

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique
FILIERE: Sciences Biologiques
OPTION: Biochimie appliquée

Theme



**ANALYSE PHYSICO-CHIMIQUE ET EVALUATION DES
ACTIVITES BIOLOGIQUES
DES DEUX PLANTES MEDICINALES
(*Ephedra alata*, et *Rubus fruticosus*)**



Présenté par:

OUARTAL Ilhem

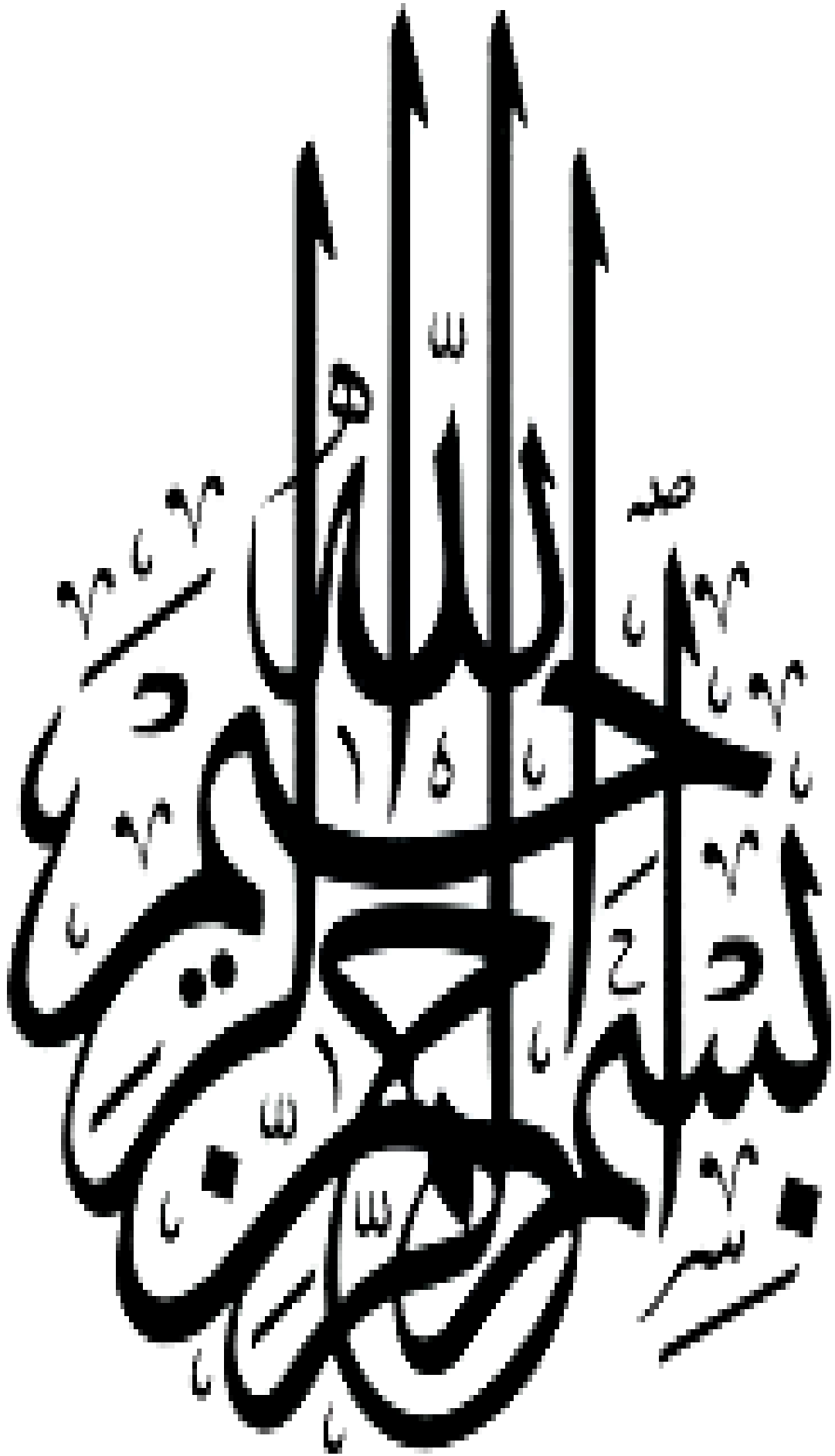
FERHATI Nihad

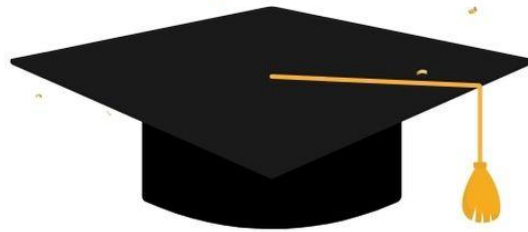
CHEBAH Amani

Devant le jury

Président	MAAMAR Hichem	M.C.B	Université de Khenchela
Promotrice	DJEMIL Randa	M.C.A	Université de Khenchela
Examineur	BADIS Zakaria	M.A.A	Université de Khenchela
Co promoteur	NESSAIBIA ISSAM	M.R.B	CRE - Annaba

Année universitaire : 2023/2024





Remerciements

Je tiens à remercier en premier lieu ALLAH le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il m'a donné pour l'achèvement de ce mémoire, il a été et sera toujours à côté de moi pour réussir et terminer n'importe quel travail.

Ma profonde gratitude s'adresse avant tout à mon encadreur Dr .DJEMIL Randa, qui a accepté de diriger mon travail et m'a accordé toute l'attention et la patience nécessaire pour le mener à bien. Aussi je tiens à la remercier pour sa disponibilité, ses précieux conseils, ses encouragements ainsi que sa profonde gentillesse.

Je tiens aussi à remercier, Dr. MAAMAR Hichem et Dr. BADIS ZAKARIA. Qui me font l'honneur d'assister et de juger ce Modeste travail.

Je remercie rayan, et Dr .Krim et Dr. Benghanmi monsef pour leur efforts avec nous.

J'adresse mon profond remerciement aussi à l'équipe du laboratoire de biochimie de l'université Abbas laghrour ;

Un grand merci à tous ceux qui m'ont aidé de loin ou de près dans l'accomplissement de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail Aux personnes qui me sont les plus chères dans ma vie, à celui qui a versé de la sueur sur son front et qui m'a appris que le succès ne vient pas sans patience et détermination, à la lumière qui a éclairé mon chemin et à ma bougie qui fond toujours pour moi, à celui qui a donné les choses les plus précieuses et les plus précieuses et de qui je tirerai ma force et mon estime de soi, mon cher père, que Dieu prolonge sa vie.

À ma mère, fleur qui orne mes jours, qui m'a tenu éveillé la nuit et a facilité mes difficultés par ses prières, à la grande personne qui a toujours attendu de me voir un jour comme celui-ci, ma mère, que Dieu prolonge sa vie et étende sa santé et son bien-être.

*A mon frère **Alaa**, qui me tend inlassablement et sans relâche la main dans mes moments de faiblesse, à mes sœurs **Lina**, **Ledjian** et **Rawnk**, que Dieu continue à vous soutenir.*

*À **ILhem**, mon amie, mon collègue, ma compagne, ma sœur, dans l'adversité et les crises,*

À tous ceux qui m'ont aidée et soutenu sur ce chemin, en l'occurrence

*- M. **Ben Ghanem** et Mme **Rayan**,*

*-à ma tante **Thaldja**, à mon oncle **Nabil**,*

*-à mes amis et compagnons **Noura**, **Kawthar**, **Amani** et **ouidad**,*

-à tous ceux qui m'ont prodigué leurs conseils et leurs sentiments sincères,

NIHAD

Dédicace

Je remercie Dieu Tout-Puissant qui m'a donné la santé, la force, le courage et la patience pendant mes années d'études pour que j'arrive à ce point.

Je dédie cette dernière œuvre humble, accompagnée d'un amour profond.

À ma chère mere.

Ma mère bien-aimée, je te dédie cette réussite, et j'aimerais que tu sois avec moi pour partager ma joie et être fière de moi. Je demande à Dieu d'avoir pitié de toi et de te faire parmi les gens du Paradis

À mon cher père.

De tous les parents, tu es le meilleur. Aucune dédicace ne peut exprimer mon respect, ma gratitude et mon amour profond. Merci pour tous les sacrifices que vous avez faits pour moi et ma réussite. Ceci est juste un petit cadeau pour vous. Que Dieu vous protège et vous apporte santé et bonheur.

À ma chère tante.

Toute l'encre du monde ne suffit pas à exprimer mes sentiments pour ma tante. Une source de tendresse, de patience et de sacrifice. Vous avez suivis mes pas, m'avez couvert de tendresse, et vos prières et vos bénédictions m'ont été d'une grande aide dans la poursuite de mes études. Vous m'avez aidé et soutenu pendant de nombreuses années avec une attention attentive et chaque fois renouvelée. Que Dieu vous accorde la santé et le bonheur et prolonge votre vie.

À mon fiancé amer.

Tous les mots du monde ne peuvent exprimer le grand amour que j'ai pour toi. Merci pour la motivation constante que vous m'avez donnée, que Dieu vous protège et que notre amour dure toute une vie.

À *Mes sœurs. ikhless, wahiba, aida, fatma, rokaya* Mes sœurs, mes compagnes et mes beautés, je vous souhaite un bonheur éternel. Je demande à Dieu de vous protéger de tout mal

À *Mes frères .marwan, abd ellatif, said, ahmed* Mes frères, mon soutien, je demande à Dieu de vous protéger et de vous protéger tous Sans oublier mes binôme **nihad, ilhem**

Pour leur soutien moral, leur compréhension et leur patience tout au long de ce projet

À mes âmes sœurs et amies de toujours, **belaidi hadjer ,asil masaudi.**

À tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de cette mémoire.

Amani

Dédicace

Je remercie Dieu tout-puissant pour son aide et son assistance dans l'achèvement de ce travail.

Au dernier échelon de l'échelle, et au moment le plus fier où la fatigue et l'effort nous ont lavés avec l'eau du succès pour garder la réalité blanche et belle.

Je dédie mon diplôme à mon père qui est toujours présent dans mon cœur, à celui dont je porte le nom avec fierté. À mon père, qui n'a pas fait le voyage avec moi et n'a pas vu le fruit de sa plantation, me voici, mon père, j'ai tenu ma promesse. Grâce à toi, qui m'as élevé avec de bons principes et une grande ambition, je m'efforcerai de te rendre toujours fier de moi. Je partage avec vous ma première réussite.

J'espère que mes sentiments t'atteindront et que tu seras fier de ceux qui ont porté ton nom et prouvé que tu es le meilleur éducateur, le meilleur père et le meilleur pleureur. À celle qui m'a appris à donner sans attendre, à celle qui m'a appris à donner sans attendre. À celle dont je porte le nom avec fierté. À mon ange dans la vie. Au sens de l'amour et au sens de la tendresse, ma mère bien-aimée.

*A ma côte fixe, la sécurité de mes jours, à ceux qui ont renforcé ma force et ont été mes ressorts, il suffit de dire que je suis fier de vous, mes frères **Samir, Aymen, Mouhammed, et Youssef**. À mon amour et mon âme sœur, ma sœur **María***

*À l'homme qui a enlevé les épines de mon chemin, l'oncle **Nouar**, du plus profond de mon cœur, je te dédie ma réussite.*

*A mon oncle **Walid et Salim**, qui sont proches de mon cœur et de mes soutiens .*

*A ma chère amie, **Nihad** qui m'a soutenue durant tout le parcours et chez qui j'ai trouvé l'entente dont j'avais besoin.*

*À tous les amis que nous nous sommes faits à l'école, **ouidad, Noura, Amani, Meriem, Aicha, Salma**, que Dieu nous aide tous à faire ce qu'il aime et ce qui lui plaît.*

Merci à ceux qui m'ont appris une lettre, et le meilleur professeur Merci à tous ceux qui m'ont donné de leur temps, et qui m'ont élevé avec leurs mots. Merci à tous ceux que j'ai rencontrés à l'école, et à ceux qui m'ont toujours poussé atteindre mon potentiel.

ILHEM



Résumé

RESUME

Analyse physico-chimique et évaluation des activités biologique des deux plantes médicinales(*éphédra alata*, et *Rubus fruticosus*)Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales, nous sommes intéressées à l'étude de deux plantes médicinales occupant de larges espaces en Algérie : *Ephédra alata* (*Alanda*) et *Rubus fruticosus* Ces plantes sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies (grippe, rhumes, bronchites et arthrose).

Notre travail est fondé sur l'étude de la structure chimique et l'évaluation des activités biologiques. L'extrait méthanolique (80%) a été extrait des feuilles séchées de *Rubus fruticosus* et *Ephedra alata* sous ombrage.

Des tests colorimétriques ont été effectués pour détecter la présence de plusieurs métabolites secondaires, les polyphénols totaux et les flavonoïdes totaux ont été quantifiés par des mesures spectro photométriques, alors que l'activité antioxydant des extraits a été évaluée par le pouvoir antioxydant DPPH. En outre l'activité anti-inflammatoire a été évaluée par Diclofénac et l'activité antibactérienne a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion de disque contre quatre souches de bactéries, deux souches gram positifs et deux souches gram négatifs.

Ces extraits se sont révélés riches en métabolites secondaires et possèdent une activité antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne.

Mots-clés: *Ephedra alata* , *Rubus fruticosus*, plantes médicinales, activité anti-inflammatoire, flavonoïdes.

Abstract

Physico-chemical analysis and evaluation of biological activities of the two medicinal plants (*Ephedra alata*, and *Rubus fruticosus*) Within the Framework of the valorisation of medicinal plants, we are interested in the study they are in Algeria medicinal plants, *Ephédra alata* and *Rubus fruticosus*, which are widely used in traditional medicine for the treatment of numerous diseases (flu, colds, bronchites and arthrose).

Our work is based on the study of chemical structure and the evaluation of biological activities. Methanoic extract (80%) was extracted from *Rubus Fruticosus* and *Ephedra alata* leaves under shade.

Colorimetric tests were carried out to detect the presence of several secondary metabolites, total polyphénols and total flavonoids were quantified by photometric spectrum measurements, the antioxidant activity of the extracts was assessed by DPPH antioxidant power, anti-inflammatory activity was evaluated by Diclofénac, and antibacterial activity was assessed using the disk diffusion method against four strains of bacteria, two positive and two negative strains.

These extracts were found to be rich in secondary metabolites and to possess antioxidant, anti-inflammatory activity.

Key words: *Ephedra alata alenda*, *Rubus fruticosus*, Médicinal plants, , anti-inflammatory activity. Flavonoids

ملخص

التحليل الفيزيائي الكيميائي وتقييم الأنشطة البيولوجية من النباتين الطبيين (العلندة، توت العليق) في إطار تامين دور الأعشاب الطبية فإننا مهتمون بدراسة نبتتين طبيتين موجودتين في الجزائر *Rubus fruticosus* و *Ephedra Alata* تستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي لعلاج العديد من الامراض. (انفلونزا، نزلات البرد، التهاب الشعب الهوائية وهشاشة العظام) .

يستند عملنا الى دراسة التركيب الكيميائي وتقييم الانشطة البيولوجية .

يستخرج المستخلص الميثانولي (80%) لأوراق توت العليق وقصب للعلندة المجففة تحت الظل.

لقد اجرينا الاختبارات اللونية للكشف عن وجود العديد من مركبات الايض الثانوية ، تم تحديد كميات البوليفينول الكلي و الفلافونويد الكلي عن طريق المقاسات الطيفية وكذلك تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصين من قبل القوة المضادة للأكسدة DPPH ، ثم تقييم النشاط المضاد للالتهاب بواسطة ديكلوفيناك ، وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة القرصي ضد اربع سلالات بكتيريا سلالتين موجبة وسلالتين سالبة. حيث تبين لنا ثراء هذه المستخلصات مركبات الايض الثانوية وامتلاكها فعالية مضادة للأكسدة ، ومضادة للالتهاب ، مضادة للبكتيريا

الكلمات المفتاحية : العلندة ، توت العليق ، النباتات الطبية ، النشاط المضاد للالتهابات، الفلافونويد.

Liste des Abréviations

Liste des abréviations

.% PI : Pourcentage d’Inhibition

Abs : Absorbance

BSA : Sérum bovine albumine

C : Concentration de la solution en mol/L

D : Diamètre

DPPH : 2,2-Diphényle-1- Picrylhydrazyl

E : extrait

E. alata : *Ephedra alata*

E.coli : Escherichia coli

EMEA : Extrait méthanoïque de *Ephédra alata*

EMRF: Extrait méthanolique de *Rubus fruticosus*

IC50: la concentration inhibitrice à 50%.

l : Largeur de cuve en cm

m0 : Masse en gramme de l’extrait brut évaporé.

m1 : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche.

nm : nanomètre

P1 : poids de l’extrait

P2 : poids de la matière végétale

PBS : Tampon Phosphate Saline

R : Rubus

R²: Coefficient de corrélation

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

SD : Standard Déviation

Liste des Abréviation

ϵ : Coefficient absorption molaire en L.mol⁻¹.cm⁻¹

Table des Matières

TABLE DES MATIERES

Remerciements	
Dédicace	
Resumé	
Abstract	
ملخص	
Listes des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1

PREMIERE PARTIE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. ETUDE DES PLANTES MEDICINALES.....	5
I.1 GENERALITES.....	5
II. <i>EPHEDRA ALATA</i>.....	5
II.1.GENERALITES	5
II.2. REPARTITION GEOGRAPHIQUE	5
II.3. DESCRIPTION BOTANIQUE.....	6
II.4. CLASSIFICATION	6
II.5. NOM VERNACULAIRE.....	7
II.6. USAGES	8
II.7. PHARMACOLOGIE	8
II.8 .TOXICITE	9
II.9. CHIMIE DE LA PLANTE	10
II.10. ACTIVITES BIOLOGIQUES	11
II.10.1. activite anti-inflammatoire	11
II.10.2. activite anti-cancereuse	11
II.10.3. activite anti-bacterienne.....	11

Table des Matières

II.10.4.activité anti-fongique.....	11
II.10.5. activité anti-oxydante	12
III. <i>RUBUS FRUCTICOSUS</i>	14
III.1. GENERALITE	14
III.2. REPARTITION GEOGRAPHIQUE.....	14
III.2.1 REPARTITION MONDIALE	15
III.2.2 REPARTITION GEOGRAPHIQUE EN ALGERIE	15
III.3.DESCRPTION BOTANIQUE	15
III.4. CLASSIFICATION BOTANIQUE.....	16
III.5. POSITION SYSTEMATIQUE DE LA RONCE EST LA SUIVANTE	17
III .6 . NOMS VERNACULAIRES.....	17
III .7.USAGE THERAPEUTIQUE TRADITIONNEL	17
III .8. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES.....	18
III .9.CHIMIE DE LA PLANTE :	18
III.10. ACTIVITES BIOLOGIQUES	19
III.10.1.Activité anti diabétique.....	19
III.10.2.Autres activités de <i>Rub&us fruticosus</i>	20
IV. METABOLITES SECONDAIRES.....	20
IV .1. CLASSIFICATION DES METABOLITES SECONDAIRES	20
IV.1.1. Composés phénoliques	20
IV.1.2. Terpenoïdes	23
IV.1.3. Alcaloïdes	24

SECONDE PARTIE ETUDE EXPERIMENTALE

I.MATERIELS	28
I.1. Matériel végétal	28
I.2. Matériels et produits	28
II.METHODES.....	29
II.1. Préparation de l'extrait méthanolique	30
II.2 . Rendement de l'extraction	31
II.3. Etude qualitative : Screening phytochimique	31
II.4. Etude quantitative	33
II.4.1 Dosage des polyphénols totaux	33
II.4.2 Dosage des flavonoïdes	33

Table des Matières

II.5.Evaluation de l'activité antioxydant.....	35
II.6. Evaluation de l'activité antibactérienne	36
II.7.Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.	40
RESULTATS EXPERIMENTAUX	
I. RENDEMENT D'EXTRACTION	43
II. RESULTATS DE SCREENING PHYTOCHIMIQUE.....	44
III. RESULTATS DE L'ETUDEQUANTITATIVE.....	47
III.1. DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX	47
III.2. DOSAGE DES FLAVONOÏDES	49
IV. RESULTATS DE L'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE.....	52
V. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	55
VI. Evaluation de l'activité antiinflammatoire.....	57
Conclusion.....	60

Liste des Tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1: Nom vernaculaire d' <i>Ephédra alata</i> .	7
Tableau 2: Certains des composants d' <i>E.Alata. Alenda</i>	10
Tableau 3: Les propriétés thérapeutique de la ronce	18
Tableau 4: Composition chimique de la partie aérienne de <i>Rubus fruticosus</i>	19
Tableau 5: Souches bactériennes utilisées.	36
Tableau 6: Le rendement des deux extraits EMEA ,EMRF.	43
Tableau 7: Mise en évidence de la présence ou l'absence de certaines classes de métabolites secondaires dans l'espèce <i>Ephedra. Rubus fruticosus</i> Métabolites secondaires	44
Tableau 8: Teneur en polyphénols dans les deux plantes (EMEA, EMRF)	48
Tableau 9: Teneur en flavonoïdes dans les deux plantes (EMEA, EMRF).	50
Tableau 10: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH dans les deux plantes d'éphédra alata alenda et du rubus fruticosus.	52
Tableau 11: Résultats des diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne	55
Tableau 12: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA.	58

Liste des Figures

Liste des figures

figure 1: Shrub de <i>Ephedra alata</i>	6
figure 2: Distribution de <i>Ephedra</i> dans le monde	7
figure 3: Feuilles de la ronce	14
figure 4: Aire de répartition mondiale de <i>Rubus fruticosus</i>	15
figure 5: structure de noyau phenol	20
figure 6: structure de base des flavonoides	21
figure 7: structure de quelques tanins	21
figure 8: structure de base des coumarines.....	22
figure 9: Structure chimique des quinones	23
figure 10: structure de Stéroïde	24
figure 11: Structure d'une saponine	24
figure 12: Structures chimiques de quelques Alcaloïdes: la morphine, strychnine, caféine escopolamine	25
figure 13: Wilaya de Khenchela.....	28
figure 14: Wilaya de khenchela.....	29
figure 15: <i>Rubus fruticosus</i> séchée.....	29
figure 16: Etapes de la préparation des 02 extraits	30
figure 17: Mode opératoire de dosage des flavonoïdes	34
figure 18: Forme libre et réduite du DPPH.....	35
figure 19: Photos du procédé de l'ensemencement.....	38
figure 20: Photos d'application des disques au niveau de boites de Pétrie	39
figure 21: Mesure de diamètres des zones d'inhibition.....	40
figure 22: Protocole d'inhibition de la dénaturation de l'albumine	41
figure 23: Rendements des extraits de EMEA-EMRF.	43
figure 24: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	48
figure 25: Teneur en polyphénols totaux EMEA.....	48
figure 26: Teneur en polyphénols totaux EMRF.	49
figure 27: Courbe d'étalonnage de la quercétine	50
figure 28: Teneur en flavonoïdes totaux EMRF	51
figure 29: Teneur en flavonoïdes totaux EMEA.....	51
figure 30: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes Concentrations d'Acide ascorbique.	53
figure 31: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes Concentrations de EMRF.	53

Liste des Figures

figure 32: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes Concentrations de EMEA.....	54
figure 33: Représentation graphique de l'activité antibactérienne de <i>Ephedra Alata</i>	56
figure 34: Représentation graphique de l'activité antibactérienne de <i>Rubus fruticosus</i>	56
figure 35: Résultats de l'activité antibactérienne EMEA et EMRF	56

Introduction
Générale

Durant des siècles et même des millénaires, l'homme puise dans son environnement les connaissances nécessaires à sa survie et à son bien-être. Avant même de posséder l'usage du langage, il pouvait transmettre l'expérience de la médecine et de tous types de remèdes naturels pour finalement créer un lien de complémentarité avec la nature et élaborer ce qu'on appelle aujourd'hui la « médecine traditionnelle» (Roumy, 2007).

Les plantes médicinales ont été connues depuis l'antiquité et utilisées par l'homme comme médicament pour prévenir, soigner ou soulager des diverses maladies. Ces plantes prennent leur capacité thérapeutique comme le pouvoir antimicrobien et antioxydant, à partir de ses métabolites primaires et secondaires ou par la synergie entre les deux ou entre les différents composés de chaque type de métabolite. Parmi les métabolites secondaires on distingue les composés phénoliques qui sont considérés comme des fortes antioxydants et aussi des antimicrobiens (Zeghad, 2009 ; Lehout et Laib, 2015 ; Bourgou *et al.*, 2016 ; Bendif, 2017). Pour évaluer le pouvoir thérapeutique et même nutritionnel et économiques de ces plantes, des tests biologiques et des tests de criblage phytochimique sont réalisés (Lehout et Laib, 2015). Dans ce cadre, plusieurs études ont été effectuées et en cours de réalisation pour valoriser des plantes médicinales, déjà connues, non connues ou qui nouvellement apparaissent, faisant un grand succès au niveau mondial, continental ou national.

De ce fait, le but de notre étude consiste à évaluer les activités biologiques et procéder à des analyses phytochimiques d'extraits méthanoïques de deux plantes médicinales. Ce présent travail a été mené au niveau du laboratoire de l'Université, et comporte trois parties essentielles :

- La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique regroupant des généralités sur deux plantes médicinales *Ephedra Alata (Alanda)* et *Rubus fruticosus* .

(Description botanique de chaque espèce, leur distribution géographique et leur classification botanique. Un aperçu sur l'exploitation de ces plantes à des usages thérapeutiques et pharmaceutiques a été inclus dans cette partie ainsi les métabolites secondaires et leurs effets biologiques).

- La deuxième partie est d'ordre pratique, elle porte sur :
- L'extraction des métabolites secondaires de ces plantes par macération.
- Caractérisation des métabolites secondaires par les méthodes colorimétriques, spectrométriques

- Evaluation de l'activité antioxydante, antibactérienne et anti inflammatoire.
- la discussion des résultats des travaux réalisés .

Première Partie:
Synthèse Bibliographique

Ephedra
alata

I. Les plantes médicinales

I.1 Généralités.

La phytothérapie, ou médecine par les plantes, est pratiquée depuis l'antiquité dans le but de soigner les hommes et les animaux. L'essor de la science a permis la mise au point de molécules, naturelles ou de synthèse ayant des effets thérapeutiques.

Actuellement, au vu de la cherté de ces médicaments, nous constatons un retour à l'usage des plantes.

La wilaya de Khenchela, de par ses variations climatiques et écologiques et son étendue sur plusieurs zones (zone des hautes plaines, des montagnes, steppique et pré-saharienne) offre un éventail large de plantes, spontanées ou cultivées, ayant des vertus médicinales, dont certaines sont identifiées.

II. *Ephedra*

II.1. Généralités

Ephedra alata est l'une des plantes médicinales les plus utilisées en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies (**Hadjadj et al., 2020**). C'est une plante fortement aromatique, avec un goût amer (**Hegazi et El-Lamey, 2011**). Elle appartient au genre *Ephedra*, le seul représenté par la famille des *Ephedraceae*.

II.2. Répartition géographique

Le genre *Ephedra* (*Ephedraceae*) comprend environ 50 à 60 espèces (**Evans, 2009**), qui sont largement répandues dans les régions tempérées et subtropicales du monde, à l'exception de l'Afrique australe et de l'Australie. Ces espèces se trouvent principalement en Eurasie, en Afrique du Nord et en Amérique du Nord et du Sud, où elles prospèrent dans des habitats ouverts et arides, comme les déserts et les pentes rocheuses. Bien que des habitats similaires soient présents en Afrique australe et en Australie, aucune espèce existante d'*Ephedra* n'a été trouvée dans ces régions, et aucun fossile bien authentifié n'a été découvert à ce jour (**Zhang, 2018**). *Ephedra alata* est présente en Afrique, notamment en Algérie, en Égypte, en Libye, au Maroc, en Tunisie, en Mauritanie, au Tchad et au Mali. En Asie, cette espèce est présente en Arabie saoudite, en Irak, en Iran, en Palestine, au Liban, en Jordanie et en Syrie (**Jaradat et al., 2015**). Elle est originaire d'Asie (**Al-Qarawi et al., 2011**) ; elle est commune dans le Sahara, du Maroc, la Libye, jusqu'à l'Égypte et l'Arabie Saoudite (**Caveney et al., 2001**). En Algérie, on la trouve dans le Sahara septentrional et occidental, principalement sur les terrains sableux, les regs et les lits sablonneux des oueds, ainsi que dans le sable de l'étage tropical et la Hamada de Tinghert (**Ozenda, 1991**). Elle a tendance à se développer sur les pentes sèches et les flancs de montagnes (**Limberger et al., 2013**).

II.3. Description botanique

L'espèce *Ephedra alata* decne est un arbuste dioïque vivace de 1 à 3 m de hauteur (Figure01), caractérisée par des rameaux articulés et très ramifiés d'une couleur vert-jaunâtre, portant au niveau des nœuds de petites feuilles opposées, alternant d'un nœud à l'autre (Limberger *et al.* 2013). Les fleurs sont en petits cônes, et les fruits entourés de bractées largement membraneuses. Elle présente un système de racines latérales extrêmement puissant (Derbel *et al.* 2010).



Figure 1: Shrub de *Ephedra alata* (Chaieb *et al.*, 2008)

II.4. Classification

Embranchement: *Spermaphytes*

Sous embranchement: *Gymnospermes*

Classe: *Gnetopsida*

Ordre: *Ephedrales*

Famille: *Ephedraceae*

Genre: *Ephedra*

Espèce: *Ephedra alata*

Sous espèce: *Ephedra alata alenda* (Ozenda, 1991)

II .5. Nom vernaculaire

Du grec Ephedros : plante ressemblant aux prêles (Tableau 1)

Tableau 2:Nom vernaculaire d'*Ephédra alata* (Ozenda, 1991) .

• Nom arabe	• <i>Alenda</i> • <i>Adam</i>
• Nom Targui ou Berbère	• <i>Timaiart</i> • <i>Arzoum ou Alelg</i>
• Nom Allemand	• <i>Walliser meerträubchen</i>
• Nom Anglais	• <i>Ephedra</i>
• Nom Français	• <i>Ephédra</i>

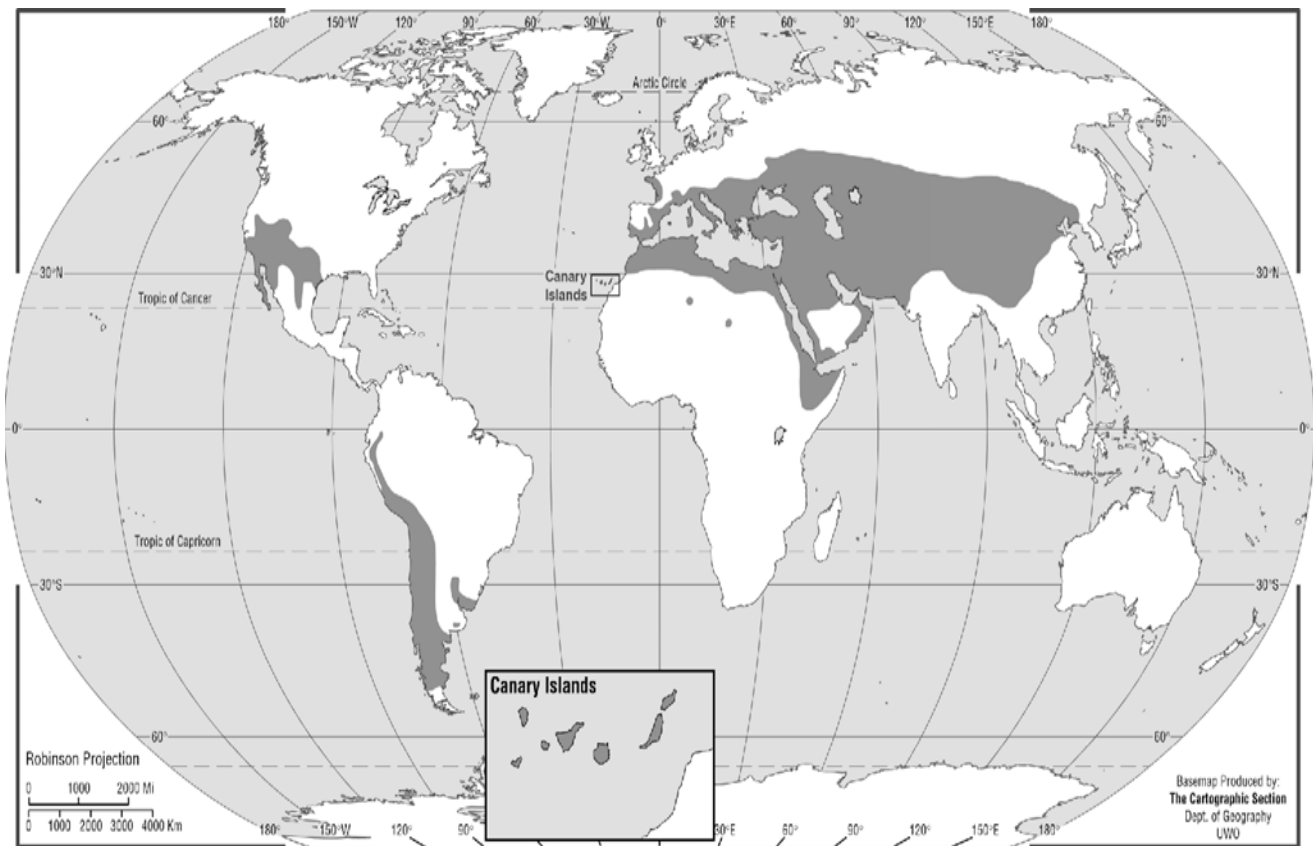


Figure 2:Distribution d'*Ephedra* dans le monde (Cavaney *et al*, 2001)

II.6 . Usage

Les espèces du genre *Ephedra* se trouvent parmi les plus anciennes herbes médicinales connues de l'humanité. L'espèce principale *E. sinica* a été utilisée en Chine depuis plus de 5000 ans. *E.gerardiana* a également été utilisée dans la médecine traditionnelle indienne depuis l'ancien temps. *L'Ephedra* était bien connue durant le temps de l'empire Romain (**Abourashed et al., 2003**).

Les espèces contenant de l'éphédrine sont spécifiquement appelées A-huang par les Chinois (**Abourashed et al., 2003**). En Chine, Ma-huang est utilisée pour guérir l'asthme bronchiale, le rhume, la grippe, la fièvre, les frissons, la rhinite, la congestion nasale, l'œdème, les maux de tête, les arthralgies et antiallergique et antitussif (**Konno et al., 1979 ; Abourashed et al., 2003 ; Soni et al., 2004 ; Ma et al., 2007**) .

En Asie, elle est utilisée dans la fabrication clandestine d'une drogue, de la méthamphétamine (d-desoxy-éphédrine) (**Caveney et al., 2001**).

E.alata est employée en médecine traditionnelle en Egypte en tant que dépurative, hypotensive, antiasthmatique et agent astringent (**Nawwar et al., 1984**).

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 (**AL-Qarawi et al., 2012**). Elle est très appréciée par le dromadaire.

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

En Algérie, *E. alata* s'utilise contre la grippe, la coqueluche et la faiblesse générale en tisane et par inhalation ainsi que sous forme de gouttes nasales contre les rhumes (**Ould El Hadj et al., 2003**) .

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

II.7. Pharmacologie

Les alcaloïdes présents dans la tige de *E.alata*, notamment l'éphédrine, la pseudo éphédrine, la no éphédrine, la no pseudo éphédrine, la méthyle éphédrine et la méthyle pseudo éphédrine, ont été utilisés dans le traitement de diverses maladies graves telles que le cancer, les maladies inflammatoires, l'asthme et les infections virales. De plus, la tige contient des flavonoïdes, qui constituent un groupe important de poly phénols connus pour leurs

remarquables propriétés antioxydants (**Al-snafi et al .,2017**). L'éphédrine structurellement similaire à l'adrénaline, fonctionne comme un sympathomimétique indirect :

- Libération de catécholamines endogènes des fibres sympathiques post ganglionnaires en est induite.
- Il renforce l'automatisme cardiaque et démontre un effet inotrope positif (l'éphédrine accélère les mouvements respiratoires bulbaires).
- La capacité de contraction de la vessie en est diminuée.
- L'éphédrine, qui est très lipophile, peut être prise par voie orale et a un effet plus durable que l'adrénaline facilement absorbée. Il a également la capacité de traverser la barrière hémato-encéphalique et de libérer des médiateurs de manière centralisée.
- Provoque un effet psychostimulant similaire à celui des amphétamines, améliorant la concentration, diminuant la fatigue et le désir de dormir, etc.
- L'éphédrine provoque une tachyphylaxie (diminution rapide des effets par administration répétée) (**Bruneton, 2009**).
- Des expériences sur des chiens et des lapins ont révélé une forte activité diurétique de la pseudoéphédrine (**Blumenthal, 1995**).

II .8.Toxicité

Cependant, la phytothérapie ne se contente pas d'effets positifs. Comme tout produit actif, il peut entraîner des effets indésirables, toxiques et allergiques. Les études sur les propriétés phytochimiques ou biologiques de divers produits végétaux ont démontré leur efficacité et leur potentiel toxique pour les systèmes cellulaires des mammifères (**Aline, 2010**) La toxicité dépend de la nature de la substance, de la dose, de la durée d'exposition et de différents facteurs liés à l'individu (sexe, âge, état nutritionnel et hormonal) (**Tron, 2002**).

De fortes doses de l'éphédrine peuvent causer de la nervosité, des maux de tête, de l'insomnie, des vertiges, des palpitations, des rougeurs de peau, des picotements et des vomissements. Les effets secondaires de l'éphédrine sont, selon le manuel des médicaments en vente libre, la stimulation du système nerveux central, les nausées, les tremblements, la tachycardie [battement de cœur rapide] et la rétention urinaire. Il est recommandé d'éviter l'éphédrine chez les personnes souffrant de cardiopathie, d'hypertension, de maladie de la thyroïde, de diabète ou de miction difficile en raison d'une hypertrophie de la prostate par un groupe consultatif de la Food and Drug Administration (**Blumenthal, 1995**).

Les espèces de l'*Ephedra* sont nocives (Ma *et al.*, 2007). Il peut y avoir une tachycardie, une hypertension, une hypersudation, une broncho-dilatation, une agitation et une mydriase en clinique. Ils savent également que l'usage de l'Ephédra est lié à des manifestations gastro-intestinales et psychiatriques (Peters *et al.*, 2005).

En raison de ces effets, l'utilisation de l'*Ephédra* est recommandée uniquement pour les situations aiguës en médecine traditionnelle chinoise et non pour une utilisation à long terme (Chen *et al.*, 2010).

II.9.Chimie de la plante

L'*éphédra* est une source naturelle de nombreux ingrédients botaniques, notamment alcaloïdes, tanins, saponines, pro anthocyanidines, acides phénoliques, flavonoïdes et huiles essentielles (Hegazi et El-Lamey, 2011).(Tableaux 3)

Les propriétés biologiques traditionnelles de l'éphédra sont bien connues dans la littérature, principalement attribuées aux alcaloïdes de type éphédrine, les proto-alcaloïdes dérivés de Phénylalanine (Caveney *et al.*, 2001).

Cette plante contient divers composés phénoliques tels que l'acide trans cinnamique, Catéchine, syringine, épi catéchine, kaempférol, kaempférol 3-O rhamnoside 7-O- Le glucoside, l'isovitexine 2-O-rhamnoside, contribue de manière significative à l'activité antioxydants issus de plantes (Al-Rimawi *et al.*, 2017).

La concentration en alcaloïdes de l'éphédrine peut varier de 0,02% à 3,40% selon les espèces les isomères de (-)-éphédrine représentent 30 à 90 % de la teneur totale en alcaloïdes (Tabi et salhi, 2023).

Tableaux 4 : Certains des composants d'*E.Alata. Alenda* (Chebouat, 2016).

Flavonoïdes	Alcaloïdes	Autres compés
Herbactin 7-0-(6-quinylglucoside)	Ephedrone	(Carboxycyclopropyl) glycines
Lucenin III	(+) -Norpseudoephedrine	3,4-Methanoproline
Kaempferol 3-rhmnoside		Cyclopropane amino acids
Querceyin 3- rhamoside	(-)Ephedrine	(+) -Syringaresinol
Herbacetin 7-glucoside		
2, 3-digalloylglucopyranose	(+) -Pseudoephedrine	(+) -Syringaresinol
(+)Syringaresinol		
Nilocitin	(-) -Methylephedrine	
Ephedrannin B	(-) -Synephrine	

	(+)-Methylpseudoephedrine	Carboxylic acid (Nilocitin)
Herbacetin 8-methyl ether 3- O-glucoside -7-O-rutinoside	7-Methoxy-4-quinolone 2- carboxylic acide	
	(-)- Nerephedrine	

II.10 .Activités biologiques

En plus de leurs utilisations traditionnelles, *Ephedra alata* possède de nombreuses propriétés biologiques, parmi lesquelles on cite les plus importantes :

II .10.1. Activité anti-inflammatoire

Effet anti-inflammatoire : L'extrait aqueux d'*E.sinica* possède des propriétés inhibitrices du complément trouvé dans le sérum animal et humain ; la médecine traditionnelle chinoise estime que l'ingrédient actif de la néphrite aiguë est la pseudoéphédrine.

L'activité anti-inflammatoire présentée par *E.intermedia*. Rapporte qu'il a également été démontré que les parties aériennes des plantes d'éphédra contiennent de l'éphédrine. *Ephedra alata* a été utilisée en phytothérapie traditionnelle pour traiter les maladies inflammatoires (Kmail *et al.*, 2017).

II.10.2. Activité anticancéreuse

Certaines espèces d'éphédra se sont vu attribuer un potentiel anticancéreux contre diverses lignées cellulaires. Par exemple, des extraits obtenus avec différents solvants d'*Ephedra aphylla* ont montré une activité anti-proliférative contre les lignées cellulaires de cancer du sein T47D et MCF-7 (Al-Awaida *et al.*, 2018). L'extrait hydroalcoolique d'*Ephedra alata* Decne a un potentiel d'effet anti-prolifératif, proapoptotique et cytotoxique contre la lignée cellulaire de cancer du sein humain MCF-7. Dans une étude ethnopharmacologique en Palestine, *Ephedra alata* était la phytomédecine la plus utilisée pour le traitement du cancer (Danciu *et al.*, 2019).

II.10.3. Activité antibactérienne

Des extraits flavonoïdes de l'*Ephedra alata* a été évaluée contre les bactéries pathogènes Gram positif et Gram négatif telles que: *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* , *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* , *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (Ben aouda et benkeuour, 2019). L'extrait ethanolique agit comme un agent bactériostatique contre les souches bactériennes suivantes :(*Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *Salmonella*

enterica, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, et parapsilose) (Danciu *et al.*, 2019). *Ephedra sarcocarpa* montre aussi une activité inhibitrice contre ces bactéries surtout *Pseudomonas aeruginosa* qui est la plus inhibé et qui est l'agent responsable par son opportunité sévère des infections (Rustaiyan *et al.*, 2001).

II.10.4. Activité antifongique

L'extrait aqueux et l'extrait d'acétonitrile d'*E. alata* montre une activité antifongique et un potentiel inhibiteur, in vitro et in vivo contre la croissance et la production d'aflatoxines par la moisissure aflatoxigénique (Hassiba et lail, 2022).

II.10.5. Activité antioxydante

L'activité antioxydante d'*Ephedra alata* était évaluée par le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazylhydrate. L'extrait méthanolique d'*Ephedra alata* a montré une forte activité antioxydante et puissant radical libre d'oxygène capacités de récupération, la valeur IC 50 de la centrale était presque équivalent à l'antioxydant standard trolox. Les résultats ont montré que *Ephedra alata* cultivé en Palestine est riche en antioxydants, phénoliques et flavonoïdes (Al-Rimawi *et al.*, 2017).

Leur activité antioxydante est comparable ou supérieure à celle d'*Ephedra* d'autres pays. Il existe une corrélation entre les activités antioxydantes et le contenu phénolique total, mais pas avec le contenu total en flavonoïdes. Les quatre tests d'activité antioxydante étaient fortement et significativement corrélés les uns aux autres (AlRimawi *et al.*, 2017).

Rubus fruticosus



III. *Rubus fruticosus*

III. 1. Généralité

Rubus fruticosus c'est une plante qui appartient à la famille des *Rosacées*. Son nom vernaculaire, la ronce vient du latin "rumex", "rumicis" qui signifie « dard » allusion à la présence d'aiguillon et d'épines, sur les rameaux. *Rubus fruticosus* peut être rattaché au latin « rube » qui veut dire, rouge pour la couleur des fruits et *fruticosus* signifiant « arbrisseau, buissonnant ». Cette plante a une particularité appelée « apomixie » c'est-à-dire qu'elle est capable de former des embryons sans fécondation, c'est ce qui conduit à la formation d'arbuste épineux de la famille des *rosacées*. Cette plante est très courante dans les régions tempérées et pousse en septembre. La ronce commune, contient de la vitamine C. Elle est également antibactérienne (Nougar et Driss, 2021).

Rubus fruticosus a été étudié par (Linnaeus, 1737), qui a décrit quatre espèces du genre *Rubus*. En France, Bonnier (1934) a déclaré que 150 espèces de ce genre ont été décrites dans les régions tempérées, tropicales et subtropicales du monde. (Heslop-Harriso 1968). a rapporté que plus de 2000 espèces ont été décrites, y compris l'espèce intéressante '*Rubus fruticosus*'. (Latabi et Yahou, 2023). (Figure 3)



Figure3: Feuilles de la ronce (site 03)

III.2. Répartition géographique

L'espèce *Rubus fruticosus* est présente sur tout l'hémisphère nord, des régions tempérées aux régions froides, du bord de mer balayé par les embruns au bord des glaciers à 2300 mètres d'altitude. Le Mûrier sauvage s'est acclimaté en Amérique et en Australie. II

pousse surtout dans les haies et les forêts. . C'est l'espèce de ronce la plus répandue dans le département, de la plaine à la montagne et dans une variété de milieux dégradés (Quezel et Santa, 1962).

III.2.1. Répartition mondiale

La répartition de l'espèce *Rubus fruticosus* s'étend sur toute l'Europe, L'Afrique du Nord (Atlas), l'Afrique australe, le Sud-est de l'Australie, la Nouvelle-Zélande, les Etats-Unis et le Chili. La ronce est également présente plus près de l'Equateur, mais à des altitudes plus élevées (on trouve jusqu'à plus de 2 000 m d'altitude) (Figure 3) (Wehrlen, 1985).

III.2.2 . Répartition géographique en Algérie

En Algérie, cette plante pousse essentiellement dans le Tell et l'Aurès (Quezel et Santa, 1962). (Figure 4)

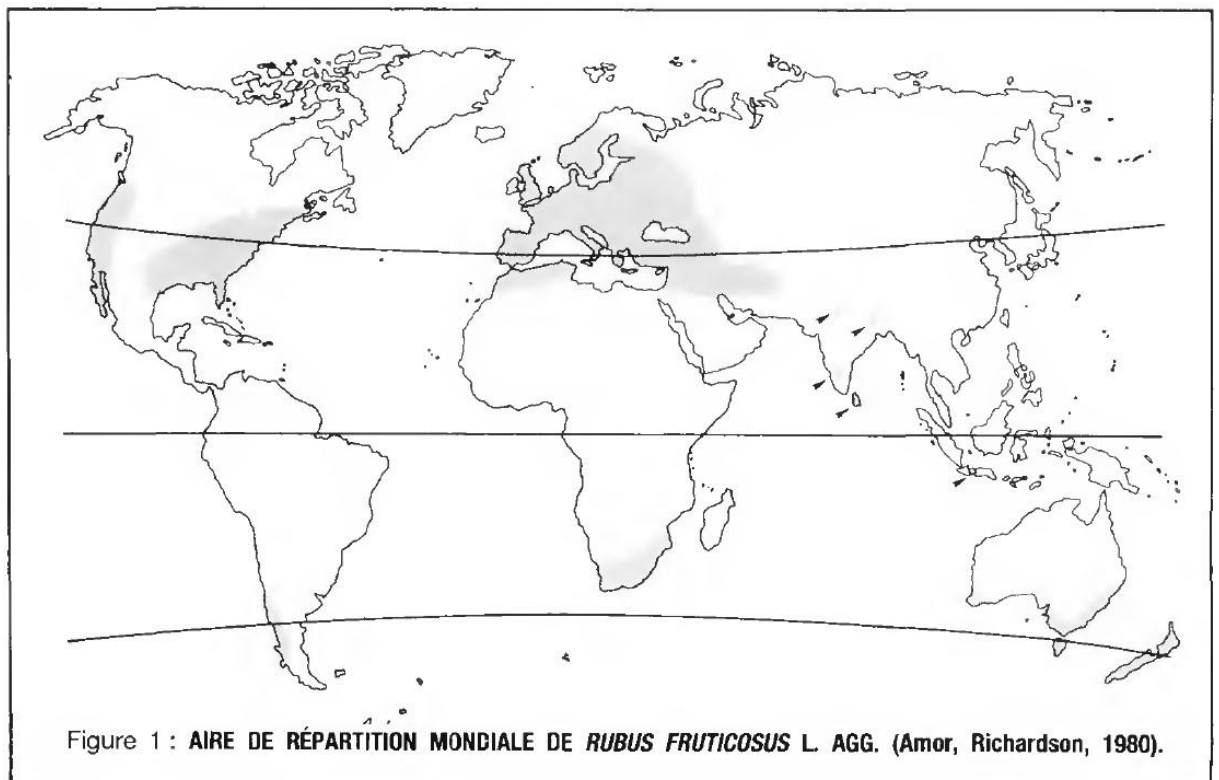


Figure 1 : AIRE DE RÉPARTITION MONDIALE DE *RUBUS FRUTICOSUS* L. AGG. (Amor, Richardson, 1980).

Figure 4:Aire de répartition mondiale de *Rubus fruticosus* .(Wehrlen, 1985).

III .3. Description botanique

Au cours de sa première année, une nouvelle tige, la primocane, pousse vigoureusement jusqu'à atteindre une longueur totale de 3 à 6 m (dans certains cas, jusqu'à 9 m), se cambrant ou traînant le long du sol et portant de grandes feuilles composées palmées à cinq ou sept déliants ; il ne produit aucune fleur. Au cours de sa deuxième

année, la canne devient un floricanne et la tige ne s'allonge pas, mais les bourgeons latéraux se brisent pour produire des latérales fleuries (qui ont des feuilles plus petites à trois ou cinq dépliantes). Les pousses de première et de deuxième année présentent généralement de nombreux piquants courts, courbés et très pointus, souvent appelés à tort épines. Ces piquants peuvent facilement déchirer le denim et rendre la plante très difficile à parcourir. Les plantes matures non gérées forment un enchevêtrement de tiges arquées denses, les branches s'enracinant à partir de l'extrémité du nœud sur de nombreuses espèces lorsqu'elles atteignent le sol. Vigoureux et poussant rapidement dans les bois, les broussailles, les flancs de collines et les haies, les mûriers tolèrent les sols pauvres, colonisant facilement les friches, les fossés et les terrains vagues

- Fleurs : sont produites à la fin du printemps et au début de l'été sur de courtes grappes chaque fleur mesure environ 2 à 3 cm de diamètre et comporte cinq pétales blancs ou rose pâle. Les mûres à fruits primocane nouvellement développées fleurissent et fructifient sur la nouvelle croissance.

- Tiges : sont des cannes arquées ou traînantes jusqu'à 7 mètres de long, vertes, violacées ou rouges, lisses ou moyennement poilues, rondes ou anguleuses, avec de nombreux aiguillons recourbés ou droits de différentes tailles.

- Feuilles : Composées à trois ou cinq folioles ovales. Les folioles sont généralement vert foncé dessus et vert plus clair dessous, avec de petites dents sur les bords

- Fruit : Baie changeant de couleur du vert au rouge puis au noir à mesure qu'elle mûrit, de 1 à 3 cm de diamètre, constituée d'un agrégat de segments charnus, contenant chacun une graine.

- Graine : de couleur brun clair à brun foncé, quelque peu triangulaire, de 2 à 3 mm de long, profondément et irrégulièrement piquée.

- Racine : La plupart des racines se trouvent dans les 20 premiers cm du sol, mais quelques-unes atteignent 1 m de profondeur ; il y a une couronne bien définie au niveau du sol. (Verma *et al.* , 2014).

III.4. Classification botanique

Nom botanique : *R. fruticosus* L. agrégat Famille des *Rosaceae* (famille des roses). La mûre comprend un certain nombre de plantes étroitement apparentées qui, pour plus de

commodité, sont traitées (regroupées) sous un seul nom latin. À l'échelle mondiale, *R. fruticosus* comprend environ 2000 espèces, sous-espèces et variétés nommées et appartient à la famille des *Rosacées*.

III.5. La position systématique de la Ronce est la suivante (Bock, 2013).

Règne : *Plantae*

Sous règne : *Tracheobionta*

Super division : *Spermatophyta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous classe : *Rosidae*

Ordre : *Rosales*

Famille : *Rosaceae*

Genre : *Rubus*

Espèce : *Rubus fruticosus*

III . 6. Noms vernaculaires

Plusieurs noms vernaculaires sont attribués à cette plante (Lim, 2012)

- Nom français: *Ronce commune, Ronce des bois, Ronce des haies, Ronce européenne, Mures sauvages;*
- Nom Anglais: *Blackberry*
- Nom Arabe: *Tût el Ullayq;*
- Nom Kabyle: *Tizwal*
- Nom vernaculaire : *Allaiïak, thizoual*
- Noms communs : *Aronce, mûrier sauvage, mûrier de renard, mûrier des haies*

III.7. Usage thérapeutique traditionnel

Ronce est une plante médicinale très appréciée pour son efficacité à traiter certaines maladies. Constituée essentiellement de tanins, cette plante détient un pouvoir astringent et anti-diarrhéique. Le gargarisme par la décoction de la ronce est utilisé pour le traitement des inflammations de la bouches comme les aphtes, les gingivites, les pharyngites.les maux de gorge, les rhumatismes, l'hématurie, la cystite. Les feuilles de la ronce possèdent une action antibactérienne et antifongique ; ainsi elles sont utilisées pour soigner les plaies et les blessures extérieures. Le décocté des feuilles peut servir de collyre pour les yeux.

Les bourgeons sont employés pour guérir la bronchite et permet d'atténuer les problèmes d'insuffisance respiratoire. La ronce est dotée aussi de propriétés carminatives, diurétique et anti hémorroïdaire (**Zia-Ul-Haq et al., 2014**). Cette plante prévient les maladies cardiovasculaires. Car, elle aide à renforcer la paroi des vaisseaux capillaires. En infusion, les règles abondantes et les saignements anodins. Par ailleurs, la ronce commune a été très utilisée contre le goitre. Elle est un bon anti oxydent, car elle contient de la vitamine C. la ronce commune est également antibactérienne et tonique, elle agit efficacement sur les muqueuses et réduit les saignements et les sécrétions. (**wehrlen, 1985**).

III.8. Propriétés pharmacologiques

La plante *Rubus fruticosus* est largement utilisée phytothérapie (Tableau 5), notamment pour ses propriétés biologiques .L'extrait aqueux de cette plante a des propriétés anti-inflammatoires in vitro supérieur à l'aspirine, en inhibant la hyaluronidase (**Marquina et al., 2002**). La Cyanidin-3-O-glucoside isolée de *Rubus fruticosus* supprime la production du NO en inhibant l'activation du NF-KB ou MAP kinase. Elle a aussi forte activité antioxydant et anticancéreuse. Elle inhibe la transformation tumorale en métastases et induit l'apoptose dans les cellules tumorales HL-60 (**Ayed et aysi, 2023**). En outre, *Rubus fruticosus* a montré un effet thypoglycémiant chezla souris dans le model de diabète induit par la streptozotocin e et l'alloxane .Cet effet est associé à l'inhibition de l' α glucosidase intestinale et l' α amylase pancréatique (**Zia-Ul-Haqetal., 2014**).

Tableau 6: Les propriétés thérapeutique de la ronce (**wehrlen, 1985**).

Feuille	Fruits	Bourgeon
<ul style="list-style-type: none"> - Astringent - Anti diarrhéique - Antibactérien - Protecteur capillaire - Vasoconstricteur - Cicatrisant - Hypoglycémiant - Anti-carcinogène - anti-inflammatoire - antimicrobiens - antivirales 	<ul style="list-style-type: none"> - antioxydant - relaxant des muscles lisses - antihelminthique -propriétés phytoestrogéniques 	<ul style="list-style-type: none"> - Activité antioxydant -et anti-inflammatoire - antitussif - émollient - antiseptique - contre les affections pulmonaires et pharyngo-laryngées

III.9. Chimie de la plante

Toutes les parties de la ronce possèdent une saveur astringente assez prononcée (Tableau4), due au tannin. Leur infusion précipite en noir les solutions de persels de fer. Elles sont très-riches en albumine. Les fruits renferment du sucre, de la pectine, de l'acide pectique, de l'acide malique. Dans les pays où ils sont abondants, on peut, en les écrasant et les laissant fermenter, obtenir une boisson assez agréable, qui, par distillation, donne de l'eau-de-vie, susceptible de servir à préparer des vinaigres. Le suc des fruits imparfaitement mûrs renferme une grande quantité d'acide citrique, qui permet de l'employer comme antiscorbutique (**Jean Louis de Lanessan, 1870**).

Composition des feuilles:

- Tanins hydrolysables (gallo tanins et ellagitanins, 8 à 14 %)
- Flavonoïdes et acides triterpéniques pentacycliques
- Acides organiques (acide citrique, acide isocitrique)

Tableau 7: Composition chimique de la partie aérienne de *Rubus fruticosus* (**Panizzi et al., 2001 ; Sisti et al., 2008 ; Chabane et al., 2014**)

Composition chimique de la partie aérienne
<ul style="list-style-type: none"> • Saponine
Composés phénoliques : <ul style="list-style-type: none"> • Tanins hydrosoluble (ellegitanins) • Tannins condensé (proanthocyanes) • Flavonoles : rutin, acide ellagique, kaempferol, • Quercétine
<ul style="list-style-type: none"> • Acide gallique
<ul style="list-style-type: none"> • Acide caféique
<ul style="list-style-type: none"> • Acide fellurique
<ul style="list-style-type: none"> • Acide coumarique
<ul style="list-style-type: none"> • Acide ellagique

III.10. Activités biologiques

En plus de leurs utilisations traditionnelles, *Rubus fruticosus* possède de nombreuses propriétés biologiques, parmi lesquelles on cite les plus importantes.

III.10.1. Activité anti diabétique

Rubus fruticosus a une activité antidiabétique. L'extrait à 70 % de ses feuilles à l'aide d'eau et de butanol s'est révélé actif pour le traitement et la prévention du diabète non insulino-dépendant (**Xu et al., 2006**). L'administration aiguë ou chronique de polyphénols chez des modèles animaux a montré des effets sur la glycémie : les polyphénols agissent par

différents mécanismes dont l'inhibition de l'absorption du glucose au niveau intestinal (**Dembinska-Kiec *et al.*, 2008**), ou encore son assimilation dans les tissus périphériques (inhibition de la gluconéogenèse, de la stimulation adrénérique, de l'absorption du glucose ou stimulation de la libération de l'insuline par les cellules β du pancréas) (**Scalbert *et al.*, 2005**).

III.10.2 .Autres activités de *Rubus fruticosus*

les feuilles et les bourgeons du mûrier sauvage ont servi à soigner plusieurs maladies : (**Milobević *et al.*, 2012**).

- L'hémoptysie, les hémorroïdes, les saignements et les hémorragies de toutes sortes.
- la dysenterie, les oliguries.
- Les maladies de la peau (dartres, acné, eczémas), les abcès et les furoncles.
- La décoction concentrée aide à soulager les aphtes et les gencives enflammées

IV.Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (**Boudjouref, 2011**). Ils sont caractérisés généralement par leurs faibles concentrations dans les tissus végétaux et qu'ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante (**Guignard, 1996 ; Newman et Cragg, 2012**). La production des métabolites secondaires est étroitement liée au métabolisme primaire, ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème) (**Peeking *et al.*, 1987**).

IV .1. Classification des métabolites secondaires

Nous pouvons classer les métabolites secondaires en trois groupes, chacune renferme une très grande diversité biologique (**Epifano *et al.*, 2007**)

- ❖ Les composés phénoliques
- ❖ Les terpenoïdes.
- ❖ Les alcaloïdes.

qui font l'objet d'une attention particulière de notre part.

IV .1 .1. Composés phénoliques

• Polyphénols

Les composés phénoliques ou polyphénols forment une grande famille de composés chimiques très divers depuis les simples acides des phénoliques jusqu'aux grands polymères complexes que sont par exemples, les tanins et la lignine. La structure de base est le phénol un cycle aromatique hydroxylé (**Hopkins, 2003**) (**Figure 5**)

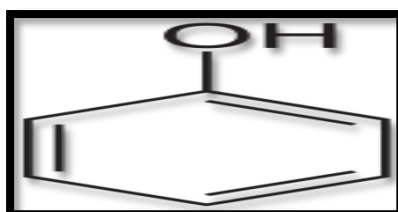


Figure 5:structure de noyau phenol (**Achat *et al.*, 2014**).

- Flavonoïdes

Le terme flavonoïdes désigne un groupe très large de composés naturels appartenant aux polyphénols, qui leur confèrent des propriétés thérapeutiques et cardioprotectrices grâce à leur activité antioxydante et anti-âge. Ils ont également des propriétés antibactériennes et anticancéreuses. Tous les flavonoïdes ont le même squelette à 15 carbones constitué de deux motifs aromatiques, anneaux C6 (A et B) reliés par une chaîne C3 (Salem, 2009).

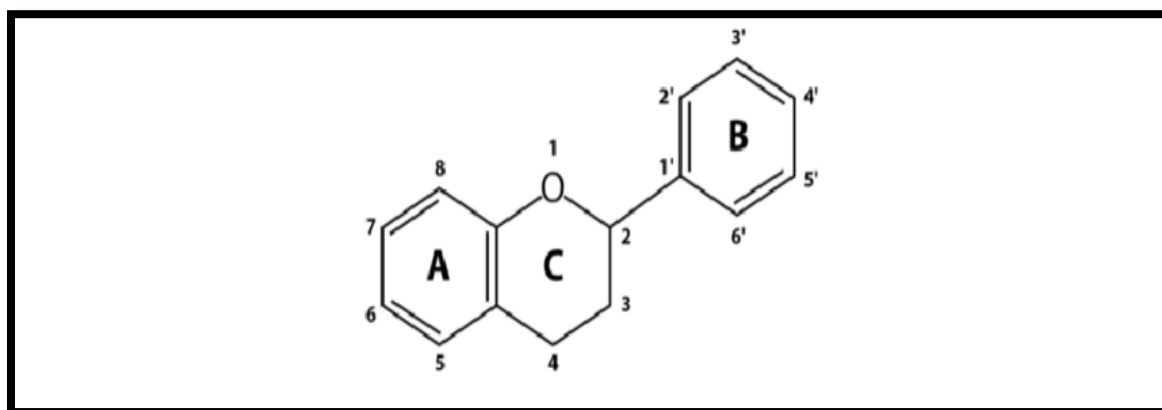


Figure 6: structure de base des flavonoïdes(Dacosta, 2003)

- Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (Kamra *et al.*, 2006). Ils peuvent former des complexes avec les protéines grâce à la présence de plusieurs groupements hydroxyles phénoliques. Ils sont présents dans plusieurs plantes fourragères avec des proportions différentes (Amlan *et Patra*, 2010) ; selon leur nature chimique, ces composés sont divisés en deux classes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Cowan, 1999).

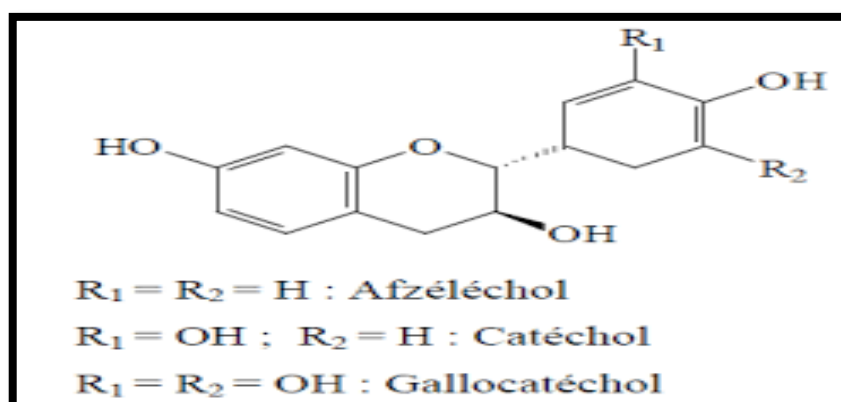


Figure 7: structure de quelques tanins (Kanoun, 2011)

Les tanins sont des inhibiteurs pour plusieurs microorganismes du rumen et spécialement, les protozoaires ciliés, la flore fibrolytique et les archaebactéries méthanogènes (Kamra *et al.*, 2006). Les tanins à faible poids moléculaire ont une activité

inhibitrice plus importante car ils sont capables de former des liaisons plus fortes avec les enzymes et les protéines en général, comparativement aux tanins à un poids moléculaires élevé. L'inclusion des différents types de fourrages riches en tanins montre une réduction de la production de méthane in vitro et in vivo, cependant, la digestibilité est susceptible d'être fortement diminuée si la concentration de ces composés dépasse les 5% dans la ration (Amlan et Patra, 2010).

- **Coumarines**

Elles font partie des composés phénoliques les plus connus. Elles sont substituées en C-7 par un hydroxyle (Figure08). La 7-hydroxycoumarine, connue sous le nom d'ombelliférone, est le précurseur des coumarines 6,7-di- et 6,7,8-trihydroxylées. Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (Igor, 2002).

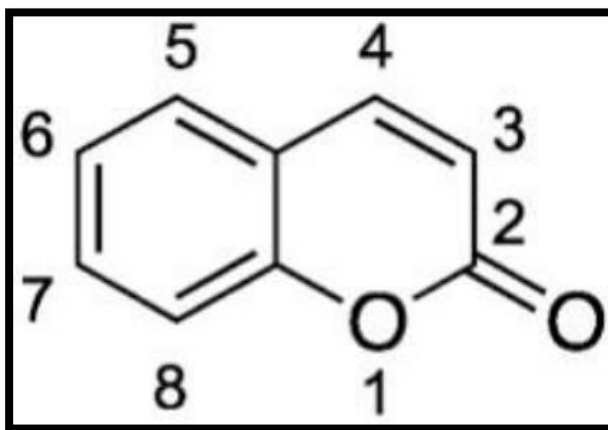


Figure8: structure de base des coumarines (Venugopala *et al.*, 2013).

- **Quinones**

Les quinones sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques et qui sont caractérisés par un motif 1,4-dicétocyclohexa-2,5-diénique (paraquinone) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicétocyclohexa-3,5-diénique (orthoquinone) (figure9). Elles sont issues de l'oxydation de phénols (Bruneton, 2010). Certains dérivés comme la plastoquinone et l'ubiquinone sont des transporteurs d'électrons. En plus de fournir une source de radicaux libres stables, les quinones sont connues pour complexer irréversiblement avec certains acides aminés, des protéines qu'elles inactivent ou rendent inutilisables. Ceci explique la variété d'effets antimicrobiens potentiels des quinones. Nombre d'entre elles sont anti-appétantes et toxiques (Gilbert et Norris, 1968).

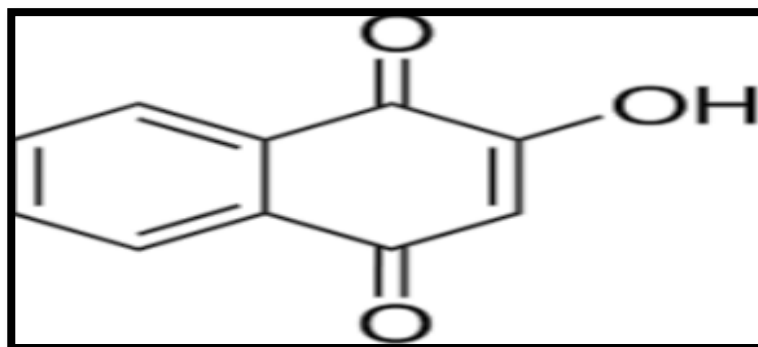


Figure9: Structure chimique des quinones (Boulberhane et Nabti, 2017).

- **Lignines**

Sont des macromolécules tridimensionnelles hydrophobes de haut poids moléculaire. Elles sont produites par toutes les plantes vasculaires ligneuses et herbacées. Elles ont un rôle très important au niveau de la paroi cellulaire végétale, dont le remplissage des espaces entre la cellulose et les hémicelluloses. Elles agissent aussi comme une résine qui unit l'ensemble de la lignocellulose (biomasse lignocellulosique). Ce composé phénolique est le troisième polymère naturel le plus abondant (Laine *et al.*, 2007)

Ce sont des molécules à noyau aromatique et caractère volatil donnant à la plante une odeur caractéristique ; on les trouve dans les organes sécréteurs. Elles jouent un rôle de protection des plantes contre excès de la lumière et attirent des insectes pollinisateurs. Elles sont utilisées pour soigner les maladies inflammatoires telles que les allergies, eczéma ; elles favorisent l'expulsion des gaz intestinaux (Boudjema, 2019).

IV .1 .2. Terpenoïdes

- **Stéroïdes**

Tout membre d'un groupe de substances organiques naturelles ou artificielles ayant une structure moléculaire de 17 atomes de carbone disposés en quatre cycles est connu sous le nom de **stéroïde**. En biologie, en chimie et en médecine, les stéroïdes sont fondamentaux. La famille des stéroïdes comprend toutes les hormones sexuelles des vertébrés, les hormones corticales surrénales, les acides biliaires et les stérols, ainsi que les hormones de la mue des insectes et divers autres composés physiologiquement actifs. Les différents types de stéroïdes sont souvent différenciés les uns des autres par des noms qui font référence à leur origine biologique, par exemple les phytostérols issus des plantes, ou à une fonction physiologique importante, telle que :

- Progestérone (favorisant la gestation)
- Androgènes (favorisant le développement de caractéristiques masculines)

- Stéroïdes cardiotoniques (facilitant le bon fonctionnement du cœur) (Clayton *et al.*, 2021).

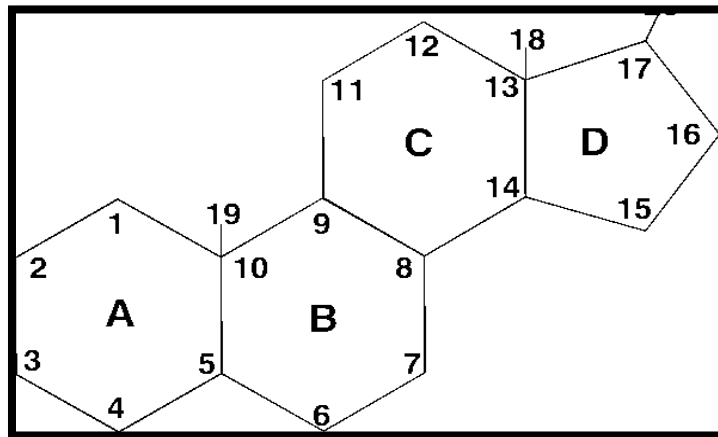


Figure10:structure de Stéroïde (Greavs *et al.*, 2014)

- **Phytostérols**

Ont une structure chimique similaire à celle du cholestérol et ne se trouvent que dans les aliments d'origine végétale tels que les légumes, les fruits, les graines et les huiles végétales. Ils sont catégorisés en deux types : les stérols et les stanols. Les stérols ont des cycles aromatiques insaturés, tandis que les stanols ont des cycles saturés. Ils peuvent agir dans l'intestin pour abaisser l'absorption du cholestérol en déplaçant le cholestérol des micelles intestinales. (Pizzorno, 2016).

- **Saponines**

Constituent les composants principaux de plusieurs médicaments à base de plantes. Elles se présentent sous deux types : stéroïdes et tri terpenoïdes. Ces substances ont une action hormonale, favorisent l'élimination du mucus et facilitent la digestion (Ozturk, 2018).

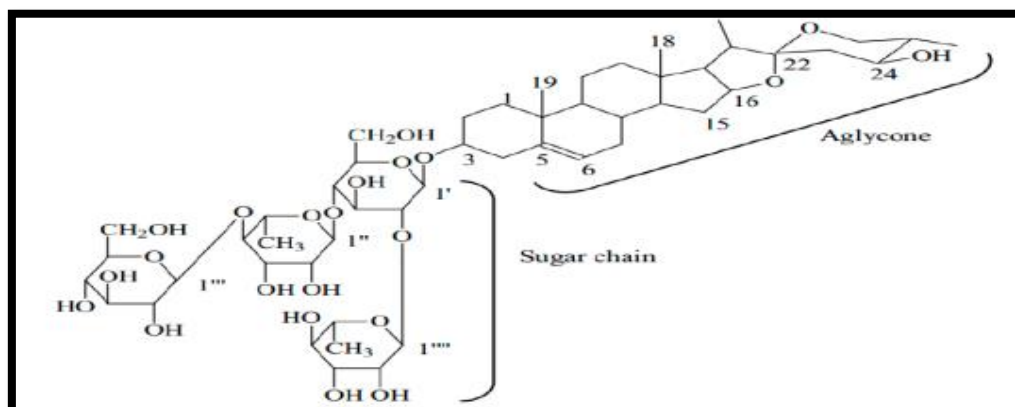


Figure 11:Structure d'une saponine (Moghimpour et Handali, 2015)

IV .1 .3. Alcaloïdes

Ce sont des substances servant principalement comme des précurseurs des acides aminés azotés tels que le tryptophane, l'ornithine, la phénylalanine, la tyrosine et l'histidine. Ainsi, ils sont des composés organiques à base d'azote, dont ils peuvent classer parmi les composants végétaux les plus efficaces et significatifs sur le plan thérapeutique, avec des propriétés pharmacologiques distinctes: analgésiques, antispasmodiques et bactéricides. Leurs activités pharmacologiques s'inscrivent dans divers domaines entre autre le système nerveux central où ils peuvent être utilisés comme dépresseurs (morphine et scopolamine) ou stimulants (strychnine et caféine) (Mebarkia et Ouadaoui, 2023).

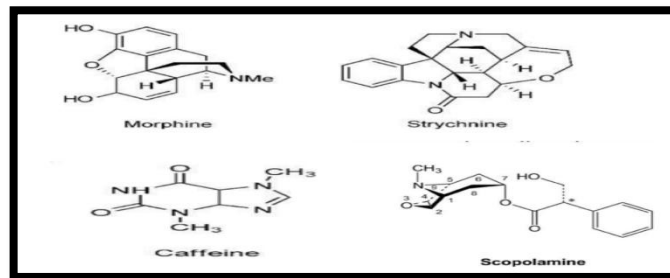


Figure 12: Structures chimiques de quelques Alcaloïdes: la morphine, strychnine, caféine et scopolamine (O'connor, 2010).

Etude
experimental

*Matériel et
méthodes*

La partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie de l'université Abbes Laghrour - Khenchela, au cours des mois d'Avril et Mai 2024

EXTRACTION METHANOLIQUE DE 02 PLANTES

(*Ephedra alata* et *Rubus fruticosus*)

Etude qualitative

- Screening phytochimique

Etude quantitative

- Dosage des polyphénols totaux
- Dosage des flavonoïdes

Etude biologique

- Evaluation de l'activité antioxydante
- Evaluation de l'activité antibactérienne
- Evaluation de l'activité anti inflammatoire

I. Matériels

I.1. Matériel végétal

✚ **Première plante ; (*Ephedra alata*).** Elle a été récoltée sur 1 site:

Site: commune d'Oualdja, Wilaya de Khenchela, Algérie, le 15 février 2024. Elle a été séchée à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité afin d'éviter la dégradation des principes actifs et le développement de moisissures.

Après séchage, la plante est broyée et conservée soigneusement dans un endroit sec et à l'abri de la lumière pour éviter la décomposition.



Figure 13: Wilaya de Khenchela (Site 1)

✚ **Deuxième plante ; (*Rubus fruticosus*).** Elle a été récoltée sur 1 site

Site: commune de Yabous, Wilaya de Khenchela, Algérie, le 20 février 2024. Elle a été séchée à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité afin d'éviter la dégradation des principes actifs et le développement de moisissures.

Après séchage, la plante est broyée et conservée soigneusement dans un endroit sec et à l'abri de la lumière pour éviter la décomposition.

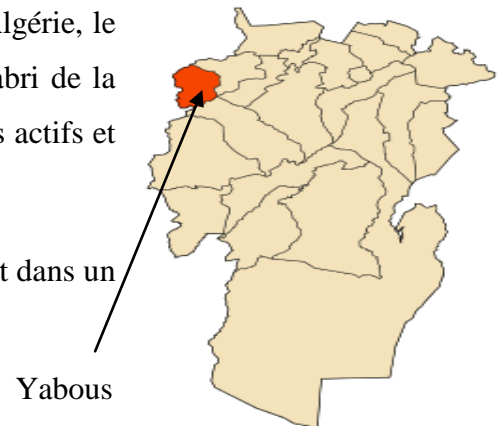


Figure 14: Wilaya de kenchela (Site 4)



Figure 15: *Rubus fruticosus* séchée (Photo personnelle)

I. 2. Matériels et produits

a) Matériels et appareillages

- Rota vapeur - Etuve - Balance
- Bécher - Erlenmeyer - Epruvettes graduées - Cristalliseur – Entonnoir
- Pissette - Spatule - Papier filtre - Agitateur magnétique

b) Solvants utilisés

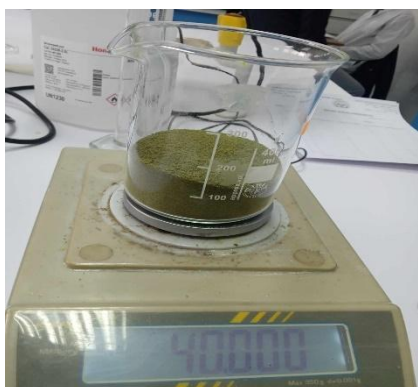
- Méthanol
- Eau distillée

II. Méthodes

Préparation de l'extrait méthanolique : L'extrait méthanolique est préparé à partir des poudres végétales des deux plantes étudiées.

Une quantité de 40 g de poudre végétale est mélangée avec 200 ml d'une solution hydro-alcoolique (méthanol 160 ml / eau distillée 40 ml) dans un bécher avec un barreau magnétique. La préparation a été couverte par un para film et le bécher entier par un papier d'aluminium placé sur l'agitateur magnétique pendant 24 heures.

II.1 .Préparation de l'extrait méthanolique



40 g de la Matière végétale



Méthanol/eau distillée



Agitation pendant 24h



Filtration par papier filtre



Évaporation dans un évaporateur rotatif sous pression réduite à 40 °C



Séchage dans l'étuve à 50 °C

Figure 16:Etapes de la préparation des 02 extraits.

II. 2. Rendement de l'extraction

Le rendement des extraits est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la plante en poudre utilisée. Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$R(\%) = (P1/P2) \times 100$$

P1 : poids de l'extrait

P2 : poids de la matière végétale

II.3. Etude qualitative : Screening phytochimique

Le criblage phytochimique qualitatif des extraits a été réalisé pour identifier les principaux groupes de constituants chimiques (flavonoïdes, saponines, tanins, quinones libres, coumarines, etc..., présents dans les extraits à l'aide des réactions de coloration, de précipitation et des observations sous lumière ultra-violette. Ces tests ont été réalisés selon les techniques décrites par : **Harborne (1998)** et **Bruneton (1999)**. Chacun des tests a été appliqué aux 02 extraits (*Ephedra alata*, *Rubus fruticosus*) et a été répété trois fois pour vérifier l'exactitude des résultats.

- **Flavonoïdes (test de Shinoda)**

Dans un bécher, macérer 10 g de poudre sèche dans 150 ml de HCl à 1 %, le bécher est recouvert de para film et enveloppé par une feuille d'aluminium et laissé pendant 24 heures sur un agitateur magnétique. Le mélange est filtré et poursuivi avec le test suivant : prélever 10 ml du filtrat, le rendre basique par l'ajout des gouttes de NH₄OH à 10 %. L'obtention d'un anneau confirme la présence des flavonoïdes.

- **Saponosides :**

Test de mousse : Dans un tube à essai, ajuster le volume de 10 ml d'extrait et agiter le tube longitudinalement pendant 15 secondes. Laisser reposer 15 minutes, la hauteur de mousse constante résultante indique la présence de saponines, puis on mesure la hauteur de mousse produite dans le tube.

- **Tanins**

Dans un tube à essai, placer 2 ml de l'extrait et ajouter 0,5 ml d'une solution aqueuse à 1% de chlorure ferrique (FeCl₃). L'apparition d'une couleur vert-foncé ou bleu-noirâtre indique la présence de tanins.

- **Quinones libres**

Dans un tube à essai, ajouter 0,5 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) dilué à 1%, à 5 ml d'extrait. L'apparition d'une couleur jaune, rouge ou violette indique la présence des quinones libres.

- **Stérols et triterpènes**

Test de Liebermann-Burchard : Dans un tube à essai, introduire 5 ml de l'extrait et ajouter 0,5 ml d'anhydride acétique et 0,5 ml d'acide sulfurique. Laisser-le dans la période d'incubation pendant 15 minutes. Si la couleur apparaît violette ou verte, cela indique que le test est positif.

- **Composés réducteurs**

Introduire 1 ml d'extrait dans un tube à essai, ajouter 2 ml de liqueur de Fehling (1 ml de la solution A et 1 ml de la solution B) et incuber dans un bain-marie bouillant pendant 8 minutes. Une précipitation rouge brique indique un test positif.

- **Anthraquinones**

Pour détecter la présence d'anthraquinones, mélanger 5 ml de l'extrait avec 5 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH dilué à 10%). Une couleur violette après agitation indique un résultat de test positif.

- **Alcaloïdes**

Des tests de détermination des alcaloïdes par des réactions de précipitation en présence de réactifs alcaloïdes ont été réalisés (Meyer et Wagner). Dans un bécher, des gouttes d'acide chlorhydrique dilué à 1% ont été ajoutées à 1 ml d'extrait, puis la solution a été divisée en deux parties égales dans deux tubes, en ajoutant 0,5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube, et 0,5 ml de réactif de Wagner dans le deuxième tube, un précipité blanc/brun s'est formé, indiquant la présence d'alcaloïdes .

- **Coumarines : Fluorescence UV**

Préparer deux tubes à essai, dans le premier on introduit 0,5 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) dilué à 10 % avec 1 ml de l'extrait, et dans le deuxième on prépare un extrait non traité au NH₄OH pour servir de témoin. Après dépôt d'une goutte sur un papier filtre, l'apparition d'une fluorescence intense sous lumière ultraviolette (366 nm) indique la présence de coumarines.

- **Terpénoïdes : Test de Salkowski**

2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré sont ajoutés à 5 ml d'extrait. La formation de deux phases et l'apparition d'une couleur brune dans l'interphase indique la présence de terpénoïdes.

II.4. Etude quantitative

II.4.1. Dosage des polyphénols totaux

A. Principe

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation, en milieu basique des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu, complexe de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et l'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Il voit ses propriétés colorimétriques modifiées lorsqu'il est complexé à certaines molécules. Il réagit avec la fonction $-OH$ des phénols (Catalano et al., 1999). Ceci entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène (W_8O_{23}) de couleur bleu qui absorbe à 760 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Ribéreau-Gayon, 1968).

B. Protocole

Le dosage des polyphénols totaux dans les deux extraits (EMEA, EERF) est effectué par la méthode de Folin Ciocalteu. Un volume de 50 μ L des solutions des extraits des différentes concentrations est ajouté à 5 ml du réactif Folin-Ciocalteu, dilué dans l'eau à 10 %, sont ajoutés. Après 5 minutes, on ajoute 4 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 2 % (favoriser un milieu alcalin pour déclencher la réaction d'oxydoréduction). Les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 1 heure à température ambiante. La lecture de l'absorbance de chaque solution est effectuée à une longueur d'onde de 765 nm contre un blanc constitué 1ml d'eau distillée de 5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu et 4 ml de Na_2CO_3 .

C. Expression des résultats

Le contenu phénolique total des extraits est calculé à partir de courbe étalon de l'acide gallique, réalisée dans les mêmes conditions d'analyses. Les teneurs en polyphénols totaux dans les extraits sont exprimées en milligramme (mg) équivalent acide gallique par gramme (g) du poids de la matière sèche (mg EAG/ g MS). Tous les dosages ont été répétés trois fois.

II.4.2. Dosage des flavonoïdes

Ce technique spectre photométrique basé sur la formation de complexes d'aluminium est l'une des techniques les plus utilisées pour la détermination des flavonoïdes totaux. Ceci est dû à la simplicité, rapidité, la reproductibilité et la rentabilité de la technique.

Le dosage des flavonoïdes par l' $AlCl_3$ est une technique comme toutes les techniques de dosages colorimétriques, qui ont pour but de déterminer la concentration d'une espèce colorée à partir d'une courbe d'étalonnage en utilisant la loi de B er-Lambert (Messast, 2021).

Soit : $A = \epsilon lc$

❖ A : Absorbance.

- ❖ ϵ : Coefficient d'absorption molaire en $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$.
- ❖ l : Largeur de cuve en cm.
- ❖ c : Concentration de la solution en mol/L.

La quercétine est considérée comme un témoin positif qui a permis d'obtenir la courbe d'étalonnage, par laquelle la teneur en flavonoïdes de différents extraits a été calculée. Le résultat est exprimé en microgrammes, équivalent de la quercétine par milligrammes d'extrait (EMEA, EMRF).

A. Principe

Le principe de cette méthode est basé sur la formation de complexes de couleur jaune entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Ceci se traduit par le fait que le métal perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons. La couleur jaune présente une absorption maximale à 448 nm (Zine et Amour, 2021).

B. Protocole

Le protocole de dosage est présenté dans la (figure 17)

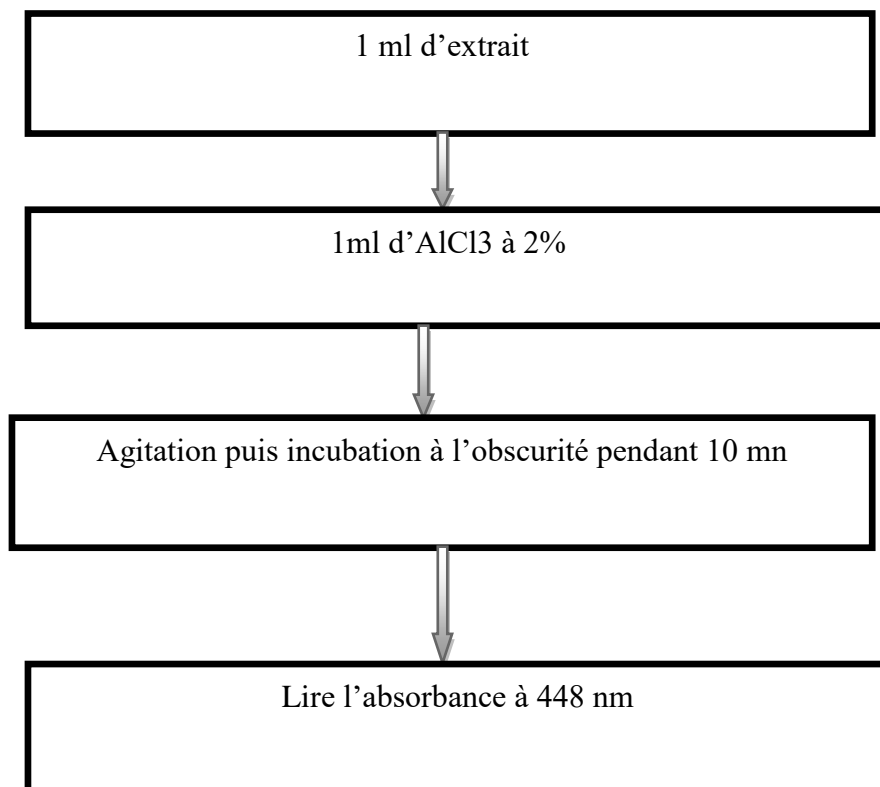


Figure 17: Mode opératoire de dosage des flavonoïdes (Dejdanne et al., 2006).

c. Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) réalisée par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$).

II.5. Evaluation de l'activité anti oxydante (Test de piégeage du radical libre DPPH)

A. Principe

Le test DPPH a été largement utilisé pour évaluer l'efficacité de piégeage des radicaux libres de diverses substances antioxydants (**Knežević *et al.*, 2011**). Cette méthode est basée sur la capacité des antioxydants à réduire le radical libre 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl, soit par un mécanisme de libération d'un atome d'hydrogène du groupement hydroxyle, soit par libération d'un électron. Le radical a un maximum d'absorption mesurable par spectrophotométrie à 515 nm et sa neutralisation par un antioxydant peut-être facilement suivie par spectrophotométrie UV/vis (**Afonso *et al.*, 2016**).

L'avantage de cette méthode est que le radical libre de DPPH peut rester lentement en contact avec la totalité de l'échantillon pendant suffisamment de temps, lui permettant ainsi de réagir même avec des antioxydants faibles (**Prakash, 2001**).

La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH. Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité anti oxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence (**Popovici *et al.*, 2009**).

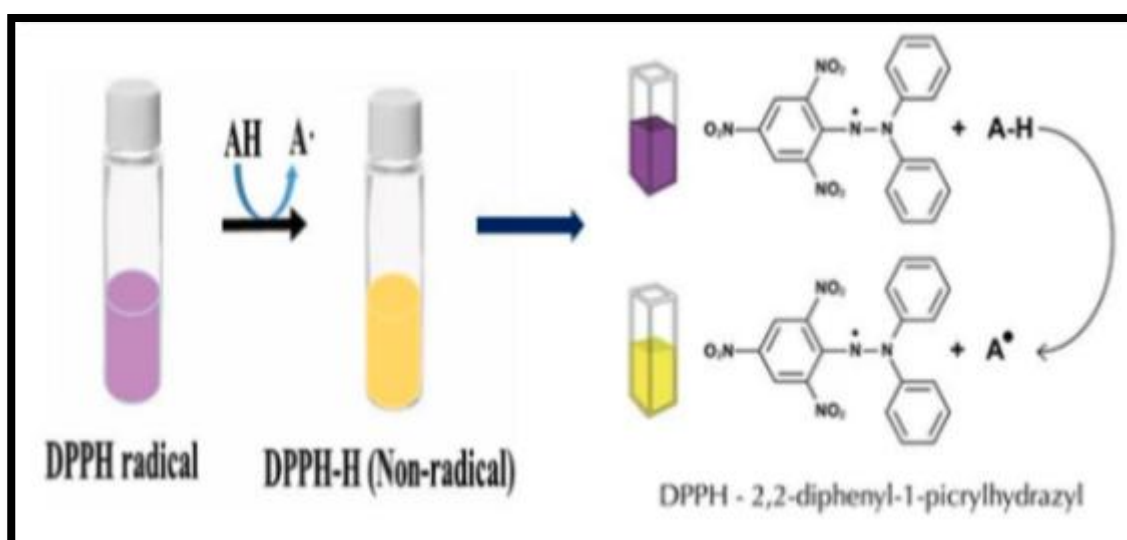


figure 18:Forme libre et réduite du DPPH (**Cesbron, 2020**).

B. Protocole

L'activité anti radicalaire des différents extraits a été déterminée selon la méthode de (Sánchez-Moreno, 2002). Pratiquement, une solution de DPPH à 0.006 g est fraîchement préparée dans 250 ml de méthanol. Un volume de 50 µL des solutions des extraits et de l'antioxydant de référence à différentes concentrations, est ajouté à 950 µL de DPPH .

Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 mn et la décoloration par rapport au contrôle contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 515 nm contre un blanc de méthanol. Le contrôle négatif contient tous les réactifs à l'exception de l'extrait à tester qui est remplacés par un volume égal de méthanol. La solution de l'antioxydant de référence (acide ascorbique) représente le témoin positif.

Le pourcentage de l'activité anti radicalaire, exprimé en pourcentages d'inhibition est estimé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ PI} = (\text{Abs Contrôle} - \text{Abs Extrait}) / \text{Abs Contrôle} \times 100\%$$

% PI : Pourcentage d'inhibition.

Abs Contrôle : Absorbance du contrôle négatif.

Abs Extrait : Absorbance de l'extrait.

Mesure absolue de la capacité anti oxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence (Popovici et al., 2009).

II.6. Evaluation de l'activité antibactérienne

a. Souches testées

Les souches bactériennes utilisées pour déceler l'activité antibactérienne de différents extraits de l'éphédra il s'agit de(Tableau) 8 :

Tableau 9:Souches bactériennes utilisées.

Souche	Gram	La référence
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	ATCC 27853
<i>Escherichia coli</i>	-	ATCC 25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	ATCC 25923
<i>Bacillus cereus</i>	+	ATCC 11778

Ces souches de collection internationale ATCC (American type culture collection), proviennent du laboratoire de bactériologie «Grande clinique Mezdaouet, Khenchela».

❖ Matériels et produits

a) Matériels et appareillages

- ✓ Incubateur - Autoclave - Bain Marie
- ✓ Plaque chauffante - Bec benzène -Vortex – Balance
- ✓ Boites de pétri- tubes à essais - micropipette
- ✓ Anse de platine - écouvillon stérile -Disque (papier filtre) - Pince stérile

b) Produits Chimiques

- ✓ Miller Hinton
- ✓ Gélose nutritive
- ✓ Eau physiologique

❖ Mode opératoire

Dans cette partie, nous recherchons des composés antibactériens synthétisés par les plantes médicinales *Ephedra alata alenda* et *Rubus fruticosus* connue pour sa propriété thérapeutique. Nous avons utilisé la technique de diffusion en milieux gélosés sur boîtes de pétri en adaptant la méthode de disques décrite par **Bauer et al. (1966)**.

❖ Méthode d'évaluation (méthodes des disques)

L'étude du pouvoir antibactérien d'EMEA et EMRF par cette méthode est identique à celui de l'antibiogramme. L'antibiogramme bactérien est réalisé par diffusion en milieu gélosé, aussi appelée méthode du disque, son principe est d'inspiration antibiotique dans le but d'évaluer l'activité antibactérienne par diffusion de l'extrait dans le milieu solide (création d'un gradient de concentration entre le composé et le micro-organisme cible dans une boîte de pétri stérile).

A. Préparation pré culture

➤ Milieux de culture

Les milieux de culture (cités en Annexe) utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens sont les suivants :

- Gélose nutritive pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes.
- Gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries.

➤ Stérilisation des matériels

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

B. Préparation de la suspension des souches de référence

On prépare des boîtes de Pétri qui contiennent de la gélose nutritive pour la culture des quatre souches microbiennes (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) et on les incube à 37° C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum. On sélectionne 3 à 4 colonies qui se ressemblent et on les isole bien à l'aide d'un anneau platine et elles sont placées dans des tubes contenant 9 ml de l'eau physiologique stérile et mélangés au Vortex jusqu'à ce que la solution devienne homogène, sa turbidité est ajustée à 0,5 Mc Ferland pour chaque microorganisme.

C. Ensemencement

Le procédé de l'ensemencement est réalisé en milieu stérile, les étapes sont résumées comme suit (**Figure 19**).

- Couler environ 20 ml à 25 ml de la gélose Muller-Hinton dans chaque boîte de pétri, à une épaisseur de 4 mm par boîte, et laisser solidifier.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, l'essorer en le pressant fermement 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, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de pétri 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.



Figure 19:Photos du procédé de l'ensemencement(Photo personnelle).

C. Application des disques

L'opération d'application des disques au niveau de boîtes de Pétri est résumée dans les étapes suivant (Figure 20):

- Des disques de papier filtre de diamètre 6 mm sont imprégnés de l'ordre de 15 μ l d'extraits (EMEA, EMRF) à deux différentes concentrations (200 mg et 300 mg) repris dans 1ml le diméthylsulfoxyde (DMSO).
- Préparer les disques de contrôle négatif imprégnés de diméthylsulfoxyde (DMSO).
- Les disques imprégnés de nos extraits sont ensuite délicatement déposés à la surface de la gélose à l'aide de pincettes stériles. Il en est de même pour les disques du contrôle.



Figure 50: Photos d'application des disques au niveau de boîtes de Pétrie (**Photo personnelle**).

L

D. Lecture

Les diamètres des zones d'inhibition (ZI) ont été mesurés autour des disques après une pré-incubation de 30 minutes à la température ambiante suivie d'une incubation à l'étuve à 37°C pendant 24. Les expériences ont été réalisées en trois répétitions. Le diamètre est mesuré en incluant le diamètre du disque à l'aide d'une règle (Figure 6).

La souche ayant une zone d'inhibition de diamètre.

$D < 8\text{mm}$, (non sensible) (-), (Résistante)

$9 \leq D \leq 14\text{mm}$, sensible (+),

$15 \leq D \leq 19\text{mm}$, très sensible (++) ,

$D > 20\text{mm}$ extrêmement sensibles (+++)

Etude statistique : Toutes les expériences ont été faites en triple. Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm Ecart-type.



Figure 21: Mesure de diamètres des zones d'inhibition par Pied à coulisse (Photo personnelle).

II.7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.

La dénaturation des protéines, dans lequel les protéines perdent leur structure, est l'une des causes de l'inflammation et conduit à divers maladies inflammatoires. Par conséquent, la capacité d'une substance inhiber la dénaturation des protéines signifie un potentiel apparent de l'activité anti inflammatoire (**Habibur et al., 2015; Osman et al., 2016**). L'effet inhibiteur in- vitro de extraits de les plantes de *Ephedra alata alenda* et *Rubus fruticosus* a été déterminé en utilisant une méthode de dénaturation protéique décrite par (**Habibur et al., 2012**) avec certaines modifications, l'activité a été effectuée avec différents dilutions des extraits aqueux et méthanolique et le Diclofénac de sodium utilisé comme standard (Figure7) .

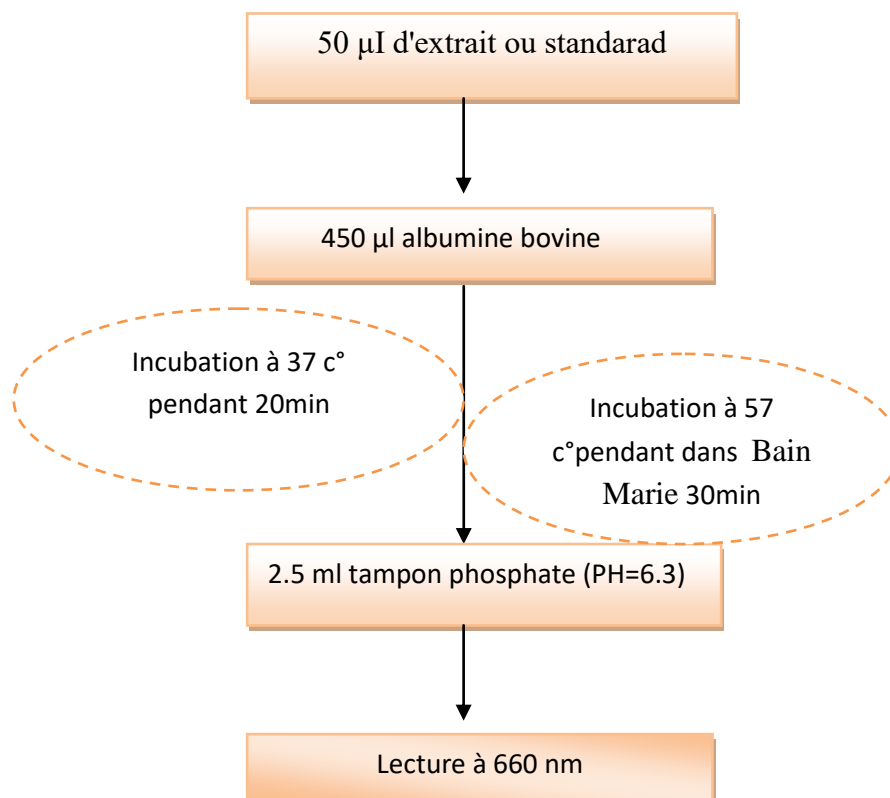


Figure22:Protocole d'inhibition de la dénaturation de l'albumine (**Habibur *et al.*, 2012**).

$$\text{Pourcentage d'inhibition \%} = \frac{\text{Abs C} - \text{Abs T}}{\text{Abs C}} \times 100$$

Abs C : absorbance de contrôle. Abs C

Abs T : absorbance de test.

*Résultats et
Discussion*

RESULTATS EXPERIMENTAUX

I. Rendement de l'extraction

L'extraits méthanolique a été préparés à partir de la poudre végétale des feuilles des deux plantes : *Ephedra alata alenda* et *Rubus fruticosus*. Après 24 heures de macération, le rendement le tableau N°6 et la figure N°23 :

Tableau 10: Rendement des deux extraits EMEA et EMRF.

La plante	Aspect	poids d'extrait en (g)	rendement en (%)	Couleur
<i>Ephedra alata</i>	Pâteux	4.8	12	Vert foncée
<i>Rubus fruticosus</i>	Solide	4.4	11	Marron

Les rendements représentés dans le tableau (6) sont illustré sous forme d'un histogramme permettant de faire une comparaison entre les rendements des différents plants.

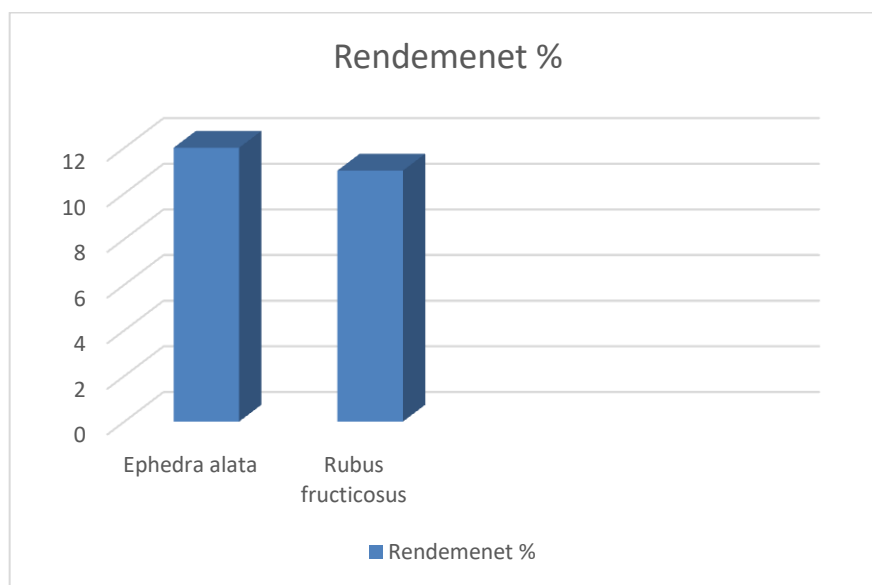


Figure23:Rendements des extraits de EMEA-EMRF.

Ephedra alata récoltée de la région de Chechar a donnée un rendement de 37.6(%) par contre notre plante récoltée de la région Oualdja a donnée de 12(%).

Rubus fruticosus récoltée de la région d'El Khroub Constantine a donnée un rendement de 20 (%) par contre notre plante de la région Yabous a donnée 11(%).




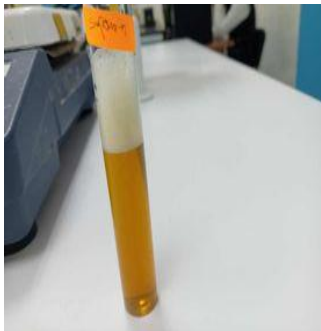


Ces rendements peuvent varier selon plusieurs critères, en fonction de l'espèce végétale utilisée, la région et la période de récolte et les conditions de séchage, le contenu de chaque

espèce en métabolites et aussi selon la polarité de solvant et la solubilité des composés phénoliques contenant dans ce solvant (Daoudi *et al.*, 2015).

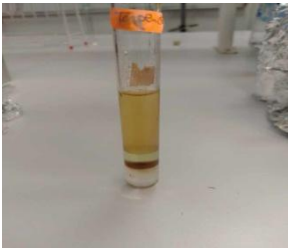



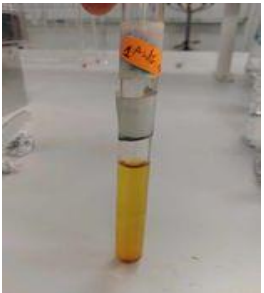


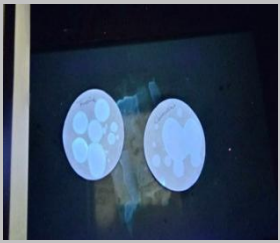
II. Résultats de screening phytochimique

L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique de plante sélectionnée pour cette étude a permis de mettre en évidence la présence de quelques constituants chimiques. Les résultats de l'analyse phytochimique des deux plantes étudiés sont présentés dans le (tableau7).

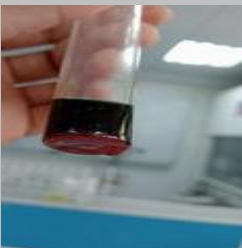

Tableau 11: Mise en évidence de la présence ou l'absence de certaines classes de métabolites secondaires dans l'espèce *Ephedra.alata* et *Rubus fruticosus*





Métabolites secondaires	Résultat de <i>Ephedra</i>	Observation de <i>Ephedra</i>	Résultat de <i>Rubus fruticosus</i>	Observation de <i>Rubus fruticosus</i>
Flavonoïdes	+++	 Apparition d'un anneau jaune	+++	 Apparition d'un anneau jaune
Saponosides	+	 La formation d'une mousse	+++	 La formation d'une mousse
Tanins	+	 Apparition d'une	+++	 Apparition d'une couleur

Résultats et Discussion

		couleur vert foncé		vert foncé
Terpénoïdes	-	 <p>Absence de formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase</p>	+++	 <p>Apparition d'une couleur brune</p>
Quinones	+	 <p>L'apparition d'une couleur qui vire au jaune</p>	+	 <p>L'apparition d'une couleur qui vire au jaune</p>
Anthraquinones	-	 <p>L'absence d'une color rouge ou rose</p>	+	 <p>Coloration rouge ou rose</p>
Coumarines	-	 <p>L'absence d'une Fluorescence</p>	+	 <p>Fluorescence intense</p>

Résultats et Discussion

Composés réducteur	+++	 <p>Formation d'un précipité rouge brique</p>	+++	 <p>Formation d'un précipité rouge brique</p>
--------------------	-----	--	-----	--

Alcaloïdes	+++	 <p><u>Réactif de Wagner</u> : La formation d'un précipité brun</p> <p><u>Réactif de Mayar</u> : formation d'un précipité blanc</p>	+++	 <p><u>Réactif de Wagner</u> : formation d'un précipité brun</p> <p><u>Réactif de Mayar</u> : formation d'un précipité blanc</p>
Stérols et triterpènes	-	 <p>Absence de la couleur violette ou verte</p>	+++	 <p>précipité de la couleur violette ou verte</p>

Discussion

Selon les résultats de screening phytochimique, l'espèce *Ephedra* de la région Oualdja (Khenchela) est riche en métabolites secondaires, cette abondance en principe actif confère à la plante de propriétés pharmacologiques remarquables (**konkon et al., 2006**). Les résultats que nous avons obtenus étaient meilleurs que ceux qu'a obtenu **Mebarkia et al., (2019)** réalisés sur la même espèce qui pousse à Khenchela.

Nos résultats indiquent la présence de tanin, quinones, sucres réducteurs, flavonoïdes, composés phénoliques, alcaloïdes, stérols et triterpènes et saponosidalors ; par contre **Mebarkia., et al (2019)** ont trouvée les mêmes résultats, avec, toutefois, absence de saponines et des stérols.

Selon les résultats du screening phytochimique, l'espèce *Rubus fruticosus* de la région Yabous khenchlea est riche en métabolites secondaires, cette abondance en principes actifs confère à la plante de propriétés pharmacologiques remarquables (**konkon et al., 2006**), ces résultats sont en accord avec ceux (**Rahmani et al., 2020**) réalisés sur la même espèce qui pousse à El Khroub.

Notre étude expérimentale sur les feuilles de mûrier séchées a montré des tests positifs pour le tanin, la coumarine, le saponoside, les alcaloïdes, les stérols, les flavonoïdes triterpènes, les terpanoïdes ; les composés Anthraquinone, réducteurs et la quinine, qui ont été comparés à une étude précédente effectuée par **Rahmani et al.,(2020)** qui avait elle-même constaté la présence des flavonoïdes et des tanins.

Le screening phytochimique des deux plantes : *Ephedra alata (Alanda)* et *Rubus fruticosus* présentent une richesse en métabolismes secondaires analysée par dosage.

III. Résultats de l'étude quantitative

III.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux des différents extraits des deux plantes (**EMEA, EMRF**) a été estimée par des dosages spectres photométriques, en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. La raison principale pour le choix des polyphénols totaux réside dans leurs propriétés anti oxydantes plus importantes (**Bakhtaoui, 2019**), ainsi qu'à leur large utilisation en phytothérapie (**Hennebelle et al., 2004**). L'analyse quantitative des polyphénols totaux est déterminée à partir d'équation de la régression linéaire ($y=0,0185x+ 0.5018$) et le coefficient de corrélation ($R^2 = 0,992$) de courbe d'étalonnage exprimée en μg équivalent acide gallique par mg d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$) (Figure24); les résultats sont illustrés dans le tableau 8.

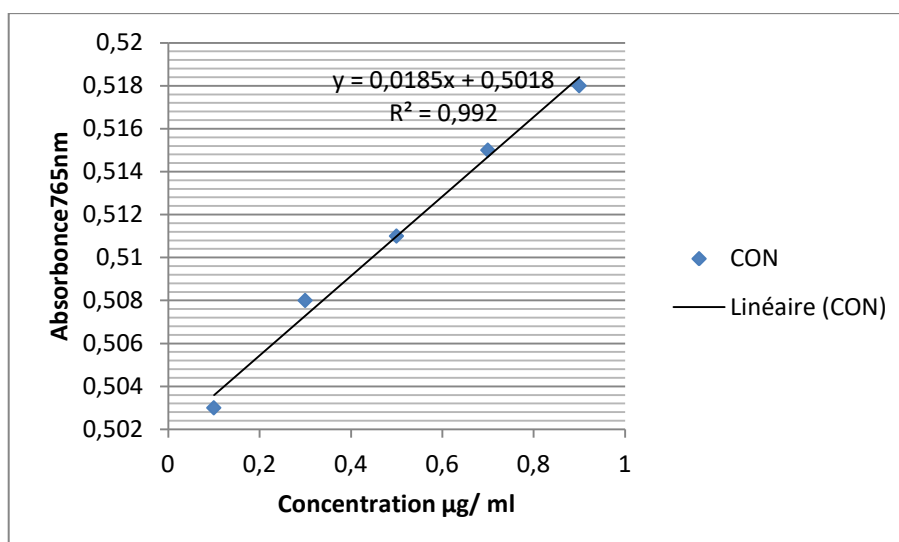


Figure 8: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Tableau 12: Teneur en polyphénols dans les deux plantes (EMEA, EMRF)

Extraits (mg/ml)	Polyphénols totaux (µgEAG/mg d'extrait)
EMEA	0,710 ± 0.054
EMRF	0,745 ± 0.002

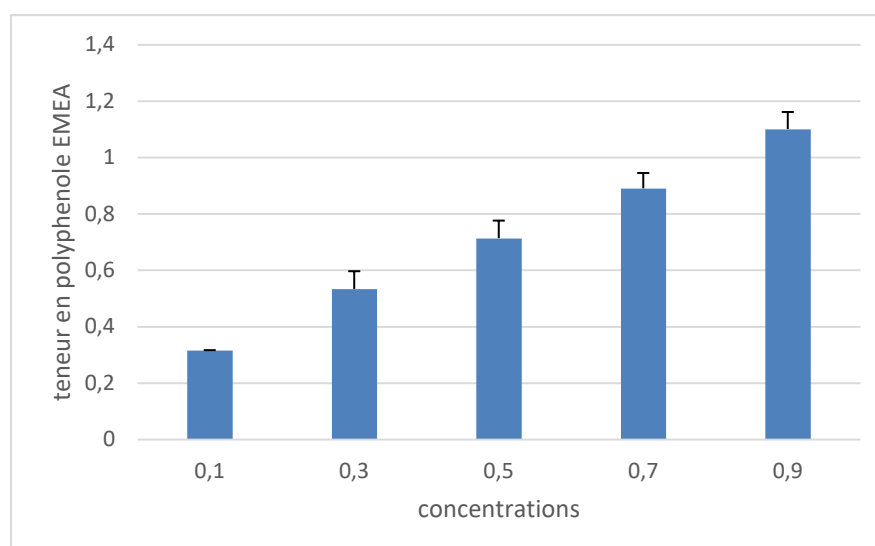


Figure 9: Teneur en polyphénols totaux EMEA (µgEAG/mg)

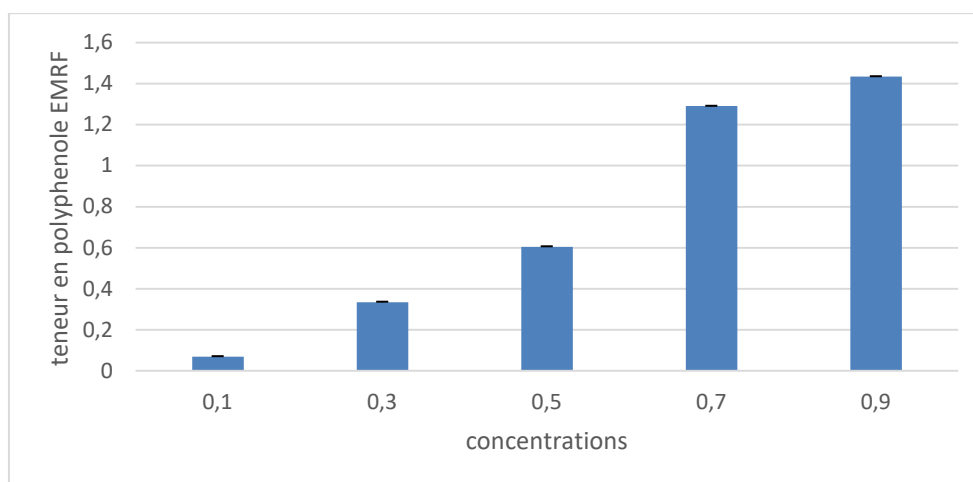


Figure 26: Teneur en polyphénols totaux EMRF ($\mu\text{gEAG/mg}$)

D'après les résultats présentés dans les figures 26 et 25 et dans le tableau 8, nous pouvons constater que l'extrait méthanolique *du Rubus fruticosus* possède une plus haute teneur en polyphénols que l'extrait méthanolique *d'Ephédra alata* avec un taux de $0,710 \pm 0,054 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait d'EMEA et $0,745 \pm 0,002 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait d'EMRF en polyphénols.

Le résultat du dosage des polyphénols dans notre étude des deux extraits (EMEA, EMRF) des deux plantes: *Ephédra alata* et *Rubus fruticosus* montrent que l'extrait méthanolique *d'Ephédra alata* possède un taux de $0,710 \pm 0,054 \mu\text{g EAG/mg}$ d'EMRF, inférieur par rapport d'autres études rapportées par (**Mebarkia et al ., 2019**), avec un taux de $50,18 \pm 3, \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait d'EMEA en polyphénols ; par contre, la teneur en polyphénols dans l'extrait méthanolique de *Rubus fruticosus* est de $0,745 \pm 0,002 \mu\text{g EAG /mg EMRF}$, inférieure aux résultats de **Marhoune et al ., (2017)** qui ont trouvé $268,529 \pm 0,021(\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait.

De nombreux chercheurs confirment que les variations obtenues sur les composés phénoliques totaux sont attribuées au procédé d'extraction et aux facteurs géographiques et climatiques, ainsi que de la nature de solvant d'extraction utilisé. De même, d'autres chercheurs justifient les variations dans les contenus de ces métabolites secondaires à la différence observée sur la polarité des solvants (**Boudjenah et Merzouge, 2015**).

III.2. Dosage des flavonoïdes

L'EMEA, l'EMRF ont été étudiés quantitativement par spectrophotométrie, et la teneur totale en flavonoïdes a été déterminée par la méthode du trichlorure d'aluminium. Une courbe

d'étalonnage a été tracée pour cette cible (Figure 27) établie avec différentes concentrations de quercétine. Les mesures de densité optique de chaque extrait ont été effectuées à 448 nm. Les quantités de flavonoïdes correspondants sont rapportées en équivalents de quercétine par milligramme de la matière végétale sèche ($\mu\text{g EQ /mg E}$) et déterminés par l'équation de type ($y=0.0394x+ 0.0778$) et le coefficient de corrélation ($R^2=0.96$). Les résultats sont illustrés dans le tableau 9 et la figure 27.

Tableaux 13: Teneur en flavonoïdes dans les deux plantes (EMEA, EMRF).

Extraits (mg/ml)	Flavonoïdes totaux ($\mu\text{g EQ/ml d'extrait}$)
EMEA	$7,655 \pm 0.226$
EMRF	$5,364 \pm 0,299$

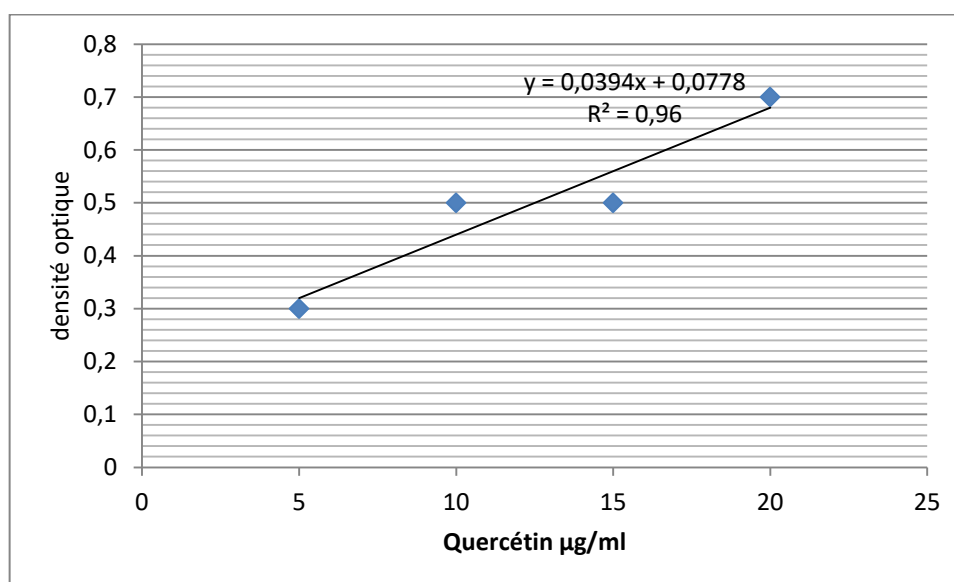


Figure 27: Courbe d'étalonnage de la quercétine

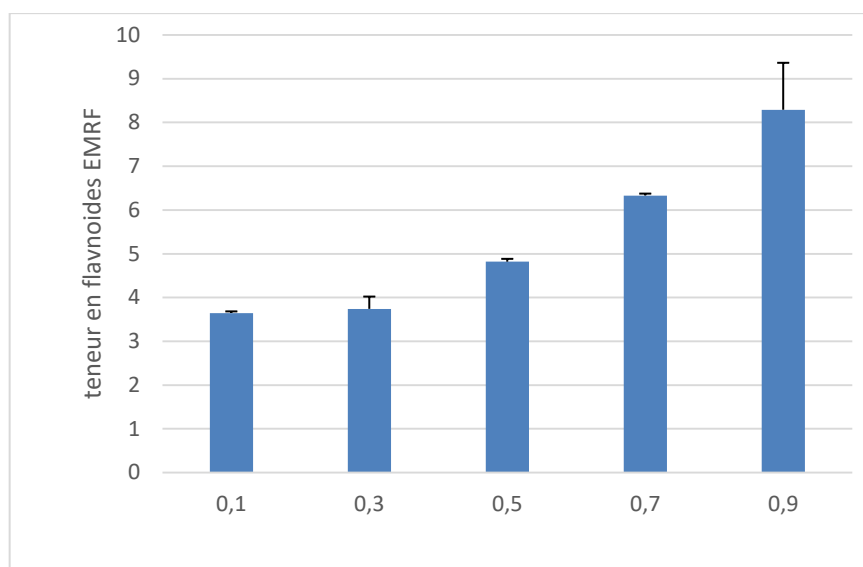


Figure 28: Teneur en flavonoïdes totaux EMRF ($\mu\text{g EQ/mg E}$)

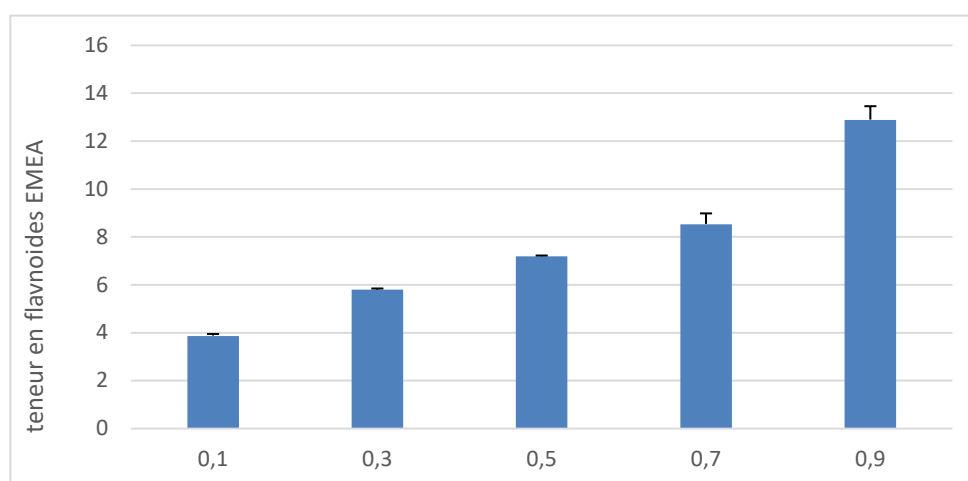


Figure 29: Teneur en flavonoïdes totaux EMEA ($\mu\text{g EQ/mg E}$).

D'après les résultats présentés dans les figures 28 et 29 et dans le tableau 9, on constate que l'extrait méthanolique de *Ephedra alata* possède une plus haute teneur en flavonoïdes que celui de *Rubus fruticosus*, avec un taux de $5,364 \pm 0,299 \mu\text{g EQ /mg}$ d'EMRF et $7,655 \pm 0,226 \mu\text{g EQ /mg}$ d'EMEA.

Les résultats du dosage des flavonoïdes dans notre étude des deux extraits (EMEA, EMRF) de *Ephédra alata* et *Rubus fruticosus* montrent que l'extrait méthanolique de *Ephédra alata* possède un taux de $7,655 \pm 0,226 \mu\text{g EQ /mg}$ d'EMEA, inférieur par rapport à d'autres études de **Marhoune et al., (2017)** avec un taux de $14,35 \pm 0,79 \mu\text{g EQ /mg}$ d'EMEA en flavonoïdes.

Par contre, l'extrait méthanolique de *Rubus fruticosus* contient une concentration en flavonoïdes de $5,364 \pm 0,299 \mu\text{g EQ /mg}$ d'EMRF, inférieure aux résultats de Marhoune et al., (2017) qui ont trouvés $53,11 \pm 0,002 \text{ mg EQ/ mg}$ d'extrait sec.

Ce qui explique que les méthodes d'extraction et de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des flavonoïdes totaux (Lee et al., 2003).

L'estimation de la teneur en flavonoïdes peut être influencée également selon les espèces, les organes, les tissus ou encore les différents stades de développement, le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante (Miliauskas et al., 2004).

IV. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'EMEA et EMRF vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm. En faisant varier la concentration de l'extrait et en calculant pour chaque concentration le pourcentage d'inhibition correspondant (PI %). Les résultats sont illustrés dans le tableau 10 et la figure 30.

Tableau 14: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH dans *Ephédra alata alenda* et *Rubus fruticosus*.

Concentrations en (mg/ml)	EMEA	EMRF
5 mg/ml	66,51±0,41	25,72±10
15 mg/ml	71,61± 0.38	28,82±6.9
25 mg/ml	73,98 ± 0.39	30,27±1.9
35 mg/ml	74,73±0.47	31,36±1.8
45 mg/ml	76,45±0.43	32,72±6.1
50 mg/ml	76,93±0.48	34,38±7.8

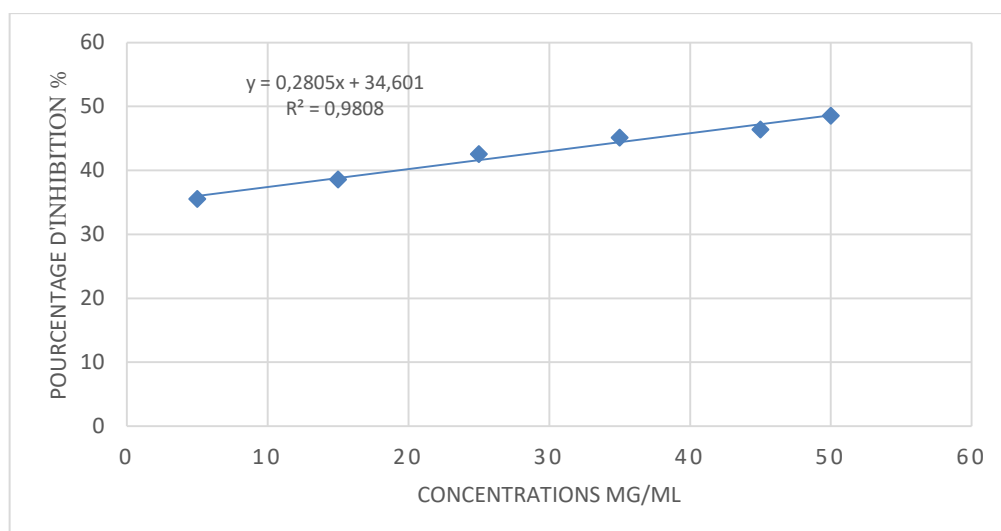


Figure 30: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'Acide ascorbique.

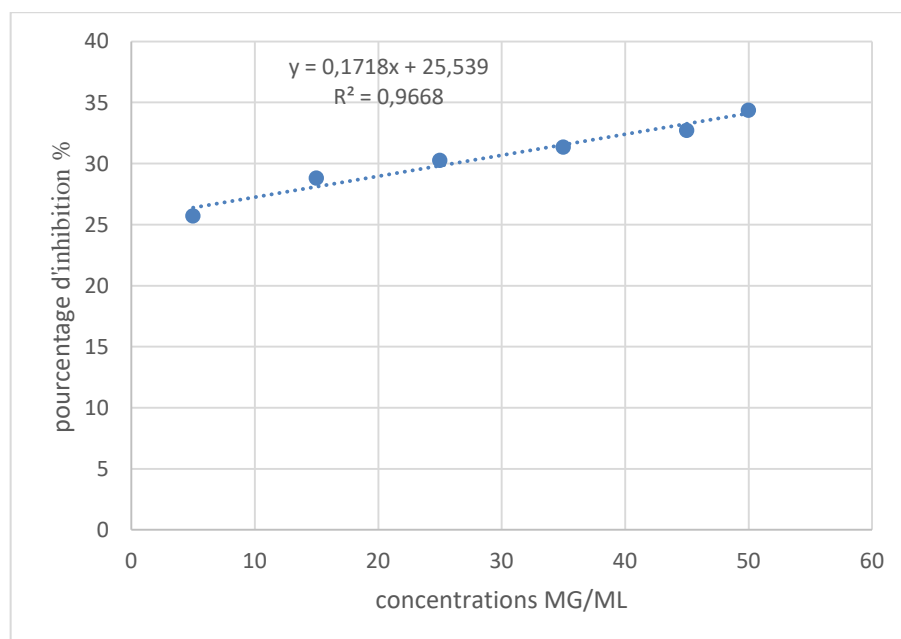


Figure 31: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de EMRF.

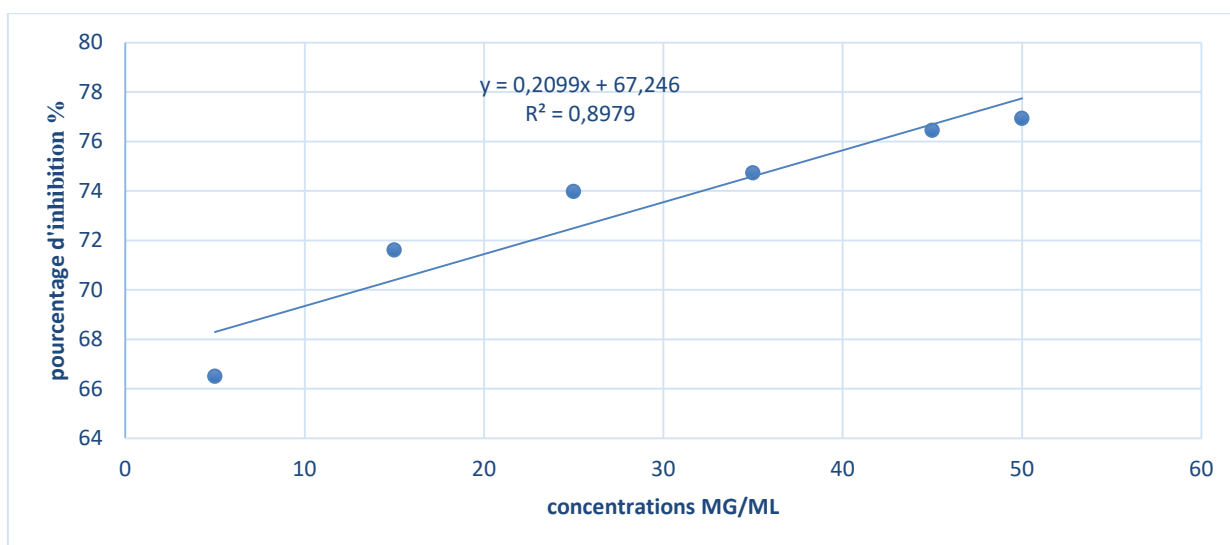


Figure 32: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de EMEA.

D'après le tableau 10 ci-dessus, et l'analyse par le test « t » Student, nos résultats ont montré que l'extrait méthanolique d'*Ephedra alata* possède un PI% inférieur par rapport à d'autres études, rapportées par le même auteur dans les différentes concentrations utilisées ;

- à la concentration (50 mg/ml) pour l'EMEA (IP%=**76,93±0.48**) est inférieur par rapport à l'EMEA (IP%=93.09±1.33).
- Pour La concentration (45 mg/ml), le PI% de l'EMEA (76,45±0.43) est presque identique par rapport à l'EMEA (87.36±6.9).
- Aussi pour la concentration (35 mg/ml) le PI% de l'EMEA (74,73±0.47) est supérieure par rapport à l'EMEA (70.7 ±7.75).
- A la plus faible concentration (5 mg/ml), l'EMEA a présenté un PI% (66,51±0,41) est supérieure par rapport à l'EAEA (47.71±8.43)
- A la grande concentration (50 mg/ml) pour l'EMRF (IP%=34,38±7.8) est inférieur par rapport à autres études rapporté par (**Marhoune ., et al 2017**) à une dose maximale de 750 mg/ml avec une capacité antioxydante de 236,5±1,145 .

D'après, (**Marhoune ., et al 2017**), plus la valeur de l'IC50 est faible, plus l'efficacité d'extrait est meilleure. A partir des trois courbes illustrées dans les **figures (34-35-36)** ; nous pouvons calculer la concentration IC50 pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant. Parmi les standards testés, l'acide ascorbique, (Vitamine C, naturelle) possède l'IC 50 égale 54,90 à mg/ µg suivi par EMEA avec 85,80 mg/ml et 142.38 mg/ml d'EMRF.

L'analyse par le test «t» de Student a montré une différence «t» significative ($P < 0.05$). Ceci montre que l'extrait méthanolique de la plante *Ephedra alata* alenda, par rapport à d'autres études, rapporté par **Mebarkia O., et al (2017)** possède un grand potentiel antioxydant IC 50 égale à 0,2 mg/ml pour l'EMEA, par rapport à l'extrait méthanolique de la plante *Ephedra alata* alenda et que l'extrait méthanolique de la plante *Rubus fruticosus* par rapport à d'autres études, rapporté par **Maadi .,(2019)** possède un grand potentiel antioxydant IC50 d'EMRF (28.92 ± 0.78 mg/ml) par rapport à l'extrait méthanolique de la plante *Rubus fruticosus* .

Les différences observées dans les valeurs des IC50 peuvent être attribuées à plusieurs raisons, notamment à la variation dans la composition chimique d'une plante qui est tributaire des facteurs génétiques et environnementaux (**Abou Elella et al., 2014**).

Certains auteurs ont suggéré que la variation de l'activité antioxydante en fonction des solvants d'extraction est due essentiellement à leur variabilité dans leurs profils d'absorbance de DPPH.

En général, le potentiel réducteur des extraits végétaux est dû à la présence de molécules capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits stables, parmi lesquels les polyphénols (**Bouhewem, 2022**).

Les résultats de cette expérience obtenus révèlent que les extraits de *Ephedra alata* et de *Rubus fruticosus* possèdent une activité riche en composés phénoliques. antioxydantes importantes.

V. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de *Ephedra Alata* et *Rubus fruticosus*. est déterminée par des mesures du diamètre de la zone Inhibition au niveau de différents comprimés sur deux extraits de plantes médicinales dans lesquelles le traitement est effectué sur diverses souches bactériennes (*E. coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*) .

Tableau 15: Résultats de diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne

Souches \ plante	Ephedra Alata	Rubus fruticosus
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,62 ± 2,7	13,06±1,71
<i>Escherichia coli</i>	7,48±1 ,05	9,81±2,04
<i>Staphylococcus aureus</i>	9,30 ±2,54	11,88±0,30
<i>Bacillus cereus</i>	7,06±1,07	10,26 ±1,73

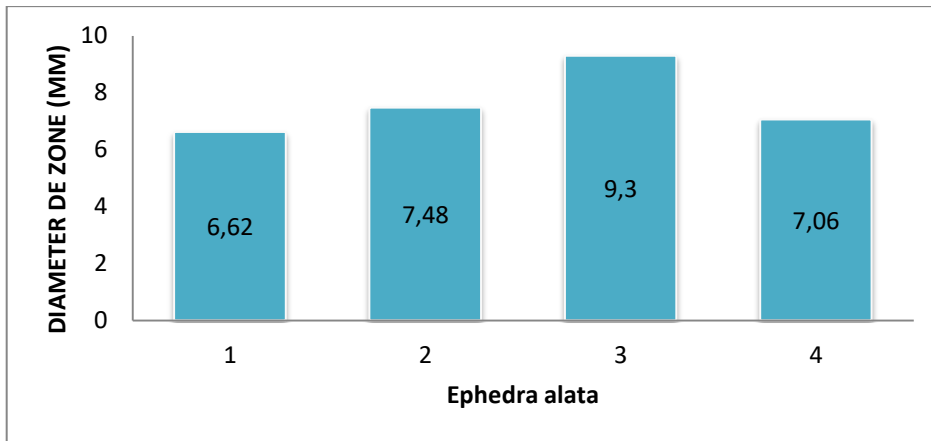


Figure 33: Représentation graphique de l'activité antibactérienne de *Ephedra Alata*

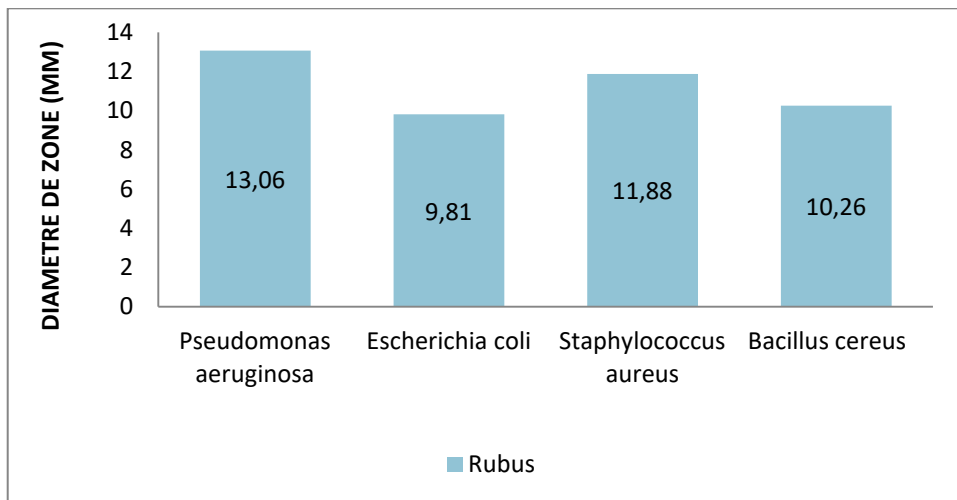
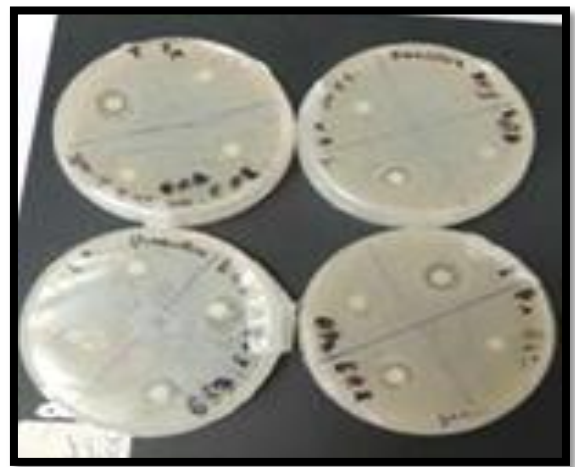


Figure 34: Représentation graphique de l'activité antibactérienne de *Rubus fruticosus*



EMEA



EMRF

Figure 35: Résultats de l'activité antibactérienne EMEA et EMRF

Nos résultats, illustrés par la figure 35, indiquent que l'effet de l'extrait *d'E.alata* varie d'une souche à l'autre dont *Staphylococcus aureus*, bactéries à GRAM négatif, est sensible.

Les trois souches bactériennes *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* et *Escherichia coli* montrent une résistance contre l'extrait méthanolique.

Ces résultats indiquent que les extraits testés n'ont aucun pouvoir antibactérien vis-à-vis ces souches bactériennes. Cela peut s'expliquer par les concentrations insuffisantes d'extraits utilisés.

Selon Kessal et Bouafia (2003), l'extrait méthanolique de la plante entière de *E.alata* de la région d'Ouargla, a montré des zones d'inhibition de 9.63 mm, et 15.320mm contre *E.coli* et *S. aureus* respectivement.

Les résultats mentionnés dans le tableau 10 indiquent que les quatre souches bactériennes *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* montrent une sensibilité vis-à-vis de l'extrait méthanolique de la plante *Rubus fruticosus*.**(Latbi et Yahiou, 2023)**.

Dans cette étude, le criblage des échantillons de *Rosa canina* et *Rubus fruticosus*, suggérant que ces extraits ont une activité antibactérienne, mais la sensibilité varie entre toutes les souches bactériennes Gram (+) et Gram(-). Cela été confirmé par la neutralisation du pH qui a démontré la diminution de l'effet antibactérien de ces extraits.

Des études récentes ont montré que des facteurs externes tels que les facteurs géographiques et climatiques, la saison de récolte et l'organe utilisé des plantes, et des facteurs internes tels que les facteurs génétiques, la maturité des plantes et le temps de stockage ont un impact important sur leur teneur en composés phénoliques **(Falleh et al., 2008)**.

VI. Evaluation de l'activité anti inflammatoire

La dénaturation des protéines est largement documentée comme l'une des causes d'inflammation, et la capacité à inhiber cette dénaturation est l'un des mécanismes d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens. Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des plantes étudiées, la méthode utilisant la protéine BSA (Bovine Sérum Albumine) a été employée. L'effet protecteur des extraits d'EMEA et EMRF contre la dénaturation thermique de la BSA. Le Tableau 12 ci-dessous montre les résultats de l'activité anti-inflammatoire in vitro de l'EMEA et EMRF qui consiste à évaluer les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de BSA.

Tableau 16: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA.

Echantillon	PI%
Diclofénac	25 ,57±0.56
EMEA	15 ,36±0,49
EMRF	16 ,01±0,72

Les résultats ont montré que l'extrait méthanolique de *Ephedra alata* et *Rubus fruticosus* (Tableau 12) a une activité anti-inflammatoire légèrement puissante.

L'activité anti-inflammatoire de l'*Ephedra* est significative et le ratio d'efficacité relative (**15,36 ± 0,49**). Pour *Rubus*, le rapport était de (**16 ± 0,72**) et les deux rapports sont assez proches de ceux obtenus pour le Diclofénac.

Le Diclofénac sodique, est un anti-inflammatoire utilisé comme étalon qui exerce une inhibition de (**25,57±0,56**). La dénaturation des protéines est l'une des causes de l'inflammation (**Mizushima et Kobayashi, 1968 Yrjönen, 2004**).

La production d'auto-antigènes dans les maladies anti-inflammatoires peut être due à la dénaturation des protéines. Le mécanisme possible de dénaturation consiste à altérer les liaisons électrostatiques, hydrogène, hydrophiles, hydrophobes, hydrophiles et disulfures qui maintiennent la structure tridimensionnelle des protéines. la structure tridimensionnelle des protéines (**Yrjönen, 2004 ,Sangeetha et al., 2011**).

En effet, la présence de flavonoïdes dans les plantes est en partie responsable de cet effet.

effet anti-inflammatoire (**Park et al., 2001**).

Conclusion

CONCLUSION

Les plantes médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous exploitées dans le domaine médical. Dans l'industrie pharmaceutique, sachant que les antioxydants interviennent de manière significative à la prévention des maladies, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants d'origine naturelle doit figurer à l'ordre de jour.

Rubus Fruticosus et *Ephedra Alata* sont des plantes aussi riches en composés bioactifs que de nombreuses autres plantes médicinales, et sont en grande quantité sur notre territoire.

La macération a montré que les extraits méthanoïques présentent des rendements estimés de 12% pour l'extrait d'EMEA et 11% pour l'extrait EMRF, respectivement.

Les tests phytochimiques effectués ont révélé la richesse des feuilles de *Rubus fruticosus* et *Ephedra alata* en flavonoïdes, saponosides, tanins, quinones libres, alcaloïdes, anthraquinones, composés réducteurs et polyphénols et confirment les données bibliographiques.

Les résultats que nous avons obtenu constituent une justification scientifique de l'usage traditionnel des plantes étudiées et confirment la pertinence des remèdes traditionnels dans le traitement. En outre, il convient d'envisager d'étudier d'autres propriétés et effets biologiques de ces extraits en utilisant d'autres méthodes, à savoir l'ébullition, l'infusion et l'extraction avec d'autres solvants organiques avec d'autres souches bactériennes et espèces fongiques, et en testant plusieurs échantillons de cette espèce de zones aux conditions pédoclimatiques différentes des différents extraits de ces espèces végétales.

Nous souhaitons des recherches sur d'autres activités biologiques, telles que l'activité antidiabétique et anticoagulante.

Annexes

L'annexe

ANNEXE 01 : Appareillage



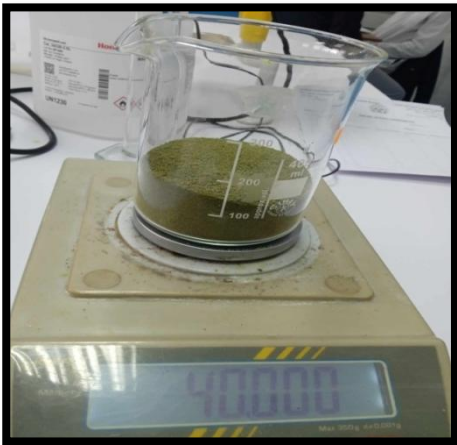
Rota vapeur



Étuve



Bec bunsen



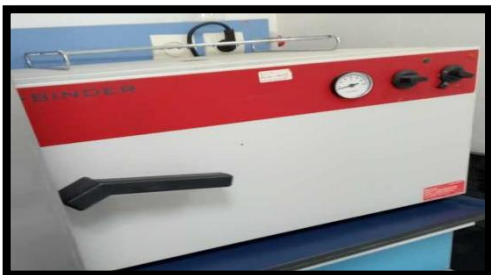
Balance



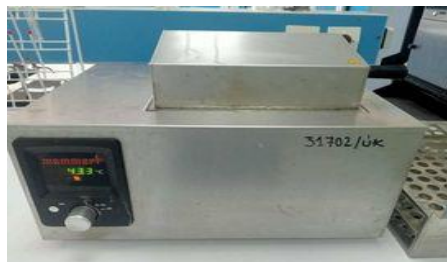
spectrophotomètre



Agitateur magnétique



L'incubateur



Bain Marie



Balance Sensible

ANNEXE 02 Réactifs et produit chimique

- | | | |
|----------------------|------------------------------|---------------------|
| 1. FeCl ₃ | 4. Carbonate de sodium | 7. Réactif de Mayer |
| 2. Réactif de Mayer | 5. Réactif de Wagner | 8. Réactif Folin |
| 3.- Acide gallique | 6. Eau physiologique stérile | 9. Méthanol |



ANNEXE 03 : Préparation des milieux

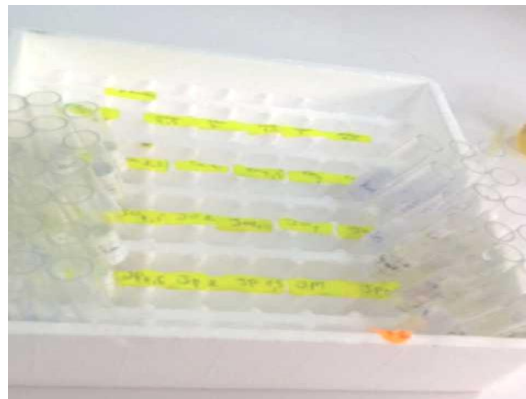
Le milieu Muller Hinton (MH)

- 38 g de la poudre du Muller Hinton agar
1. Dans un bécher, en dissolvant la poudre dans un 1000 ml de l'eau distillé, il faut l'homogénéiser et chauffer en agitant.
 2. Porté à ébullition environ une minute
 3. Met dans des flacons de verre bien fermé pour stériliser à l'autoclave pendant 30 min à 121°C. Pour l'utiliser, laisser le refroidir, puis couler en boîte de pétri (25ml par boîte) dans un milieu stérile et laisser reposer. Ils sont prête à l'utilisation immédiatement ou stocker à 2°C à 8°C pendant une semaine au plus

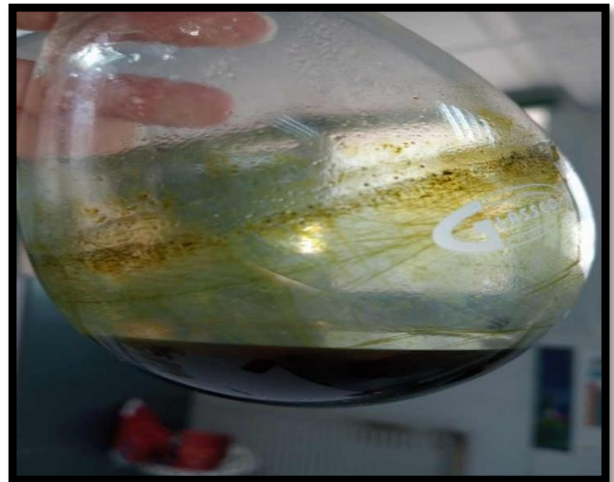
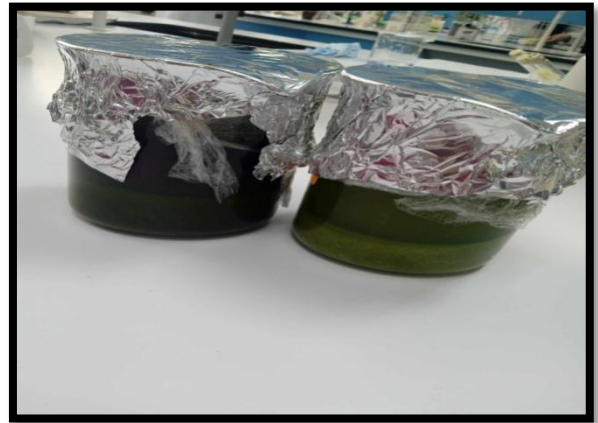
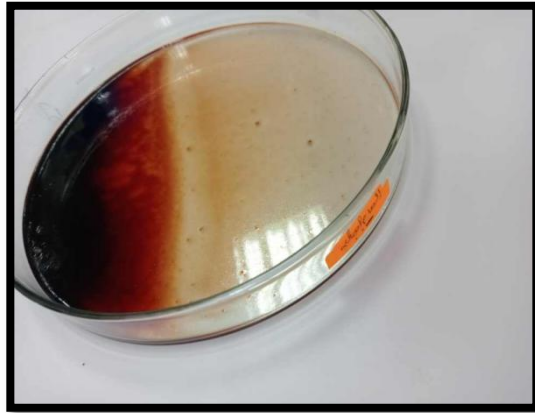
Préparation de la gélose nutritive (GN)

- 1- Prépareur la Gélose Nutritive en dissolvant la poudre 28 g dans de l'eau distillée 1 litre
- 2- Met dans l'Autoclave à 121° C pendant 15 minutes. Refroidir à 50 à 55°
- 3- Refroidir à 50 à 55° 4- Couler le milieu en boîte de Pétri (15 à 20 ml par boîte) et laisser reposer

ANNEXE 0 3 : Des différents résultats



ANNEXE : Des préparatifs



*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abourashed ,E., El-Alfy, A., Khan ,I., and Walker, L. (2003). Ephedra in perspective a current review. *Phytotherapy Research*. Volume 17(7).p 703-712.

Achat, S.(2014). Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Thèse de doctorat. Université A. Mira-Bejaia, Algérie. p 17- 22.

Afonso, C.A.M., Candeias, N.R., Simao, D.P., Trindade, A.F., Coelho, J.A.S., Tan, B &

Franzen,R. (2016). *Comprehensive organic chemistry experiments for the laboratory classroom*. Cambridge,United Kingdom: Royal Society of Chemistry.

Al-Awaida,W ., Al-Hourani,B., Akash, M., Talib, W., Zein, S., Falah, R., & Aburubaiha, Z. (2018). In vitro anticancer, anti-inflammatory, and antioxidant potentials of Ephedra aphylla. *Journal of cancer research and therapeutics*. Volume 14(6).p1350-1354.

Aline oliveira , c.(2010) Effet d'extraits de plantes médicinales sur ladifférenciation cellulaire et le transport du calcium par les cellulessyncytiotrophoblaste-like humaines. Thèse de doctorat de l'université du Québec à Montréal . p 186.

AL-Qarawi, A., Abd_Allah, E., et Abeer H . (2011). Ephedra alata as biologicallybased strategy inhibit aflatoxicogenic Selborne Mold. *African Journal of Microbiology Research*, Volum 16(5), pp 2297-2303.

Al-Qarawi, A., Abd Allah, E., & Hashem, A. (2012). Effect of Ephedra alata on nucleic acids and nitrogen metabolism of seedborne Aspergillus flavus. *Pakistan Journal Of Botany* . Volume 44(1).p 425-428.

Al-Rimawi, F., Abu-Lafi, S., Abbadi, J., Alamarneh, A., Sawahreh, R., & Odeh, I. (2017). Analysis of phenolic and flavonoids of wild Ephedra alata plant extracts by LC/PDA and LC/MS and their antioxidant activity. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* . Volume 14(2), 130-141.

Al-Snafi, A. (2017). Therapeutic importance of Ephedra alata and Ephedra foliata-A review. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences* . Volume 4(2) .p399-406.

Références bibliographiques

AMLA ,K., PATRA ,J.,(2010) A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*. Volume 71 . p1198–1222.

Ayed, W., Chems El Assil , A. (2023). Etude de l'activité antibactérienne et insecticide d'une plante médicinale de la région de Guelma. 4p

B

Bakhtaoui H.,(2019). Effet des extraits phénoliques des) ephedra alata et rubus fruticosus) sur l'évolution des paramètres physicochimiques et microbiologiques d'un lait fermenté de type yaourt. Mémoire réalisé en vue de l'obtention du diplôme de Master en sciences agronomiques Option : Biotechnologies alimentaires. Université Abdelhamid BenBadis-Mostaganem, p. 111.

Bdoudjenah S., Merzouge y., (2016). Etude quantitative des polyphénols et le pouvoir Antibactérien des extraits de l'écorce de fruit de grenadier (*Punica granatum L.*). Mémoire réalisé en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie Option : Microbiologie Fondamentale et Appliquée. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, p. 95.

Ben aouda , N ,.et Ben keouour ,N ,(2019).Effet des extraits d' éphédra alata sur la croissance d'*Escherichia coli* responsable des infection nosocomiales .Mémoire de master.p22.

Bendif, H. (2017). Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajuga iva (L.) Schreb.*, *Teucrium polium L.*, *Thymus munbyanus subsp. coloratus (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet* et *Rosmarinus eriocalyx Jord & Fourr.* Thèse de doctorat. L'école normale supérieure de Kouba-Alger. p 4-67.

Blumenthal, J ,.Mahanna ,E ,. Madden, D ,. White, W ,. Croughwell, N ,. and Newman ,M . (1995).Methodological issues in the assessment of neuropsychologic function after cardiac surgery.*The Annals of thoracic surgery*. Volume 59(5), p1345-1350.

Bock ,A. (2013). Tela Botanica : Base de données Nomenclature de la flore en France.
Boudjema N, (2019).Etude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans la région de Biskra, mémoire de master, Université Mohamed Khider de Biskra, p 7.

Références bibliographiques

Boudjouref , M. (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. p99 .

Bouhewem M.,(2022). Étude des activités antioxydantes et anti-inflammatoires de L'écorce de grenades. Mémoire réalisé en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie Option : Biochimie Appliquée. Université Larbi ben Mhidi-ou El-Bouaghi, p. 98.

Boulberhane , S., Nabti, H. (2017). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des deux plantes : Artemisia compestris L.et Ephedra alata alenda staph. Mémoire de master. Université des Frères Mentouri Constantine. p24-69 .

Bourgou, S., Serairi Beji, R., Medini, F., Ksouri, R. (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'Euphorbia helioscopia. Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology. Volume 28(12). pp 1649-1655 .

Bruneton ,J., (1993). Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales Edition Tee & DOC, Lavoisier, Paris.p 266-466.

Bruneton , J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. (3ème éd) Tec&Doc, Paris.

Bruneton , J.(2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. (4ème Ed) . Lavoisier Tec & Doc . p1268

C

Caveney, S.,Charlet, D .,Freitag, H.(2001).New observations on the secondary chemistry of world Ephédra(Ephedraceae). American journal of botany. Volume 88(7). p 1199-1200.

Cesbron M.,(2020). Vers l'élaboration de surfaces modifiées par des monocouches organiques mixtes issues de la réduction de précurseurs diazonium. HAL ((open science), p.169.

Références bibliographiques

Chabane ,D and Saidi ,F. (2014). Antimicrobial activity of leaves of *Rubus ulmifolius* Schott against some pathogenic bacteria and fungi and evaluation of the acute toxicity. *Int j pharm bio sci* . Volume 5(2).p 689-695.

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

Chebouat,E.,Gherraf,N ., and Belkhir , D.(2016). Chemical composition of the dichloromethane extract of *Ephedra alata* leaves and flowers. Volume 8.p 10-13.

Chen ,W., Tsai ,T., Yang., Kuo .(2010). Effects of ephedra on autonomic nervous modulation in healthy young adults. *Journal of ethnopharmacology*. Volume 130.p 563–568

Clayton ,R., Brazenor ,A and Kluger,B .,Ronald ,H.(2021). Steroid. *Encyclopedia Britannica. Tishreen University Journal-Biological Sciences Series*. Volume 43(1).

cowan ,M.,(1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. Volume 12 .p 564–582 .

D

Dacosta, E. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris. p. 3

Danciu, C., Muntean, D., Alexa, E., Farcas, C., Oprean, C., Zupko, I., & Dehelean, C. (2019). Phytochemical characterization and evaluation of the antimicrobial, antiproliferative and pro-apoptotic potential of *Ephedra alata* Decne. hydroalcoholic extract against the MCF-7 breast cancer cell line. *Molecules* . Volume 24(1)p 13 .

Daoudi, A., Sabiri, M., Bammou, M., Zair, T., Ibijbjen, J., & Nassiri, L. (2015). Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica* : *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L. *Journal of applied biosciences* . Volume 87(1) .p 8094- 8104.

Dembinska-Kiec A., Mykkanen O., Kiec-Wilk B., Mykkanen H. (2008). Antioxidant phytochemicals against type 2 diabetes. *Br. J. Nutr.* Volume 99,p 109-117

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

Références bibliographiques

Djeridane , A., Yous ,M., Nadjemi, B., Boutassouna ,D., Stocker ,P., Vidal ,N. (2006). Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds, Food Chem .Volume 97 (4) p 654-660.

E

Epifano,F.,Genoverse,S.,Menghini,L.,&Curini,M.(2007).Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites.Phytochemistry . Volume(6) . p 68(7) .p939-953 .

Evans, W. C. (2009). Trease and Evans' pharmacognosy. Elsevier Health Sciences.Livre Volume16 (1) .p 542-562 .

G

Ghourri, M., Zidane, L., & Douira, A. (2013). Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). JAPS. Volume 17(1).p 2388-2411.

Gilbert, B.L., Norris ,D.M. (1968). A chemical basis for bark beetle (scolytus) distinction between host and non-host trees. Journal . Insect physiol. Volume 14 . P. 1063-1068.

Greaves R.F, Jevalika ,G., Hewitt J.K., and Zacharin , M.R.,(2014). A guide to understanding the steroid pathway: new insights and diagnostic implications. Clinical biochemistry . Volume 47(15).p 5-15 .

Guignard, JL. (1996).Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. France. P 274 .

H

Habibur , R., Chinna Eswaraiah ,M., Vakati ,K., Madhavi ,P. (2012). In Vitro studies suggest probable mechanism of Eucalyptus oil for antiinflammatory and anti-arthritic activity. Int J Phytopharm. Volume 2(3). p 81-83.

Hadjadj, K., Daoudi, B., & Guerine, L. (2020). Importance thérapeutique de la plante ephedra alata subsp. Alenda dans la médecine traditionnelle pour la population de la région de Guettara (Djelfa, Algérie). Revue de botanique, Nouvelle série N° 201.

Hennebelle. T., Sahpaz. S., Bailleul., (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytotherapie, 2(1), p. 36.

Références bibliographiques

Hegazi, G., & El-Lamey, T. (2011). In vitro production of some phenolic compounds from *Ephedra alata* Decne. *Journal Appl Environ Biol Sci*. Volume 1(8) .p 158-163.

Hopkins, W., (2003). Physiologie végétale. Traduction de la 2^{ème} américaine par serge Rambour Ed. Edition Dd Boek Université. Bruxelles. p. 268-270.

I

Igor Passi L.B. (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloïdes*, lam (Rutaceae). Thèse de pharmacie .université de Bamako . p.133.

J

Jaradat,N .,Hussen,F .,Al Ali,A .(2015) . Preliminary phytochemical screening, quantitative estimation of total flavonoids, total phenols and antioxidant activity of *Ephedra alata* decne. *Journal of Mater. Environ. Sci*. Volume 6 (6) .pp1771 .

Jean louis de lanessan.(1870) . flore médicale usuelle et industrielle du(XIX) siècle . Paris . p 230

K

Kamra ,D., Agarwal, N., Chaudhary, L.(2006) . Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds . *International Congress Series*. 1293 . p 156–163 .

Kanoun,K., (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de magister. Université Aboubekr Belkaid Tlemcen. p 97.

Knežević, S.V., Blažković, B., Štefan, M.B., Alegro, A., Kószeg, T & Petrik, J. (2011).Antioxidant activities and polyphenolic contents of three selected *Micromeria* species from Croatia. *Molecules*,16(2), 14454-1470.

Kmail, A., Lyoussi, B., Imtara, H., Zaid, H., & Saad, B. (2017). In vitro evaluation of anti-inflammatory and antioxidant effects of *Asparagus aphyllus* L., *Crataegus azarolus* L., and *Ephedra alata* Decne. in monocultures and co-cultures of HepG2 and THP-1-derived macrophages. *Pharmacognosy Communications* . Volume7(1) . p 24-33

Références bibliographiques

Konkon et al, (2006). Etude phytochimique de *Mitragyna inermis* (Willd) O.Ktze (Rubiaceae), plante à feuille antidiabétique. *Pharm. Méd. Trad.* Volume 14. P 73-80.

Konno, C., Taguchi, T., Tamada, M., & Hikino, H. (1979). Ephedroxane antiinflammatory principle of Ephedra herbs. *Phytochemistry* . Volume 18(4). p 697-698.

L

Lainé, E., Hano, C., & Lamblin, F. (2007). Les lignanes phytoestrogènes du lin sont-ils des bienfaiteurs méconnus ? *Phytothérapie* . Volume 5(3). P 121-128.

Iatbi, M., yahiou, S. (2023). Etude de l'effet antibactérien de deux plantes médicinales «*Rubus fruticosus* et *Rosa canina* ». Mémoire de Master. Université A. MIRA – Bejaia. p13

Lee J. (2003). Cacao has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine, *J Agric Food chem.* 51: 7292-7295.

Lehout, R et Laib, M., (2015). Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine. p 3.

Lim, T., (2012). *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants.* Springer. Volume 4. p544-554.

Limberger, R., Jacques, A., Schmitt, & Arbo, M. (2013). Pharmacological effects of ephedrine. In *Natural Products* .Springer Berlin Heidelberg. p 1217-1237 .

M

Ma, G., Bavadekar, S., Davis, Y. (2007). Pharmacological effects of ephedrine alkaloids on human $\alpha 1$ - and $\alpha 2$ -adrenergic receptor subtypes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* Volume 322(1). p 214-221.

Mansouri, L., Mehenni, H. (2022). Etude par Docking moléculaire de l'effet anticancéreux des métabolites secondaires extraits d'*Ephedra Alata* .Mémoire de master. Université. Mohamed khider de Biskra.

Marquina, M.A., Corao, G., Araujo, L., Buitrago, D and Sosa, M. (2006). Hyaluronidase inhibitory activity from the polyphenols in the fruit of blackberry (*Rubus fruticosus* B.). *Fitoterapia.* Volume 73. p 727-729.

Références bibliographiques

Messast ,A.(2021). Étude systématique critique des techniques de dosage des flavonoïdes. Mémoire réalisé en vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences biologiques : Biochimie Appliquée. Université Mohamed Khider de Biskra, p. 87.

Miliauskas G., Venskutonis P.R., Van Beek T.A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. Food chemistry, 85.

Milošević, T., Milošević, N., Glisic, I., & Mladenovic, J. (2012). Fruit quality attributes of blackberry grown under limited environmental conditions . méridionales. Volume 2(1).

Moghimpour , E., Handali S. (2015). Saponin properties, methods of evaluation and applications. Science domain international. Volume 5(3) .p 207-220.

N

Newman , DJ., Cragg ,GM.,(2012) .Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. Journal. Nat

Nawwar, M., El-Sissi, H., & Barakat, H.(1984). Flavonoid constituents of Ephedra alata. Phytochemistry .Volume 23(12).p 2937-2939.

NOUGAR , A ., DRISS , H.(2021) . Evaluation de l'effet antifongique de l'huile essentielle de *Rubus fruticosus* sur *Colletotrichum gloeosporioides* agent de l'anthracnose de la tomate. Mémoire de Master. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.p20 .

O

O'Connor,S.(2010). ChemIn form Abstract alkaloid biosynthesis Cheminform . . Volume 41(12) .p17-33.

Osman, N. I., Sidik, N. J., Awal, A., Adam, N. A. M., & Rezali, N. I. (2016). In vitro xanthine oxidase and albumin denaturation inhibition assay of *Barringtonia racemosa* L. and total phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in gouty arthritis. *Journal of intercultural ethnopharmacology*, volume 5(4), p343.

Ould El Hadj ,M., Hadj-Mahammed ,M., et Zabeirou ,H. (2003) .place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (sahara septentrional est). Courrier du savoir. n°3 p 47-51 .

Références bibliographiques

Ozenda, P.(1991). Flore et végétation du Sahara. Centre National De La Recherche Scientifique, Paris (3ème Ed). p 662.

P

Panizzi ,L.,Caponi, C., Catalano ,S.,Cioni, P and MorelliinI. (2001). Vitro antimicrobial activity of extracts and isolated constituents of *Rubus ulmifolius*. Journal of Ethno pharmacologie. Volume 79, p 165–168

Peeking, A ,. Picand, B , .Hacene , K., Lokie ,C ,. Guerin ,P, .(1987).noligimères procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique.Artères et Veines. Publications médicales AGCF. Volume . (6).p 512-513.

Peters ,C., O'neill ,J., et Young ,J. (2005). Is there an association between ephedra and heart failure? a case series. Journal of Cardiac Failure. Volume 11(1).p 9-11.

Pizzorno J. E, Murray M. T and Joiner-Bey ,H.(2016). The Clinician's Handbook of Natural Medicine E-Book. Elsevier Health Sciences . p 946-950.

Prakash, A. (2001). Antioxidant activity. Medallion laboratories analytical progress, 19(2), 16.

Q

Quezel ,P., & Santa, S. (1962-1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques

R

Ribéreau-Gayon, P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Paris, France : Dunod.

ROUMY, V., (2007).Etude phytochimique de plantes Amazoniennes d'activité antiplasmodiale, dont *Pseudoxandra cuspidata* Maas et *Tapi rira guianensis* Aubl. Thèse de doctorat en sciences des agro ressources, Institut National Polytechnique de Toulouse, France .p 195.

Rustaiyan , A., Javidnia ,K., Farjam ,M., Aboee-Mehrizi ,F., Ezzatzadeh, E.(2001). Antimicrobial and antioxidant activity of the *Ephedra sarcocarpa* growing in Iran. Journal of Medicinal Plants Research. Volume 5(17) . p 4251-4255.

Références bibliographiques

S

Salem, J., (2009). Extraction identification caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitrera retusa* et synthèse de dérivés acylés de ces molécules par voie enzymatique .Doctoral dissertation .Institut National Polytechnique de Lorraine.

Sánchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8(3), 121-137.

Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical reviews in food science and nutrition* . Volume 45(4).p 287-306.

Seghaouil, M.,Zermane, A. (2017).Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques in vitro de l'espèce *Myrtus communis* L, Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine. p . 21.

Sisti ,M., De Santi ,M., Fraternali ,D., Ninfali ,P., Scoccianti ,V and Brandi ,G. (2008). Antifungal activity of *Rubus ulmifolius* Schott standardized in vitro culture. *LWT - Food Sci. Tech.* Volume 41.

Soni, M., Carabin, I., Griffiths, J., & Burdock, G. (2004). Safety of Ephedra lessons learned. *Toxicology letters*, Volume 150(1) .p 97-110.

T

Tabi ,w.,Salhi ,N.(2023) .Etude phytochimique et activites biologique de la Ephedra alata alanda de la regoine Djelfa . Mémoire de Master. Université des Djelfa.p19 .

Tron , I., Piquet ,O., Baert A., Mouton, C.(2002). Toxon Manuel de Toxicologie.Guide technique. ademe, Angers. p 128.

V

verma ,R., Tushar G., Rakesh ,Pa., Chetan ,G.(2014). *Rubus fruticosus* (blackberry) use as an herbal medicine., English.p101-102

Références bibliographiques

W

Wehrlen, M. (1985) . la ronce (Rubus Fruticosus L.agg.) en forêt. Biologie de la ronce Définition 288-289 pp.

X

Xu, Y., Zhang, Y., & Chen, M. (2006). Effective fractions of Rubus fruticosus leaf, its pharmaceutical composition and uses for prevention and treatment of diabetes. *China*. Volume 21

Y

Yahaioui, A., & Silat, L. (2017). Contribution à l'étude des extraits de l'espèce Ephédra alata Alanda de la région de Sigus. Mémoire de Master. Université Larbi Ben Mhidi Oum El bouaghi . p 6.

Z

Zeghad, N. (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister. Université des Frères Mentouri de Constantine, Faculté des sciences de la nature et de la vie. p 96.

Zhang, B., Wang, Z., Xin, P., Wang, Q. (2018). Phytochemistry and Pharmacology of Genus Ephedra. *Journal of Natural Medicines*. Volume 16 (11) .p 811-822.

Zia-Ul-Haq, M., Riaz, M., De-Feo, V., Jaafar, H and Moga, M. (2014). Rubus fruticosus L. constituents, biological activities and health related uses. *Molecules*. Volume 19 (8). p 10998-1029 .

Sites électroniques

Site web 1 : [https://www.google.com/imgres imgurl](https://www.google.com/imgres/imgurl)

Site web 2 : <https://www.boisderodebos.be/blog/articles-1/1-1-ronce-fruitiere-avec-ou-sans-epines-remontante-ou-non-apercu-de-la-diversite-du-genre-rubus-24>.

Site web 3: <https://hal.science/hal-03423648/document>

Site web 4: [https://www.google.com/imgres imgurl](https://www.google.com/imgres/imgurl)