de l'*Ephédra sinica*.

Tableau III.2-5 : CCM de l'extrait méthanolique de l'*éphédra sinica* système solvant (BAW, AW).

Tableau III.2-6 : CCM de l'extrait éthanolique de l'*éphédra sinica* système solvant (BAW, AW).

Tableau III.2-7 : CCM de l'extrait d'acétone de l'*éphédra sinica* système solvant (BAW, AW).

Tableau III.2-8 : CCM de l'extrait d'eau de l'*éphédra sinica* système solvant (BAW, AW).

Tableau III.2-9 : Zone d'inhibition d'activité antibactérienne des quatre extraits sur milieu MH (mm).

Tableau III.2-10 : Pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait de méthanol.

Liste des tableaux

Tableau III.2-11 : Pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait d'éthanol.

Tableau III.2-12 : Pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait d'acétone.

Tableau III.2-13 : Pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait d'H₂O distillée.

Tableau III.2-14 : Pourcentage d'inhibition de DPPH de l'acide ascorbique.

Tableau III.2-15 : Les IC₅₀ des différents extraits d'*éphédra sinica* et de l'acide ascorbique.

Liste des figures

Figure I-1 : Structure chimique des alcaloïdes.

Figure II-1: Répartition géographique de l'*Ephédra* dans le monde.

Figure II-2: Carte géographique représente le site de wilaya de kenchela dans l'Algérie.

Figure II-3: *Ephédra sinica* (Chechar "février 2017") (originale).

Figure III.1-1: Carte géographique représente la localisation d'obtention de plante *Ephédra sinica* (Chechar - kenchela).

Figure III.1-2: Protocole d'extraction solide liquide.

Figure III.1-3: Protocole de chromatographie sur couche mince.

Figure III.1-4: Protocole de l'activité antibactérienne de l'éphédra sinica.

Figure III.1-5 : Réaction de test DPPH (2,2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl).

Figure III.1-6: Protocole de l'activité antioxydant des extraits l'éphédra sinica .

Figure III.2-1: Histogramme représente le rendement des quatre extraits.

Figure III.2-2 : Zones d'inhibitions des souches : *Pseudomonas* _ *Staphylococcus* _ *E. coli* (dans le même ordre de gauche à droite).

Figure III.2-3: Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait méthanolique d'*éphédra sinica*.

Figure III.2-4: Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait éthanolique d'*éphédra sinica*.

Figure III.2-5: Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait d'acétone d'*éphédra sinica*.

Figure III.2-6: Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait d'H₂O Distillée d'*éphédra sinica*.

Figure III.2-7: Pourcentage d'inhibition de DPPH de l'acide ascorbique.

Liste des figures

Figure III.2-8: Histogramme représente les IC50 des différents extraits d'*éphédra sinica* et d'acide ascorbique.

Liste des abréviations

- ♦ **AlCl₃1** : Trichlorure d'aluminium.
- ♦ **ATCC** : American type culture collection.
- ♦ **AW**: Acide acétique/Water.
- ♦ **BWA**: Butanol/Water/Acideacétique.
- ♦ **CCM** : Chromatographie sur Couche Mince.
- ♦ **cm** : centimeter.
- ♦ **C°** : Degré Celsius.
- ♦ **DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle).
- ♦ **FeCl₃** : Trichlorure de fer.
- ♦ **g** : gramme.
- ♦ **HCl** : Acide Chlorhydrique.
- ♦ **IC50** : la concentration inhibitrice à 50%.
- ♦ **Me-OH** : Méthanol.
- ♦ **mg** : milligramme.
- ♦ **MH**: Mueller Hinton.
- ♦ **ml** : millimètre.
- ♦ **N** : Normalité.
- ♦ **NaOH** : Hydroxyde de sodium.
- ♦ **NH₄OH** : Ammoniaque.
- ♦ **nm** :nanomètre.
- ♦ **Pp** : poly phénols.
- ♦ **Rfs** : Rapports frontaux.
- ♦ **RSA %** : pourcentage de l'activité anti-radicalaire.
- ♦ **UV** : Ultra-violet.
- ♦ **µl** : microlitre.



SOMMAIRE



Sommaire

Remercîment.....	i
Dedicaces.....	ii
Liste des tableaux.....	iii
Liste des figures	iiii
Listes des abriviations.....	iiii
Introduction.....	16

Chapitre I : Les plantes médicinales

I.1. La phytothérapie	2
I.1.1. L'importance de la phytothérapie	2
I.2. Les plantes médicinales	3
I.2.1. Définitions.....	3
I.2.1.1. Définition médicale	3
I.2.1.2. Définition chimique	3
I.2.2. Les médicaments à base de plantes.....	3
I.2.3. Les drogues végétales	3
I.2.4. Notion de totum	4
I.2.4.1. Les avantages	4
I.2.4.2. Les inconvénients.....	4
I.3. Les substances actives des plantes	4
❖ Les métabolites primaires	4
❖ Les métabolites secondaires	5
I.3.1. Les composés phénoliques.....	5
I.3.1.1. Les non flavonoïdes	5
I.3.1.2. Les flavonoïdes	7
I.3. 2. Les alcaloïdes.....	11
I.3.2.1. Nomenclature	11
I.3.2.2. Classification selon leur structure chimique	11
I.3.2.3. Structure chimique des alcaloïdes	12
I.3.2.4. Propriétés physico-chimiques	12
I.3.2.5. Extraction des alcaloïdes	13
I.3.3. Les terpènes et stéroïdes	13
I.3.3.1. Les saponosides.....	14

Sommaire

I.3.3.2. Les huiles essentielles	14
Chapitre II : Aperçusur la plante <i>ephedra sinica</i>	
II.1. Généralités sur la plante	15
II.1.1. Genre <i>Ephédra</i>	15
II.1.1.1. Zone de présence	15
II.1.2. Sous espèce <i>Ephédra Sinica</i>	18
II.1.2.1. Noms vernaculaires.....	18
II.1.2.2. Systématique de la plante	18
II.1.2.3. Caractères Botaniques.....	18
II.1.2.4. Principaux Constituants	19
II.1.2.5. La propagation et récolter de l'éphédra.....	20
II.1.2.6. Conservation et stockage	20
II.1.2.7. Usages traditionnels et courants	20
II.1.2.8. Formes d'utilisations et posologies.....	21
II.1.2.9. Toxicité	22
Chapitre III : Partie Experimental	
III.1. Matériels et méthodes	23
III.1.1. Matériel végétale	23
III.1.1.1. Récolte	23
III.1.1.2. Séchage	23
III.1.1.3. Broyage.....	24
III.1.2. Méthode d'extraction solide / liquide.....	24
III.1.2.1. Macération	24
III.1.2.2. Matériels et produits	24
III.1.2.3. Mode opératoire.....	25
III.1.2.4. Détermination de rendement	26
III.1.3. analyse qualitative des extraits de plante	28
III.1.3.1. Première Partie : screening phytochimique	28
III.1.3.1.1. Matériels et produits	28
III.1.3.1.2. Mode opératoire.....	28
III.1.3.2. Deuxième Partie : Analyse chromatographique	30
III.1.3.2.1. Matériels et produits	30
III.1.3.2.2. Mode opératoire.....	30
III.1.4. Les activités biologiques	33

Sommaire

III.1.4.1. Première Partie : L'activité antibactérienne	33
III.1.4.1.1. Les souches testées	33
III.1.4.1.2. Matériels et produits	34
III.1.4.1.3. Mode opératoire.....	34
III.1.4.2. Deuxième Partie : L'activité antioxydant.....	38
III.1.4.2.1. Test du piégeage du radical libre DPPH.....	38
III.1.4.2.2. Matériels et produits	39
III.1.4.2.3. Mode opératoire.....	39
III.2. Résultats et discussions.....	22
III.2.1. Détermination du rendement d'extraction.....	22
III.2.1.1. Résultat	22
III.2.1.2. Discussion.....	22
III.2.2. Screening phytochimique.....	43
III.2.2.1. Résultat	43
III.2.2.2. Discussion.....	45
III.2.3. Analyse de CCM	46
III.2.3.1. Résultat	46
III.2.3.2. Discussion.....	51
III.2.4. l'activité antibactérien	51
III.2.4.1. Résultat	51
III.2.4.2. Discussion.....	54
III.2.5. l'activité antioxydant.....	55
III.2.5.1. Résultat	55
III.2.5.2. Discussion.....	60
Conclusion	61
Références Bibliographiques	62
Annexe	



INTRODUCTION



Introduction

Les plantes ont depuis longtemps présenté un rôle très important pour l'humanité, car elles peuvent synthétiser un grand nombre de molécules organiques complexes dotées souvent d'activités biologiques potentielles. Elles constituent des merveilleuses usines végétales qui nous donnent la joie de guérir par un geste thérapeutique [01].

Jusqu'à aujourd'hui, l'usage populaire des plantes reste d'une grande importance. D'après les données fournies par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 80% de la population mondiale traitent leurs problèmes de santé par des remèdes traditionnels, d'une part parce qu'elles n'ont souvent pas accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne et, d'autre part, parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité [02]. La majorité des médicaments actuels, sont d'origine végétale ou fabriqués à partir de leurs modèles (synthèse ou héli synthèse chimique des principes actifs). La médecine par les plantes est donc devenue une grande science, dans laquelle on part de la plante vers le principe actif [03].

En Algérie, les plantes sont utilisées depuis longtemps et leur utilisation s'inspire d'expériences des populations ainsi que de la médecine arabe classique. Cependant, cette utilisation ne suit pas des règles précises et ne tient pas compte des nouvelles nécessités de la thérapeutique actuelle [04].

C'est dans ce but s'inscrit notre travail qui consiste à évaluer l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits de l..., connu en Algérie sous le nom de El Alalanda, cette plante est utilisée en médecine traditionnelle algérienne comme un agent anticancéreux, anti-inflammatoire et même .

Nous avons organisé nos travaux en trois chapitres :

- Le chapitre I est consacré à une introduction sur la photochimie et les plantes médicinales.
- Le chapitre II traite de l'étude ethnobotanique de l'éphédra ainsi que leur utilisation dans la médecine traditionnelle dans la région de kenchela (est de l'Algérie).
- Le chapitre III qui contient la partie expérimentale traite la phytochimie ainsi que les tests biologiques sur la plante étudiée.
- Enfin, une conclusion générale qui portera sur une lecture attentive des différents résultats obtenus.



CHAPITRE I : LES PLANTES MEDICINALES



SOMMAIRE

- ❖ La phytothérapie.....
- ❖ Les plantes médicinales.....
- ❖ Les médicaments à base de plantes
- ❖ Les drogues végétales.....
- ❖ Notion de totum.....
- ❖ Les substances actives des plantes.....
- ❖ Les métabolites primaires.....
- ❖ Les métabolites secondaires.....

Cette première partie bibliographique contient un aperçu sur la phytothérapie et ses avantages, ensuite nous avons mentionné des définitions des plantes médicinales et les médicaments à base des plantes. En se basant beaucoup plus sur les métabolites secondaires des plantes médicinales.

I.1. La phytothérapie

La phytothérapie (du grec « phytos » = plante, et « therapiea » = thérapie) est l'art de soigner par les plantes [05,06].

La phytothérapie est l'une des plus vieilles médecines du monde. Elle représente une alternative intéressante pour traiter et soigner sans créer de nouvelles maladies. Malgré le développement phénoménal de l'industrie pharmaceutique et chimique, l'intérêt populaire pour la phytothérapie n'a jamais cessé d'évoluer [07].

Environ 80% de la population mondiale profite des apports de la médecine traditionnelle à base des plantes reconnaissant ainsi les savoirs empiriques de nos ancêtres [08].

I.1.1. L'importance de la phytothérapie

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières Années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.

Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus.

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite [09].

I.2. Les plantes médicinales

I.2.1. Définitions

I.2.1.1. Définition médicale

Ce sont des plantes inscrites à la pharmacopée, et qui sont considérées comme des médicaments, leur vente est exclusivement réservée aux pharmaciens, et aux herboristes à l'exception de 34 d'entre elles qui sont en vente libre par dérogation qu'est correspondre souvent aux plantes aromatiques utilisées dans la préparation culinaires ex antiseptique, antigrippale. etc ... [10].

I.2.1.2. Définition chimique

Les plantes médicinales sont des plantes possédant des molécules à l'intérieur de leur organe (feuille, fleurs, etc.) et pouvant selon des techniques chimiques (extraction, distillation) permettre à l'isolation des principes actifs (huiles, alcool) pour des buts thérapeutiques [11].

I.2.2. Les médicaments à base de plantes

Les médicaments à base de plantes (phytomédicaments) sont définis comme « tout médicament à usage humain dont les substances actives sont exclusivement une ou plusieurs substances végétales ou préparation à base de plantes ou une association d'une ou de plusieurs substances végétales ou préparation à base de plante » [12].

I.2.3. Les drogues végétales

La IV^{ème} édition de la Pharmacopée européenne nous donne une définition précise des drogues végétales : "Les drogues végétales sont essentiellement des plantes, parties de plantes ou algues, champignons, lichens, entières, fragmentés ou coupés, utilisés en l'état, soit le plus souvent sous forme desséchée, soit à l'état frais. Certains exsudats n'ayant pas subi de traitements spécifiques sont également considérés comme des drogues végétales. Les drogues végétales doivent être définies avec précision par la dénomination scientifique universelle selon le système binominal [13].

I.2.4. Notion de totum

Le totum se définit comme l'extraction de l'ensemble de composants de la plante médicinale [14]. Le terme totum désigne l'ensemble des constituants de plante supposés actifs, agissant en synergie et par complémentarité pour moduler, modérer ou renforcer l'activité de la drogue végétale [15].

I.2.4.1. Les avantages

A l'exception du siècle passé, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou malaria. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques décroît. Les bactéries et virus sont adaptés aux médicaments et devenus résistants [16]. C'est pour cette raison que l'absinthe chinoise *Artemisia annua* est utilisée à nouveau, pour soigner la malaria lorsque les protozoaires responsables de la maladie résistent aux médicaments. On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques [09].

I.2.4.2. Les inconvénients

Le manque des preuves scientifiques n'est pas en faveur de l'efficacité de phytothérapie, la plupart des déclarations concernant les effets thérapeutiques sont faits par des praticiens eux-mêmes. Beaucoup d'entre eux n'ont pas été vérifiées scientifiquement. Le diagnostic souvent imprécis, le moyen de diagnostic connu est l'odorat, apparition des symptômes, testes d'efficacité non connus, interrogations des esprits et ancêtres chez certaines religions. Ainsi que, le dosage des produits est arbitraire et imprécis. De même les méthodes de préparation sont non hygiéniques [17].

I.3. Les substances actives des plantes

Les métabolites végétaux peuvent être classés en deux catégories les métabolites primaires et les métabolites secondaires [18].

❖ Les métabolites primaires

Tels que les glucides, les acides aminés, les protéines et les lipides, sont les acteurs des réactions nécessaires à la vie des végétaux : photosynthèse, respiration, et absorption des nutriments [19].

❖ Les métabolites secondaires

Les plantes contiennent des métabolites secondaires peuvent être considérées comme des substances indirectement essentiels à la vie des plantes par contre aux métabolites primaires qu'ils sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température ...) [20].

Les métabolites secondaires sont classées en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpénoïdes et les stéroïdes ; les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine [21].

Nous allons étudier successivement ces trois groupes [22].

I.3.1. Les composés phénoliques

Ce sont des dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont issus de deux grandes voies métaboliques : la voie du shikimate et celle de l'acétate [23].

- Plus de 8000 structures ont été identifiées à partir de simples molécules comme les acides phénoliques, jusqu'aux les substances hautement polymérisées comme les tanins [24].
- Les polyphénols peuvent se regrouper en deux grands groupes ; les non flavonoïdes dont les principaux composés sont les acides phénoliques, stilbènes, lignanes, lignines et coumarines, et les flavonoïdes dont on caractérise principalement les flavones, flavanones, flavonols, isoflavonones, anthocyanines, proanthocyanidines et flavanols [25] .
- Les plus intéressants en phytothérapie sont les acides phénols, les anthocyanes, les flavonoïdes, les tanins, les lignanes et les coumarines [26].

I.3.1.1. Les non flavonoïdes

Ce groupe comprend plusieurs composés parmi lesquels on distingue les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les coumarines et le les xanthones.

I.3.1.1.1. Les acides phénoliques

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle [27].

❖ Propriétés

Ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique [27].

❖ L'intérêt thérapeutique

Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (médicament d'aspirine dérivée de l'acide salicylique) [09].

➤ Exemples de plantes [19].

- Saule blanc
- Busserole

I.3.1.1.2. Les stilbènes

Les stilbènes se trouvent en petites quantités dans l'alimentation humaine, parmi ces composés on trouve le resveratrol qui est un anticancéreux présent dans certaines plantes médicinales, l'exemple le trans-resveratrol [28].

I.3.1.1.3. Les lignanes et les lignines

Les monolignols sont les dérivés de l'acide cinnamique, ils servent de précurseurs pour les composés de types phénylpropanoïdes tels que les lignanes et les lignines.

Les lignines constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal et seraient formées par polymérisation oxydative de monolignols (monomères) qui sont les alcools *p*-coumarique, coniférique et sinapique [29].

➤ Effets thérapeutiques majeurs de Lignanes [19].

- Phytoestrogènes
- Antinéoplasiques
- Toxicité faible

I.3.1.1.4. Les coumarines

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2- pyrone . Ils ont été isolés pour la première fois par Vogel en 1820 dans le *Coumarouna odorata*. Aujourd'hui, près de 1000 composés coumariniques sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les microorganismes [29].

➤ Effets thérapeutiques majeur

Les plantes à coumarines sont surtout utilisées pour leur propriétés : anti-inflammatoires à tropisme vasculaire, souvent antiagrégants plaquettaires et stimulantes du drainage lymphatique [19].

➤ Exemples de plantes

Les plantes médicinales à coumarines sont le mélilot (*Melilotus officinalis*) et le marronnier d'Inde [19].

I.3.1.1.5. Les xanthones

C'est une famille constituée des composés polyphénoliques généralement isolés dans les plantes supérieures et dans les microorganismes [29].

I.3.1.2. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde signifie jaune en latin (= flavus en latin) [30], il désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols [31].

Les flavonoïdes sont constitués de deux cycles aromatiques réunis par 3 carbones. Ce sont des pigments végétaux hydrosolubles responsables de la couleur des fleurs, des fruits et des feuilles [32].

Les flavonoïdes se répartissent en fonction de la structure de molécules. En effet, plus de 6400 structures ont été identifiées, les plus importantes sont les flavones, isoflavandiols, flavanols, flavondiols, aurones, chalcones, anthocyanins [33].

➤ Effets thérapeutiques majeur

Les propriétés des flavonoïdes sont extrêmement diverses : anti-inflammatoires, antibactériennes, antihelminthiques, antivirales, hépatoprotectrices, vasoprotectrices, anti-thrombiques et antinéoplasiques [34].

Aucune toxicité des flavonoïdes n'est rapportée, notamment grâce à leur courte demi-vie [35].

➤ Exemples de plantes

Les plantes médicinales riches en flavonoïdes sont le souci (*Calendula officinalis*), le ginkgo (*Ginkgo biloba*), la réglisse (*Glycyrrhiza glabra*), le chardon-Marie (*Silybum marianum*), la camomille sauvage (*Matricaria recutita*), l'orthosiphon (*Orthosiphon stamineus*), la passiflore (*Passiflora incarnata*), et le romarin (*Rosmarinus officinalis*) [36].

I.3.1.2.1. Les flavonoïdes au sens strict

Dans ce groupe on distingue les chalcones, les aurones, les flavones, les flavanes, les flavanones, les flavanols, les flavonols et les flavanonols [36].

➤ Chalcones et dérivés

Les chalcones sont des flavanoïdes ne comportant pas d'hétérocycle C. Ils sont prénylés le plus souvent sur le noyau A tandis que le noyau B reste peu ou pas substitué [36].

➤ Aurones et dérivés

Les aurones sont des isomères structuraux des flavones. Ils ont une structure proche mais différente de la plupart des autres flavonoïdes. Ces molécules dérivent de la chalcone. En effet dans les cas des aurones, la chalcone se ferme en formant un cycle à 5 atomes, alors qu'elle forme un cycle de 6 atomes pour les autres flavonoïdes [36].

➤ Flavones et flavanones

Les flavones comme tous les flavonoïdes ont une structure C6-C3-C6 avec en C3 l'apparition d'un hétérocycle porteur d'un groupement carbonyle et d'une

insaturation. Les flavanones ont une structure similaire à celle des flavones mais ne possèdent pas d'insaturation au niveau de l'hétérocycle [36].

- **Les flavones se trouvent dans :** Persil, céleri, thym, romarin, peau des fruits [37].
- **Les flavanones se trouvent dans :** Graines de soja et produits qui en dérivent Fruit de genre citrus [37].

❖ Les flavonols et les flavanonols correspondent aux dérivés hydroxylés des flavones et des flavanones.

❖ Les flavanones et les flavanonols dérivés sont les flavonoïdes responsables de la saveur amère de certaines pamplemousses, des citrons, des oranges.

❖ Les flavanes sont des dérivés saturés et non carbonylés des flavones, ils sont caractérisés par la présence d'une double prénylation du noyau A (cyclisée et linéaire) et d'un pont époxy reliant les carbones 4 et 6' du noyau B [36].

I.3.1.2.2. Les isoflavonoïdes

Les iso flavonoïdes constituent une grande et très diversifiée sous classe des flavonoïdes. Ils dérivent d'une structure 1,2-diphénylpropane.

Ils peuvent être classés en une douzaine de catégories structurales: 3-rylcoumarines, coumaronochromones, coumestanes, isoflavanes, isoflavènes, isoflavones, roténoïdes, ptérocarpanes. Ces catégories diffèrent entre elles, par le degré d'oxydation et l'existence ou non d'hétérocycles supplémentaires [36].

I.3.1.2.3. Les anthocyanes

Les anthocyanes sont des pigments responsables de la coloration bleue, rouge, violette, rose ou pourpre des fleurs et des fruits [35].

➤ **Effets thérapeutiques majeur**

Ils possèdent des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, et vasoprotectrices. En effet, ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et augmentent leurs résistances [35].

➤ Exemples de plantes

La feuille de vigne rouge (*Vitis vinifera*) et les fruits de la myrtille (*Vaccinium myrtillus*) contiennent jusqu'à 0.3% d'anthocyanes [35].

I.3.1.2.3. Tanins

Les tanins sont des substances poly phénoliques de structures variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant [38].

Sur le plan chimique, deux catégories de tanins peuvent être distinguées : les tanins condensés (aussi appelés procyanidines) ; et les tanins hydrolysables (aussi appelés flavanols) [35].

Ils possèdent les mêmes propriétés, mais les tanins hydrolysables sont moins stables et potentiellement plus toxiques que les tanins condensés [35].

➤ Effets thérapeutiques majeur

- Les tanins sont connus pour leurs propriétés astringentes et anti-sécrétoires, grâce à leur capacité à se lier indifféremment aux protéines.
- Autres propriétés : antiseptiques, anti-inflammatoires, antibactériennes, virucides et antifongiques.
- Ils sont aussi utilisés lors de lésions de dermatite atopique, de diarrhée, et d'hémorragies cutanées ou digestives [33,35].

➤ Effets indésirables

- Les tanins peuvent provoquer des nausées, de la constipation, et à forte dose ils sont hépatotoxiques.
- Il convient de ne pas les administrer simultanément à un autre traitement car ils risqueraient d'en limiter l'absorption et l'activité.

➤ Exemples de plantes

- Les plantes médicinales riches en tanins sont la reine des prés (*Filipendula ulmaria*), le cassis (*Ribes nigrum*), et la myrtille (*Vaccinium myrtillus*) [35].

I.3. 2. Les alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques [27].

Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine, lupinine) [39]. Des anticancéreuses (vincristine et la vinblastine) [09].

I.3.2.1. Nomenclature

Dans ce groupe de composés, la nomenclature systématique est peu utilisée. L'utilisation des noms triviaux est dominante. Ce dernier, se termine typiquement par "ine"[40] ; il dérive du nom du genre ou de l'espèce, du nom vulgaire, de l'effet physiologique, de l'aspect physique de l'alcaloïde ou du nom de celui qui l'a découvert [41].

I.3.2.2. Classification selon leur structure chimique

On peut diviser les alcaloïdes en plusieurs groupes

- a) des phénylalanines: capsaïcine du piment, colchicine du colchique.
- b) des alcaloïdes isoquinoléiques : morphine, éthylmorphine, codéine et papavérine contenues dans l'opium du pavot; et des alcaloïdes indoliques: ergométrine, ergotamine, ergotoxine de l'ergot des céréales.
- c) des alcaloïdes quinoléiques: tige feuillée de la rue commune.
- d) des alcaloïdes pyridiniques et pipéridiniques : ricinine du ricin, trigonelline du fenugrec, conine (poison violent) de la ciguë.
- e) des alcaloïdes dérivés du tropane : scopolamine et atropine de la belladone.
- f) des alcaloïdes stéroïdes: racine de vératre, douce-amère ou aconite (aconitine) [42].

I.3.2.3. Structure chimique des alcaloïdes

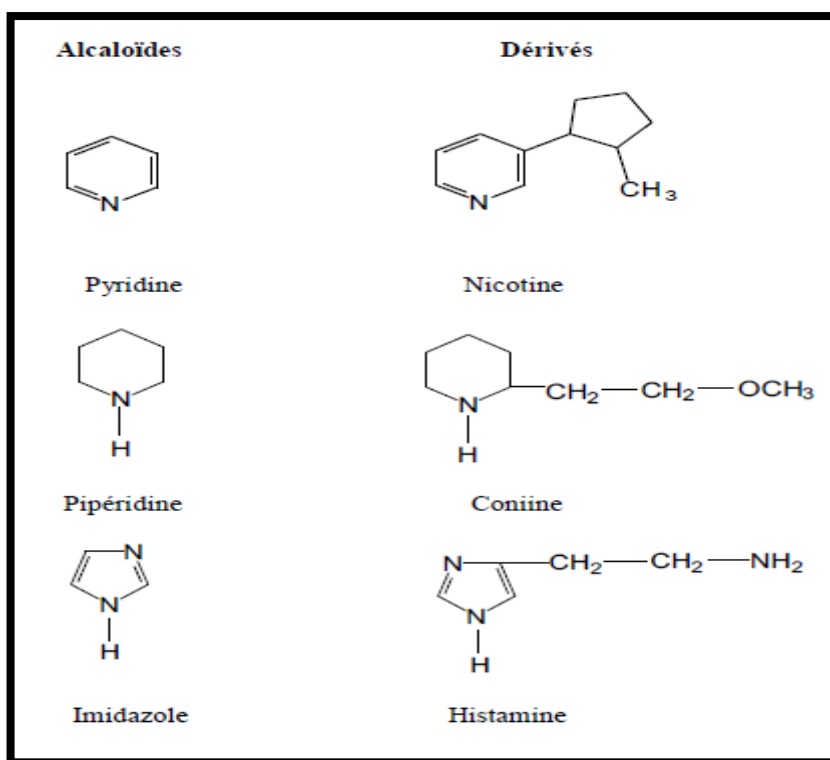


Figure I-1 : Structure chimique des alcaloïdes [43].

I.3.2.4. Propriétés physico-chimiques

Les alcaloïdes se caractérisent principalement par:

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

➤ Grâce à la capacité qu'ont les alcaloïdes de se combiner avec des métaux et des métalloïdes, la caractérisation des alcaloïdes est possible avec des réactions de précipitation par des réactifs généraux des alcaloïdes [26].

I.3.2.5. Extraction des alcaloïdes

La méthode d'extraction préférentiellement employée pour l'extraction des alcaloïdes est celle qui se déroule dans un milieu alcalin, appelée aussi la méthode (Stas–Otto) [26]. Les étapes suivies sont citées ci-dessous:

- ◆ la plante réduite en poudre est délipidée par macération dans de l'éther de pétrole à température ambiante pendant 24h.
- ◆ le marc est humecté avec NH_4OH 5% aussi pendant 24h à température ambiante. L'addition de la base a pour but de déplacer les alcaloïdes de leurs combinaisons salines, les bases alcaloïdiques ainsi libérées peuvent être extraites par un solvant organique.
- ◆ les alcaloïdes sont extraits à chaud sous reflux au Soxhlet par le dichlorométhane (5 cycles).
- ◆ concentration de la phase organique sous pression réduite.
- ◆ extraction liquide-liquide avec de l'eau acidulée (H_2SO_4 à 2%) jusqu'à épuisement total. L'épuisement est vérifié par le réactif de Mayer.
- ◆ ajustement du pH de la phase aqueuse à 9 avec de l' NH_4OH .
- ◆ extraction liquide-liquide par le DCM jusqu'à épuisement total.
- ◆ les fractions organiques sont récupérées dans un erlenmeyer, déshydratées avec du sulfate de sodium anhydre puis filtrées.
- ◆ évaporation de la phase organique sous pression réduite à 40 °C et récupération des alcaloïdes basiques totaux.

I.3.3. Les terpènes et stéroïdes

Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 de molécules différentes et de caractère généralement lipophiles, leurs grandes diversités due au nombre de base qui constituent la chaîne principal de formule $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$ selon

la variation de nombre n, dont les composés monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes, ... [27].

Ces molécules présentent en forme des huiles essentielles, parfums et goût des plants, pigments (carotène), hormones (acide abscissique), des stérols (cholestérol) [39].

Les stéroïdes sont des triterpènes tétracycliques, possèdent moins de 30 atomes de carbone, synthétisés à partir d'un triterpène acyclique [39].

I.3.3.1. Les saponosides

Le terme saponosides est dérivé de mot savon, sont des terpènes glycosylés comme ils peuvent aussi se trouve sous forme aglycones, ils ont un goût amer et acre [39].

Les saponosides sont une classe d'hétérosides très répandue chez les plantes et les animaux marins. Ce sont des glycosides stéroïdiques ou triterpéniques qui ont la propriété de former des solutions moussantes en présence d'eau et de précipiter le cholestérol [44].

I.3.3.1.1. Constitution chimique et structure

L'hydrolyse d'une saponine. par l'action d'un acide ou d'enzyme. produit un sucre ou plusieurs (dont souvent le glucose) et un aglycone nommé sapogénine selon que cette dernière étant, soit un triterpène, soit un stéroïde. On distingue les saponines triterpènes et les saponines stéroïdiques, certains auteurs distinguent une troisième catégorie de saponines celles des amines stéroïdiques qui sont traitées par d'autres comme des alcaloïdes stéroïdiques [45].

I.3.3.2. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges de composés aromatiques des plantes [46], sont des molécules à noyau aromatique et caractère volatil offrant à la plante une odeur caractéristique et on les trouve dans les organes sécréteurs [09]. Jouent un rôle de protection des plantes contre un excès de lumière et attirer les insectes Pollinisateurs [47].

Ils sont utilisées pour soigner des maladies inflammatoires telles que les allergies, eczéma, favorise l'expulsion des gaz intestinales comme les fleurs frais ou séchées de plante "Camomille" [09].

I.3.3.2.1. Composition chimique

Les huiles volatiles sont des mélanges très complexes, les constituants sont principalement des mono terpènes et des sesquiterpènes de formule générale $(C_5H_8)_n$. Les composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures incluent des alcools, des aldéhydes, des esters, des éthers, des cétones, des phénols et des oxydes. On estime qu'il y a plus de 1000 mono terpènes et 3000 de structures sesquiterpènes. D'autres composés incluent des phenylpropanes et des composés spécifiques contenant le soufre ou l'azote [48].

I.3.3.2.2. Extraction des huiles essentielles

La distillation est un procédé de séparation basé sur la différence de composition entre un liquide et la vapeur engendrée. La technique implique la condensation de la vapeur et la récupération des fractions liquides résultantes. On parle de distillation simple ou fractionnée lorsqu'il s'agit de liquides miscibles. On peut également procéder à la distillation de liquides non miscibles. C'est le cas de l'hydrodistillation des huiles essentielles [49].



CHAPITRE II : APERÇU SUR LA PLANTE EPHEDRA SINICA



SOMMAIRE

- Généralités sur la plante
- Zone de présence
- Systématique de la plante.....
- Caractères Botaniques.....
- Principaux Constituants.....
- La propagation et récolter de l'*éphédra*
- Usages traditionnels et courants.....

Le Chapitre II, contient un bref aperçu sur la plantes utilisée (l'*éphédra sinica*) nous avons sélectionnée sa zone de présence (mondiale, locale), le caractère botanique et systématique de la plante, nous décrivant aussi leurs propriété et mode d'usage traditionnelle.

II.1. Généralités sur la plante

II.1.1. Genre *Ephédra*

L'origine de l'*Ephédra* a parfois été considérée comme ancienne [50], La famille des *Ephedraceae* représentée par le seul genre *Ephédra* inclue environ 40 espèces dans le monde [51]. Est représentée par des arbustes dioïques vivaces à rameaux articulés, qui peuvent atteindre 1 à 3 mètre de haut, avec de minces tiges dressées, verts jaunâtres, intersectées et légèrement nervurées, à canalicules de 1,5 mm de diamètre et qui se termine par une pointe souvent acérée. Au niveau des noeuds, qui sont écarté de 4 à 6 cm, les feuilles réduites en écailles apparaissent triangulaires qui se développent en paires opposées ou en verticilles de trois, donnant à la plante l'aspect d'un arbuste sans feuille. De petites fleurs apparaissent en été [52, 53,54].

II.1.1.1. Zone de présence

a) Dans le monde

Les espèces de ce genre peuvent pousser dans des conditions semi-arides et désertiques, ce qui rend les six continents appropriés pour la croissance de ce genre. Ce dernier se développe habituellement dans des sols sableux, des pentes sèches et des côtés secs de montagnes [52], et qui poussent surtout dans la Chine, l'Inde, l'Égypte, le Moyen-Orient, en Europe et dans les Amériques [55].



Figure II-1: Répartition géographique de l'*Ephédra* dans le monde [57].

Chapitre II : Aperçu sur la plante *Ephédra Sinica*

b) Le monde arabe

L'espèce *Ephédra sinica* est une plante médicinale appartenant au genre *Ephédra* originaire d'Asie, y compris l'Arabie Saoudite [56]. Elle est commune dans le Sahara du Maroc à la Libye jusqu'à l'Egypte et l'Arabie Saoudite [53].

c) L'Algérie

En Algérie, l'*éphédra* se trouve dans le Sahara septentrional et occidental au niveau des terrains sableux, des regs et les lits sablonneux des oueds. Elle est même rencontrée dans le sable de l'étage tropical et la Hamada de Tinghert (Wilaya d'Illizi) [53].

d) Notre région la wilaya de kenchela

L'*éphédra* est une plante vivace qui grandit dans les collines de montagne et terres non agricoles et sur les banques des vallées sèches dans la région de Chechar (Tabergda, Siaire, Djalal, Chehada, khirane , Désert El mamcha , Village Nasseh et Henchir ...).

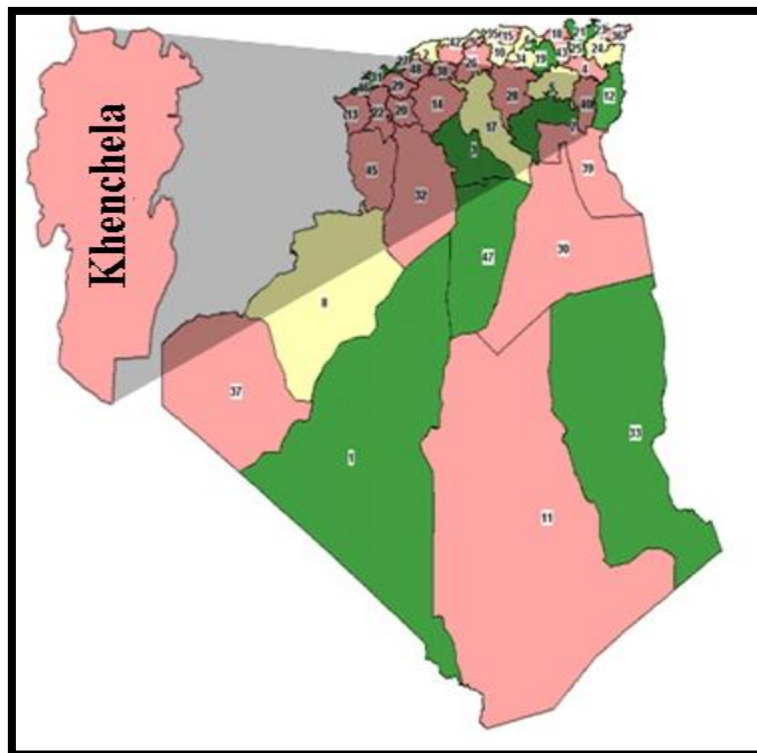


Figure II-2: Carte géographique représente le site de wilaya de kenchela dans l'Algérie.

Chapitre II : Aperçu sur la plante *Ephédra Sinica*

II.1.2. Sous espèce *Ephédra Sinica*

II.1.2.1. Noms vernaculaires

Tableau II-1 : Noms vernaculaires de sous espèce *éphédra sinica*.

Nom local Algérie	Alenda, Azrem, Arzoum ,Belbal [58], Antarth, Arsaste , Dhaneb El Khayl , Azouw
Nom en arabe	Alenda
Nom français	<i>Ephédra</i> raisin de mer
Nom anglais	<i>Ephédra</i>
Famille	<i>Ephedraceae</i>
Constituants	Alcaloïdes, éphédrine
Partie utilisées	Partie aériennes

II.1.2.2. Systématique de la plante

Embranchement : Spermaphytes.

Sous embranchement: Gymnospermes.

Classe : Gnetopsida.

Ordre : *Ephedrales*.

Famille : *Ephedraceae*.

Genre : *Ephedra*.

Espèce : *Ephedra sinica* [53].

II.1.2.3. Caractères Botaniques

Ephédra distachya, *E. sinica*, *E. equisetina*, *E. intermedia* (ces plantes sont toutes de proches cousins). L'*éphédra* est un arbuste de 50 cm à 1 mètre de hauteur. Les tiges fortes, fines, cylindriques et ramifiées confèrent un aspect touffu, vert glauque. Elles supportent des feuilles opposées, longues, brunes, mortes et membraneuses sur les pieds âgés. C'est un arbrisseau trapu et dioïque (il y a des mâles et des femelles) [59].



Figure II-3: *Ephédra sinica* (Chechar "février 2017") (originale).

A chaque ramification, il présente une gaine (feuille modifiée) de forme allongée et bilobée. Les fleurs sont de couleur jaune et les fruits rouges sont des akènes (un fruit à graine unique) qui ressemblent à des baies ou à des grains de raisins. Certaines espèces d'éphédra ne contiennent pas d'éphédrine, la substance active que contient l'*éphédra sinica* et ses cousins. Elle préfère les sols sablonneux [59]. Elle présente un système de racines latérales extrêmement puissant.

II.1.2.4. Principaux Constituants

- Alcaloïdes (ephedrine, pseudoephedrine).
- Flavone.
- Tanins.
- Sapomne.
- Huile essentielle [09].

Deux constituants principaux font de l'éphédra une plante très prisée en phytothérapie : L'éphédrine et la pseudo-éphédrine. Ces deux substances sont des alcaloïdes qui stimulent le système nerveux central. L'éphédrine est une substance proche de l'adrénaline, aux effets moins puissants mais dont la durée d'action est bien plus durable [59].

II.1.2.4. 1. Propriété de l'éphédrine

Les études effectuées ont montré que l'éphédrine contenue dans la tige présente d'intéressantes propriétés. Elle favorise la lipolyse, entraînant une fonte du tissu adipeux mise à profit dans les régimes amincissants. De plus, elle augmente le métabolisme de base, forçant ainsi l'organisme à brûler plus de calories [59].

Elle est utilisée comme dilatatrice des bronches et permet un traitement approprié de l'asthme et des bronchites chroniques. L'éphédrine a une action vasoconstrictrice, décongestionnante et anti-inflammatoire de la muqueuse nasale. Elle diminue les sécrétions et supprime la sensation désagréable du "nez bouché" au cours des rhinites, les rhumes des foins et les sinusites [59].

II.1.2.5. La propagation et récolter de l'éphédra

Elle se propage grâce aux graines à partir de l'automne, ou par division des racines au printemps ou en automne. Elle pousse principalement dans les zones désertiques et nécessite un sol sec [60]. La récolte des tiges à usage médicinal est effectuée à la fin de l'automne, avant les premiers gels, car la récolte est meilleure lorsqu'elle est la plus tardive possible [61].

II.1.2.6. Conservation et stockage

Les plantes médicinales sont conservées à l'abri de la lumière, air et au sec dans des récipients en porcelaine, faïence ou verre teinté, boîtes sec en fer blanc, sacs en papier ou des caisses. Cette technique est nécessaire pour les plantes qui subissent des transformations chimiques sous l'influence des ultraviolets. Les plantes riches en produits volatiles et qui s'oxydent rapidement sont conservées dans un milieu étanche [62,63].

II.1.2.7. Usages traditionnels et courants

➤ Médecine chinoise

Les utilisations actuelles de l'éphédra en Chine sont très semblables à celles d'autrefois. La plante est consommée pour soulager les rhumes, la fièvre, la toux et une respiration sifflante. Elle est également consommée sous forme de poudre, en combinaison avec la Rehmannia (*Rehmannia glutinosa*) afin de traiter les déficiences des reins [60].

Chapitre II : Aperçu sur la plante Ephédra Sinica

➤ Usages courants en Occident

L'éphédra est utilisée en décoction pour soulager les rhumatismes, l'asthme, le rhume des foins, soigner la grippe, pour augmenter la pression artérielle et pour initier les menstruations [60].

➤ Usages quand les arabes

- En Egypte, l'éphédra est utilisée en médecine traditionnelle comme dépurative, hypotensive, antiasthmatique et agent astringent [64].
- En Arabie Saoudite, Ephédra est l'une des plantes de parcours les plus répandues. Elle a été utilisée comme pâturage pour de nombreux animaux attirés par son arôme acceptable [56].
- Au Maroc, l'Ephédra est utilisée pour lutter contre le diabète [65].

➤ Utilisation thérapeutique dans notre région

En Algérie est beaucoup utilisée en médecine traditionnelle pour traiter différentes maladies telle que la grippe, la coqueluche et la faiblesse générale en tisane et par inhalation ainsi que sous forme de gouttes nasales contre les rhumes [66]. Le diabète. Surtout dans les traitements des cancers (Cancer du sein, côlon et du rectum, la prostate, la thyroïde et du foie).

II.1.2.8. Formes d'utilisations et posologies

❖ Dans la médecine traditionnelle

Les organes utilisés dans la médecine traditionnelle sont les tiges vertes séchées, qui sont usuellement bouillies dans de l'eau pendant environ trente minutes et administrées comme thé chaud [54].

❖ Dans la région de kenchela

Faire bouillir à peu près 200 g de la plante éphédra (Tiges séchées) dans une grande casserole qui contient 4 litres d'eau, Il faut couvrir bien la casserole pour éviter l'évaporation de l'eau, en premier moment il faut chauffer le mélange jusqu'à qu'elle commence à bouillir après, il faut diminuer le feu complètement et laisser bouillir pendant 2 heures. Ensuite le filtrer et verser dans des bouteilles et gardés au réfrigérateur ce mélange pour une utilisation par semaine.

Chapitre II : Aperçu sur la plante Ephédra Sinica

Dosage : consommation à jeun et la même quantité avant de se coucher, après une semaine d'utilisation devient un quantum tasse le matin, tasse midi et un autre la soirée (même mode d'emploi) et ajouter le miel.

II.1.2.9. Toxicité

Un traitement prolongé peut provoquer une accoutumance, angoisse, tremblements et insomnie. A forte dose (10-15 g pour une tasse), l'éphédra risque des agitations fortes, tellement l'effet sera stimulant et l'intoxication peut être létale [59].

❖ Les signes d'intoxication

- Des vomissements, des céphalées accompagnées de sueurs et des coliques.

❖ Contre-indications

- L'insuffisance coronaire, glaucome et hypertension.
- Attention aux interactions médicamenteuses avec les antidépresseurs.



CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTAL



SOMMAIRE

❖ Matériels et méthodes.....	
♦ Matériel végétale.....	
♦ Méthode d'extraction solide / liquide.....	
♦ screening phytochimique.....	
♦ Analyse chromatographique.....	
♦ L'activité antibactérienne	
♦ L'activité antioxydant.....	
❖ Résultats et discussions.....	

Enfin, la partie expérimentale qui représente le fruit de notre travail, tout d'abord nous avons déterminé les différents extraits par l'extraction de la plante on utilise comme technique la macération, ensuite on met en évidence ces différents extraits en testant leur activité antibactérienne et antioxydant.

III.1. Matériels et méthodes

Notre travail expérimental a été effectué au laboratoire de recherche de chimie et microbiologie de faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Abbés Laghrour – Khenchela, Pendant une durée de six semaines (avril / mai 2017).

III.1.1. Matériel végétale

III.1.1.1. Récolte

Les parties aériennes de l'éphédra sinica a été récolté au niveau de la région de Chechar , située à environ 50 km de la ville de khenchela au 03/02/2017.



Figure III.1-1: Carte géographique représente la localisation d'obtention de plante Ephédra sinica (Chechar - khenchela).

III.1.1.2. Séchage

Le séchage à l'ombre est indiqué pour les feuilles et fleurs, car les feuilles vertes séchées au soleil jaunissent, les pétales de fleurs perdent leurs couleurs vives, ce qui peut altérer les propriétés médicinales de ces produits [63]. Lorsque les matières végétales médicinales sont préparées pour être utilisées à l'état sec, leur teneur en eau doit être réduite au minimum afin de limiter les dégâts dus aux moisissures et autres agents microbiens [67].

Les parties aériennes de la plante lavée puis séchées à l'ombre à une température ambiante .et cela pendant dix semaines a partir de la récolte (03/02/2017) jusqu'à broyage (15/04/2017).

III.1.1.3. Broyage

Les parties aériennes de l'éphédra (feuilles, tiges) séchées, sont broyées à l'aide d'un broyeur traditionnel (Mehras), jusqu'à obtenir une poudre très fine puis en passant la poudre à travers une passoire fine et mis dans des bocaux hermétiques et conservés à sec (température ambiante) à l'abri de l'humidité.

III.1.2. Méthode d'extraction solide / liquide

L'extraction solide-liquide est une opération de transfert de matière entre une phase qui contient la matière à extraire «solide», et un solvant d'extraction «liquide». Le but de cette opération est d'extraire et de séparer un ou plusieurs composants mélangés à un solide dans un solvant [68].

III.1.2.1. Macération

La macération est une méthode qui consiste à laisser la poudre de plante en contact prolongé avec un solvant [69].

Le choix du solvant est orienté par les caractéristiques chimiques spécifiques pour chaque famille de métabolites secondaires, généralement les solvants les plus utilisés sont l'éthanol, méthanol ou même l'eau pour l'extraction des composés polaires [70].

III.1.2.2. Matériels et produits

a) Matériels et appareillages

- Rota vapeur - Etuve - Balance
- Bécher - Erlenmeyer - Eprovettes graduées - Cristalliseur – Entonnoir
- Pissette – Thermomètre - Spatule - Papier filtre

b) Solvants utilisés

- Méthanol
- Ethanol
- Acétone

Chapitre III : Partie Expérimentale

III.1.2.3. Mode opératoire

100g de la matière végétale (l'éphédra sinica) est soumise à une extraction par macération dans le mélange :

- 1) Méthanol / H₂O distillée (70% _ 30%: /V/V)
- 2) Ethanol / H₂O distillée (70% _ 30%: V/V)
- 3) Acétone / H₂O distillée (70% _ 30%: V/V)
- 4) H₂O distillée (100 % : V)

Chaque macération est répéter 3 fois avec renouvellement du solvant:

Tableau III.1-1 : le volume total de chaque macération

Macération	Durée	Volume de solvant			
		Méthanol	Ethanol	Acétone	H ₂ O distillée
1 ^{ère}	2 h	350 ml	400 ml	350 ml	400 ml
2 ^{ème}	2h	250 ml	250 ml	250 ml	250 ml
3 ^{ème}	24h	250 ml	250 ml	250 ml	250 ml

Le volume total de ces macérations est filtré 3 fois :

- Filtration par un tissu fin.
- Filtration par un papier filtre.
- Filtration sous vide.

Les extraits sont évaporé dans un évaporateur rotatif à température approprié pour chaque solvant (Tableau III-2) jusqu'à l'élimination totale du solvant soit (méthanol, éthanol, acétone ou H₂O distillée).

Le résidu est repris puis séché à l'Etuve à une température 45 C°, et le résidu obtenu est conservé par réfrigérateur.

Chapitre III : Partie Expérimentale

Tableau III.1-2 : Température d'ébullition des solvants

Solvants	Méthanol	Ethanol	Acétone	H ₂ O distillée
T° d'ébullition	65 C°	78 C°	56 C°	100 C°

III.1.2.4. Détermination de rendement

Le rendement est la quantité d'extraction obtenue à partir d'une matière végétale, il est exprimé en % par rapport à la matière sèche initialement utilisée [71].

$$R (\%) = (P_1 - P_2) / P_3 \times 100$$

R : Le rendement en %.

P₁ : Poids du ballon après évaporation.

P₂ : Poids du ballon avant évaporation.

P₃ : Poids de la matière végétale de départ.

Chapitre III : Partie Expérimentale

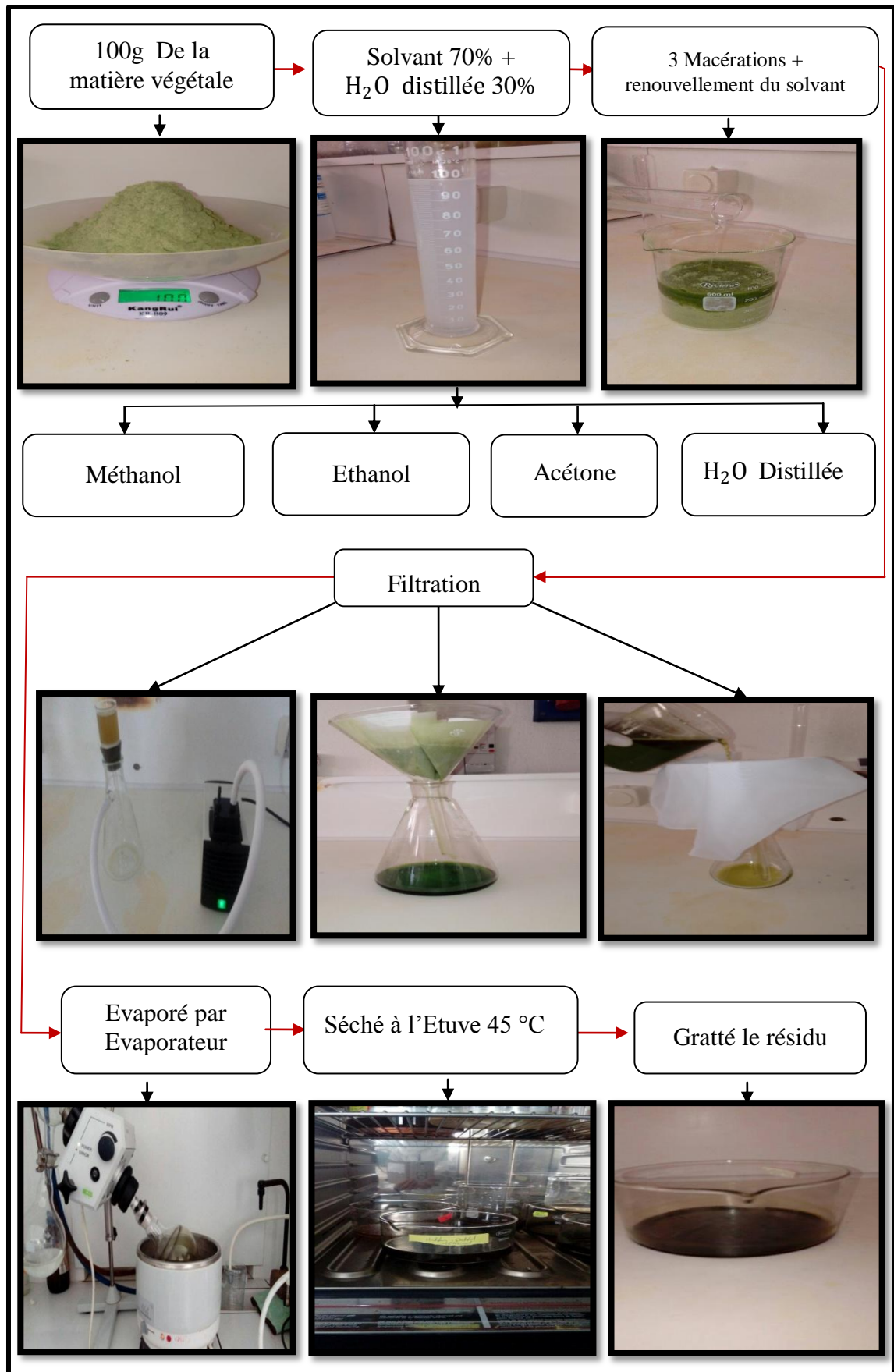


Figure III.1-2: Protocole d'extraction solide liquide.

III.1.3. Analyse qualitative des extraits de plante

III.1.3.1. Première Partie : Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un ensemble des méthodes et techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles de la plante.

Le but final de l'étude des plantes médicinales est souvent d'isoler un ou plusieurs constituants responsables de l'activité particulière de la plante. De ce point de vue, les techniques générales de screening phytochimique peuvent être d'un grand secours. Ces techniques permettent de détecter, dans la plante, la présence des produits appartenant à des classes de composés ordinairement physiologiquement actifs [72].

III.1.3.1.1. Matériels et produits

a) Matériels et appareillages

- Bain marin - Lampe UV - Balance - Vortex.
- Tubes à essais - Entonnoir - Verre de montre - Pipette - Papier filtre.

b) Produits Chimique

- HCl (2N)
- FeCl₃ 2%
- AlCl₃ 1 %
- NaOH 10%
- NH₄OH
- Réactif de Wagner

III.1.3.1.2. Mode opératoire

Le screening phytochimique nous permet de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau de la plante étudiée.

La détection de ces composés chimiques est basée sur :

- Des essais de solubilités des constituants.
- Des réactions de précipitation et de turbidité.

- Changement de couleur spécifique.
- Un examen sous la lumière ultraviolette.

❖ **Teste des Tanins**

Dans un tube à essai, introduire 0.5 g d'extrait à analyser et ajouter 2 ml d'une solution Aqueuse de FeCl_3 à 2%.

L'apparition d'une coloration vert foncée indique la présence de tanins cathéchiques ou bleu vert indique la présence des tanins galliques [73].

❖ **Teste des saponines**

Dans un tube à essai, introduire 0.5 g de l'extrait à analyser, ajouter 3ml d'eau Distillée, agiter avec le vortex pendant 15secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur supérieure à 1 cm d'un mousse indique la présence de saponines.

❖ **Teste des Flavonoïdes**

Ajouter dans un tube à essai, 0.5 g d'extrait à tester, et 2 ml de AlCl_3 1% (Annexe1). L'apparition d'une coloration rose ou rouge ou jaune prouve la présence des flavonoïdes.

❖ **Teste des alcaloïdes**

Dans un tube à essai placé 0.5 g de l'extrait à analyser, et Acidifier le milieu par 5 ml de HCl (2N) (Annexe1) après incubation pendant 4 mn filtrer le mélange et ajouter quelques gouttes de réactif de Wagner (Annexe 1). L'apparition d'un précipité ou turbidité révèle la présence d'alcaloïdes.

❖ **Teste des coumarines**

Introduire 0.5 g d'extrait dans un tube, ajouter 2 ml de NaOH 10% (Annexe 1) et incuber dans un bain marie 45 C° pendant 4 mn enlever et ajouter NH_4OH , mélanger et observer sous UV à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

III.1.3.2. Deuxième Partie : Analyse chromatographique

La chromatographie est une méthode analytique largement utilisée pour la séparation, identification et dosage des constituants chimiques dans des mélanges complexes [69]. Cette technique repose principalement sur des phénomènes d'absorption et d'interaction. La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou aluminium. L'échantillon à analyser doit se trouver dans un solvant volatil [74]. Après que l'échantillon ait été déposé, les substances migrent par capillarité. La vitesse dépend des forces électrostatiques retenant le composant sur la phase stationnaire et de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile. Les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires [75].

III.1.3.2.1. Matériels et produits

a) Matériels et appareillages

- Lampe U V
- Cuve chromatographie
- Plaques CCM - Capillaire -Pince

b) Produits Chimiques

- Butanol
- Acide acétique
- H₂O distillée

III.1.3.2.2. Mode opératoire

La chromatographie se fera sur une plaque de silice et les systèmes solvants choisis (**Tab III-1**) sont utilisés comme des éluant des phases stationnaires. Le choix de système est basé sur ceux qui donnent les meilleures séparations (migrations).

➤ Systèmes utilisés

Tableau III.1-3 : Les systèmes utilisés pour les quatre extraits.

Systèmes	Solvants	Volume (V/V)
BWA	Butanol / Acide acétique / Eau Distillée	60 ml /15ml/15/ml
AW	Acide acétique / Eau Distillée	15 ml /85 ml

➤ Préparation de la cuve

- ◆ Préparer le mélange de solvants qui constituera l'éluant, puis en verser dans la cuve à chromatographie afin d'obtenir une hauteur de liquide d'environ 1 cm.
- ◆ Boucher la cuve afin d'éviter l'évaporation des solvants.

➤ Préparation de la plaque

- ◆ Éviter de la toucher avec les doigts.
- ◆ Tracer au crayon gris, à environ 1,5 cm du bord inférieur de la plaque, un trait qui constitue la ligne de dépôt.
- ◆ Le dépôt est réalisé linéairement de façon ponctuelle avec une pipette capillaire. La pipette doit être posée perpendiculairement et prudemment sur la plaque pour ne pas la gratter. Plusieurs dépôts sont réalisés du même échantillon au même endroit pour obtenir les produits séparés en grande quantité.

➤ Développement des plaques

Chaque plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée dans la cuve préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié, l'échantillon à étudier sera plus ou moins entraîné par la progression par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque [76].

➤ Révélation

La plaque est séchée à température ambiante, on examine les taches des constituants sous lumière UV à 365 nm et à 254 nm.

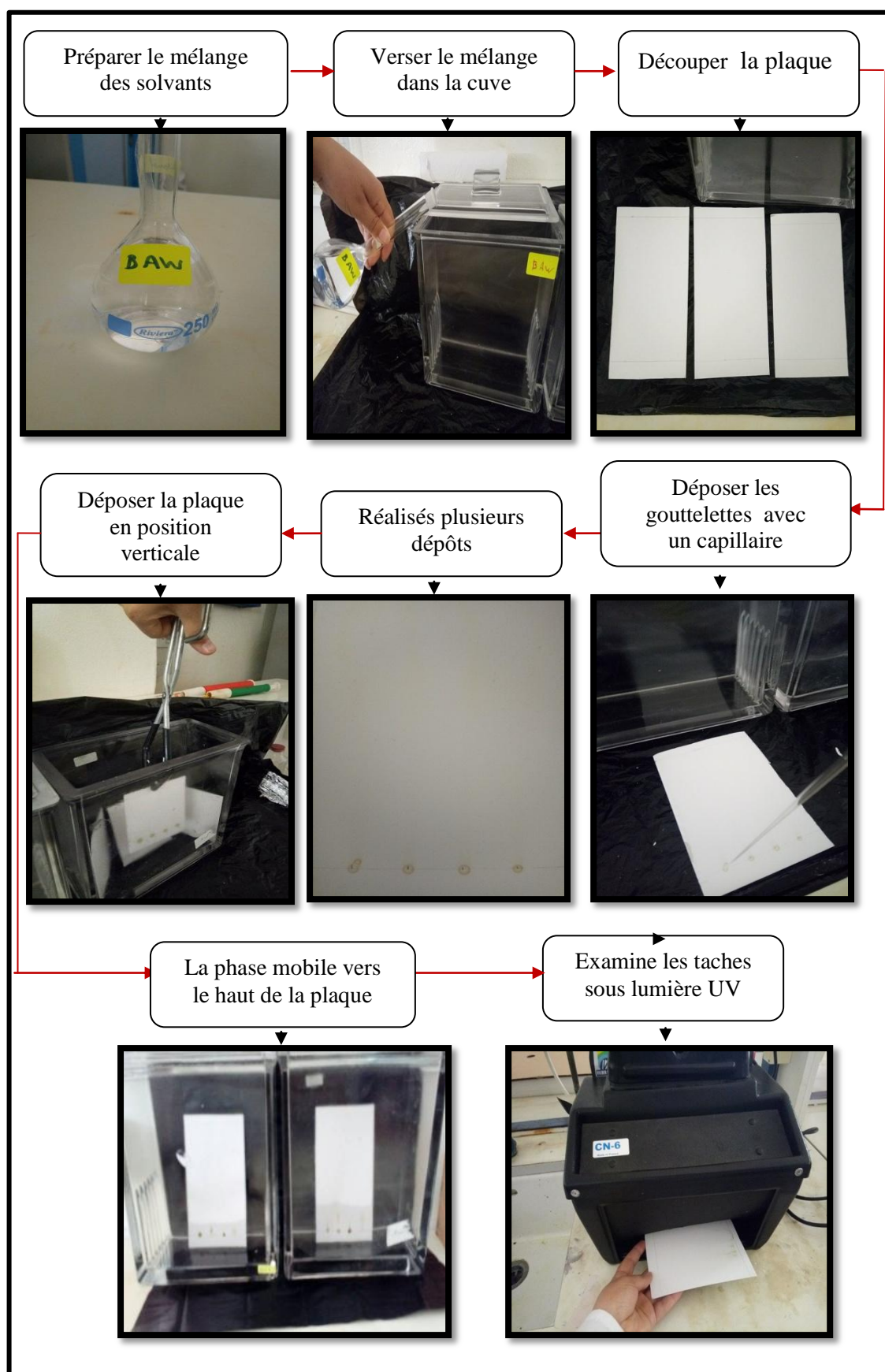


Figure III.1-3: Protocole de chromatographie sur couche mince.

III.1.4. Les activités biologiques

III.1.4.1. Première Partie : L'activité antibactérienne

III.1.4.1.1. Les souches testées

Les souches bactériennes utilisées pour déceler l'activité antibactérienne de différents extraits de l'éphédra il s'agit de :

- ♦ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- ♦ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- ♦ *Escherichia coli* ATCC 25922

Ces souches de collection internationale ATCC (American type culture collection) provenant du laboratoire de bactériologie « clinique mezdaouet kenchela».

a) *Escherichia coli*

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal [77], de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 μm , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 μm , *E. coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires [78].

b) *Staphylococcus aureus*

Ce sont des cocci Gram positif avec un diamètre de 0,5 à 1,5 μm , de forme non sporulée, qui tendent à se grouper en paires, petites chaînes, elles sont habituellement non capsulée, ou possédant des capsules limitées, elles sont anaérobies facultatives. *Staphylococcus aureus* représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aiguë, intoxication alimentaire [79].

c) *Pseudomonas aeruginosa*

Les espèces *P.aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries finissent de 1.5 à 3 μm de long et 0.5 à 0.8 μm de large. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche, [80]. *Pseudomonas aeruginosa* est

responsable de 16% des cas de pneumonie nosocomiale, 12% des infections urinaires, 8 % des infections suites aux blessures chirurgicales [81].

III.1.4.1.2. Matériels et produits

a) Matériels et appareillages

- L'étuve - Autoclave - Four pasteur
- Plaque chauffante - Bec benzène -Vortex – Balance
- Les boîtes de pétrie- Les tubes à essais - Micropipette - Pipette
- L'anse de platine - Ecouvillon stérile -Les disques (papier filtre) - Pince stérile

b) Produits Chimique

- Miller Hinton
- Agar
- L'eau physiologie

III.1.4.1.3. Mode opératoire

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion de disque où les disques sont imbibés de 10 µl de chaque extrait [82].

III.1.4.1.3.1. Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton préparé comme suit Dissoudre 21 g de Muller-Hinton (Annexe 2) et 17 g de l'agar dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 60 minutes à 121°C .

III.1.4.1.3.2. Préparation des dilutions des extraits

Les extraits de l'éphédra sinica ont été dissous par le solvant soit (méthanol , éthanol , acétone ou H₂O distillée) pour préparer les concentrations avec des dilutions , sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait C=50 mg/1ml de solvant ,les dilutions de chaque extrait est placé dans des tubes à essais jusqu'à l'utilisation.

Dans des autres tubes préparé des nouveaux mélanges a partir de mélangé chaque deux extrait mère (Méthanol+ Ethanol / Méthanol+ Acétone / Méthanol+H₂O distillée / Acétone +H₂O distillée / Acétone + Ethanol / Ethanol +H₂O distillée), Ainsi, nous obtenons dix mélanges de même concentration.

III.1.4.1.3.3. Stérilisation du matériel

a) Four pasteur

Il est utilisé pour la stérilisation de la verrerie vide (tubes à essai, pipettes, les flacons, pince) emballée dans du papier solide à 180°C pendant 30 minutes.

b) L'autoclave

Le milieu de culture, les tubes à essai remplis d'eau physiologique (Annexe 2) utilisés dans la préparation des solutions bactériennes, les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) et les embouts jaune enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 60 minutes.

III.1.4.1.3.4. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure des bactéries à tester sur milieu d'isolement, racler Par une anse de platine, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger l'anse dans 5 ml d'eau physiologique stérile (Annexe 2) à 0.9 %, bien homogénéiser la suspension bactérienne [83], Son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Ferland [84].

III.1.4.1.3.5. Préparation les boites de pétri

La gélose de Muller Hinton est coulée et répartie dans des boites de pétri stériles. Ces dernières sont séchées pendant 30 min à une température ambiante avant leur emploi.

III.1.4.1.3.6. Ensemencement

- La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzène.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paille).
- L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.

- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétrie de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose [83].

III.1.4.1.3.7. Dépôt des disques

Les disques sont disposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec benzène (3 disques de l'extrait et 1 disque de témoin) ,à l'aide d'une micropipette versés 10 µl de extrait dilué dans chaque disque . Finalement, les boites de Pétri sont incubées pendant 24 heures à 37°C.

III.1.4.1.3.8. Incubation et Lecture

Après incubation 18-24 heures à 37°C dans l'étuve, Les résultats sont observés, en mesurant les diamètres d'inhibition [85].

Chapitre III : Partie Expérimentale

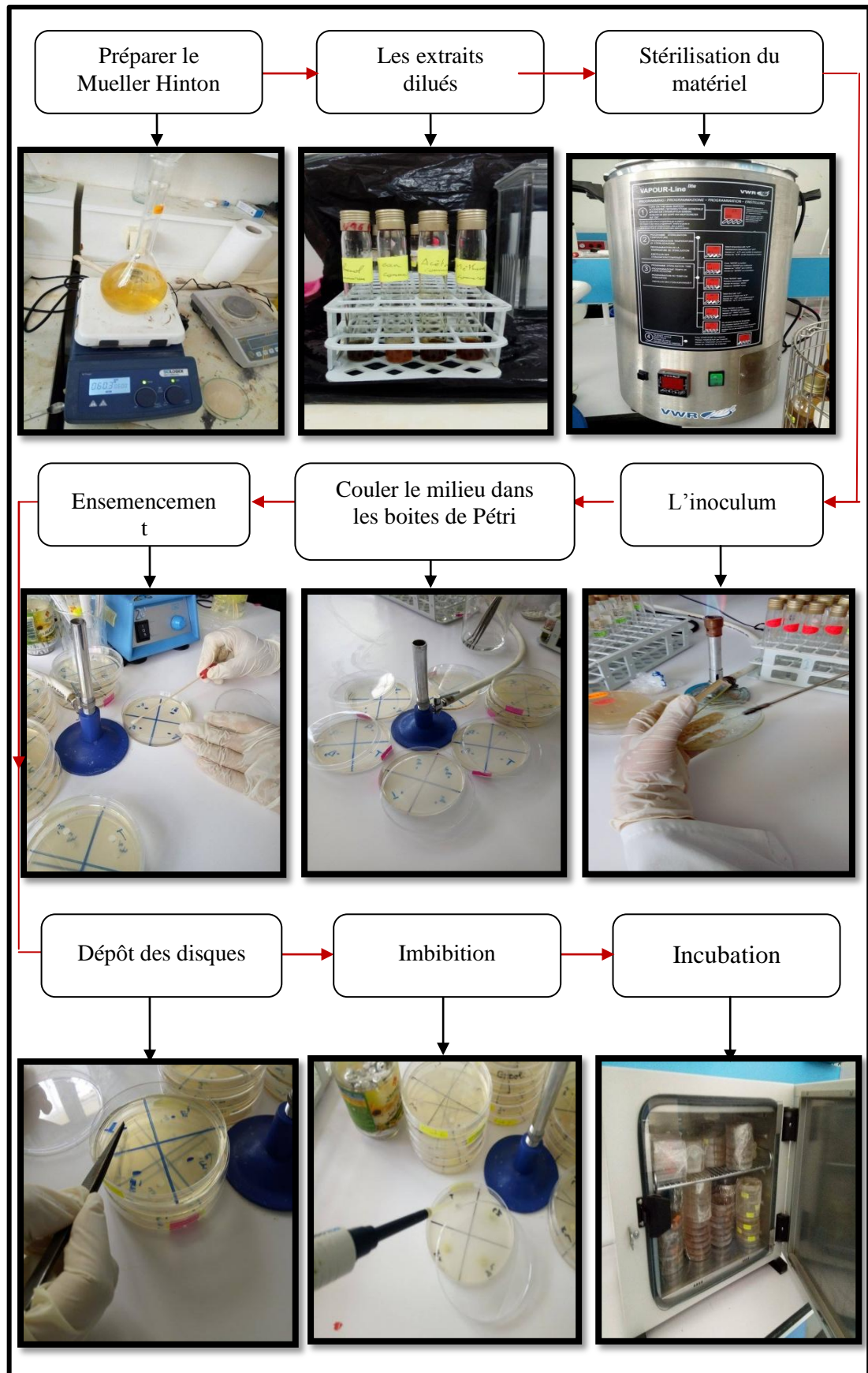


Figure III.1-4: Protocole de l'activité antibactérienne de l'*éphédra sinica*.

III.1.4.2. Deuxième Partie : L'activité antioxydant

L'activité antioxydant est un ensemble des actions qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques et capable de réagir avec les radicaux libres et les rendent inoffensif (neutraliser et les dégrader). Il est un système de protection qui lui permet de lutter contre les radicaux libres [86].

III.1.4.2.1. Test du piégeage du radical libre DPPH

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques [87,88]. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote.

Dans ce test les antioxydants réduisent le diphényl picryl-hydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons [89].

Dans le cas des composés phénoliques (OH), le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH• alors transformé en une molécule stable DPPHH [90,91], On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation [92]:

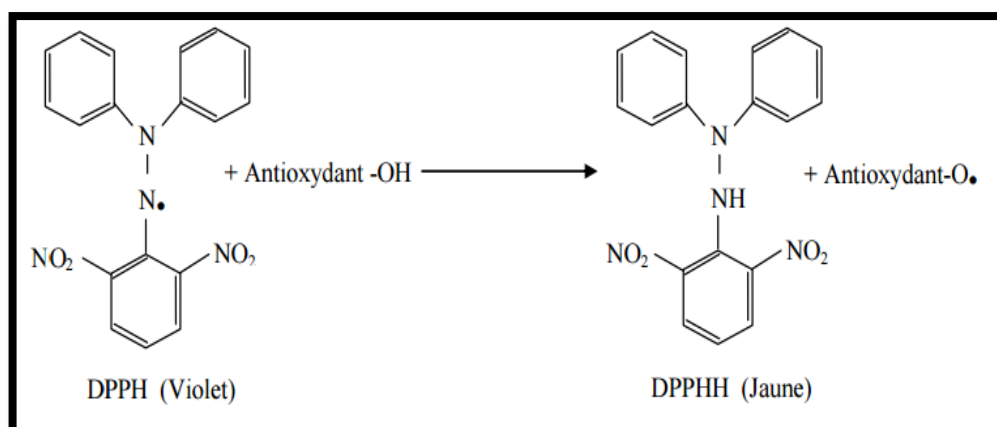
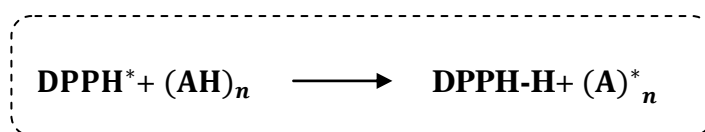


Figure III.1-5 : Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl) [93].

III.1.4.2.2. Matériels et produits

a) Matériels et appareillages

- Spectrophotomètre - Cuve spectre - Balance analytique
- Les tubes à essais - Les tubes à hémolyse - Micropipette - Pipette

b) Produits Chimique

- DPPH
- Méthanol
- Ethanol
- Acétone
- H₂O distillée

III.1.4.2.3. Mode opératoire

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH) [88].

III.1.4.2.3.1. Préparation des dilutions

Pour les quatre extraits on prépare dans des tubes a essais une solution mère de concentration (10 mg/ml). Des dilutions sont préparées à partir de cette solution.

Tableau III.1-4 : Concentrations des extraits pour le test antioxydant avec DPPH.

Volume	Concentration (mg/ml).					
	Solution mère	Les dilutions	Méthano 1	Ethanol	Acétone	H ₂ O Distille
V ₁ =1ml	10	C ₁	2	2	2	2
V ₂ =2 ml		C ₂	4	4	4	4
V ₃ =3 ml		C ₃	6	6	6	6
V ₄ =4 ml		C ₄	8	8	8	8
V ₅ =5 ml		C ₅	10	10	10	10

III.1.4.2.3.2. Préparation des solutions de DPPH

3 mg de DPPH est solubilisé dans 100 ml de solvant soit (méthanol, éthanol, acétone ou H₂O distillée), les solutions sont placés à l'obscurité. .

III.1.4.2.3.3. Préparation et lecture des échantillons

Pour chaque dilution on prépare 3 tubes à hémolyse qui constituent les trois répétition , a chaque tube on met 15µl de chaque solution des extraits soit (méthanol , éthanol , acétone ou H₂O distillée) à différentes concentrations sont ajoutés à 1,5 ml de chaque solution du DPPH .

Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 15µl de solvant soit (méthanol, éthanol, acétone ou H₂O distillée) avec 1,5 ml de chaque solution de DPPH.

Après agitation par un vortex les tubes sont placés à l'obscurité à température de chambre pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm [94,95].

III.1.4.2.3.4. Expression des résultats

Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou par l'inhibition des radicaux libres en pourcentage (RSA %) en utilisant la formule suivante [96,97]:

$$\text{RSA}(\%) = \{ (\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}}) / \text{Abs}_{\text{contrôle}} \} \times 100$$

RSA % : pourcentage de l'activité anti-radicalaire.

Abs échantillon : absorbance de l'échantillon.

Abs contrôle : absorbance du contrôle négatif.

Chapitre III : Partie Expérimentale

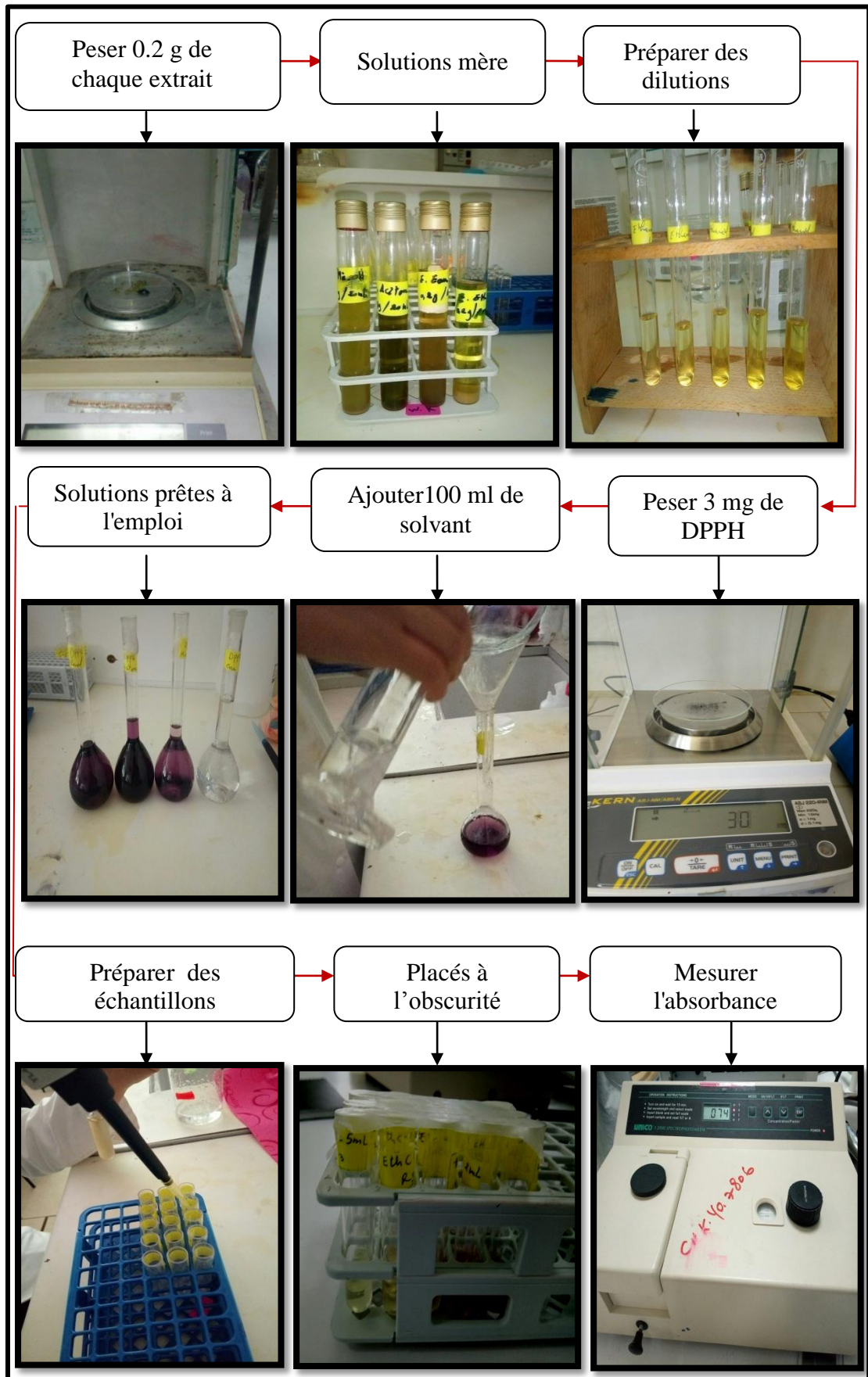


Figure III.1-6: Protocole de l'activité antioxydant des extraits l'éphédra sinica.

III.2. Résultats et discussions

III.2.1. Détermination du rendement d'extraction

III.2.1.1. Résultat

Les rendements d'extraction ont été déterminés par la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = [Ps / Pp] \times 100$$

Ps : poids de l'extrait sec en (g).

Pp: poids de la poudre en (g).

L'extrait a été préparé à partir de la poudre de la partie aérienne de l'*Ephedra sinica*. Les résultats sont représentés dans le tableau III.2-1, et illustrés dans la figure III.2-1.

Tableau III.2-1 : le rendement des extraits méthanoïque, éthanoïque, d'acétone et de H₂O distillée d'*Ephedra sinica*..

L'extrait	Méthanolique	Ethanolique	Acétone	H ₂ O distillée
Poids de la poudre en (g)	100	100	100	100
Poids de l'extrait sec en (g)	15.647	14	14	15.886
Le rendement en (%)	15.647	14	14	15.886

III.2.1.2. Discussion

Au vu des résultats rapportés dans la figure III.2-1 montrent que l'extrait de l'H₂O distillée ont donné les meilleurs rendements d'extraction avec un taux d'environ (15,886 %) suivis l'extrait méthanoïque avec un rendement d'environ (15,647 %). Les plus faibles rendements d'extractions reviennent à l'extrait éthanoïque et l'extrait de l'acétone (14%).

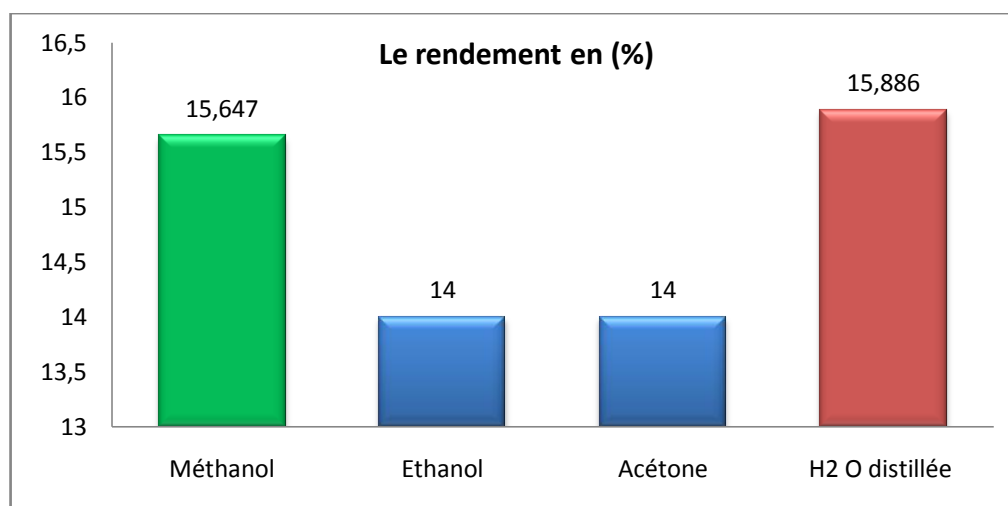


Figure III.2-1: Histogramme représente le rendement des quatre extraits.

III.2.2. Screening phytochimique

III.2.2.1. Résultat

Les tests phytochimique consistent à détecter les différentes familles de composés qui existent dans la partie aérienne d'*Ephédra sinica*, par des réactions de précipitation ou de coloration, en utilisant des réactifs spécifiques à chaque famille de composés, les résultats obtenus sont représentés dans le tableau III.2-2.



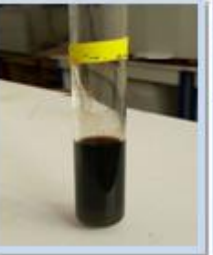








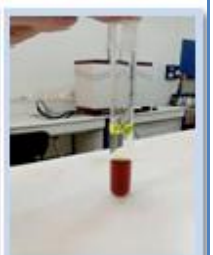


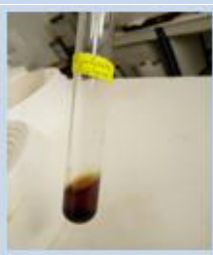
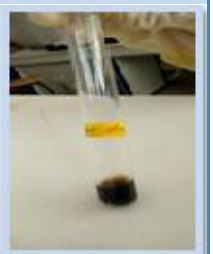

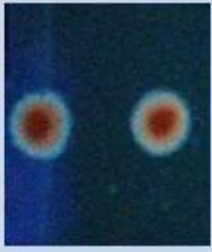

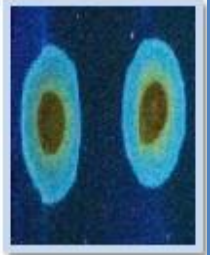
Tableau III.2-2 : résultat des tests photochimiques des composés constituant de l'extrait (Méthanol, Ethanol, Acétone et de H₂O distillée) d'*Ephédra sinica*..

Métabolites secondaire	Remarques	Résultats			
		Méthanol	Ethanol	Acétone	H ₂ O distillée
Tanins	Apparition d'une couleur vert foncée	(+)(+)(+)	(+)(+)(+)	(+)(+)(+)	(+)(+)(+)
Saponines	indice de mousse	(+)(+)	(+)	(-)	(+)(+)(+)
flavonoïdes	Apparition d'une couleur rouge et jaune	(+)(+)(+)	(+)(+)(+)	(+)(+)(+)	(+)(+)(+)
alcaloïdes	Apparition d'un précipité	(+)(+)(+)	(+)(+)	(+)(+)(+)	(-)
coumarines	Apparition d'une fluorescence	(+)(+)(+)	(+)(+)	(+)	(+)(+)(+)

- Négative ; + Faiblement positif ; ++ Positif ; +++ fortement positif.

Chapitre III : Partie Expérimentale

Tableau III.2-3 : Photo de résultat des tests phytochimiques des composés constituant des extraits (Méthanol, Ethanol, Acétone et de H₂O distillée) d'*Ephédra sinica*.

Métabolites secondaire	Les extraits			
	Méthanolique	Ethanolique	Acétone	H ₂ O distillée
Tanins				
Saponines				
flavonoïdes				
alcaloïdes				
coumarines				

III.2.2.2. Discussion

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que l'extrait au méthanol est le plus riche en métabolites secondaires par rapport aux trois autres solvants utilisés.

- **Les tests des tanins**

Les tanins sont fortement positifs présents dans les quatre extraits (méthanol, éthanol, acétone et H₂O distillée), où nous a donné une coloration vert foncée.

- **Les tests des saponines**

Les saponines avec des intensités respectives, moyennes et faibles, présents dans les extraits (méthanol et éthanol) et une grande intensité par rapport à l'extrait d'H₂O distillée (une formation de mousse dans le tube dépassant les 3 cm de hauteur), et sont absents dans l'extrait d'acétone.

- **Les tests des flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont présents avec des intensités importantes dans les quatre extraits (méthanol, éthanol, acétone et l'H₂O distillée), où il est apparu d'une coloration rouge dans les deux extraits (méthanol et H₂O distillée) et coloration jaune dans les deux extraits (éthanol et acétone) apparu d'une coloration rouge.

- **Les tests des alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont présents en forte quantité dans les deux extraits (méthanol et acétone) alors qu'une moyenne quantité au l'extrait d'éthanol. Elle a été confirmée par une précipitation au contact avec le réactif de Wagner. Mais l'extrait d'eau ne contient pas d'alcaloïdes.

- **Les tests des coumarines**

Les coumarines sont présentes en grande quantité dans les deux extraits (méthanol et l'H₂O distillée) et présentes en respectives, moyennes et faibles quantités au l'extrait (d'éthanol et d'acétone) Elle a été confirmée l'apparition d'une fluorescence sous une lumière UV.

III.2.3. Analyse de CCM

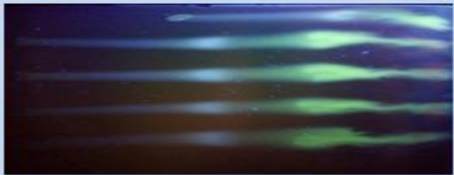
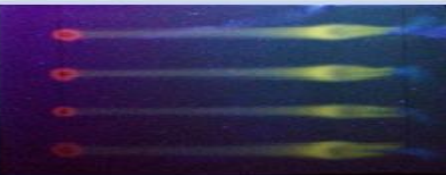
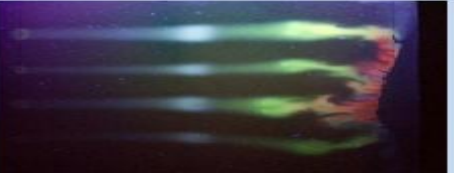





III.2.3.1. Résultat

La chromatographie sur couche mince de silice qui est à la fois une méthode de séparation et d'identification de divers constituants d'un mélange. Pour ce qui est de notre analyse, on se sert de la CCM pour mettre en évidence les différentes familles de PP, en fonction de leur façon de migrer dans les conditions données. On à utilisées deux systèmes solvants de polarités différentes :

- ❖ Butanol/acide acétique/eau distillée, 60ml/15ml/15ml.
- ❖ Acide acétique / eau distillée, 15 ml / 85ml.

Les plaques CCM observées, après élution par les différents systèmes solvants, montrent des taches de nombres, de couleurs et de distances de migrations différents.

Tableau III.2-4 : Révélation par UV (365nm) des déférents extraits (Méthanol, Ethanol, Acétone et de H₂O distillée) de l'*Ephédra sinica*..

Les extraits	Systèmes	
	BAW	AW
Méthanol		
Ethanol		
Acétone		
H ₂ O distillée		

Chapitre III : Partie Expérimentale

Après observation des plaques dans une chambre noire d'une CCM à haute performance on peut éventuellement prédire les composés ou les familles de composés les plus probables qui peuvent entrer dans la composition des quatre extrait (méthanol, éthanol, acétone et de l'eau) de *l'éphédra sinica*, l'ensemble des observations et des résultats sont regroupés dans Les tableaux III.2-5, III.2-6, III.2-7, III.2-8.

Tableau III.2-5 : CCM de l'extrait méthanolique de *l'éphédra sinica* système solvant (BAW, AW).

Couleur sous UV 365 (nm)		Les RFs (cm)		Les types des flavonoïdes possibles	
BAW	AW	BAW	AW	BAW	AW
Bleu vif	Vert	0.36	0.72	Hydroquinones	ND
Bleu pale	Vert jaunâtre	0.47	0.8	Acide phénol	Flavonols, flavones, auronés Pigments
Vert	Bleu	0.63	0.97	ND	Flavonéméthylée, hydroxyflavonol
Vert jaunâtre	-	0.97	-	Flavonols, flavones, auronés Pigments	-

ND : non déterminé

Quatre spots ont été ségrégués des dépôts de l'extrait méthanolique par le système de solvants utilisé (BAW : Butanol/acide acétique/eau distillée, 60ml/15ml/15ml) par contre on observe trois spots des dépôts dans l'autre système (AW : Acide acétique / eau distillée, 15 ml / 85ml) appartenant aux différentes classe flavonique.

Chapitre III : Partie Expérimentale

Tableau III.2-6 : CCM de l'extrait éthanolique de *l'éphédra sinica* système solvant (BAW, AW).

Couleur sous UV 365 (nm)		Les Rfs (cm)		Les types des flavonoïdes possibles	
BAW	AW	BAW	AW	BAW	AW
Bleu vif	Vert	0.30	0.69	Hydroquinone	ND
Bleu pale	Vert jaunâtre	0.29	0.8	Acide phénol	Flavonols, flavones, auronnes Pigments
vert	Bleu	0.49	0.95	ND	Flavoneméthylée, hydroxyflavonol
Vert jaunâtre	-	0.60	-	Flavonols, flavones, auronnes Pigments	-
Rouge	-	0.91	-	Anthocyanidine 3 glucoside	-

ND : non déterminé

Cinq spots ont été ségrégués des dépôts de l'extrait éthanolique par le système de solvant utilisé (**BAW** : Butanol/acide acétique/eau distillée, 60ml/15ml/15ml) par contre on observe trois spots des dépôts par le système (AW : Acide acétique / eau distillée, 15 ml / 85ml).

Chapitre III : Partie Expérimentale

Tableau III.2-7 : CCM de l'extrait d'acétone de *l'éphédra sinica* système solvant (BAW, AW).

Couleur sous UV 365 (nm)		Les RFs (cm)		Les types des flavonoïdes possibles	
BAW	AW	BAW	AW	BAW	AW
Bleu vif	Vert	0.12	0.061	Hydroquinone	ND
Bleu pale	Vert jaunâtre	0.16	0.53	Acide phénol	Flavonols, flavones, auronnes Pigments
vert	Bleu	0.62	0.77	ND	Flavoneméthylée, hydroxyflavonol
Vert jaunâtre	-	0.78	-	Flavonols, flavones, auronnes Pigments	-
Rouge	-	0.86	-	Anthocyanidine 3 glucoside	-

ND : non déterminé

Quatre spots ont été ségrégués des dépôts de l'extrait d'acétone par le système de solvant utilisé (**BAW** : Butanol/acide acétique/eau distillée, 60ml/15ml/15ml) par contre on observe trois spots des dépôts par le système (AW : Acide acétique / eau distillée, 15 ml / 85ml).

Chapitre III : Partie Expérimentale

Tableau III.2-8 : CCM de l'extrait d'eau de *l'éphédra sinica* système solvant (BAW, AW).

Couleur sous UV 365 (nm)		Les RFs (cm)		Les types des flavonoïdes possibles	
BAW	AW	BAW	AW	BAW	AW
Bleu vif	Bleu vif	0.34	0.51	Hydroquinone	Hydroquinone
Bleu pale	Vert jaunâtre	0.46	0.57	Acide phénol	Flavonols, flavones, auronnes Pigments
vert	Bleu blanc fluorescent	0.53	0.85	ND	Flavonols, flavones, isoflavones, flavanones
Vert jaunâtre	Bleu	0.71	0.93	Flavonols, flavones, auronnes Pigments	Flavoneméthylée, hydroxyflavonol
Bleu vif		0.82	-	Hydroquinone	-

ND : non déterminé

Cinq spots ont été ségrégués des dépôts de l'extrait de l'eau par le système de solvant utilisé (**BAW** : Butanol/acide acétique/eau distillée, 60ml/15ml/15ml) par contre on observe trois spots des dépôts par le système (AW : Acide acétique / eau distillée, 15 ml / 85ml).

III.2.3.2. Discussion

D'après les résultats de ces tableaux, le système qui a donné la meilleure séparation est celui de butanol /acide acétique /eau (60/15/15, v/v/v), par ce qu'il a permis la séparation de 05 tache, ce qui explique la solubilité différentielle des composés phénoliques dans ce système.

❖ Le système **BAW** a permis le fractionnement de l'extrait méthanoïque en 04 taches et fractionné les autres extraits en 05 tache de couleurs: bleu vif, bleu pale, vert, vert jaunâtre, et le rouge pouvant indiquer respectivement la présence des Hydroquinone, Acide phénol, Flavonols et /ou flavones, auronnes Pigments, Anthocyanidine 3 glucoside.

❖ Pour ce qui est du système **AW** qui a donné 04 taches au maximum pour l'extrait de l'eau et 3 taches dans les autres extraits de couleurs : Bleu vif, Vert jaunâtre, Bleu blanc fluorescent, bleu indiquant respectivement des: Hydroquinone, Flavonols, flavones, auronnes Pigments, isoflavones, flavanones , Flavoneméthylée, hydroxyflavonol.

Ce dernier système présente 03 taches communes avec le système précédent (vert, bleu vif, Vert jaunâtre), ce qui explique que le système **AW**, présent dans le système **BAW**.

III.2.4. L'activité antibactérien

III.2.4.1. Résultat

Nous avons étudié le pouvoir antimicrobien des extraits isolés de *l'éphédra sinica* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosés solides, Mueller-Hinton.

L'activité antimicrobienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de trois (03) bactéries.

Les résultats des différents tests de l'activité antibactérienne sont présentés dans le tableau III.2-9.

Chapitre III : Partie Expérimentale

Tableau III.2-9 : Zone d'inhibition d'activité antibactérienne des quatre extraits sur milieu MH (mm).

Extraits	<i>E-coli</i>		<i>Staphylococcus</i>		<i>Pseudomonas</i>	
	Zone d'inhibition	Témoin	Zone d'inhibition	Témoin	Zone d'inhibition	Témoin
Méthanol	14	14	15	3	23	12
Ethanol	16	9	–	–	13	7
Acétone	–	15	17	20	18	15
Eau distillé	–	–	–	–	–	–
Me-OH + Ethanol	18	8	19	18	15	–
Me-OH + Acétone	10	25	13	–	13	–
Me-OH + Eau	–	26	8	–	–	–
Eau + Acétone	23	23	–	–	17	20
Acétone + Ethanol	18	16	17.5	15	14	21
Ethanol + Eau	6.5	8	–	–	–	–

(-) : absence d'activité.

Les zones d'inhibitions de différentes souches sont présentées dans les photographies de la figure III.2-2.

Chapitre III : Partie Expérimentale

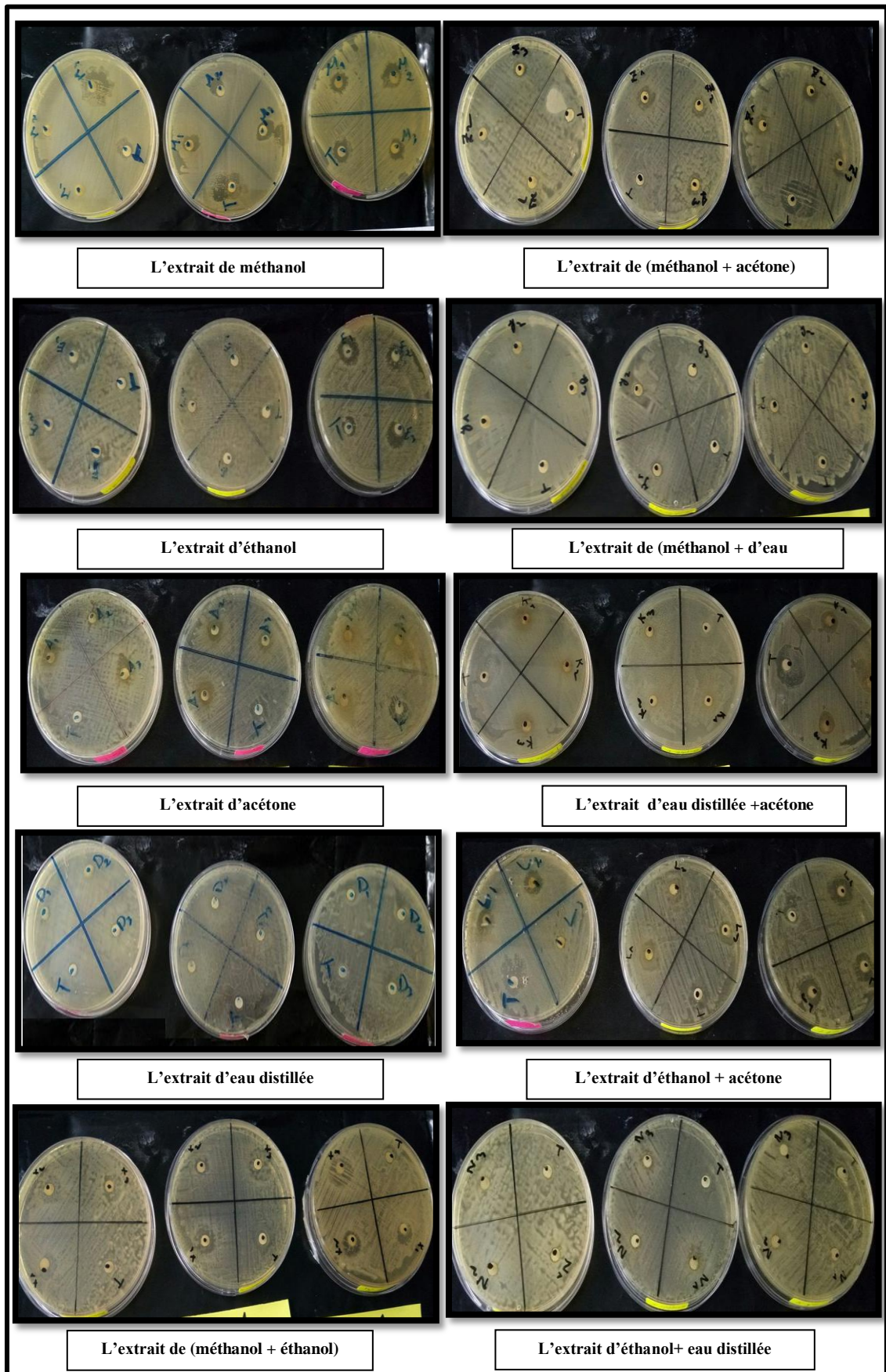


Figure III.2-2 : Zones d'inhibitions des souches : Pseudomonas _ Staphylococcus _ E. coli (dans le même ordre de gauche à droite).

III.2.4.2. Discussion

L'analyse des données expérimentales montre que comparativement aux témoins de contrôle, il y a une activité assez bien de chacune des neuf (09) extraits sur la croissance des bactéries testées. Les diamètres d'inhibition varient de 8 à 23 mm. Pour cette méthode de diffusion, un extrait est considéré comme actif lorsqu'il induit une zone d'inhibition supérieure ou égale à 10 mm. Ainsi, l'extrait de l'eau n'a aucun effet sur les trois bactéries.

L'effet de l'extrait méthanolique de *l'éphédra sinica* est plus fort sur la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* d'une grande valeur de diamètre de 23 mm et moyenne sur les deux autres bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* avec des diamètres de 14 et 15 respectivement en comparaison avec le témoin utilisés.

Pour l'extrait éthanolique de *l'éphédra sinica* a un effet fort sur *Escherichia coli* et une activité moyenne sur la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* des diamètres de 16 et 13 mm respectivement. L'absence d'une activité sur *Staphylococcus aureus*.

Ensuite en remarque une manque d'activité de l'extrait d'acétone sur la bactérie *Escherichia coli*, par contre il existe un effet sur la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* de diamètre d'inhibition de 18 mm et sur *Staphylococcus aureus* de diamètre de 17 mm.

L'ensemble des cinq extraits mélangés (Me-OH + Ethanol, Me-OH + Acétone, Me-OH + Eau, Eau + Acétone, Acétone + Ethanol, Ethanol + Eau) ont un effet sur les trois souches :

- L'extrait (Me-OH + Ethanol) a une activité forte sur les trois bactéries de diamètres d'inhibition de 15 à 19 mm.
- L'extrait (Me-OH + Acétone) a une activité moyenne sur les trois bactéries avec un diamètre d'inhibition de 10 à 13 mm.
- L'effet de l'extrait (Me-OH + Eau) sur *Staphylococcus aureus* est faible de diamètre de 8 mm, l'effet sur *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* est absent.
- Un effet fort de l'extrait (Acétone + Ethanol) sur les trois souches bactériennes avec un diamètre de 14 à 18 mm.
- Une faible zone d'inhibition observée est de l'extrait (Ethanol + Eau) sur *Escherichia coli* de diamètre de 6.5 mm, l'effet des deux autres souches est absent..

III.2.5. l'activité antioxydant

III.2.5.1. Résultat

Nous avons étudié l'activité antioxydant des différents extraits de l'éphédra sinica vis-à-vis le radical DPPH a été évalué spectrophotométriquement à 517 nm en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune, pour préjuger et localiser le solvant le plus active, Dans ce test on utilise l'acide ascorbique comme standard .

Pour toute l'expérimentation, chaque test est réalisé en triplicata et les résultats ont été calculés par la moyenne des trois essais. Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux III.2-10, III.2-11, III.2-12, III.2-13, III.2-14.

❖ Pourcentage d'inhabitation

Tableau III.2-10 : Pourcentage d'inhabitation de DPPH de l'extrait de méthanol

Concentration (mg/ml)	2	4	6	8	10
Pourcentage d'inhabitation %	64.14	86.08	89.93	92.30	93.66

Tableau III.2-11 : Pourcentage d'inhabitation de DPPH de l'extrait d'éthanol.

Concentration (mg/ml)	2	4	6	8	10
Pourcentage d'inhabitation %	50.67	66.89	78.01	89.54	91,55

Tableau III.2-12 : Pourcentage d'inhabitation de DPPH de l'extrait d'acétone.

Concentration (mg/ml)	2	4	6	8	10
Pourcentage d'inhabitation %	19.87	29.62	46.62	75.25	81.37

Chapitre III : Partie Expérimentale

Tableau III.2-13 : Pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait d'H₂O distillée.

Concentration (mg/ml)	2	4	6	8	10
Pourcentage d'inhibition %	56.45	70.96	74.19	77.41	83.87

Tableau III.2-14 : Pourcentage d'inhibition de DPPH de l'acide ascorbique.

Concentration (mg/ml)	2	4	6	8	10
Pourcentage d'inhibition %	53.02	68.79	77.11	89.44	98.55

Les résultats obtenus ont permis de tracer des courbes à été illustrés dans les figures III.2-3, III.2-4, III.2-5, III.2-6, III.2-7.

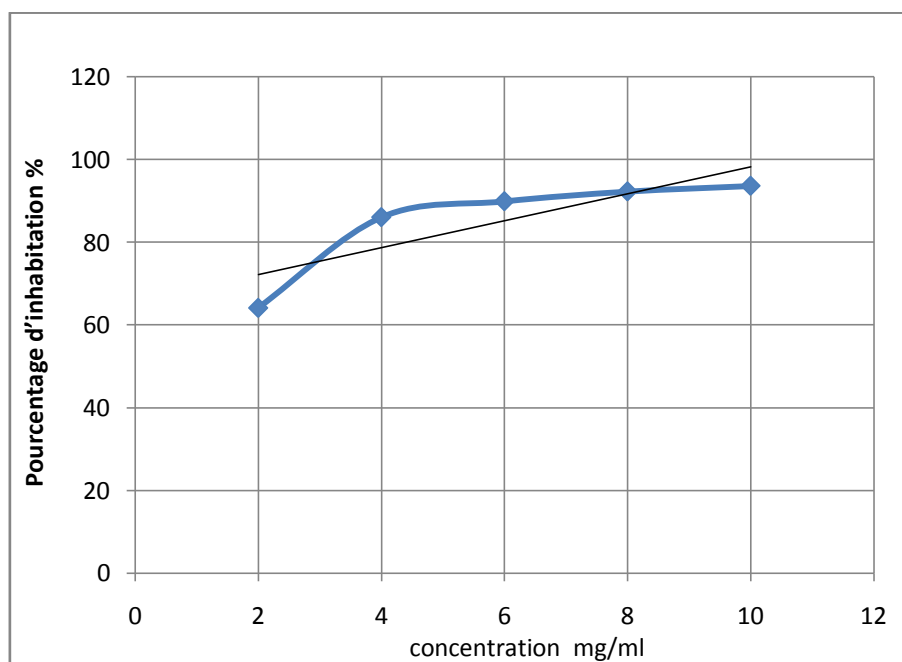


Figure III.2-3: Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait méthanolique d'*éphédra sinica*.

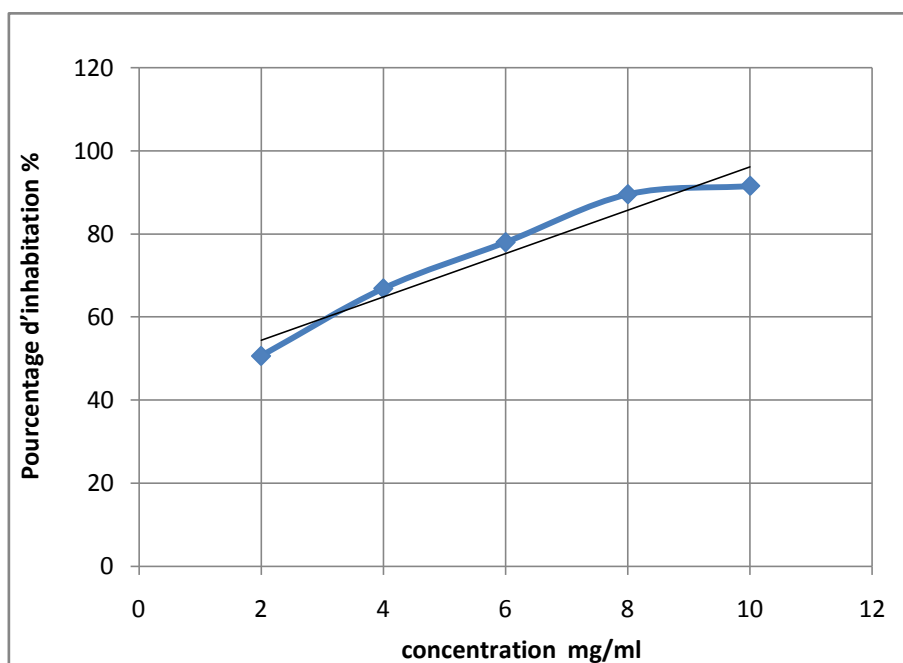


Figure III.2-4: Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait éthanolique d'*éphédra sinica*.

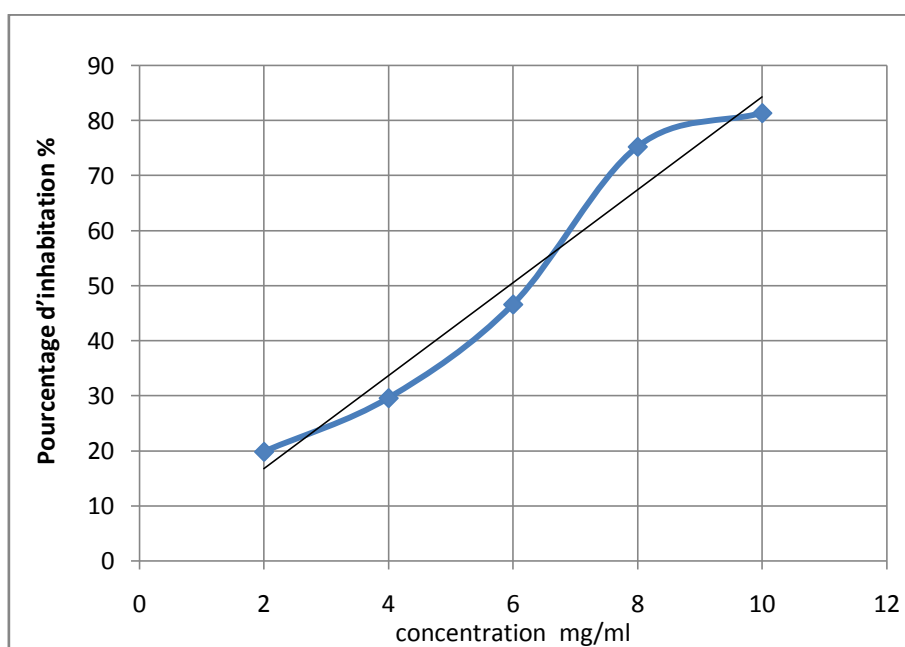


Figure III.2-5: Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait d'acétone d'*éphédra sinica*.

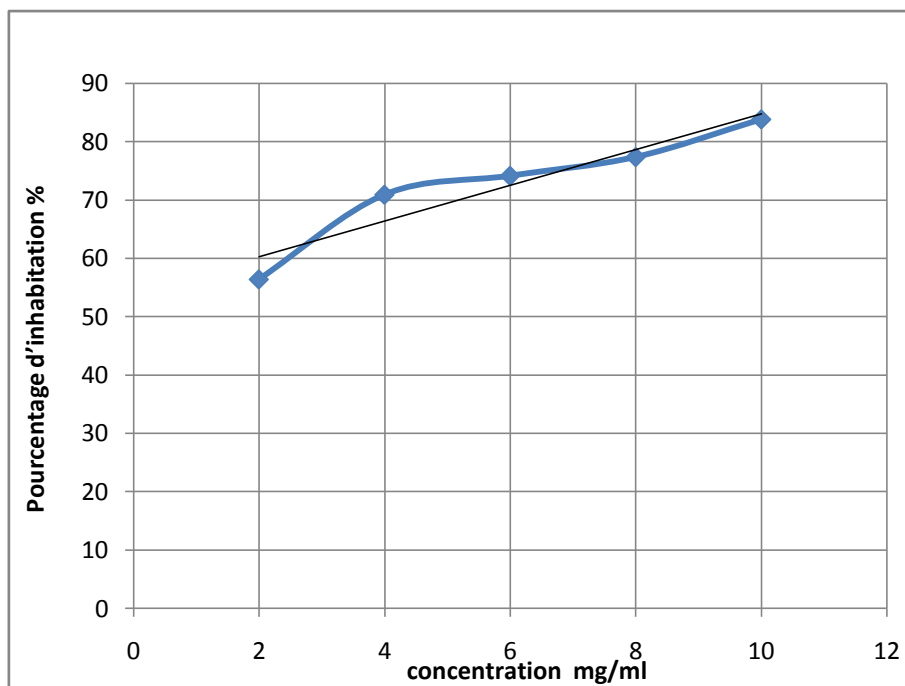


Figure III.2-6: Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait d'H₂O Distillée d'éphédra sinica.

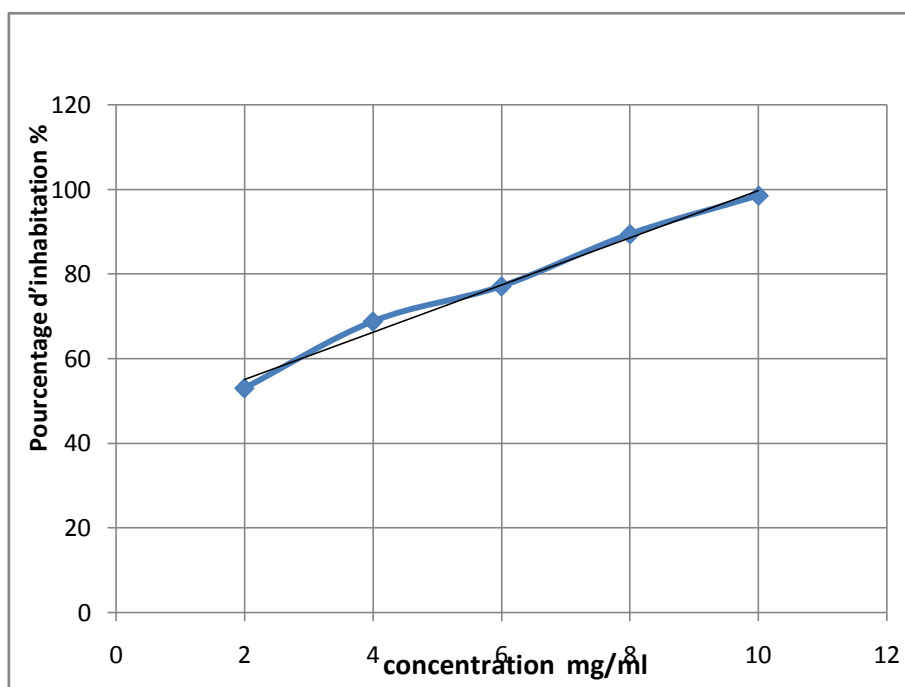


Figure III.2-7: Pourcentage d'inhibition de DPPH de l'acide ascorbique.

Chapitre III : Partie Expérimentale

D'après ces résultats, on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration.

❖ Détermination d'IC50

A partir de ces courbes nous pouvons déterminer la concentration inhibitrice à 50%, les valeurs d'IC50 sont calculées graphiquement par régression linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés, sont indiquées dans le tableau III.2-15.

Tableau III.2-15 : Les IC50 des différents extraits d'*éphédra sinica* et de l'acide ascorbique.

Extraits	Acétone	Ethanol	L'acide ascorbique
IC50%	5,94	1,15	1,09

Pour les deux autres extraits (méthanol et l'eau distillée), nous n'avons pas déterminé l'IC50. La concentration minimale utilisée (2 mg/ml) n'a pas suffi d'atteindre l'IC50, ce qui reflète bien leur valeur négatif de pouvoir réducteur du radical DPPH.

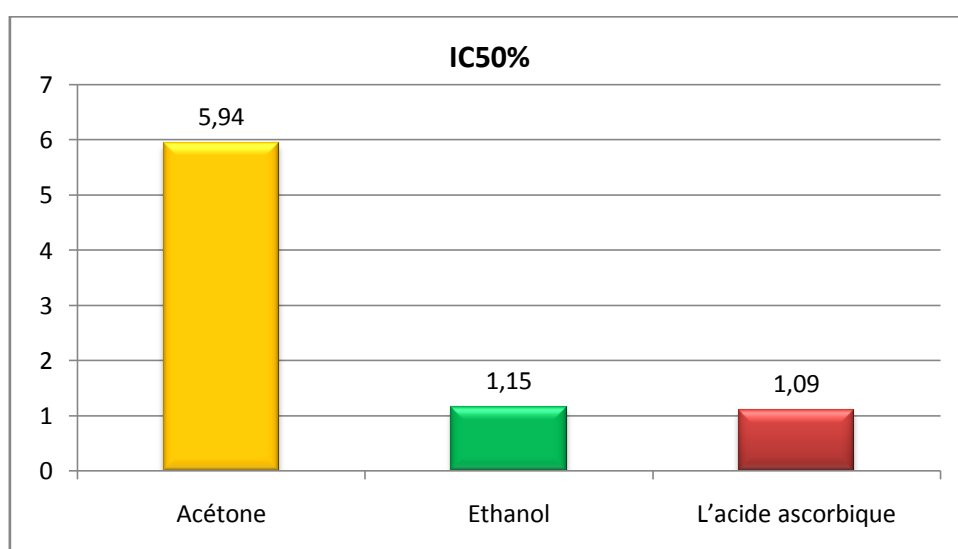


Figure III.2-8: Histogramme représente les IC50 des différents extraits d'*éphédra sinica* et d'acide ascorbique.

D'après l'histogramme illustré dans la figure III.2-8, nous remarquons les valeurs des IC50 des deux extraits s'échelonnent entre 5,94 mg/ml pour l'acétone, 1,15 mg/ml obtenus avec l'éthanol. Un fort pouvoir anti radicalaire est noté pour l'extrait d'éthanol traduisant par un IC50 assez bas, comparable à celui du composé standard l'acide ascorbique.

III.2.5.2. Discussion

Nos résultats indiquent que l'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydant, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur 'IC50 est basse, plus l'activité antioxydant est élevé.

L'acide ascorbique présente un pouvoir anti-radicalaire très puissant par rapport à nos extraits, Suivi par l'extrait d'éthanol qui présent une valeur plus faible de l'IC50 et donc une activité anti-radicalaire plus importante comparativement aux autres extraits. Par conséquent, nous concluons que l'éthanol est un solvant très antioxydant.

L'acétone a une activité anti-radicalaire, mais elle reste faible par rapport à l'acide ascorbique, et pour les autres extraits ils ont besoin à des dilutions d'atteindre la valeur d'IC50.



CONCLUSION



Conclusion

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 81% de l'humanité a recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire. Les médicaments à base de plantes sont encore largement utilisés et ont une importance considérable dans le commerce international.

L'extraction des plantes médicinales est une étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, elle dépend de la méthode et du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques. De cette étude, il ressort que la macération par l'éthanol l'eau est les plus rentables.

Les tests biochimiques des extraits bruts étudiés ont mis en évidence la présence des principes actifs du métabolisme secondaire tels que : les flavonoïdes, tanins, saponifiés, des coumarines et des alcaloïdes.

Les tests de l'activité antibactérienne ont été réalisés sur trois souches bactériennes. L'effet de l'extrait méthanolique de l'*éphédra sinica* est plus fort sur la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* d'une grande valeur de diamètre de 23 mm et moyenne sur les deux autres bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* avec des diamètres de 14 et 15mm. Concernant les mélanges binaires des extraits on remarque qu'il n'y a pas de synergie apparente dans les tests in vitro.

Globalement, les résultats obtenus par piégeage du radical libre DPPH dans le présent travail révèlent que l'extrait éthanolique est plus actif que l'extrait cétonique, cela est lié à la complexité des extraits bruts en substances poly phénoliques y compris les tanins et les flavonoïdes et la synergie entre eux pour une meilleure activité antioxydant.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES



Références bibliographique

- [01]KONE, D (2009). Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes: extraction, identification d'alcaloïdes-caractérisation, quantification de polyphénols: étude de leur activité antioxydant (Doctoral dissertation, Metz).
- [02]KOUAME, F (2012). Valorisation de quatre plantes médicinales ivoiriennes: étude phytochimique (Doctoral dissertation, Nantes).
- [03]AYOUB, F (2011). Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies Pistacia lentiscus (Doctoral dissertation, Université Ferhat Abbas de Sétif 1).
- [04]HADJER, B & MERIEM, A (2015). Evaluation de l'effet anti oxydant et anti inflammatoire d'un extrait aqueux de la plante linum usitatissimum (Dissertation master, Université Mentouri Constantine).
- [05]NATIONAL INSTITUTE FOR HEALTH, National Center for Complementary and Alternative Medicine (en ligne), {Add URL: <https://nccih.nih.gov/>} consulté 16/10/2017.
- [06]MOREL, J. M. (2008) Traité pratique de phytothérapie. Remèdes d'hier pour une médecine de demain, Paris, Eds. Grancher, 619 p.
- [07]BELKACEM, S & BENAYACHE, M (2009) Investigation phytochimique de la phase n-butanol de l'extrait hydroalcoolique des parties aériennes de Centaurea parviflora (Compositae) (Magister dissertation, Université Mentouri, Constantine).
- [08]EL RHAFFARI, L, & ZAID, A (2002). Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet): Un savoir empirique pour une pharmacopée renouvelée.
- [09]ISERIN, P, MASSON, M., & RESTILLINI, J. P (2001). Larousse des plantes médicinales, identification. Préparation et soins.
- [10]CHEVALTIER, L.C ., & CROUZET , S (2004). les médicaments a base des plantes. Techniques & documentation éditions, Paris (France), Collection sciences et techniques agroalimentaires.
- [11]BENKIKI, N (2006). Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes: Ruta montana, Matricaria pubescens et Hypericum perforatum (Doctoral dissertation, Université El Hadj Lakhdar de Batna 1).

Références bibliographique

- [12] **CODE DE LA SANTE PUBLIQUE. ARTICLE L. 5111-1** Modifié par la loi n°2007-248 du 26 février 2007 - art. 3 publié au JORF 27 février 2007. (En ligne) , {Add URL : <http://www.legifrance.gouv.fr>} consulté le 08/01/2017.
- [13] **CHABRIER, J. Y (2010)** .Plantes Médicinales Et Formes Et Formes d'utilisation En Phy d'utilisation En Phytothérapie Tothérapie Tothérapie (Doctoral dissertation, Université henri poincare nancy).
- [14] **ADOUANE .S (2016)**. Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionales des Aurés (magistère en sciences agronomiques, université Mohamed Khider - Biskra-) 24p.
- [15] **I.E.S.V (2015)** « Institut Européen des Substances Végétales », {Phytothérapie clinique individualisée pour une médecine des substances végétales}.
- [16] **BENHAMZA, L(2008)** .effets biologiques de la petite centauree erythraea centaurium (Doctoral dissertation, Université mentouri constantine).
- [17] **SOFOWORA, A (2010)**. Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. KARTHALA Editions.
- [18] **HARTMANN, T (2007)**. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68(22), 2831-2846.
- [19] **LAMBERT, N (2013)**. Apport de la phytothérapie dans la gestion médicale des chevaux âgés (Doctoral dissertation).
- [20] **SARNI-MANCHADO, P & CHEYNIER, V (EDS), (2006)**. Les polyphénols en agroalimentaire. Techniques & documentation.
- [21] **MANSOUR, S. (2015)**. Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales Artemisia absinthium L, Artemisia herba alba Asso et Hypericum scarboides- Etude in vivo. (Doctoral dissertation, Université Mohamed Boudiaf Oran).
- [22] **CHRISTOPHE, A (1989)**. Limites et risques de la phytothérapie (Doctoral dissertation, Université de limoges).15p
- [23] **HENNEBELLE, T (2006)**. Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants: Marrubium peregrinum, Ballota larendana, Ballota pseudodictamnus (Lamiacées) et Lippia alba (Verbénacées) (Doctoral dissertation, Lille 1).

Références bibliographique

- [24]DAI, J., & MUMPER, R. J (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
- [25]PINCEMAIL, J. DEGRUNE, F. VOUSURE, S. MALHERBE, C. PAQUOT, N & DEFRAIGNE, J. O. (2007). Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition clinique et métabolisme*, 21(2), 66-75.
- [26]BRUNETON, J (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4e éd.). Lavoisier.
- [27]WICHTL, M. & ANTON, R. (2003). *Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. 2 e édition. EMInter/Tec & Doc éditions, Paris, 587-589.
- [28]MACHEIX, J. J, FLEURIET, A & JAY-ALLEMAND, C (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses polytechniques.
- [29]JUTIVIBOONSUK, A, ZHANG, H, TAN, G. T, MA, C, VAN HUNG, N, CUONG, N. M. & FONG, H. H. (2005). Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*. *Phytochemistry*, 66(23), 2745-2751.
- [30]BATE-SMITH, E. C (1968). *Les Composées phénoliques des Végétaux*: P. Ribereau-Gayon, Dunod, Paris, 1968. 254 pp, 56 Fr.
- [31]SEYOUM, A, ASRES, K & EL-FIKY, F. K. (2006). Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*, 67(18), 2058-2070.
- [32]LARKINS, N & WYNN, S (2004). Pharmacognosy: phytomedicines and their mechanisms. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 34(1), 291-327.
- [33]LEONARD, E., YAN, Y & KOFFAS, M. A (2006). Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metabolic engineering*, 8(2), 172-181.

Références bibliographique

- [34]KANDASWAMI, C., PERKINS, E., SOLONIUK, D. S., DRZEWIECKI, G & MIDDLETON JR, E. (1993). Ascorbic acid-enhanced antiproliferative effect of flavonoids on squamous cell carcinoma in vitro. *Anti-cancer drugs*, 4(1), 91-96.
- [35]YARNELL, E (2006). Plant Chemistry in Veterinary Medicine: Medicinal Constituents and their mechanisms of action. *Veterinary Herbal Medicine*, 159.
- [36]DE RIJKE, E, OUT, P, NIESSEN, W. M., ARIESE, F, GOOIJER, C & UDO, A. T (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, 1112(1), 31-63.
- [37]ERDMAN, J. W, BALENTINE, D, ARAB, L., BEECHER, G, DWYER, J. T, FOLTS, J & MESSINA, M (2007). Flavonoids and heart health: proceedings of the ILSI North America flavonoids workshop, May 31–June 1, 2005, Washington, DC. *The Journal of nutrition*, 137(3), 718S-737S.
- [38]CATIER, O & ROUX, D (2007). *Botanique pharmacognosie phytothérapie : cahiers du préparateur en pharmacie* . Wolters kluwer édition , France.
- [39]HOPKINS, W. G (2003). *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur.
- [40]POPL, M., FAHRNICH, J & TATAR, V. (1990). *Chromatographic analysis of alkaloids*. M. Dekker.
- [41]ABDEL-KADER, M.. S, KASSEM, F. F & ABDALLAH, R. M. (2003). Two alkaloids from *Ephedra aphylla* growing in Egypt. *Natural Product Sciences*, 9(2), 52-55.
- [42]VOLAK, J, & STDOLA, J. (1983) . *Plantes médicinales* . Grund éditions, paris.
- [43]GUIGNARD, J. L (2000). *Biochimie végétales*. masson éditions, paris.
- [44]MALNE, J. F, PARVE,M , KAM, A , MCKEVY ,A , AHMED, I , & BHATTY, M (1980). *journal of chemical society* .Perkin transactions II.
- [45]SEBAA, A (2008). *Etude phytochimique et biologique d'ammodaucus leucotrichus* ..(dissertation magister , Université d'Oran Es-Sénia).
- [46]SMALLFIELD, B (2001). Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research* (45), 1-4.

Références bibliographique

- [47]DUNSTAN, H., FLORENTINE, S. K, CALVIÑO-CANCELA, M., WESTBROOKE, M. E., & PALMER, G. C (2013). Dietary characteristics of Emus (*Dromaius novaehollandiae*) in semi-arid New South Wales, Australia, and dispersal and germination of ingested seeds. *Emu*, 113(2), 168-176.
- [48]SVOBODA, K. P & HAMPSON, J. B (1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW, 1-17.
- [49]ACADEMIE VETERINAIRE DE FRANCE (2010).Rapport sur les conditions d'utilisation en France des préparations à base de plantes chez les animaux de production(en -ligne) . {Add URL : <http://www.itab.asso.fr>}.consulté le 10 Décembre 2017.
- [50]HUANG, J & PRICE, R. A (2003). Estimation of the age of extant Ephedra using chloroplast rbcL sequence data. *Molecular biology and evolution*, 20(3), 435-440.
- [51]EVANS, W. C (2009). Trease and Evans' pharmacognosy. Elsevier Health Sciences.
- [52]LIMBERGER, R. P, JACQUES, A. L. B., SCHMITT, G. C & ARBO, M. D (2013). Pharmacological effects of ephedrine. In *Natural Products* (pp. 1217-1237). Springer Berlin Heidelberg.
- [53]OZENDA P(1991). Flore et végétation du Sahara. Centre National De La Recherche Scientifique, Paris (3éme Ed.). 662 p
- [54]ABOURASHED, E. A., EL-ALFY, A. T., KHAN, I. A., & WALKER, L. (2003). Ephedra in perspective—a current review. *Phytotherapy Research*, 17(7), 703-712
- [55]HEGAZI, G. A. E. M & EL-LAMEY, T. M (2011). In vitro Production of Some Phenolic Compounds from Ephedra alata Decne. *J. Appl. Environ. Biol. Sci*, 1(8), 158-163.
- [56]AL-QARAWI, A. A, ABD ALLAH, E. F & HASHEM, A (2012). Effect of ephedra alata on nucleic acids and nitrogen metabolism of seedborne aspergillus flavus. *pakistan journal of botany*, 44(1), 425-428.

Références bibliographique

- [57]CAVENEY, S. CHARLET, D. A., FREITAG, H., MAIER-STOLTE, M. & STARRATT, A. N (2001). New observations on the secondary chemistry of world Ephedra (Ephedraceae). American journal of botany, 88(7), 1199-1208.
- [58]FOREAU, F (1896). Essai de catalogue des noms arabes et berbères de quelques plantes, arbustes et arbres algériens et sahariens ou introduits et cultivés en Algérie.
- [59]AOUADHI, S (2010). Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. à%tude de 57 plantes recommandées par les herboristes.
- [60]CHEVALLIER, A (1996). the encyclopedia of medicinal plants. london: dorling kindersley 336p. isbn, 751303143.
- [61]TAYLOR, D. W & HICKEY, L. J. (1992). phylogenetic evidence for the herbaceous origin of angiosperms. plant systematics and evolution, 180(3), 137-156.
- [62]DJEDDI S (2012) . les huiles essentielles "des mystérieux métabolites secondaires": manuel de formation destiné aux étudiants de master. ed.presses académiques francophones grece, 64 p.
- [63]DELILLE, L (2013). les plantes médicinales d'algerie. berti éditions.
- [64]NAWWAR, M. A., EL-SISSI, H. I., & BARAKAT, H. H. (1984). flavonoid constituents of ephedra alata. phytochemistry, 23(12), 2937-2939.
- [65]GHOURLI, M., ZIDANE, L & DOUIRA, A (2013). usage des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Sahara marocain (Tan-Tan). Japs, 17(1), 2388-2411.
- [66]OULD EL HADJ, M., HADJ-MAHAMMED, M & ZABEIROU, H. (2013). Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d'Ouargla (Sahara septentrional est).
- [67]MONDIALE DE LA SANTE, O (2003). Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales.
- [68]CHEMAT, F (2011). Eco-extraction du végétal. Procédés innovants et solvants alternatifs, Technique et Ingénierie, Ed Dunod.
- [69]LAGNIKA, L (2005). Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises (Doctoral dissertation, Université Louis

Références bibliographique

- Pasteur (Strasbourg)).
- [70]RISPAIL.N, NASH.R. & WEBB.K (2005). Secondary metabolite profiling. Lotus japonicus Handbook, 341-348.
- [71]BSSAIBIS. F, GMIRA.N & MEZIANE. M (2009). Activite antibacterienne de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. *Revue de Microbiologie Industrielle, Santé et environnement*, 3, 44-55.
- [72]ETUDES RWANDAISES.(1987) Serie Lettres et sciences humaines / Université nationale du Rwanda. Vol. 1, no 2 (janv.-mars 1987) -- Butare : Editions de l'Université nationale du Rwanda, v.2:no.1 1992:Jul-Sept. (AGQ2494)
- [73]HARBORNE, A.J (1998). *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. Springer science & business media.
- [74]DALMEYD, W (2000) - Les méthodes analytiques en chimie instrumentale chromatographie sur couche mince. {Add URL [http://dalmeyda.chez.com/analytique .htm](http://dalmeyda.chez.com/analytique.htm) } consulté 16/10/2017 .
- [75]ANDRIAMIALIHARISOA, R. F. (2011). Métabolites secondaires particuliers des feuilles de cinq populations de *Mascarocoffea* et des endophytes des feuilles de *Coffea* sp A315.
- [76]SINE, J. P (2003). *Séparation et analyse des biomolécules: méthodes physicochimiques: cours et exercices*. Ellipses.
- [77]KAPER, J. B, NATARO, J. P & MOBLEY, H. L (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature reviews. Microbiology*, 2(2), 123.
- [78]EMBREY, M, HUNTER, P, SELLWOOD, J, WYN-JONES, P, PERCIVAL, S. L & CHALMERS, R (2004). *Microbiology of waterborne diseases: Microbiological aspects and risks*. Academic Press.
- [79]DWORKIN, M. (2006). *The Prokaryotes: Vol. 6: Proteobacteria: Gamma Subclass*. Springer Science & Business Media.
- [80]RICHARD, C, & KIREDJIAN, M. (1995). *Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à gram négatif aérobies stricts: Laboratory methods for the identification of strictly aerobic gram-negative bacilli:(Pseudomonas, Alcaligenes, Flavobacterium, Acinetobacter, Brucella, Bordetella):(Pseudomonas, Alcaligenes, Flavobacterium, Acinetobacter, Brucella, Bordetella)*. Institut Pasteur.

Références bibliographique

- [81]VAN DELDEN, C, & IGLEWSKI, B. H (1998). Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerging infectious diseases*, 4(4), 551.
- [82]SOKMEN, A, GULLUCE, M., AKPULAT, H. A, DAFERERA, D, TEPE, B, POLISSIOU, M. & SAHIN, F (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food control*, 15(8), 627-634.
- [83]DJELLOUL DAOUADJI, S (2014). Detection de biofilm a staphylocoques sur catheters veineux (doctoral dissertation).
- [84]GACHKAR, L, YADEGARI, D, REZAEI, M. B, TAGHIZADEH, M, ASTANEH, S. A, & RASOOLI, I (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food chemistry*, 102(3), 898-904.
- [85]BOUDJOUREF, M (2011) Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 99 p.
- [86]AMZAL, H (2010). Étude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat, Université Mohammed V Agdal, Rabat, Maroc, 143p).
- [87]BLOIS, M. S (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- [88]BRAND-WILLIAMS, W, CUVELIER, M. E & BERSET, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- [89]SÁNCHEZ-MORENO, C (2002). Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Revista de Agaroquímica y Tecnología de Alimentos*, 8(3), 121-137.
- [90]Molyneux, P (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2), 211-219.

Références bibliographique

- [91]SANCHEZ-MORENO, C, LARRAURI, J. A & SAURA-CALIXTO, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(2), 270-276.
- [92]MOURAD, B, MIHOUB, Z. M & SETIF, U. F. A. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L.
- [93]CONGO, M (2012). Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliferative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica* L. (Salvadoraceae).Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso : 42p.
- [94]SHARMA, O. P, & BHAT, T. K (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, 113(4), 1202-1205.
- [95]ATHAMENA, S. CHALGHEM, I. KASSAH-LAOUAR, A. LAROUI, S., & KHEBRI, S (2010). Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal*, 11(1), 69-81.
- [96]OBAME, L. C, KOUDOU, J, KUMULUNGUI, B. S, BASSOLE, I. H , EDOU, P, OUATTARA, A. S & TRAORE, A. S (2007). Antioxidant and antimicrobial activities of *Canarium schweinfurthii* Engl. Essential oil from Centrafrican Republic. *African Journal of Biotechnology*, 6(20).
- [97]POPOVICI, C, SAYKOVA, I & TYLKOWSKI, B (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH.



ANNEXE



Annexe

ANNEXE 01 : Préparation des réactifs

❖ **AlCl₃ 1%**

- AlCl₃ 1g
- Eau distillée 100 ml

❖ **NaOH 10%**

- NaOH 10g
- Eau distillée 100 ml

❖ **FeCl₃ 2%**

- FeCl₃ 2 g
- Eau distillée 100 ml

❖ **HCl (2N)**

- Acide chlorhydrique à 37 %.
- Densité =1,19 ; masse molaire = 36,5g/mol ; N=2
- Masse de 1 L de solution commerciale : 1,19 kg = 1190 g.
- Masse d'acide chlorhydrique pur : $m = 1190 \times 0,37 = 440,3$ g

❖ **Réactif de Wagner**

- Iodure de potassium 2 g
- Iode 1.27g
- Eau distillée 100 ml

ANNEXE 02 : Préparation des milieux

❖ **Le milieu Muller Hinton (MH)**

- Infusion de viande de bœuf 2g
- Peptone de caséine 17.5 g
- Amidon 1.5 g
- L'agar 17 g
- L'eau distillée 1000 ml

❖ **Eau physiologique**

- Chlorure de sodium 9g
- L'eau distillée 1000 ml

ملخص:

دراستنا تهدف إلى تحديد تأثير المذيبات المختلفة وهي الميثانول والإيثانول والأسيتون والماء على خصائص الكيمياء النباتية، ضد البكتيريا و ضد الأكسدة لنبتة العنقدة. دراسة كيمياء النبات تسمح بعزل الايضات الرئيسية، بما في ذلك الفلافونيدات التانينات. اختبار النشاط المضاد للبكتيريا و تقييم القوة المضادة للجراثيم. تأثير مبيد الجراثيم يتغير حسب طبيعة السلالة و طبيعة المركب المعايير و اختبار نشاط مكافحة الراديكالية اظهر أن القدرة المضادة للأكسدة تعتمد على المذيب المستخدم في نقع النبات المدروسة.

- **الكلمات المفتاحية :** العنقدة المذيب ، فحص ، مضاد الأكسدة، مضاد الجراثيم.

Résumé :

La présente étude visait à étudier l'effet de différents solvants à savoir l'méthanol, l'éthanol, acétone et l'eau sur les propriétés phytochimique, antibactérienne et antioxydant de *l'éphedra sinica*. L'étude phytochimique a permis d'isoler les principaux métabolites notamment ceux majoritaires, les flavonoïdes et les tanins. Les tests de l'activité antimicrobienne ont permis d'évaluer la puissance antibactérienne. L'effet bactéricide varie selon la nature de la souche et de la substance testée. L'activité anti radicalaire a montré que pouvoir antioxydant est en fonction du solvant utilisé dans la macération de la plante étudiée.

- **Mots clés :** *Ephedra sinica*, solvant, screening, antioxydant, antibactérien.

Abstract:

This study was designed to investigate the effect of different solvents namely methanol, ethanol, acetone and water on the phytochemical, against properties and antioxidant of *ephedra sinica*. The phytochemical study to isolate the major metabolites such as majority, flavonoid and tinniness. The antimicrobial activity tests were used to assess the antibacterial power. The bactericidal effect depends on the strain and the tested substance. Anti-radical activity showed that antioxidant power is depende on the solvent used in the maceration of the studied plant.

- **Key words:** *Ephedra sinica*, solvent, screening, antioxidant, antibacterial.