



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ « Abbés LAGHROUR » DE KHENCHELA



FACULTÉ DES SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Département des Sciences de la Matière

N° de série :

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Master (L.M.D)

Filière : Chimie Analytique

Spécialité : Chimie Analytique et Environnement

L'ethnopharmacologie d'Ephédra alata et Screening d'Éphédrine

Réalisé par : *-Bouchareb Nabila*

dirigé par : *Mme Baaziz Sonia*

-Barnouk Nour El Houda

Membres de jury :

Présidente : Mme Hammadi Fouzia MAA Université KHENCHELA

Examinatrice : Mme Falek Wahiba MCB Université KHENCHELA

Présenté le : 13/09/2020

Année universitaire : 2019/2020

Remerciement

Ce mémoire de Master est le résultat d'un travail et d'une recherche de plusieurs mois. En préambule, nous souhaitons adresser tous nos remerciements aux personnes qui nous ont apporté leurs soutient et qui ont ainsi contribué à l'élaboration de mémoire de recherche fin d'étude.

Avant tout, nous remercions "Allah" le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

*Nous remercions notre promotrice Mme **Baaziz, Sonia** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigoureuse scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance qu'elle nous a accordé et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail.*

*Nos remerciements vont aussi aux membres de jury Mme **Falek Wahiba maitre de conférences à l'Université de Khenchela** et Mme **Hammadi Fouzia maitre assistante à l'Université de Khenchela** de nous avoir fait l'honneur d'accepter d'évaluer ce travail.*

*Nous remercions infiniment tous les membres de laboratoire de chimie de L'Université Abbas Laghrour de Khenchela surtout Mme **Najwa Bouzidi***

Un grand merci particulier à nos collègues et nos amis de la promotion Chimie Analytique pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble, on les remercie pour leur confiance, leur disponibilité et leur fidélité.



Dédicace

À l'aide de dieu "Allah" tout puissant

Qui m'a tracé le chemin de ma vie,

J'ai pu réaliser ce travail.

À ma très chère grande mère « Charifa »,

Qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

À mes très chers parents « Zouaoui et Fatiha »

Qui m'ont soutenu et encouragé durant toute la Période de mes études et à qui je souhaite une long et heureuse vie,

À mon grand-père « Lakhdher » la source du courage

À mes chères sœurs : « Khaoula et Manel »

À mes plus belles cousines qui je les considère comme sœurs : « Kamilia, Sara, Fadia, Hanaa, Assia »

À mon binôme « Houda » j'ai partagé avec elle les joies et les difficultés au suivi de notre travail.

À mes Amis qui ont cru en moi et qui ont toujours encouragé, et avec qui j'ai passé des années inoubliables « Khawla, Ferial, Milka, Dalel, Maissa, Nirmine, Imene , Abir, Aicha, Lamia, Ikram, Rofia, ImeneL »

A toute personne qui me connaît.



NABILA

Dédicace

*Avant tout je remercie le bon **Dieu** de nous avoir mis sur le bon chemin pour pouvoir réaliser ce travail que je dédie :*

*A la bougie qui est la source de la lumière de ma vie, qui se fond toujours pour éclairer ma route, **À mon cher père : Abd El Madjid** je dédie ce travail et je lui souhaite une longue belle vie*

*A la fleur qui rehausse et aromatise mes jours, qui garde les nuits pour que je me rendorme, **À ma très chère mère : Nacira** je dédie ce travail et je lui souhaite une longue belle vie*

***À mes chères sœurs : Radhia, Sabrina, Khadîdja** pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral*

***À mes chers frères : Tarek, Mohamed** pour leur appui et leur encouragement*

***À toute ma famille** pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire*

À toutes mes chères amies : « Besma, Noussaiba, Abir, Romaiassa A, Romaiassa L, Nermine, Imen, Khaoula, Dalel »

***À mon binome, « Nabila »** qui est partagée avec moi les moments difficiles de ce travail*

À toutes mes camarades surtout les étudiants de Chimie analytique

Merci infiniment



HOUDA

Liste des abréviations

E.alata : Ephédra alata

UV : Ultra-violet

HEs : Huile essentielle

ROS : Reactive oxygen species = Espèce réactif de l'oxygène

SOD : Super oxydes dismutase

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion oxydé

ADN : Acide Désoxyribonucléique

DPPH : 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl

E. coli : Escherichia coli

DFT : Théorie fonctionnelle de la densité

RMN : Résonance nucléaire magnétique

IR : infrarouge

V/V : Volume/volume

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice à 50 %

DMSO : Diméthylsulfoxyde

MH : Mueller Hinton

S.aureus : Staphylococcus aureus

L. monocytogenes: Listeria monocytogenes

D: Diamètre

EMet: Extrait méthanolique

R (%) : Rendement en pourcentage

B3LYP : Becke trois paramètres Lee-Yang-Parr

Se : Sélénium

Zn : Zinc

Cu : Cuivre

µg : Microgramme

Da : Dalton

g : gramme

ppm : Partie par million

nm : Nanomètre

OMS : Organisation mondiale de la santé

IUPAC : Union internationale de chimie pure et appliquée

Liste des figures

Numéro	Titres	Pages
1	Ephédra alata	8
2	Branches fleuries d'Ephédra alata	8
3	Répartition géographique de l'Ephédra dans le monde	10
4	Structure d'éphédrine et de La pseudo éphédrine	12
5	Schéma de classification des métabolites primaires	18
6	Structure de base des acides hydroxybenzoïques	20
7	Structure de base des acides hydroxycinnamiques	21
8	Structure de base des flavonoïdes	22
9	Structures de l'acide gallique et ellagique	26
10	Structure de D-glucose	26
11	Structure des tanins condensés	27
12	Structure d'une molécule de coumarine	28
13	Structure de base de terpène	29
14	Structures chimiques de quelques composés monoterpènes	30
15	Structures chimiques de quelques composés sesquiterpènes	31
16	Exemple de saponine à génine stéroïdique (spirostane)	34
17	Exemple de saponine à génine triterpène (Acide Oléanolique)	34
18	Noyau de base des stérols	35
19	Schéma des différents types d'activités biologiques	46
20	Stress oxydant	47
21	Structure d'acide urique	50
22	La structure de vitamine C	50
23	Structure de vitamine E	51
24	Principe des antioxydants	51
25	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant	52
26	Structure d'une bactérie	53
27	Bactérie de Staphylococcus aureus	54
28	Bactérie d'E. Coli	54
29	Listeria monocytogenes	55
30	L'appareil d'infrarouge	60
31	L'appareil de RMN	60
32	Cycle de l'étude d'une molécule par modélisation moléculaire	61
33	Interface graphique du logiciel Gaussian 09	62
34	Protocole de préparation de la matière végétale	67
35	Localisation géographique du site de prélèvement (Chechar -Khenchela)	68

36	Protocole d'extraction méthanolique	69
37	Les étapes d'extraction solide-liquide	70
38	Protocole de réduction de radical DPPH	74
39	Différentes étapes de l'activité antibactérienne	77
40	Protocole de l'activité anti bactérienne	78
41	Pourcentage de l'activité anti-radicalaire de l'EMet de la plante et de standard α -Tocophérol	84
42	Les différentes étapes d'utilisation de logiciel GAUSSIAN 09	87
43	La structure optimisée de la molécule éphédrine $C_{10}H_{15}NO$ déterminé avec DFT B3LYP.	88
44	Le spectre IR optimisée avec DFT B3LYP du $C_{10}H_{15}NO$	89
45	La numérotation des atomes d'éphédrine déterminé avec DFT B3LYP	89
46	Spectre RMN d'hydrogène H^1 de la molécule éphédrine déterminé avec DFTB3LYP.	90
47	Spectre RMN du carbone C^{13} de la molécule éphédrine déterminé avec DFTB3LYP	91

Liste des tableaux

Numéro	Titres	Pages
1	Classification d'Ephédra alata	9
2	Les principaux acides hydroxybenzoïques.	21
3	Les principaux acides hydroxycinnamique	21
4	La structure des principales classes des flavonoïdes	24
5	Structures chimiques de quelques alcaloïdes	32
6	Produits chimiques et matériels utilisé	73
7	Les souches bactériennes utilisées	75
8	Produits chimiques et matériels utilisé	75
9	Rendement d'extrait d'Ephédra alata	82
10	Mise en évidence de certaines familles de métabolites secondaires dans l'E.alata	82
11	Résultats de diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne	86
12	Les valeurs des fréquences en (cm ⁻¹) des spectres IR du C ₁₀ H ₁₅ NO.	89
13	Déplacement chimique (ppm) d'hydrogène H ¹ du l'éphédrine.	90
14	Déplacement chimique (ppm) de carbone C ¹³ du l'éphédrine	92



Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Liste des Abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale.....	2
Références bibliographiques.....	4
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Aperçu sur la plante Ephédra alata	
Introduction.....	7
I. Généralités sur la plante.....	7
I.1. Présentation de genre Ephédra	7
I.2. Sous l'espèce Ephédra alata	8
I.2.1. Description botanique d'Ephédra alata.....	8
I.2.2. Position systématique	9
I.2.3. Répartition géographique	9
I.2.4. Composition chimique d'Ephédra alata.....	10
I.2.5. Utilisation d'Ephédra alata en médecine traditionnelle.....	11
I.3. Pharmacologie et Toxicologie	11
I.3.1. Pharmacologie	12
I.3.2. Toxicologie.....	12
II. L'allélopathie	13
II.1. Définition de l'allélopathie.....	13
II.2. Voix de libération des composés allélopathie	13
Conclusion.....	14
Références bibliographiques.....	15

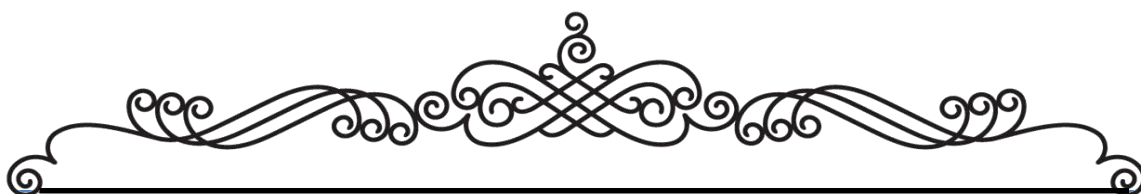
Chapitre II : Les métabolites secondaires	
Introduction	18
I. Métabolites des plantes médicinales.....	18
I.1. Définition des métabolites primaires.....	18
I.2. Définition des métabolites secondaire.....	19
I.3. Le rôle biologique de métabolite secondaire	19
II. Classification des métabolites secondaires.....	19
II.1. Les composés phénoliques (polyphénols).....	19
II.1.1. Définition	19
II.1.2. Classification des composés phénoliques.....	20
II.1.2.1. Les acides phénoliques	20
II.1.2.1.1. Définition	20
II.1.2.1.2. Classification des acides phénoliques.....	20
II.1.2.1.3. Intérêt biologique des acides phénoliques.....	22
II.1.2.2. Flavonoïdes.....	22
II.1.2.2.1. Définition.....	22
II.1.2.2.2. Classification des flavonoïdes	22
II.1.2.2.3. Intérêts biologiques des flavonoïdes.....	25
II.1.2.3. Les tanins.....	25
II.1.2.3.1. Définition.....	25
II.1.2.3.2. Classification des tanins.....	25
II.1.2.3.3. Utilisation des tanins.....	27
II.1.2.4. Les coumarines.....	27
II.1.2.4.1. Définition.....	27
II.1.2.4.2. Classification des coumarines.....	28
II.1.2.4.3. Intérêt biologique des coumarines	29
II.2. Les terpènes	29
II.2.1. Définition	29
II.2.2. Classification des terpènes	29
II.3. Les alcaloïdes.....	31
II.3.1. Définition	31
II.3.2. Classification des alcaloïdes	32

II.3.3. Activités biologiques des alcaloïdes	33
II.4. Les saponines	33
II.4.1. Définition	33
II.4.2. Classifications des saponines.....	33
II.5. Les stérols.....	35
II.6. Les huiles essentielles	35
II.6.1. Définition des huiles essentielles.....	35
II.6.2. Propriétés des huiles essentielles	36
II.6.2.1. Propriétés physiques.....	36
II.6.2.2. Propriétés chimiques.....	36
II.6.3. Rôle des huiles essentielles chez les plantes.....	36
II.6.4. Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	36
II.6.4.1. En pharmacie.....	37
II.6.4.2. Parfumerie et cosmétologie	37
II.6.4.3. En industrie alimentaire.....	37
II.6.4.4. En agriculture.....	38
III. Molécules actives d'Ephédra alata.....	38
III.1. Éphédrine.....	38
III.1.1. Effets sur le système nerveux central	38
III.1.2. Anesthésie rachidienne	38
III.1.3. Effets cardiovasculaires	38
III.1.4. Effets sur les voies respiratoires	39
III.1.5. Décongestion nasale	39
III.1.6. Mydriasis	39
III.1.7. Enurésienocturne	39
III.1.8. Effet de perte du poids	39
Conclusion.....	39
Références bibliographiques.....	40
Chapitre IV : Activités biologiques	
Introduction	46
I. Activité antioxydante	46
I.1. Le stress oxydant.....	47

I.1.1. Définition du stress oxydant.....	47
I.1.2. Maladies liées aux stress oxydatif.....	47
I.2. Les radicaux libre.....	48
I.2.1. Définition des radicaux libre.....	48
I.2.2. Différents types des radicaux libres.....	48
I.3. Antioxydants.....	48
I.3.1. Définition des antioxydants.....	48
I.3.2. Les systèmes de défense antioxydants.....	49
I.3.2.1. Les antioxydants enzymatiques	49
I.3.2.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	49
I.3.4. Principe des antioxydants.....	51
I.3.5. Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante.....	52
II. Activité antibactérienne.....	52
II.1. Définition des bactéries	53
II.2. Description des bactéries étudiées.....	53
Conclusion.....	55
Références bibliographiques.....	56
Chapitre IV : Etude structurale	
Introduction	59
I. La spectroscopie infrarouge (IR).....	59
II. La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	60
III. Logiciels utilisés.....	61
III.1. Logiciel Gaussian 09	61
III.2. Utilisation de logiciel Gaussian 09	61
III.3. Logiciel GAUSS VIEW 6.0.....	62
III.4. Méthodes de la Fonctionnelle de la Densité (DFT)	63
Conclusion.....	63
Références bibliographiques	64

Partie Expérimentale	
Chapitre V : Matériel et méthodes	
I. L'objectif de l'étude.....	67
II. Matériel végétale	67
II.1. Préparation de la matière végétale	67
II.2. Présentation du site de récolte « Chechar »	68
III. Screening phytochimique	68
III.1. Préparation de l'extrait	68
III.2. Détermination du rendement.....	70
III.3. Les tests phytochimiques	71
IV. Les activités biologiques	72
IV.1. Première partie : L'activité antioxydante.....	72
IV.1.1. Matériels et produits	73
IV.1.2. Mode opératoires.....	73
IV.1.3. Expression des résultats.....	73
IV.2. La deuxième partie : Activité antibactérienne	74
IV.2.1. Les souches testées.....	75
IV.2.2. Matériels et produits	75
IV.2.3. Les milieux de culture.....	76
IV.2.4. Mode opératoire	76
IV.2.4.1. Stérilisation des matériels.....	76
IV.2.4.2. Préparation des suspensions.....	76
IV.2.4.3. Préparation des boîtes	76
IV.2.4.4. Ensemencement.....	76
IV.2.4.5. Application des disques.....	77
IV.2.4.6. La lecture	78
Références bibliographiques.....	79

Chapitre VI : Résultat et discussion	
I. Screening phytochimique.....	82
I.1.Rendement d'extrait méthanolique.....	82
I.2.Testes phytochimiques.....	82
II. Activités biologiques	84
II.1. Evaluation de l'activité antioxydante	84
II.2. Evaluation de l'activité antibactérienne	85
III. Etude structurale.....	87
III.1. Objectif de l'étude	87
III.2. Les différentes étapes d'utilisation de logiciel GAUSSIAN 09	87.....
III.3. Analyse de spectre IR de la molécule d'éphédrine	88
III.4. Les spectres RMN de C ¹³ et H ¹ de la molécule d'éphédrine.....	89
III.4.1. Analyse de spectre RMN H ¹ de C ₁₀ H ₁₅ NO.....	89
III.4.2. Analyse de spectre RMN C ¹³ de C ₁₀ H ₁₅ NO	91
Références bibliographiques.....	93
Conclusion générale.....	95
Résumé	



Introduction générale



*Le but de la vie, ce n'est pas l'espoir de
devenir parfait, c'est la volonté d'être
toujours meilleur.*

Introduction générale

Depuis des nombreuses années, les plantes jouent un rôle important dans notre quotidien, ses utilisations n'étaient pas limitées dans la nutrition mais aussi dans l'usage thérapeutique. Ce dernier a été progressivement réalisé au fil du temps grâce à des expériences. C'est ainsi, qu'est née la discipline dénommée « phytothérapie » .

La phytothérapie est l'art d'utiliser les plantes pour se soigner. Du grec « phyton » qui signifie plante et « therapein » qui signifie soigner, il s'agit donc d'une thérapeutique allopathique (c'est-à-dire soigner par des substances qui ont l'effet inverse à la pathologie dont souffre le patient) destinée à prévenir et traiter des troubles fonctionnels et des états pathologiques par des plantes médicinales dénuées de toxicité dans les conditions normales d'utilisation [1].

Les plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs dites « métabolites secondaires » qui ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultent de réactions chimiques ultérieures, ils sont présents dans toutes les parties végétales (racine, graine, tige, fleurs, fruits ...) sa distribution varie d'une plante à l'autre. Parmi ces métabolites secondaires on retrouve, les acides phénoliques, les huiles essentielles, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins ...etc qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques.

Parmi les activités biologiques des plantes médicinales, ces dernières années l'attention s'est portée sur l'activité antioxydante en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques telles que les pathologies du cœur, le cancer, le diabète, l'hypertension, et la maladie d'Alzheimer en combattant le stress oxydant [2]. Aussi l'activité antibactérienne, actuellement le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse.

Selon, l'Organisation Mondiale de la Santé, plus de 80% de la population mondiale, recourt aux drogues essentiellement à base de matières végétales. De plus, près de 25% des prescriptions sont à base de plantes médicinales et environ 60 à 70% des médicaments antibactériens et anticancéreux sont des substances d'origine naturelle [3].

Les métabolites secondaires n'utilisent seulement dans le domaine de la thérapie mais ils ont également des utilisations dans de multiples et diverses industries économiques : Alimentation, agriculture, cosmétique, parfumeries

Introduction générale

L'Algérie qui occupe une place stratégique de par sa position géographique en Afrique et dans le bassin méditerranéen, offre une variété d'écosystèmes : écosystèmes forestiers, écosystèmes steppiques et écosystème saharien, qui lui confèrent une exceptionnelle richesse phytogénétique [4].

Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal se trouve le genre « Ephédra alata » qui appartient à la famille des Ephédraceae, c'est une plante très répandue dans les zones sahariennes de l'Algérie. Les extraits des tiges de cette plante sont largement utilisés dans la médecine traditionnelle contre la grippe, l'asthme, cancers ... etc. Aujourd'hui, l'Ephédra alata est entrée dans la médecine moderne.

L'objectif général de ce travail est de réaliser un screening phytochimique des principaux métabolites secondaires, l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne du Ephédra alata et aussi l'étude structurale de l'un des composés bioactifs de cette plante qui est l'éphédrine.

Dans le cadre de cette étude, ce mémoire est composé de deux parties :

La première partie propose une mise au point bibliographique. Elle est divisée en quatre chapitres.

Chapitre I : Présentation de la plante étudiée « Ephédra alata » avec sa description, composition, utilisation

Chapitre II : Généralité sur les métabolites secondaire de la plante.

Chapitre III : Décrit les activités biologiques qui on va étudier par cette plante.

Chapitre IV : Est un rappel sur les techniques spectrales et le logiciel Gaussian utilisées pour l'identification de composé bioactif de la plante étudiée, qui est « l'éphédrine ».

La deuxième partie concerne la partie expérimentale, qui comporte deux chapitres, l'un sur les matériels et les méthodes de travail ; Le deuxième chapitre regroupe l'ensemble des résultats qui seront suivis d'une discussion.

Enfin, nous avons terminés notre travail par une conclusion qui résume l'ensemble des résultats.

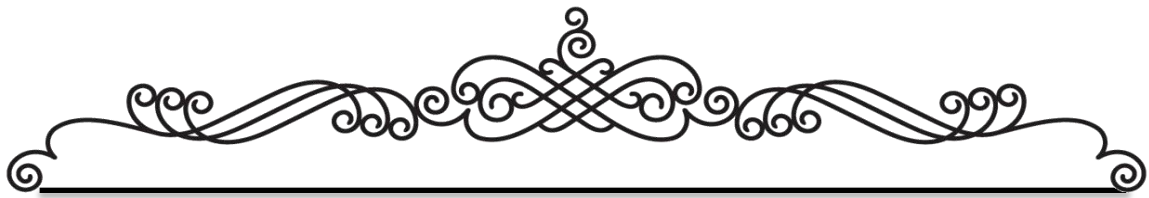
Références bibliographiques

[1] **Eline. PG. (2019).** Phytothérapie - exemples de pathologies courantes à l'officine : Fatigue, Insomnie, Stress, Constipation, Rhume, Douleur et Inflammation. These pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, p 17.

[2] **Meddour. A, Yahia. M, Benkiki.N, Ayachi. A. (2013).** Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du Capparis Spinosa L. Lebanese Science Journal, Vol. (14): 49-60.

[3] **Diallo. A. (2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologique de syzygiumguineense ; thèse de doctorat en pharmacie, université Bamako, Mali.

[4] **Benhouhou S., Benghanem A. N.,** Flore et végétation du Sahara algérien : synthèse et perspectives de recherche, colloques Sahara, IMBE, **28-29 Nov 2013**, Aix en Provence, Marseille



Partie bibliographique



Chapitre I :

Aperçu sur la plante Ephédra Alata



Le succès c'est d'aller d'échec en échec sans perdre son enthousiasme

Introduction :

Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus pour l'homme non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent souvent un bienfait à son organisme parfois affectent de troubles insidieux.

Depuis des milliers d'années, l'homme a utilisé les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies.

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs [1].

Et parmi ces plantes on trouve **l'Ephédra alata** qui est très répandu dans les zones sahariennes du sud Algérien et dont l'utilisation a considérablement augmenté récemment, en raison a plusieurs recherches qui affirme son effet anticancéreux dans plusieurs pays.

I. Généralités sur la plante :

I.1. Présentation de genre Ephédra :

L'Ephédra est probablement l'une des plus anciennes herbes médicinales connues de l'humanité appartenant à la famille d'Ephedraceae [2]. Historiquement, Ephédra a été employée dans la médecine chinoise pendant plus de 5000 années pour traiter asthme, froid commun, et bronchite .Malgré sa longue histoire l'utilisation de l'herbe d'Ephédra a diminué à travers les années, mais dans le début du 20ème siècle, l'intérêt pour l'herbe a graduellement rétabli, en particulier son utilisation aux USA pour la perte et l'exécution du poids [3]. Elle inclue environ de 60 espèces qui se répartissent presque dans le monde entier. Parmi eux, on mentionne : E. alata, E. distachya, E. majeur, E. sinica, E. foliata, E. fragilis, E. Californica, E. Nevadensis, E. aphylla, E. viridis.....etc) [4].

Les espèces de ce genre peuvent pousser dans des conditions semi-arides et désertiques, ce qui rend les six continents appropriés pour la croissance de ce genre. Ce dernier se développe habituellement dans des sols sableux, des pentes sèches et des côtés secs de montagnes et qui poussent surtout dans la Chine, l'Inde, l'Egypte, le Moyen-Orient, en Europe et dans les Amériques [5].

I.2. Sous l'espèce Ephédra alata :

I.2.1. Description botanique d'Ephédra alata :

Cette espèce, qui est réputée pour sa tolérance élevée à la carence en eau dans les régions sahariennes, est un arbuste de 1 à 3 mètres de haut, avec 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. Les fleurs sont en petits cônes blanchâtres, dioïques (fleurs mâles et femelles sur des pieds différents) et les fruits entourés de bractées largement membraneuses. Elle présente un système de racines latérales extrêmement puissant [6], représenté dans **la figure 1**.



Figure 1 : Ephédra alata.



Figure 2 : Branches fleuries d'Ephédra alata [7].

A : Fleurs mâles d E.alata

B : Fleurs femelles d E.alata

I.2.2 . Position systématique :

La systématique d'Ephédra alata, est donnée dans le tableau ci-dessous :

Tableau1 : Classification d'Ephédra alata [6].

Règne	Végétale
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Gymnospermes
Classe	Gnetopsida
Ordre	Ephedrales
Famille	Ephedraceae
Genre	Ephédra
Espèce	Ephédra alata

I.2.3 Répartition géographique :

L'espèce Ephédra alata est une plante médicinale appartenant au genre Ephédra originaire d'Asie, y compris l'Arabie Saoudite [8]. Elle est commune dans le Sahara du Maroc à la Libye jusqu'à l'Egypte et l'Arabie.

En Algérie, E. alata se trouve dans le Sahara septentrional et occidental au niveau des terrains sableux, des regs et les lits sablonneux des oueds. Elle est même rencontrée dans le sable de l'étage tropical et la Hamada de Tinghert [6].

Dans notre région la wilaya de kenchela : E. alata est une plante vivace qui grandit dans les collines de montagne et terres non agricoles et sur les banques des vallées sèches dans la région de Chechar (Tabergda, Siaire, Djalal, Chehada, Khirane, Désert El Mamcha, Village Nasseh et Henchir ...) [9].

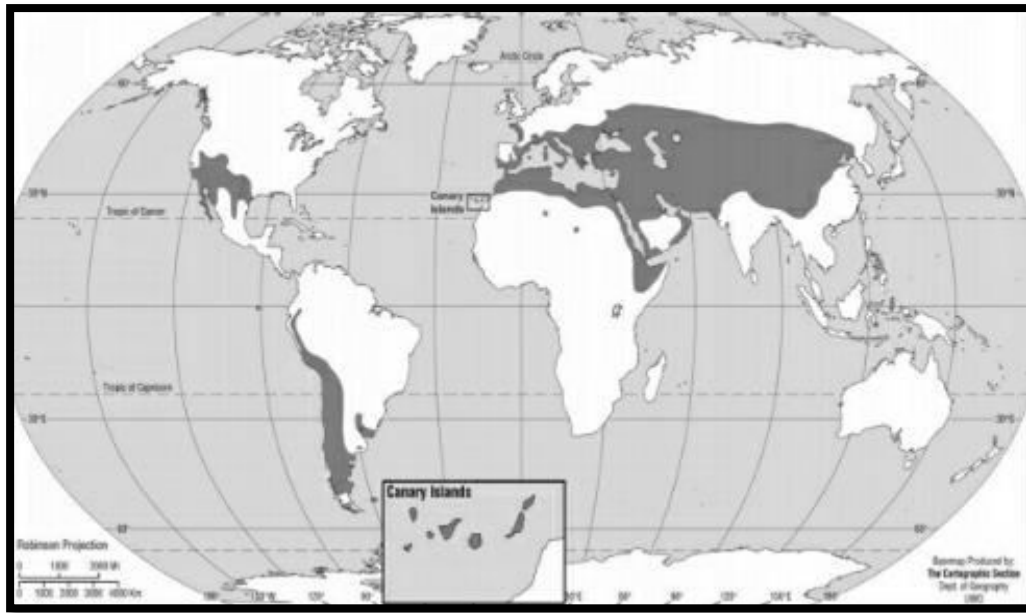


Figure 3 : Répartition géographique de l'Ephédra dans le monde [5].

I.2.4 . Composition chimique d'Ephédra alata :

Les constituants principaux de l'espèce *Ephédra alata* sont : Alcaloïdes, Acides phénoliques, Tanins, Flavonoïdes, Huiles essentielles et Saponines.

***Alcaloïdes** : Les parties aériennes des différentes espèces d'*Ephédra* contiennent de 0,02% à 3,4 % d'Alcaloïdes concentrés dans les entre-nœuds. Environ 80% de ces Alcaloïdes sont représentés par l'Ephédrine qui est connu pour être la substance active de ce genre, on trouve aussi la Pseudoéphédrine, la Norephedrine et la Méthyléphédrine.

***Acides phénoliques** : L'*E.alata* contient divers composés phénoliques, parmi lesquelles on note acide Trans-cinnamique, Catéchine, Syringine, Epicatéchine, Eymplcoside ... qui contribuent de manière significative à l'activité antioxydant de la plante.

***Tanins** : principalement les Proanthocyanidines sont produits en grande quantité dans les tiges de cette plante, lui conférant son goût astreignant.

***Flavonoïdes** : Les flavonoïdes isolés chez *Ephédra alata* sont de type Flavone dont : Herbacetine, Lucenine, Apigenin, Kaempferol 3-Rhamnoside ...etc.

Chapitre I :Aperçu sur la plante Ephédra alata

* **Huile essentielle** : les principaux constituants d'huile essentielle du genre Ephédra sont : α -Terpinéol, Terpinen-4-ol, Linalool, P-Vinylanisole, 3-Méthyl-2-Butén-1-ol, Phytol, γ -Eudesmol et Tétraméthylpyrazine [10].

I.2.5 . Utilisation d'Ephédra alata en médecine traditionnelle :

Cette espèce est bien utilisée dans le domaine de la médecine traditionnelle notamment dans les pays arabes, par l'utilisation des jeunes tiges [3]. Ces tiges sont généralement bouillies environ 30 minutes dans l'eau et la décoction est consommée par voie orale comme thé chaud à une dose de 1,5 à 9 g d'herbe [11].

En Médecine traditionnelle chinoise, l'éphédra est utile pour traiter les infections respiratoires, l'asthme, l'eczéma, la rhinite allergique (rhume des foins), l'œdème et la narcolepsie [12].

La plante était aussi traditionnellement utilisée en Russie pour le traitement respiratoire troubles et rhumatismes pendant de nombreux siècles [13].

En Egypte, E.alata est utilisée en médecine traditionnelle comme dépurative, hypotensive, antiasthmatique et agent astringent [14].

En Maroc, la poudre d'E.alata est utilisée comme un traitement contre le diabète [15].

En Palestine, elle est utilisée pour traiter les allergies, l'asthme bronchique, les frissons, le rhume, la toux, la fièvre, la grippe et les maux de tête [2]. Et pour le traitement du cancer [11].

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 [16].

I .3. Pharmacologie et Toxicologie :

Les effets pharmacologiques et toxicologique de cet arbuste semble être attribuable à ses alcaloïdes de types : (-) éphédrine et (+) pseudo-éphédrine [5]. Structuellement sont très proche de l'adrénaline.

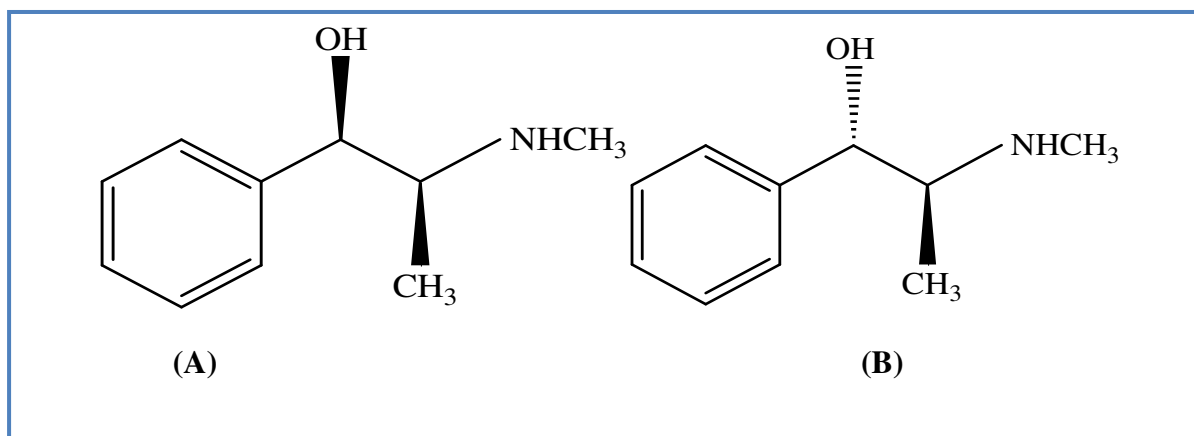


Figure 4 : Structure d'éphédrine et de La pseudo éphédrine.

(A) : (-) éphédrine

(B) : (+) pseudo-éphédrine

I.3.1. Pharmacologie :

La tige de l'Ephédra alata contient de l'éphédrine alcaloïde et le pseudo éphédrine qui est une autre substance présente en quantité importante dans l'Ephédra qui sont utilisées pour le traitement de certaines maladies graves : cancer ; maladies inflammatoires ; asthme ; maladies virales etc. et aussi contient des flavonoïdes qui constituent la catégorie la plus important de polyphénols qui sont des molécules très réputées pour leurs vertus antioxydants [12].

L'éphédrine stimule la fréquence cardiaque, augmente la tension artérielle, favorise le broncho dilatation, et montre des effets prononcés sur le système nerveux central (CNS) en liant aux récepteurs adrénergiques [17].

Aussi beaucoup de produits contenant de l'éphédrine sont efficaces pour la perte du poids et ceux-ci en augmentant la lipolyse et la glycogénolyse [18].

I.3.2. Toxicologie :

Les espèces de l'Ephédra ont des effets bénéfiques et néfastes. À fortes doses, l'éphédrine provoque de la nervosité, des maux de tête, de l'insomnie, des vertiges, des palpitations, des rougeurs de peau, des picotements et des vomissements [19].

Selon le manuel des médicaments en vente libre qui a noté : "Les principaux effets indésirables de l'éphédrine sont la stimulation du système nerveux central, les nausées, les tremblements, la tachycardie [battement de cœur rapide] et la rétention urinaire."

Chapitre I :Aperçu sur la plante Ephédra alata

L'éphédrine est contre indiqué chez les patients atteints de cardiopathie, d'hypertension, de maladie de la thyroïde, de diabète ou de miction difficile en raison d'une hypertrophie de la prostate [20].

II. L'allélopathie :

Les mauvaises herbes nuisibles ont de nombreux effets négatifs sur les cultures agricoles. C'est pour ça, les pesticides naturels ont été découverts pour réduire l'utilisation de pesticides chimiques qui contribuent quelque peu à la préservation de l'environnement.

II.1. Définition de l'allélopathie :

Le phénomène de l'allélopathie est connu depuis plus de 2000 ans. Ce phénomène consiste à l'interférence chimique d'une espèce végétale avec la germination, la croissance ou le développement d'autres espèces de plantes.

Le terme allélopathie a été présenté pour la première fois par Molisch en 1937. Ce terme est dérivé du mot grec « allelo » les uns des autres (Ang. of one another) et de «patheia» de souffrir (Ang. suffering) et indique l'effet préjudiciable de l'une sur l'autre, c'est à dire l'inhibition de la croissance d'une plante par une autre grâce à la production et la libération de substances chimiques toxiques dans l'environnement [21].

II.2. Voies de libération des composés allélopathiques :

Tous les organes végétaux contiennent des quantités variables de substances potentiellement allélopathiques qui sont libérées dans l'environnement par des voies diverses :

❖ Volatilisation

La libération de substances toxiques volatiles par les plantes est un phénomène écologiquement plus important dans les milieux arides ou semi-arides. Les substances émises par cette voie sont le plus souvent des mono terpènes simples [22].

❖ Exsudations racinaires

On appelle exsudats racinaires toutes les substances organiques solubles et insolubles libérées dans le sol par les racines saines ou lésées. L'exsudation racinaire présente un intérêt particulier pour les phénomènes allélopathiques parce qu'il s'agit d'une voie de libération directe des toxines dans la rhizosphère, pouvant ainsi potentiellement influencer la composition de la flore microbienne [22].

Chapitre I :Aperçu sur la plante Ephédra alata

❖ Le lessivage

Le lessivage de tissus végétaux, principalement de feuilles, par la pluie, le brouillard ou la neige conduit à la dissolution et au transport de constituants solubles vers le sol. La grande majorité des substances allélopathiques peut être lessivée, y compris les terpènes, les alcaloïdes et les substances phénoliques [23].

Conclusion :

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire de la plante Ephédra alata montre que cette plante est toujours occupée une place importante en médecine. Elle contient un mélange de composés bioactifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les saponosides ...etc, qui sont responsable sur leur effet thérapeutique.

Références bibliographiques

- [1] Benbott. M, Bouali. Y. (2018). Etude des activités biologiques de *Rosmarinus officinalis*-L des régions Ouargla et Ain M'Lila, p 5.
- [2] Al-Rimawi. F, Abu-Lafi. S, Abbadi. J, Alamarneh. A.A, Raneen. A, Sawahreh. A, Odeh. I. (2017). Analysis of phenolic and flavonoids of wild *Ephedra alata* plant extracts BYLC/PDA and LC/MS and their antioxidant activity, 14(2): 130-141.
- [3] Abourached. E, El-Alfy. A, Khan. I, Walker. L. (2003). *Ephedra* in perspective- a current review. 17: 703-712.
- [4] SHARMA. P, UNİYAL. P, TRIPITHL. SH, NEGL. S. (2015). Aflp based analysis of genetic diversity within section *pseudobaccatae* and *alatae* of the genus *ephedra* in western himalaya., vol. 2, issue 4, p 245-249.
- [5] Kebili. Z. (2016). Contribution à l'étude de quelques activités biologiques des extraits d'*Ephedra alata* de la région d'Ouargla. Mémoire du magister en Biochimie et Analyse des Bioproduits. Université Ksdi Merbah-Ouargla, p 3-6.
- [6] Ozenda. P. (1991). Flore et végétation du Sahara: Centre National De La Recherche Scientifique. 3ème édition, Paris, p 662.
- [7] Chaieb. M, Delaigue. M, Guittonneau. G, Arousseau. RP. (2008). Voyage botanique en Tunisie méridionale, faculté des sciences deSfax.
- [8] Al-Qarawi. A, Abd Allah. E, Hashem. A. (2012). Effect of *Ephedra alata* on nucleic acids and nitrogen metabolism of seedborne *Aspergillus flavus*. Pak. J. Bot. 44(1): 425-428.
- [9] Hakkar.R, Dekhil. D. (2017). Etude phytochimique et activités biologique de l'ephédra *sinica* une plante médicinale de l'est d'Algérie, (mastère GPe, université de kenchela), p 15.
- [10] Goussamia. S, Zoubiri. F. (2017). Étude de l'effet antioxydant de l'espèce *Ephédra alata* alenda de la région d'El Oued chez les rats Wistar albinos exposés à la Deltaméthrine, p 5-7.
- [11] 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. J Mater Environ Sci, 6(6), 1771-1778.

- [12] **Yahaioui. A, Silat. L. (2018).** Contribution à l'étude des extraits de l'espèce Ephédra alata Alanda de la région de Sigus, p 6.
- [13] **Al-Sanafi. AE. (2017).** Therapeutic importance of Ephedra alata and Ephedra folita-A review. Indo Am. J. P. Sci; 4(02): 399-406.
- [14] **Nawwar. MA, EL-Sissi. HI, Barakat. HH. (1984).** Flavonoid Constituents of Ephédra alata. 23(12): 2937-2939.
- [15] **Ghourri. M, Zidane. L, Douira. A. (2013).** Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). Journal of Animal & Plant Sciences, 17: 2388-2411.
- [16] **Ould El Hadj. M, Didi Hadj-Mahammed. M, Zabeirou. H. (2003).** Place Des Plantes Spontanées Dans La Médecine Traditionnelle De La Région D'Ouargla (Sahara Septentrional Est) Algérie, p 47-51.
- [17] **Ibragic. S, Sofia. E. (2015).** Chemical composition of various Ephedra species.
- [18] **Boozer. CN, Nasser. JA, Heymsfield. SB. (2001).** An herbal supplement containing ma-huang-guarana for weight loss: a randomized, double-blind trial. International journal obesity relat metab disord. 25: 316–324.
- [19] **Benaouda. N, Benkerroum. N. (2019).** Effet des extraits d'Ephédra alata sur la croissance d'Escherichia coli responsable des infections nosocomiales p 7.
- [20] **Blumenthal. M, King. P. (1995).** Ma huang: ancient herb, modern medicine, regulatory dilemma; a review of the botany, chemistry, medicinal uses, safety concerns, and legal status of ephedra and its alkaloids. American botanical council, 34: 22–27.
- [21] **Benmedour.T. (2009).** Etude du pouvoir allélopathique de l'Harmel (Peganumharmala L.), le laurier rose (Nerium oleander L.), et l'ailante (Ailanthus altissima) sur la germination de quelques mauvaises herbes des céréales. Thèse de magister, p 3.
- [22] **Bertin. C, Yang. X, Esyton. IA. (2003).** The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. Plant soil. 256 : 67.
- [23] **Tukey. HB, (1970).** The leaching of substances from plants. annu rev plant physiologic. 21:305-58.

Chapitre II :

Les métabolites secondaires



*La meilleure façon de prédire
l'avenir est de le créer*

Introduction :

Toutes les types de plantes ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (lipides, protéines, acides aminés et glucides). Les plantes produisent également un grand nombre de composés qui ne sont pas produit directement au cours du processus de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés « métabolites **secondaires** ».

De nos jours, un grand nombre de ces composés sont utilisés en médecine moderne. Nous citerons ci-dessous quelques importants groupes phytochimiques, source de molécules biologiquement actives.

I. Métabolites des plantes médicinales :

Les métabolites sont les molécules issues du métabolisme des végétaux, il existe deux grandes classes des métabolites : métabolites primaires et métabolites secondaires.

I.1. Définition des métabolites primaires :

Les métabolites primaires sont des molécules organiques caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme. Ils sont classés en :

- Les glucides représentent une source d'énergie surtout au niveau des parois cellulaire (cellulose).
- Les lipides constituent aussi une source d'énergie présente dans les membranes cellulaires.
- Les acides aminés représentent une source primaire de construction des protéines [1].

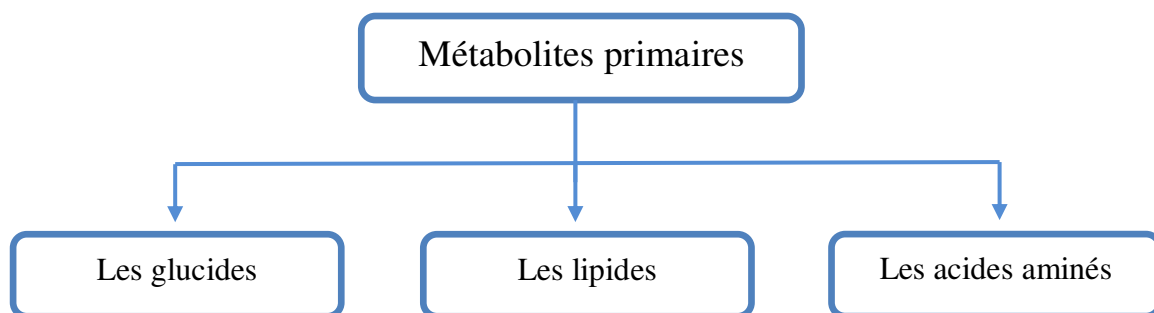


Figure 5 : Schéma de classification des métabolites primaires.

I.2. Définition des métabolites secondaire :

Le terme « métabolite secondaire », qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes [2].

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes leurs structure chimique est complexes, très dispersés et différents selon les espèces, il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leurs apparences chimiques [3].

I.3. Le rôle biologique de métabolite secondaire :

- ✓ Défense contre les herbivores (insectes, vertébrés...).
- ✓ Défense contre les moisissures et les bactéries.
- ✓ Défense contre les virus.
- ✓ Composés de Signal attirer pollinisateur et les animaux disperser les graines (disséminateur).
- ✓ La Protection contre les rayons UV ou autre stress physique [4].
- ✓ Ils représentent également une source importante de produits pharmaceutiques.

II. Classification des métabolites secondaires :

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : **les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes**. Chacune de ces classes renferment une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine [5].

II.1. Les composés phénoliques (polyphénols) :

II.1.1. Définition :

Les composés phénoliques représentent un large groupe de métabolites secondaires constituants des plantes, ils sont des alcools aromatiques où une ou plusieurs groupements hydroxyle est toujours attaché à un ou plusieurs cycles benzéniques. La structure des composés phénoliques varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) aux molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensées) avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées. Ces composés sont présents partout dans les racines, les tiges, les

Chapitre II : Les métabolites secondaires

fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin rouge, le thé, le café, les jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs [6].

II.1.2. Classification des composés phénoliques :

Les principaux sous classes des composés phénoliques sont : les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins et les coumarines.

II.1.2.1. Les acides phénoliques :

II.1.2.1.1. Définition :

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique [7].

II.1.2.1.2. Classification des acides phénoliques :

Les acides phénoliques sont divisés en deux classes : Acides hydroxybenzoïques et Acides hydroxycinnamiques.

❖ Acides hydroxybenzoïques :

Les acides hydroxybenzoïques présentent une structure en C₆-C₁, composés d'un noyau benzénique sur lequel vient s'attacher une chaîne aliphatique à un carbone. Ces composés sont universellement distribués dans le règne végétal, les plus répandus sont : l'acides gallique, protocatechuique, vanillique et syringique, représentés dans le tableau 2[8].

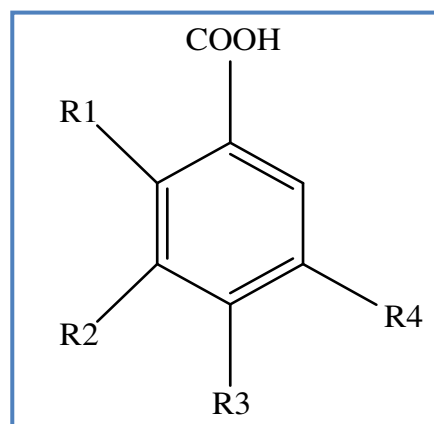


Figure 6 : Structure de base des acides hydroxybenzoïques.

Chapitre II : Les métabolites secondaires

Tableau 2 : Les principaux acides hydroxybenzoïques.

Composés	R1	R2	R3	R4
ac. Gallique	H	OH	OH	OH
ac .vanillique	H	OCH ₃	OH	H
ac .syringique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
ac.protocatéchique	H	OH	OH	H

❖ Acides hydroxycinnamiques :

Les acides hydroxycinnamiques (l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide sinapique sont les plus connus) représentent une classe très importante dont la structure de base (C6-C3) dérivée de celle de l'acide cinnamique [6-9], le tableau 3 représente les principaux acides hydroxycinnamiques.

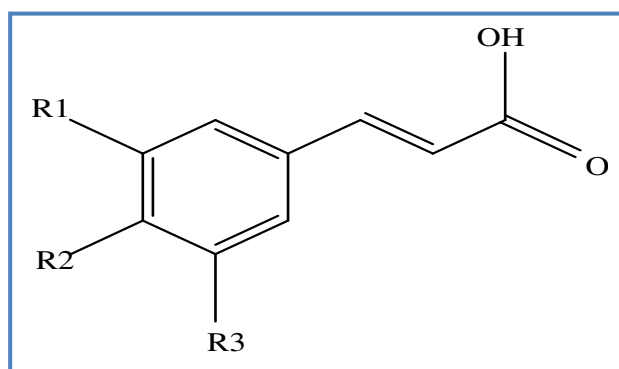


Figure 7 : Structure de base des acides hydroxycinnamiques.

Tableau3 : Les principaux acides hydroxycinnamique.

Composés	R1	R2	R3
ac. p-coumarique	H	OH	H
ac.férulique	OCH ₃	OH	H
ac.sinapique	OCH ₃	OH	OCH ₃
ac.caféique	OH	OH	H

II.1.2.1.3. Intérêt biologique des acides phénoliques :

Les acides phénoliques possèdent des propriétés biologiques intéressantes : anti-inflammatoires, antiseptiques, immunostimulants, antioxydants. Le mieux caractérisé pharmacologiquement, est l'acide caféique qui se montre très efficace contre les virus, les bactéries et les champignons [10]. L'acide gallique a pour pouvoir de réduire la viabilité des cellules cancéreuse du poumon chez les souris in vitro et que la combinaison de cet acide avec les médicaments anticancéreux tels la cisplatine peut être un traitement efficace pour ce type de cancer [11].

II.1.2.2. Flavonoïdes :

II.1.2.2.1. Définition :

Le terme flavonoïde (de flavus, « jaune » en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux, ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits.

Les flavonoïdes se trouvent également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant ces composés sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier [12].

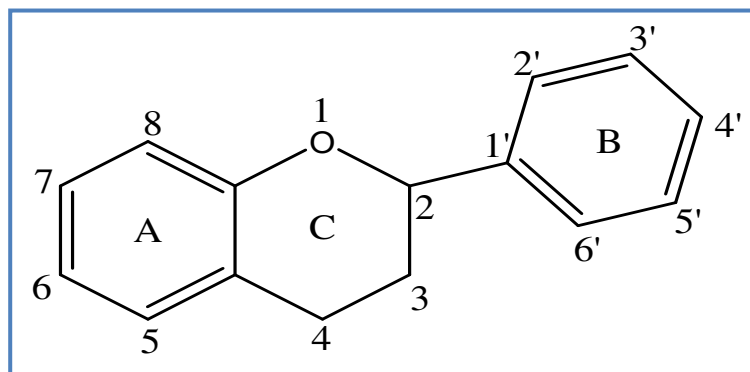


Figure 8 : Structure de base des flavonoïdes.

II.1.2.2.2. Classification des flavonoïdes :

Les groupes principaux sont les flavanols, les flavones, les flavonols, les flavanones, les isoflavones et les anthocyanes.

❖ Les flavones :

Les flavones (du latin flavus, jaune) sont une sous-famille des flavonoïdes dont la structure est basée sur la flavone (2-phényl-1-benzopyran-4-one ou 2-phénylchromén-4-one). Ce sont des colorants végétaux jaunes dont environ 300 composés naturels sont connus. Comme d'autres flavonoïdes (hypéroside, quercétrine), elles sont parfois présentes sous forme d'hétérosides solubles dans l'eau. Ils ont des activités physiologiques remarquables, notamment des propriétés antimicrobiennes et antivirales [13].

❖ Les flavonols :

Les flavonols sont un sous-groupe de flavonoïdes dérivés de la 3-hydroxyflavone (3-hydroxy-2-phénylchromén-4-one en nomenclature IUPAC), c'est-à-dire des flavonoïdes possédant un hydroxyle phénolique en C3 et une fonction carbonyle C=O en C4 sur l'hétérocycle central du squelette de base des flavonoïdes. Ce sont de pigments végétaux de couleur jaune plus ou moins clair. Ces dernières possèdent un très fort pouvoir antioxydant en raison de leur structure chimique favorable au piégeage des radicaux libres [14].

❖ Les flavanols :

Ils se distinguent des flavonones par l'absence à la position 4 d'un atome d'oxygène relié au carbone par une double liaison la plus rencontrée est la catéchine [15].

❖ Les flavanones :

Les flavanones sont un sous-groupe de flavonoïdes, dérivés 2,3-dihydrogénés des flavones. Elles sont généralement glycosylées par un disaccharide en position 7 pour donner des hétérosides de flavanones [16].

❖ Les anthocyanes :

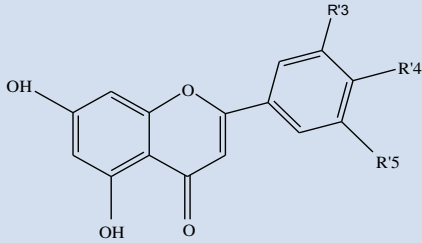
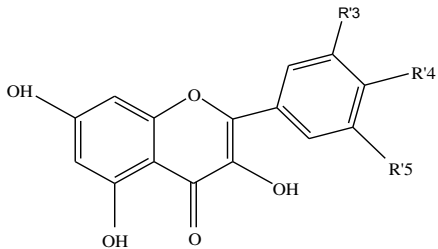
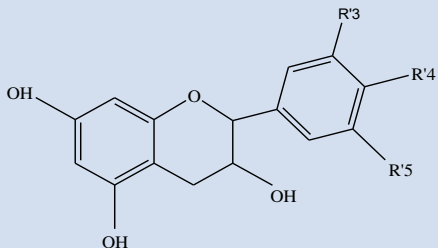
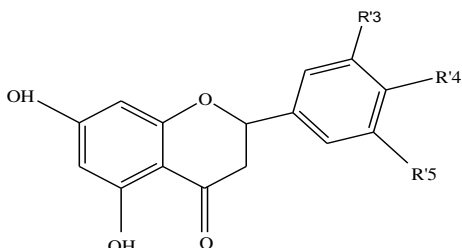
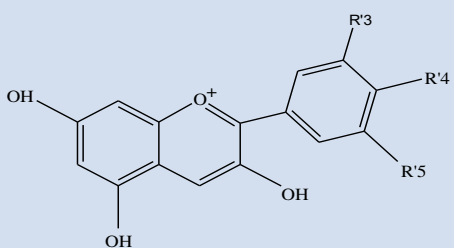
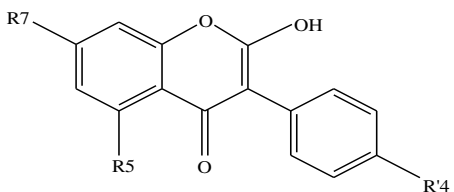
Les anthocyanes sont des pigments naturels qui donnent les couleurs à de nombreuses plantes. Ils sont responsables de la coloration (orange, rose, rouge, violet et bleue) de certaines fleurs (tulipe, rose, orchidée) et fruits (pomme, baies, raisin) [17].

❖ Les isoflavones :

Les isoflavones sont moins répandus taxonomiquement. Ces composés très actifs se trouvent essentiellement chez les légumineuses [18].

Chapitre II : Les métabolites secondaires

Tableau 4 : La structure des principales classes des flavonoïdes.

Classes	Structure chimique	R'3	R'4	R'5	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OCH ₃	H	Diosmétine
flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanes		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R7	R5	R'4	Genisteine
		OH	OH	OH	

II.1.2.2.3. Intérêts biologiques des flavonoïdes :

➤ Chez la plante :

Une des propriétés majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes et notamment à celle des fleurs. Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape fondamentale de sa reproduction. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes [19].

➤ Chez l'homme :

Les flavonoïdes peuvent jouer un rôle important dans la prévention de nombreuses maladies on mentionne quelques exemples :

Des expériences menées sur des souris ont montré que la quercétine et la quercétrine avaient une activité antidiarrhéique très importante. Aussi d'autres flavonoïdes, comme l'apigénine, ont été décrits comme des composés bactéricides et bactériostatiques très efficaces [20].

Aussi existe des flavonoïdes qui peuvent jouer un rôle important dans la prévention de cancer : Parmi les flavonoïdes les plus actifs sur les cellules tumorales, nous citons la quercétine et la catéchine qui sont très abondantes dans les aliments [21].

II.1.2.3. Les tanins :

II.1.2.3.1. Définition :

Les tanins se sont des substances d'origine végétale non azotée, de structure polyphénolique, solubles dans l'eau, l'alcool, l'acétone, peu soluble dans l'éther, de saveur astringente ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da. Ils sont répandus dans le règne végétal surtout certaines familles. Tous les organes peuvent en renfermer : racine, rhizome, écorce, feuille, fleur, fruits, cynorrhodons, graines, bois [9].

II.1.2.3.2. Classification des tanins:

Les tanins se classent généralement en deux groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés :

❖ Tanins hydrolysables :

Les tanins hydrolysables sont composés de deux types d'unités de base, à savoir un glucide (la plupart du temps le D-glucose) et des acides phénoliques. Il s'agit des gallotanins pour lesquelles le glucide est estérifié par l'acide gallique et des ellagitanins où le glucide est estérifié par l'acide ellagique [22].

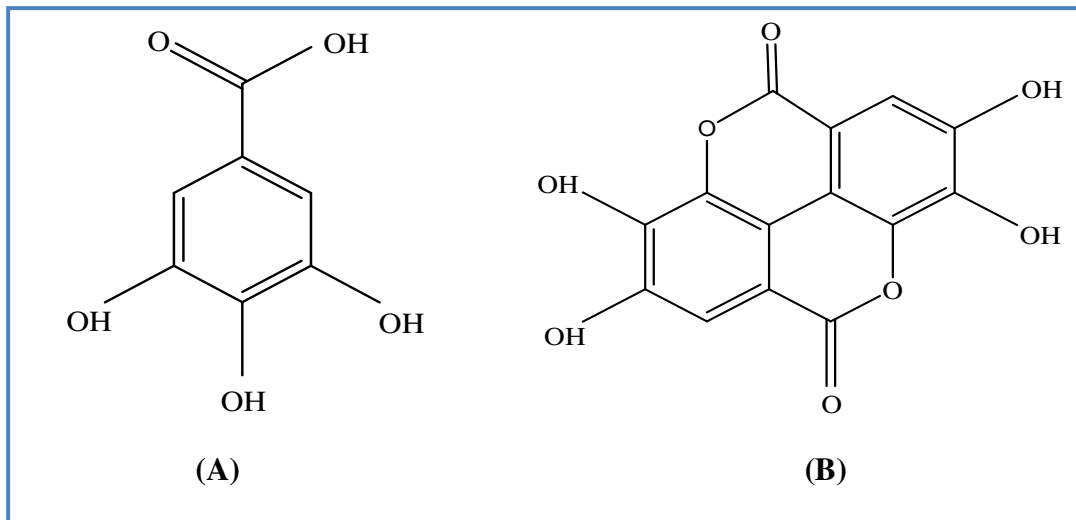


Figure 9 : Structures de l'acide gallique et ellagique.

(A) : Acide gallique.

(B) : Acide ellagique.

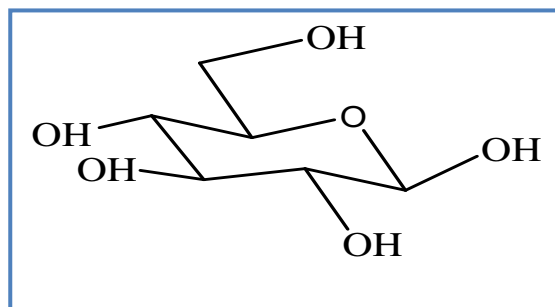


Figure 10 : Structure de D-glucose.

❖ Tanins condensés :

Tanins condensés qui se différencient fondamentalement des tanins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavanols constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone [7].

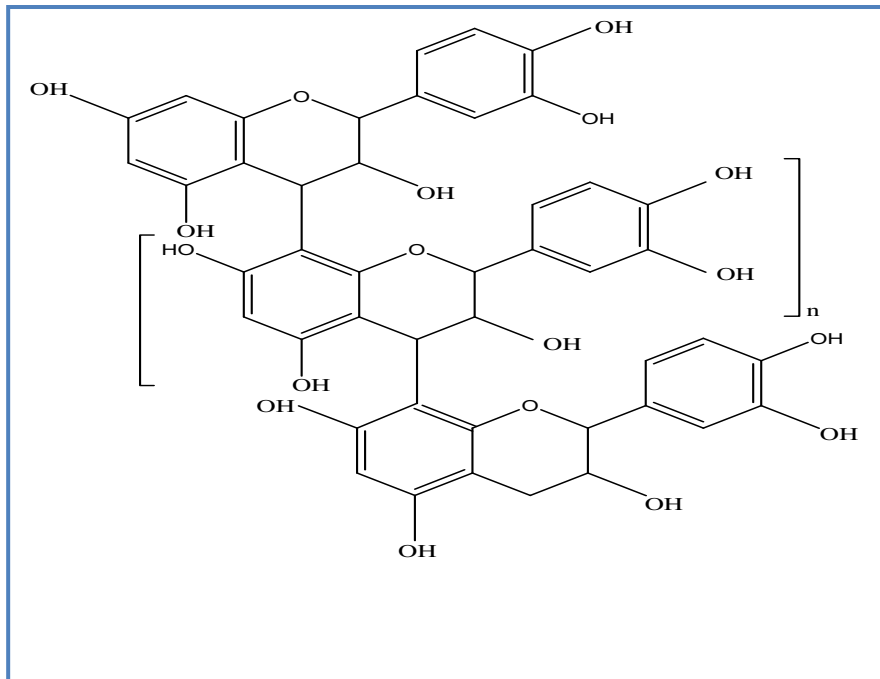


Figure 11 : Structure des tanins condensés.

II.1.2.3.3. Utilisation des tanins :

➤ En pharmacie :

Les plantes riches en tanins sont utilisées dans les cas de rhume, de maux de gorge, les problèmes de sécrétions trop importantes, les infections internes ou externes, blessures, coupures et brûlures [9]. En outre, Les tanins sont utilisés comme antidiarrhéiques, vasoconstricteurs et hémostatiques, mais surtout comme protecteurs veineux dans le traitement des varices et hémorroïdes [23].

➤ Dans l'industrie :

On utilise les tanins pour fixer la couleur et pour former des encres par des combinaisons avec les sels ferriques ils jouent le rôle d'une colle à papier [24].

II.1.2.4. Les coumarines :

II.1.2.4.1. Définition :

Historiquement, Le nom coumarine vient de « cumaru » qui représente en langue amazonienne, l'arbre de « Tonka », dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine. Ces composés ont été isolés pour la première fois en 1820. Elles sont présentes en quantités plus faible

Chapitre II : Les métabolites secondaires

dans plusieurs plantes comme le mélilot, la sauge sclarée et lavande, On la trouve aussi dans le miel, le thé vert, etc [25].

Les coumarines sont des substances phénoliques hétérocycliques oxygénées de la structure C₆- C₃. Elles sont trouvées dans les feuilles et les racines de la plante [26].

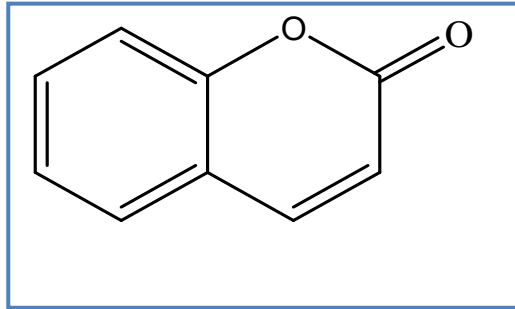


Figure 12 : Structure d'une molécule de coumarine.

II.1.2.4.2. Classification des coumarines :

On divise les coumarines en trois genres :

❖ Coumarines simples :

Les coumarines simples sont les plus répandues dans le règne végétal et possèdent des Substitutions (OH ou OCH₃) en 6 et 7. Cette classe comporte deux sous classes, les génines et les hétérosides [27].

❖ Furocoumarines :

Les furocoumarines sont des molécules tricycliques, produites par la combinaison de deux hétérocycles (coumarine et furane). Cette structure est caractérisée par la position du cycle furane qui permet de distinguer deux types de furocoumarines : les furocoumarines linéaires ou angulaires [28].

❖ Pyranocoumarines :

Ces composés formés par la fusion d'un hétérocycle pyrane avec la coumarine :

- 1- soit dans le prolongement (forme linéaire) : xanthyletine.
- 2- soit latéralement (forme angulaire) : seseline, visnadine[27].

II.1.2.4.3. Intérêt biologique des coumarines :

Les coumarines possèdent de nombreuses propriétés biochimiques et pharmacologiques on peut citer par exemple, de vasodilatation, anti-inflammatoire, antivirale, antimicrobienne, antifongique, anticancéreuse, d'inhibition d'enzyme [29].

II.2. Les terpènes :

II.2.1. Définition :

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est $(C_5H_8)_n$ dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 [30]. On les trouve dans les feuilles, tiges, fleurs et racines.

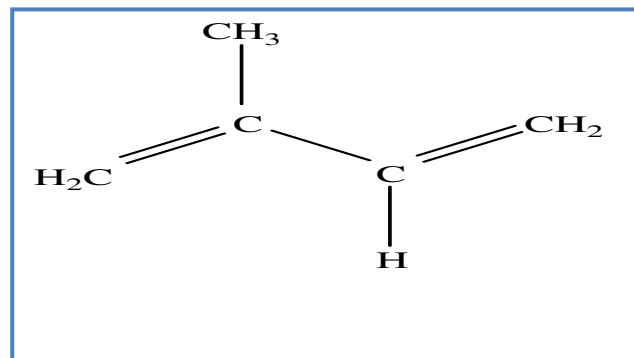


Figure 13 : Structure de base de terpène.

II.2.2. Classification des terpènes :

Parmi les principales classes de terpènes on mentionne : monoterpènes, Sesquiterpène

❖ Les monoterpènes :

Les monoterpènes présentent des structures relativement simples et sont généralement très volatils, sont les principaux constituants des huiles essentielles (représentent plus de 90%) [31], ils sont issus du couplage de deux unités d'isoprène (C_{10}), les variations structurales justifient l'existence de nombreuses molécules : alcool, phénols, aldéhydes, cétone, esters, éthers [9].

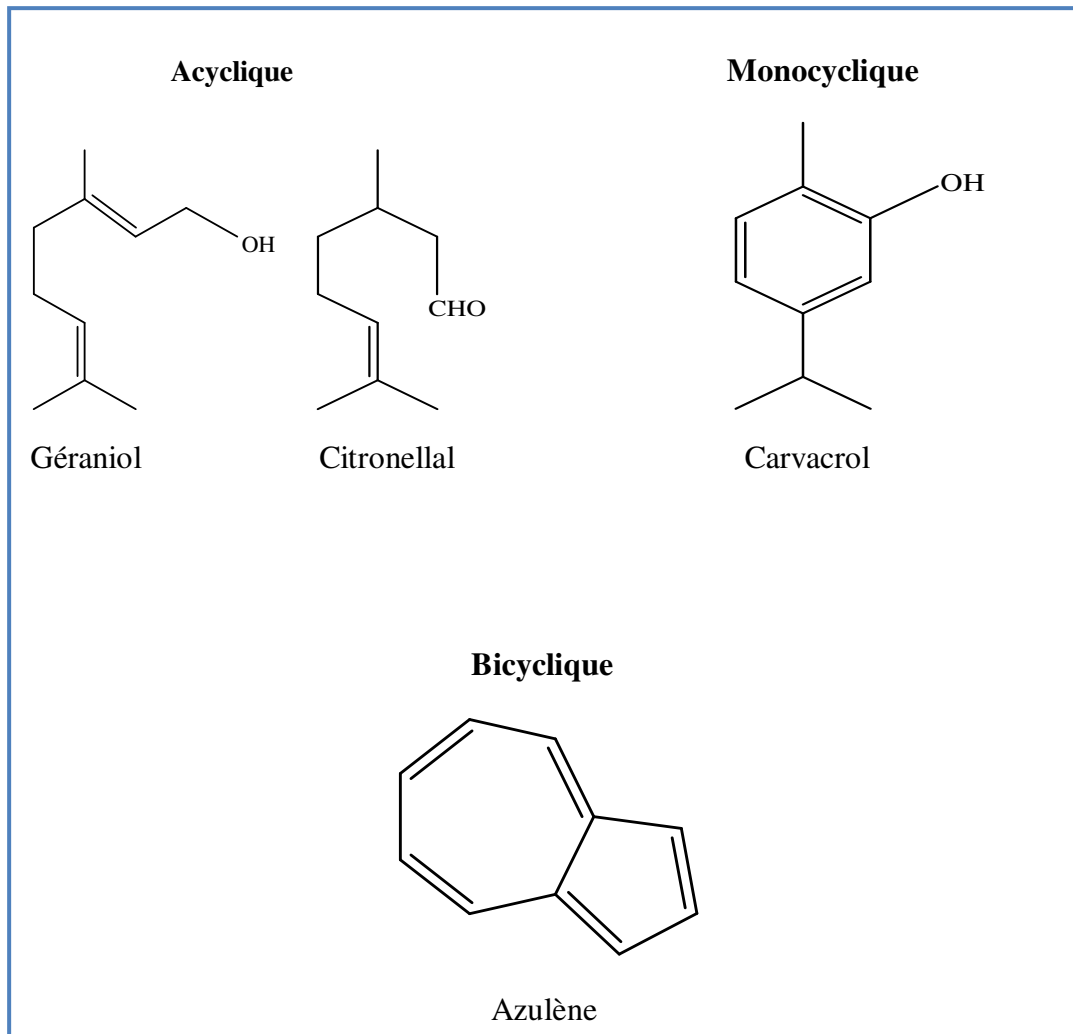


Figure 14 : Structures chimiques de quelques composés monoterpènes.

❖ Sesquiterpène :

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{24}$ (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurales, acyclique, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature [32].

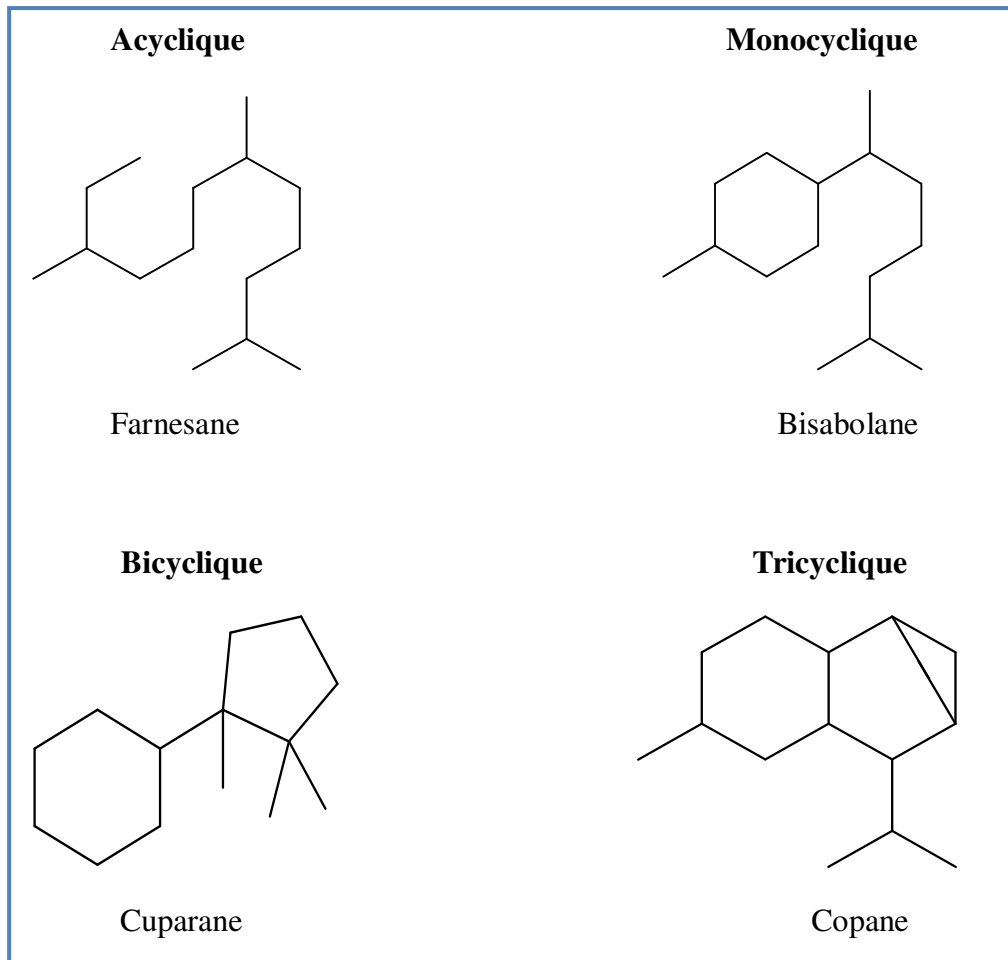


Figure 15 : Structures chimiques de quelques composés sesquiterpènes.

II.3. Les alcaloïdes :

II.3.1. Définition :

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique. Depuis l'identification du premier alcaloïde - à savoir la morphine- à partir de l'opium en 1806, plus de dix mille alcaloïdes ont été isolés des plantes.

Les alcaloïdes sont principalement extraits des plantes fleurissantes, mais on les trouve également chez quelques animaux. Ces composés peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais selon l'espèce de la plante, ils s'accumulent uniquement dans les écorces, dans les racines, dans les feuilles [33].

II.3.2. Classification des alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont classés en trois groupes :

❖ Les alcaloïdes vrais :

Les alcaloïdes vrais existent à l'état de sel et ils sont bio synthétiquement formés à partir d'un acide aminé.

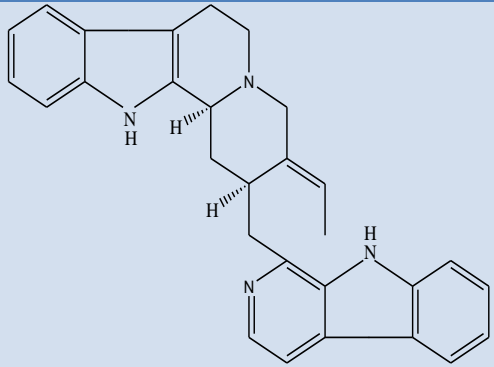
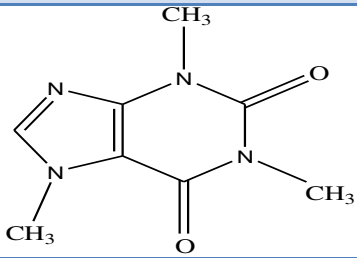
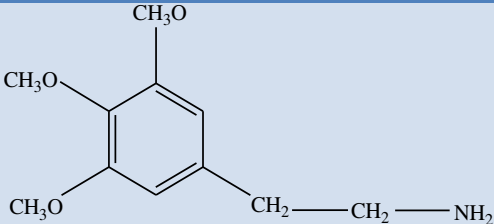
❖ Pseudo-alcaloïdes :

Les pseudo-alcaloïdes présentant le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés.

❖ Les proto-alcaloïdes :

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans système hétérocyclique [34].

Tableau 5 : Structures chimique de quelques alcaloïdes.

Classes	Exemple	La structure
Alcaloïdes vrais	Usambarensine	
Pseudo- alcaloïdes	La caféine	
Proto- alcaloïdes	La mescaline	

II.3.3. Activités biologiques des alcaloïdes :

➤ Chez les plantes:

Les plantes utilisent les alcaloïdes dans leur système de défense contre les herbivores et les prédateurs à cause de leur amertume et toxicité, ils pourraient être des produits d'excrétion du métabolisme azoté, et jouent un rôle de l'urée [30 ; 35].

➤ Chez l'homme :

Les alcaloïdes ont un rôle très important dans la stimulation du rythme cardiaque (le sel de sulfate de spartéine, isolée de *Cytisus scoparius*), il est également utilisé pour provoquer la contraction de l'utérus au cours de l'accouchement. Les alcaloïdes sont utilisés dans le traitement de l'asthme bronchique et comme médicament analgésique et antiallergique (L'éphédrine, isolée d'*Ephedra*), ils ont des propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes (La berbérine, isolée de *Berberis vulgaris*), et sont utiles dans le traitement de la maladie d'Alzheimer (la galanthamine agit en tant qu'inhibiteur compétitif de la cholinestérase) [33].

✚ Il excite aussi des autres métabolites secondaires tels que :

II.4. Les saponines :

II.4.1. Définition :

Le nom saponine dérive du mot latin « *sapo* », qui signifie savon, car ces composés peuvent former une mousse persistante une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou à plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur aspect moussant en solution aqueuse.

Les saponines sont des métabolites secondaires hétérosidiques présents dans de nombreuses plantes et quelques organismes marins ou ils auraient un rôle de défense contre des agents pathogènes (champignons, bactéries...) [36].

II.4.2. Classifications des saponines :

Les saponines sont des molécules possédant une partie hydrophile constituée d'oses et une partie lipophile communément appelée génine (aglycone ou sapogénine). Ces hétérosides

Chapitre II : Les métabolites secondaires

classés en deux groupes selon la nature de leur génine qui peut être stéroïdiques, soit triterpénique [37].

❖ Saponines à génines stéroïdiques :

Ils sont presque exclusivement présents chez les angiospermes monocotylédones et possèdent un squelette de 27 atomes de carbone qui comporte habituellement six cycles [38].

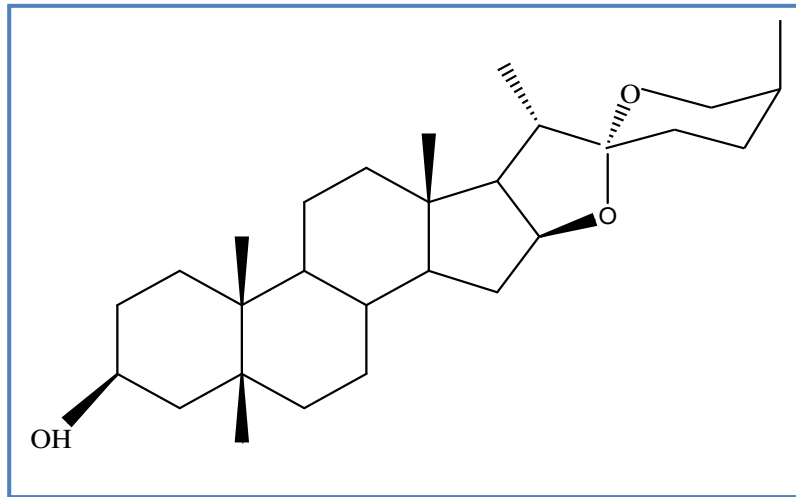


Figure 16 : Exemple de saponine à génine stéroïdique (spirostane).

❖ Saponines à génines triterpènes :

Ils sont principalement trouvés chez les Angiospermes Dicotylédones. Possèdent un squelette de 30 atomes de carbone et elles sont soit tétracyclique, soit pentacyclique [37].

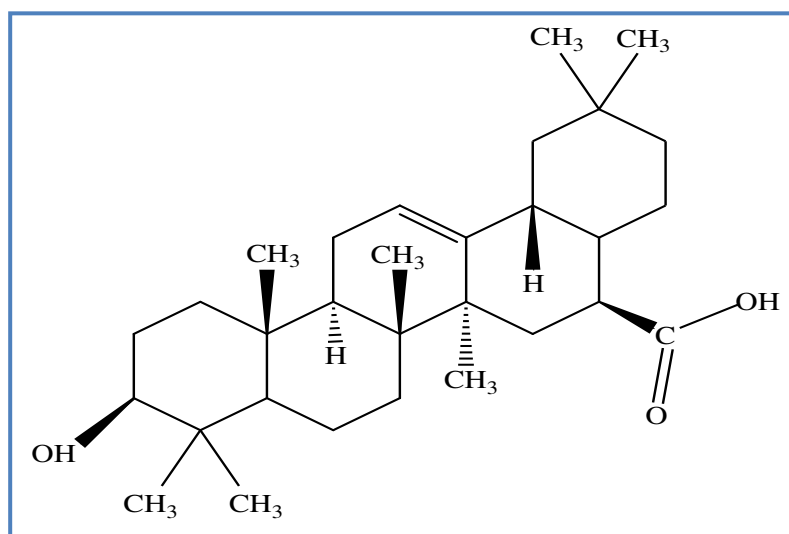


Figure 17 : Exemple de saponine à génine triterpène (Acide Oléanolique).

II.5. Les stérols :

Les stérols se trouvent dans de nombreux végétaux et plus particulièrement dans les céréales complètes ; les légumes frais et sec et les fruits. Ils sont présents dans la partie lipidique (graisse) des plantes. Ils ne peuvent pas être fabriqués par l'organisme humain ; ils ne peuvent être donc apportés à l'organisme que par l'alimentation. Ils possèdent structure proche de celle du cholestérol [39].

Ils se présentent sous forme d'alcool libre (sitostérol), ou sous forme des esters associés par le glucose (glucoside stérols) [9].

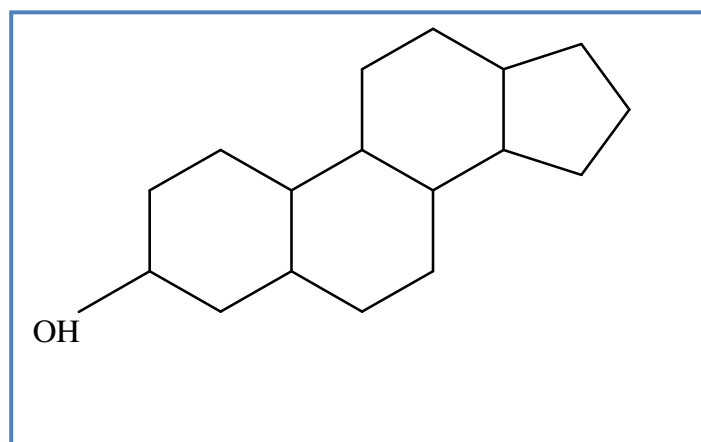


Figure 18 : Noyau de base des stérols.

II.6. Les huiles essentielles :

II.6.1. Définition des huiles essentielles :

Les huiles essentielles, appelées aussi (essences ; huiles volatiles), sont des liquides huileux aromatiques très concentrés renfermant des mélanges complexes des substances volatils constitués de plusieurs dizaines de composés [40], se retrouvent dans toutes les parties (Feuilles, racines, rhizomes, écorces, bois, fruits, graines...) de la plante. Les facteurs environnementaux comme la température, l'irradiante et la photopériode peuvent jouer un rôle primordial sur la qualité et la quantité de l'huile essentielle.

Selon la pharmacopée européenne : « L'huile essentielle est un Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent

Chapitre II : Les métabolites secondaires

séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » [41].

II.6.2. Propriétés des huiles essentielles :

II.6.2.1. Propriétés physiques :

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques : On trouve généralement les huiles essentielles incolores ou jaune pâle à l'état liquide à température ordinaire. Toutes les HEs sont volatiles, odorantes et inflammable. Elles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau (à l'exception des huiles essentielles de saffran, de girofle ou de cannelle) et un indice de réfraction élevé. Les HEs sont peu solubles dans l'eau, mais sont solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques [42].

II.6.2.2. Propriétés chimiques :

Les huiles essentielles s'oxydent à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène en même temps que leur odeur se modifie, leur point d'ébullition augmente et leur solubilité diminue [43]. Elles absorbent le chlore, le brome et l'iode avec un dégagement de chaleur. Elles peuvent se combiner à l'eau pour former des hydrates. Elles sont constituées de molécules à squelette carboné, le nombre de carbone étant compris entre 5 et 22 (le plus souvent 10 ou 15), Comme tous les produits végétaux, elles sont biodégradables et renouvelables dans la nature [44].

II.6.3. Rôle des huiles essentielles chez les plantes :

Le rôle exact des huiles essentielles produit par les plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires dans les processus de leur vie reste inconnu. Certains auteurs pensent que la plante utilise l'huile comme substance pour repousser ou attirer les insectes, dans le but de favoriser la pollinisation. D'autres considèrent l'huile comme source énergétique, facilitent certaines réactions chimiques, conservent l'humidité des plantes dans les climats désertiques [45].

II.6.4. Domaines d'utilisation des huiles essentielles :

En raison de leurs diverses propriétés, les huiles essentielles sont devenues une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance. En effet, elles sont commercialisées et présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels

Chapitre II : Les métabolites secondaires

comme en pharmacie par leurs pouvoirs, antispasmodique, antidiabétique, analgésique, apéritif, antiseptique..., en alimentation par leur activité antioxydant et leur effet aromatisant, en parfumerie et en cosmétique par leur propriété odoriférante.

II.6.4.1. En pharmacie :

Les essences issues des plantes sont utilisées en grande partie dans la préparation d'infusion (menthe, verveine, thym...) et sous la forme de préparations galéniques. Plus de 40% de médicaments sont à base de composants actifs de plantes, par exemple gastralgine est un digestif antiacide qui se compose d'huile essentielle de carvi. De même, elles permettent par leurs propriétés aromatisants de masquer l'odeur désagréable de médicaments absorbés par voie orale. Aussi beaucoup de médicaments vendus en pharmacie sont à base des huiles essentielles comme par exemple les collyres (goute), les crèmes, sirop... [46].

II.6.4.2. Parfumerie et cosmétologie :

Les d'huile essentielle sont recherchées dans l'industrie des parfums et des cosmétiques en raison de leurs propriétés odoriférantes. L'industrie de la parfumerie consomme d'importants tonnages d'essences (60%) en particulier celles de rose, de jasmin, de violette, de verveine... Les d'huile essentielle sont aussi consommées en cosmétologie pour parfumer les produits cosmétiques : les dentifrices, les shampoings, les crèmes solaires, les rouges à lèvres, les savons, etc.

Les produits d'hygiène, détergents et lessives par exemple, consomment eux aussi beaucoup des huiles essentielles pour masquer les odeurs (souvent peu agréables) des produits purs [47].

II.6.4.3. En industrie alimentaire :

Les huiles essentielles sont utilisées dans la conservation des denrées alimentaires. Parmi le groupe diversifié des constituants chimiques des HEs, le carvacrol, qui exerce une action antimicrobienne bien distinguée, est additionné à différents produits alimentaires en industrie agro-alimentaire [48].

Elles sont très utilisées également dans les arômes alimentaires, que ce soit dans le secteur des arômes sucré ou salés. Dans le domaine des arômes salés, une place de choix revient évidemment aux huiles essentielles d'épices et d'aromates. Celles-ci sont également utilisées

Chapitre II : Les métabolites secondaires

dans une moindre mesure dans le domaine des arômes sucrés, dans lequel les huiles essentielles d'agrumes sont largement représentées [49].

II.6.4.4. En agriculture :

Les pesticides naturels basés, notamment, sur les huiles essentielles représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons. Les huiles essentielles sont utilisées comme agent de lutte biologique dans plusieurs cas y compris le cas de niébé infectée par *Callosobruchus maculatus* [50].

III. Molécules actives d'*Ephédra alata* :

Il est présenté l'éphédrine et la pseudoéphédrine.

III.1. Éphédrine :

L'éphédrine et la pseudoéphédrine sont des stéréo-isomères ayant un effet β -adrénergique par actions directe et indirecte. Elles entraînent également une stimulation centrale de type « amphotaminique » de plus faible puissance.

III.1.1. Effets sur le système nerveux central :

L'éphédrine stimule le système nerveux central. Cet effet léger mais significatif peut durer plusieurs heures après administration orale (OMS, 1999) de 50 mg, en augmentant la vigilance et en améliorant l'humeur. Il est utilisé pour ses effets adrénergiques. Cependant, il est utilisé auparavant comme un outil utile stimulant dans la narcolepsie et l'intoxication dépressive [51].

III.1.2. Anesthésie rachidienne :

L'éphédrine est utilisée pour prévenir l'hypotension lors d'une intervention chirurgicale lors d'une excision de la colonne vertébrale par différentes doses (50 mg dans le muscle et 15 mg par voie intraveineuse). L'action stimulante de l'éphédrine peut être contrôlée par un traitement pré-anesthésique adéquat [51].

III.1.3. Effets cardiovasculaires :

Les effets cardiovasculaires de l'éphédrine comprennent une augmentation du débit cardiaque et une résistance vasculaire périphérique accrue, deux facteurs conduisant à une

Chapitre II : Les métabolites secondaires

augmentation de la pression artérielle. Pour cette raison, l'éphédrine est utile pour le traitement de l'hypotension aiguë [52].

III.1.4. Effets sur les voies respiratoires :

En activant les β -adrénergiques dans les poumons, l'éphédrine dilate les bronches en relâchant les muscles bronchiques [53].

III.1.5. Décongestion nasale :

L'éphédrine est utilisée en injection topique sur les muqueuses du nasal pour déterminer son effet sur les membranes, en entraînant une action vasoconstriction sur la muqueuse nasal [54].

III.1.6. Mydriasis :

La mydriasis produite par l'éphédrine est appliquée localement sur la conjonctive, ainsi que par absorption systémique [55].

III.1.7. Enurésienocturne :

Les comprimées de chlorhydrate d'éphédrine sont utilisés pour contrôler l'énurésie nocturne. Il est apparu qu'ils améliorent la fonction du sphincter one interne, en empêchant ainsi une miction incontrôlée [56].

III.1.8. Effet de perte du poids :

Les espèces du genre Ephédra sont utilisées pour améliorer les performances physiques, la suppression de l'appétit et la perte de poids. Plusieurs études ont montré que l'éphédrine est utilisée pour la perte de poids à long terme. En outre, l'éphédrine a provoqué une augmentation des taux du métabolisme basal qui contribue à la perte de poids [57].

Conclusion :

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante. Les métabolites secondaires n'utilisent seulement dans la cadre de la thérapie mais ils sont aussi des utilisations dans divers secteurs économiques.

Références bibliographiques

- [1] **DIALLO. D. (2000).** Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study four of them : *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), *Diospyros.*, Thèse de doctorat, Lausanne, p 148-176.
- [2] **Guillaume. J. (2008).** Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Biochimie et moléculaire ; Thème, Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale : *Euphorbiacharacias L.*
- [3] **Fouche. JG, Marquet. A, Hambuckers. A. (2000).** Les plantes médicinales, de la plante au médicament. Observatoire du monde des plantes Sart-Tilman.
- [4] **Wink. M. (2010).** Biochemistry of plant secondary metabolism. Annual plant reviews Blackwell Publishing Ltd, p 11-15.
- [5] **Krief. S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse de doctorat, muséum national d'histoire naturelle, p 32.
- [6] **Macheix. JJ, Fleuriet. A, Jay-Allemand. C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses polytechniques.
- [7] **Bruneton. J. (1993).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales; 2eme edd; lavoisier techniques et documentation; Paris.
- [8] **Crozier. A, Clifford. MN, Ashihara. H. (2006).** Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet. Ed Blackwell Publishing Ltd, p 371.
- [9] **Bruneton. J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed. Médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris.
- [10] **Cowan. MM. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. Clin. Microbiol Re, 12 (4): 564- 582.
- [11] **Rangkadilok. N, Sitthimonchai. S, Worasuttayangkurn. L, Mahidol. C, Ruchirawat. M, Satayavivad. J. (2007).** Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruits extract. Food Chem. Toxicol, 45: 328-336.

- [12] **Bouakaz. I. (2006).** Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna.
- [13] **Stafford. H A. (1990).** Flavonoid metabolism. CRC Press, Boca Raton, FL, p 298.
- [14] **Liu. H, Zhang. L, Lu. S. (2012).** Evaluation of antioxidant and immunity activities of quercetin in isoproterenol-treated rats. *Molecules*, 17: 4281–4291.
- [15] **GUESSOUM.D, LECHEHEB. H. (2015).** Contribution à l'étude phytochimique des flavonoïdes Chez *Urtica dioica* L. et évaluation de leur Pouvoir antibactérien, p 18.
- [16] **Nkhili .EZ. (2009).** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de Doctorat en Sciences des Aliments. Université Cadi Ayyad, Marrakech. Maroc, p 327.
- [17] **Castaneda-Ovando. A, Pacheco-Hernández. ML, Elena Páez-Hernández. ME, Rodríguez. JA, Carlos Andrés Galán-Vida. CA. (2009).** Chemical studies of anthocyanins: a review. *Food Chemistry*, 113(4)-859–871.
- [18] **Harborne. JB. (Eds). (1994).** Phytochemical dictionary of the leguminosae, vol.1, Chapman and Hall, London, pp. XX-XXII.
- [19] **Alibert. G, Rangiva. R, Boudet. MA. (1997).** Organisation subcellulaire : voies de synthèse des composés phénoliques ; *Physiol.* 15 : 279-301.
- [20] **Martini . A, Katerere. DR, Eloff. JN. (2004).** Seven flavonoids with antibacterial activity isolated from *Combretum erythrophyllum*. *J. Ethnopharmacol*, 93(2-3) : 207-12.
- [21] **Tomofuji. T, Ekuni. D, Irie. K, Azuma. T, Endo. Y, Tamaki. N, Sanbe. T, Murakami. J, Yamamoto. T, Morita. M. (2009).** Preventive effects of a cocoa-enriched diet on gingival oxidative stress in experimental periodontitis. *J. Periodontol*, 80 (11): 1799-808.
- [22] **Kogel-Knabner. I. (2002).** The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology and biochemistry*, 34 :139-162.
- [23] **Paris. M, Hurabielle. (1981).** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris, p 102-103-104-107.

[24] **Rehouma. G. (2018)**. Aspects phytochimiques de l'Ephedra alata et ses effets sanitaires, p 19.

[25]**Hamimed. S. (2009)**. « Caractérisation chimique des principes à effet antidermatophyte des racines d'Anacyclus pyrethrum L. », thèse de magister université Mentouri Constantine.

[26]**Donatien. K. (2009)**. Enquête Ethnobotanique de six plantes médicinales Maliennes extraction, identification, d'alcaloïdes caractérisations, quantification de polyphénols : Etude de leur activité antioxydante.

[27] **Harkati. B. (2011)**. Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille asteraceae: Scorzonera Undulata, Thèse de doctorat: Chimie Organique Option Phytochimie. Constantine: L'université Mentouri, p 145.

[28] **Bourgaud. F, Hehn. A, Larbat. R, Doerper. S, Gontier. E, Kellner. S, Matern. U. (2006)**. Biosynthesis of coumarins in plants: A major pathway still to be unravelled for cytochrome enzymes. Phytochemistry Reviews, p293-308-450.

[29]**Ho. PC, Saville. DJ, Wanwimolruk. S. (2001)**. Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Inhibition of human CYP3A4 activity by grapefruit flavonoids, furanocoumarins and related compounds, p 217.

[30]**Merghem. R. (2009)**. livre des éléments de biochimie végétale, p 23-98-107-111-112-113-115-116-118-120-121-124-127-135-137-143-144-152-153-157-158.

[31] **Collet.E. (2002)**. Progrès en Dermato- Allergologie, Ed. John Libbey Eurotext, Dijon, p 26.

[32]**Padua. LS, Bunyapraphatsara. N, Lemmens. RHMJ. (1999)**. Plant Resources of South-East Asia, p 12.

[33]**Mauro. NM. (2006)**. Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine. Thèse de doctorat : chimie. Université Joseph Fourier Grenoble I, p 181.

[34] **Gravot. A. (2009)**. Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux, Rennes : Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV, p 15.

- [35] **Guignard. JL, Cosson. L, Henry. H. (2002).** Abrégé de phytochimie. Ed. Masson, Paris, p 224.
- [36] **Kone. D. (2009).** Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes extraction, identification d'alcaloïdes-caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydant. Thèse de Doctorat. France: L'université Paul Verlaine de Metz – UPVM, p 22.
- [37] **Martin. C. (2004).** Hémisynthèse de saponosides à hédéragénine. Etude de l'influence de la chaîne osidique sur l'activité hémolytique. Thèse de doctorat. Paris(France) : L'université de Reims Champagne-Ardenne, p10-11.
- [38] **Raju. J, Jagan. M, Patlolla. R, Malisetty. V, Swamy. V, Chinthalapally. R. (2004).** Diosgenin, a steroid saponin of *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek), inhibits Azoxymethane-induced aberrant crypt foci formation in F344 rats and induces Apoptosis in HT-29 human colon cancer cells. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 13 (8): 1393-1398.
- [39] **Menard.C. (2016).** Quelle alimentation pour l'excès de cholestérol.
- [40] **Raul.L, OCHOA.H. (2005).** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant/actif » D'origine végétale. Thèse De L'institut National Polytechnique De Toulouse.
- [41] **Bencheikh. SE. (2017).** Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium* ssp *Aurasianum* Labiatae.
- [42] **Jacques.G, Paltz.SA.(1997).** Le fascinant pouvoir des huiles essentielles. Fascicule du laboratoire "Jacque Paltz".
- [43] **Terdazi. W, Ait Yacine. Z, Oussama. A. (2010).** Etude comparative de la stabilité de l'huile d'olive de la Picholine marocaine et de l'Arbéquine. *Olivae*, p 113-22- 26.
- [44] **Clodoveo. ML. (2012).** Malaxation: Influence on virgin olive oil quality. Past, present and future – An overview. *Trends in Food Science & Technology*, 25:13-23.
- [45] **Belaiche. P. (1979).** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1. l'aromatogramme Ed. Maloine. Paris

- [46] **Richard, J. A(1999).**Toxicology Brief.
- [47] **Seu-Saberno. M, Blakeway. J. (1984).** « Le mouse de chêne, une base de la parfumerie», Pour la science, Edition Française de Scientifique American, p 83.
- [48]**Rhayour. K. (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse doctorat en Biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, p 170.
- [49] **Fernandez. X, Chemat. F. (2012).** La chimie des huiles essentielles. Ed. Vuibert,p 274.
- [50] **Dayan. F, Cantrell CL, Duke. SO. (2009).** Natural products in crop protection. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17(12), 4022-4034.
- [51] **EBADI M., (2007).** pharmacodynamics basis of herbal medicine. 2nd ed. crc press,Taylor Francis group 2007: 311-318.
- [52] **ANDRAWS R., CHAWLA P., AND BROWN DL., (2005).** cardiovascular effects ofephedra alkaloids: a comprehensive review. *progress in cardiovascular diseases* 47: 217–225.
- [53] **E, OLIVIER. P,2003-** adverse cardiovascular and central neurologic reactions to sympathomimetics used as nasal decongestants: results of the French national pharmacovigilance survey. *therapy*. 2003; 58:361-6. mise a jour., vol
- [54] **ABULA T., RAO SA., MENGISTU A., WORKU S., LEGESSE E AND ABERRA M. 2004,** pharmacology. university of Gondar: 46.
- [55] **RAMAWAT KG (ED),, 2010-** desert plants, biology and biotechnology. pringerHeidelberg Dordrecht London New York 2010:10.100-
- [56] **RUDOLF G M., (1948)-** the ephedrine treatment of nocturnal enuresis. *the British journal of psychiatry*; 94 (396): 629-640.
- [57] **SHEKELLE PG, HARDY ML, MORTON SC, et al., (2003)-** efficacy and safety of ephedra and ephedrine for weight loss and athletic performance. a meta-analysis. *Jama*; 289:1537-1545.110-

Chapitre III: Activité Biologique



*Pour réussir, votre désir de
réussite doit être plus grand que
votre peur de l'échec*

Introduction :

Les activités biologiques des plantes médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20ème siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Ces activités biologiques sont dues à des composés bioactifs contenues dans les plantes comme : les huiles essentielles, les polyphénols, les alcaloïdes, les tanins ...etc.

Dans ce travaille nous nous sommes intéressés à l'évaluation de deux activités biologiques : activité antibactérienne et antioxydante.



Figure 19 : Schéma des différents types d'activités biologiques.

I. Activité antioxydante :

Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermie), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé et la production de radicaux dérivés de l'oxygène [1].

I.1. Le stress oxydant :

I.1.1. Définition du stress oxydant :

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant [2].

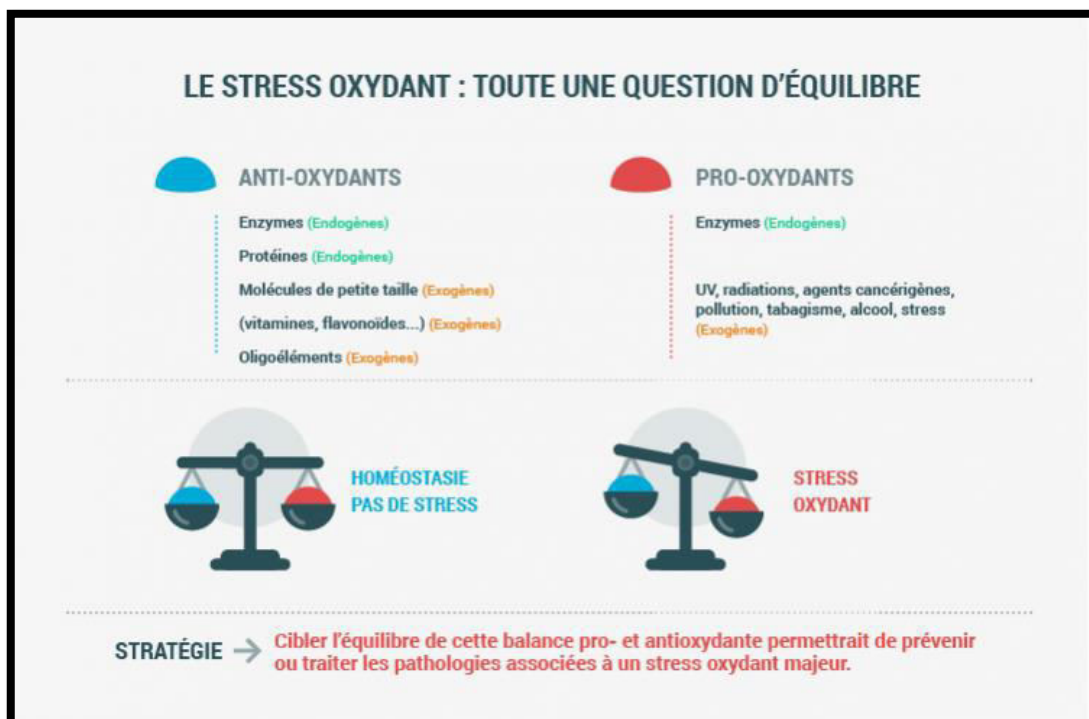


Figure 20 : Stress oxydant.

I.1.2. Maladies liées aux stress oxydatif :

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la multiplication mitochondriale de radicaux [3].

De nombreuses pathologies, impliquant le stress oxydant dans leur développement, ont été recensées. Outre les maladies cardio-vasculaires (peroxydation des lipides) et le cancer

(oxydation de l'ADN), c'est certainement dans le cadre du diabète (obésité, syndrome métabolique) que des avancées spectaculaires ont été réalisées au cours des dernières années [4].

I.2. Les radicaux libres :

I.2.1. Définition des radicaux libre :

Un radical libre est une espèce chimique, molécule, ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante « libre » en contenant un ou plusieurs électrons célibataire (électron non apparié sur une orbitale). Cela lui confère une grande réactivité donc une demi-vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé (Système redox) [5].

I.2.2. Différents types des radicaux libres:

- Parmi toutes les espèces réactives oxygénées, on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les radicaux primaires à savoir : l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}), le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}), le radical peroxyde (ROO^{\cdot}) et le radical alkoxyde (RO^{\cdot}).
- Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires telles que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [2].

I.3. Antioxydants :

I.3.1. Définition des antioxydants :

Le terme « antioxydant » a été formulé comme « une substance qui en faibles concentrations, en présence du substrat oxydable, ralentit ou empêche significativement l'oxydation des substrats matériels ». **Vansant** définit les antioxydants comme substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS [6].

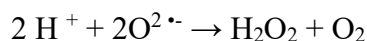
I.3.2. Les systèmes de défense antioxydants :

Il existe des antioxydants enzymatiques et non enzymatique :

I.3.2.1. Les antioxydants enzymatiques

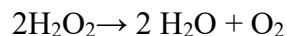
❖ Les super oxydes dismutase (SOD) :

Le superoxyde dismutase (SOD) : accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, il existe plusieurs iso enzymes de SOD ; SOD ferreux (FeSOD), SOD à cuivre (Cu-SOD) et SOD à manganèse (Mn-SOD)] [7].



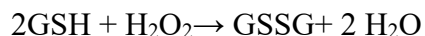
❖ Catalase :

La catalase présente en particulier dans les hématies et les peroxysomes hépatiques. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire [7].



❖ La glutathion peroxydase :

La glutathion peroxydase joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène, de l'hydroperoxyde résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de ces dérivés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH) [7].



I.3.2.2. Les antioxydants non enzymatiques:

Les principaux antioxydants non enzymatiques sont :

❖ L'acide urique :

L'acide urique comme produit final du métabolisme des purines, augmente dans le plasma lors d'efforts physiques intenses. Il a été proposé comme un des meilleurs antioxydants du plasma in vivo, où il pourrait contribuer à 35-60% de la capacité antioxydante totale. L'acide urique peut être oxydé en différents produits, puis régénéré par la vitamine C [8].

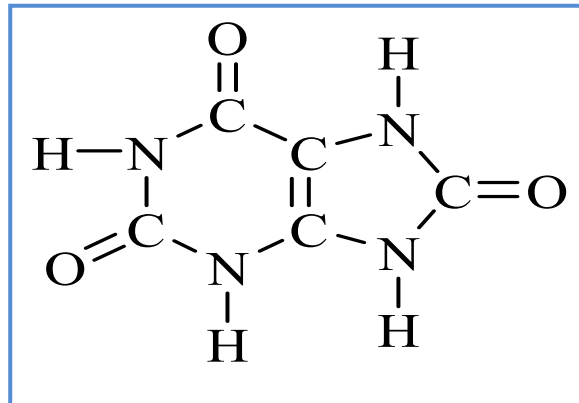


Figure 21 : Structure d'acide urique.

❖ Les oligo-éléments :

Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Ces oligoéléments jouent le rôle de cofacteur pour maintenir l'activité catalytique des enzymes antioxydantes. Ainsi le sélénium (Se), joue un rôle clé dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire. Le zinc (Zn) et le Cu, jouent un rôle dans le fonctionnement de SOD. Le zinc protège les groupements thiols (SH) des protéines contre l'oxydation induite par le fer, en empêchant la formation de ponts disulfure intramoléculaires [9].

❖ La vitamine C :

L'acide L'ascorbique, ou vitamine C, est considérée comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires. C'est un piègeur très efficace des ions superoxydes, du peroxyde d'hydrogène, de l'hypochlorite, des radicaux hydroxyles et peroxydes et de l'oxygène singulet. Elle agit en régénérant la vitamine E in vitro [10].

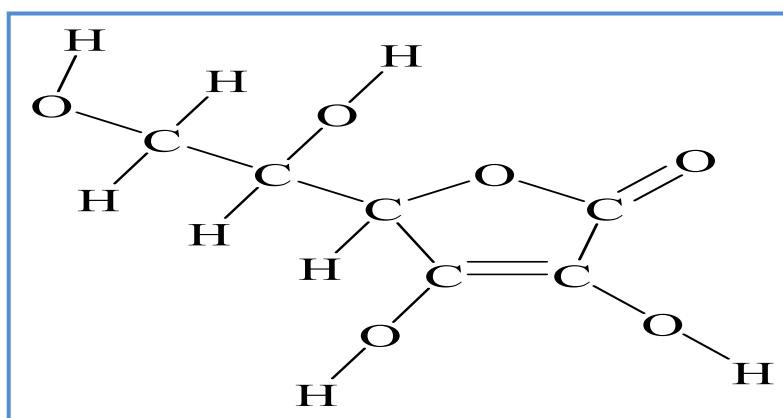


Figure 22 : La structure de vitamine C.

❖ La vitamine E (Le tocophérol) :

La structure moléculaire de la vitamine E comporte deux extrémités une extrémité hydrophile et une extrémité hydrophobe. Sa forme naturelle inclut quatre tocophérols isomères α , β , γ , δ , avec une activité antioxydant variable [11].

Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des aides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant [12].

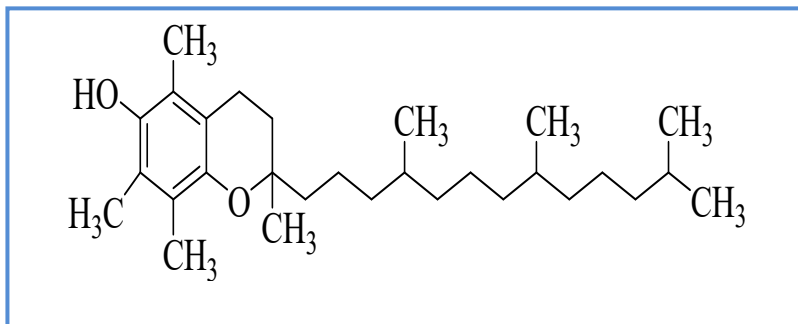


Figure 23 : Structure de vitamine E.

I.3.4. Principe des antioxydants:

La réaction d'oxydation est souvent une réaction en chaîne, les antioxydants bloquent cette chaîne et empêchent ainsi les radicaux libres d'attaquer les cellules du corps. Les antioxydants vont se lier aux radicaux libres et réalisent une réaction d'oxydation avec eux, ce qui va les rendre inoffensifs et donc rendre impossible leurs oxydations par les protéines ou les acides gras (Figure 24) [13].

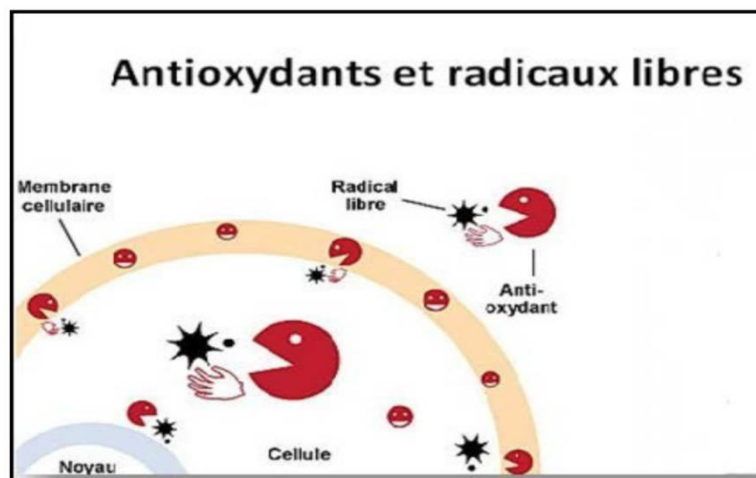


Figure 24 : Principe des antioxydants.

I.3.5. Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante :

Il existe plusieurs méthodes pour évaluer l'activité antioxydante parmi eux : « **Test DPPH** ».

Cette méthode est basée sur le principe que le DPPH \cdot accepte un atome d'hydrogène (H) à partir d'une molécule scavenger par exemple un antioxydant, résultant une réduction du DPPH \cdot en DPPH $_2$, un changement de la couleur (violette) en jaune, avec une diminution concomitante de l'absorbance à 515nm. Le degré de changement de la couleur est proportionnel à la concentration et à la puissance des antioxydants. L'activité antioxydante est ensuite mesurée par la diminution de l'absorbance à 515nm. Une grande diminution de l'absorbance du mélange réactionnel indique une activité significative du balayage du composé à l'essai [14].

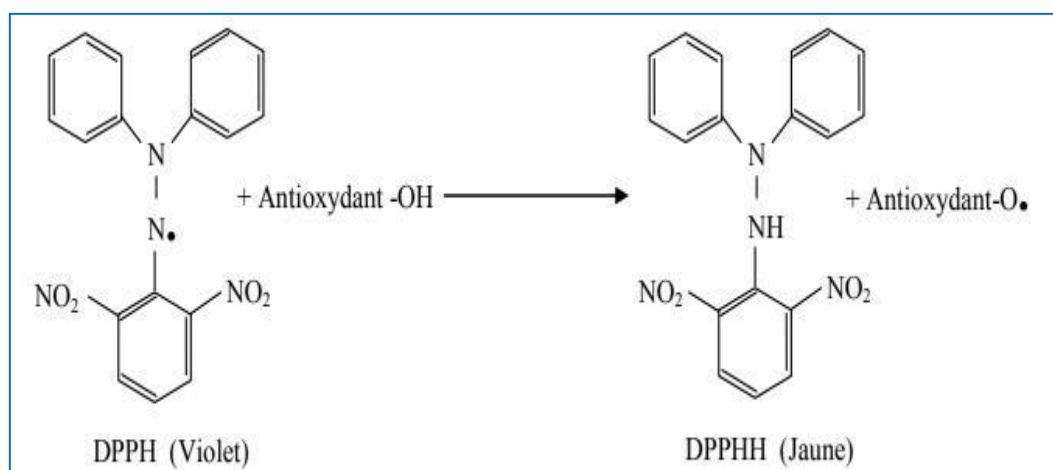


Figure 25 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant.

II. Activité antibactérienne :

Les bactéries sont responsables de diverses infections dans les organismes vivants. Les chercheurs ont espéré pouvoir éradiquer certaines maladies avec la découverte des antibiotiques. Malheureusement la large utilisation de ces médicaments a généré une résistance croissante des bactéries face aux antibiotiques. Dans cette perspective, il y a eu un grand intérêt pour la recherche de nouvelles substances biologiquement actives et efficaces comme alternative à partir des ressources naturelles [13].

II.1. Définition des bactéries :

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). Elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bacteria) et bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bacteria.

Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1 μ m. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique [15].

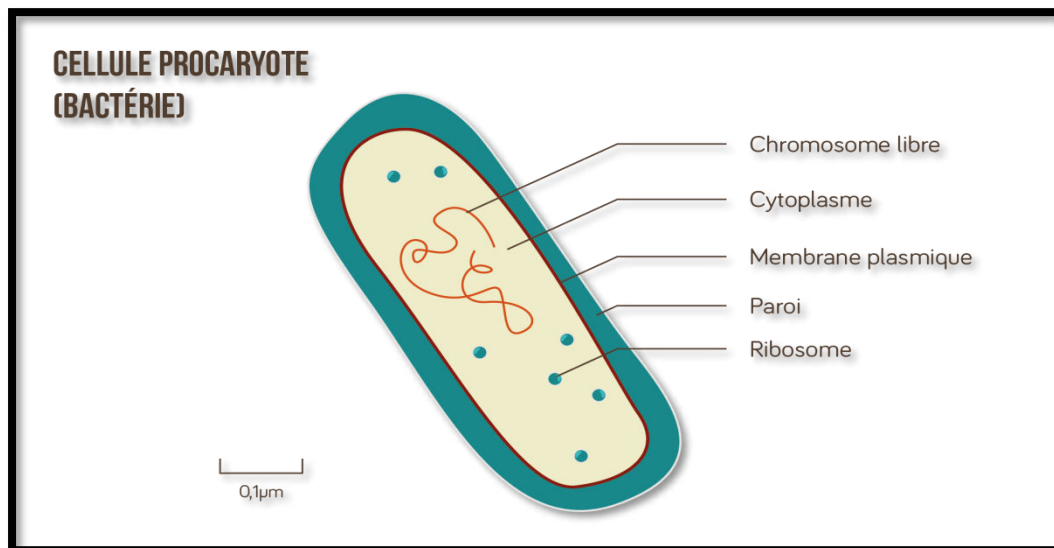


Figure 26: Structure d'une bactérie.

II.2. Description des bactéries étudiées :

❖ *Staphylococcus aureus* :

C'est, à GRAM positif, de la famille des Micrococcaceæ, immobile et disposées en grappe de raisins, présente sur le corps et les muqueuses, et souvent responsable d'infections graves communautaires et nosocomiales (20 % des cas). Cette bactérie est responsable d'infections des plaies, de la peau et du sang. Elle peut entraîner aussi des abcès, des ostéites, des endocardites, des gastro-entérites et des infections pulmonaires. L'espèce Staphylocoque doré acquiert facilement des résistances aux antibiotiques [16].

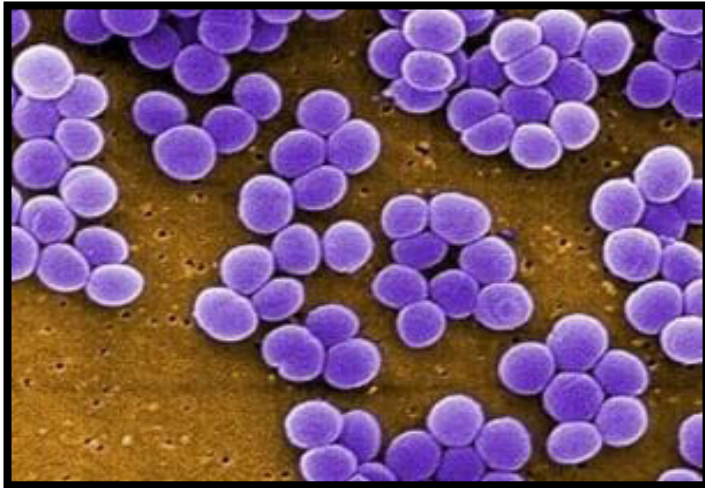


Figure 27 : Bactérie de *Staphylococcus aureus*.

❖ ***Escherichia coli* :**

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal et qui appartient à la famille des Entérobactéries. Elle est de forme non sporulée, de type aérobie facultative et généralement mobile grâce aux flagelles. Sa longueur varie de 2 à 6 μm alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 μm . *E. coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës de l'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires [17].

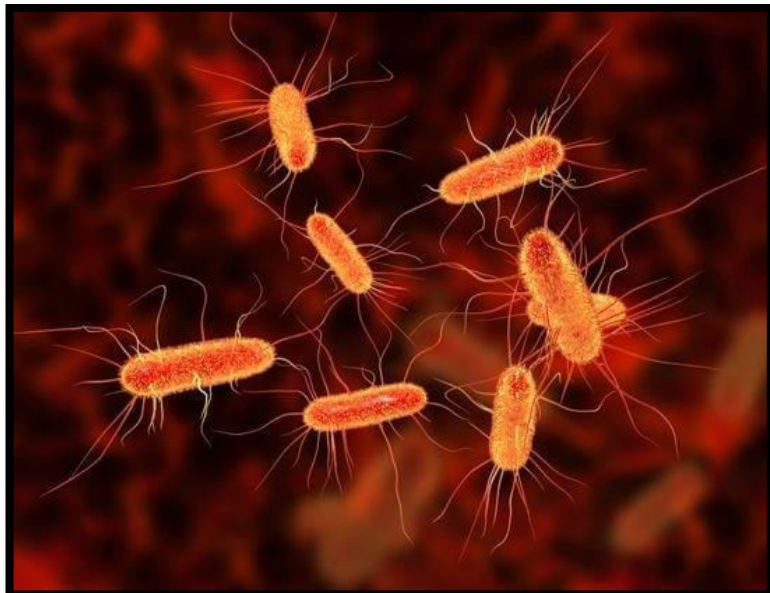


Figure 28 : Bactérie d'*E. Coli*.

❖ *Listeria monocytogenes* :

Listeria monocytogenes est une bactérie de type Gram positif, mobile et qui ne produit pas de spores, elle se présente sous forme de chaînes courtes ou de petits amas. *Listeria monocytogenes* est une bactérie responsable de la listériose, maladie infectieuse rare mais grave [18].

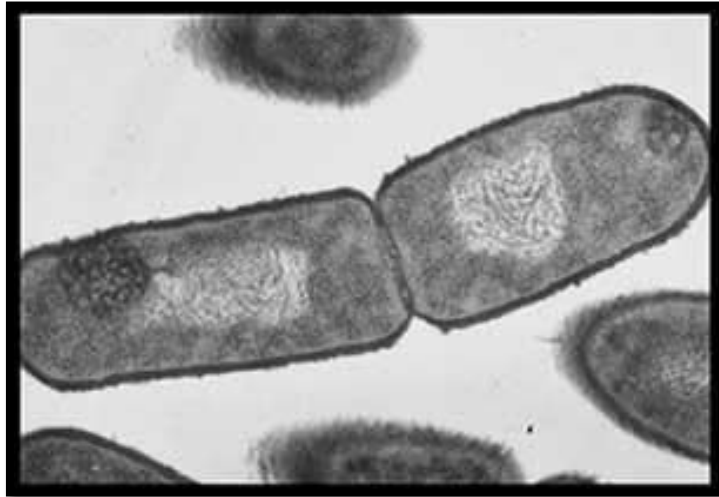


Figure 29 : *Listeria monocytogenes*.

Conclusion :

L'activité biologique d'une plante médicinale est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires et les effets synergiques entre les composants. Ainsi la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant.

Références bibliographiques

- [1] **Bekkali. F, Averbeck. S, Averbeck. L. (2008).** Review MI-Biological effects of essential oils A Review Food and Chemical Toxicology; Vol 46, pp 446-475.
- [2] **Favier. A. (2003).** Mécanismes biochimique l'actualité chimique- Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, p 108-115-111.
- [3] **Bidie. ADP, N'guessan. BB, Yapo. AF, N'guessan. JD, Djaman. AJ. (2011).** Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. Sciences & Nature Vol. 8(1): 1 – 11.
- [4] **Haleng. J, Pincemail. J, Defraigne. JO, CHARlier. C, Chapelle. JP. (2007).** Le stress oxydant, 62 (10): 628-638.
- [5] **Hallowell. B. (1996).** Mechanisms involved in the generation of free radicals. Pathologiebiologie 44, 6-13.
- [6] **Mahmoudi. S, Khali. M, Mahmoudi. N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*), p 36.
- [7] **Piquet. MA, Hébuterne. X. (2007).** Nutrition en pathologie digestive, Ed DOIN, p 16- 20.
- [8] **Boukertouta. S, HadeF. (2014).** Evaluation des paramètres du stress oxydant chez les diabétiques insulinodépendants, p 26.
- [9] **Boumadjen. R, Kimouche. S. (2018).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante de Romarin (*Rosmarinus officinalis*), p 21.
- [10] **Adoui et al., (2016).** Effet du stress oxydant dans l'apparition de quelques complications du diabète mellitus, master Toxicologie et santé Université des Frères Mentouri Constantine, p 32-33.
- [11] **Carr. AC, Zhan. BZ, Frei. B. (2002).** Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E). Circulation Research published by the American Heart Association, Vol 7(5), pp 349-354.

[12] **El-Sohehy. A, Baylin. A, Spiegelman. D, Ascherio. A, Campos. H. (2002).** Dietary and adipose tissue gamma-tocopherol and risk of myocardial infarction. *Epidemiology*, Vol 13; Issue 2, pp 216-223.

[13] **Fettah. A. (2019).** Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydant - antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce *Thymoides* de la région Beni Souik, Biskra, P 41-46.

[14] **Mishra. K, Ojha. H, Chaudhury. NK. (2012).** Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH° assay: A critical review and results. *Food Chemistry* 130: 1036-1043.

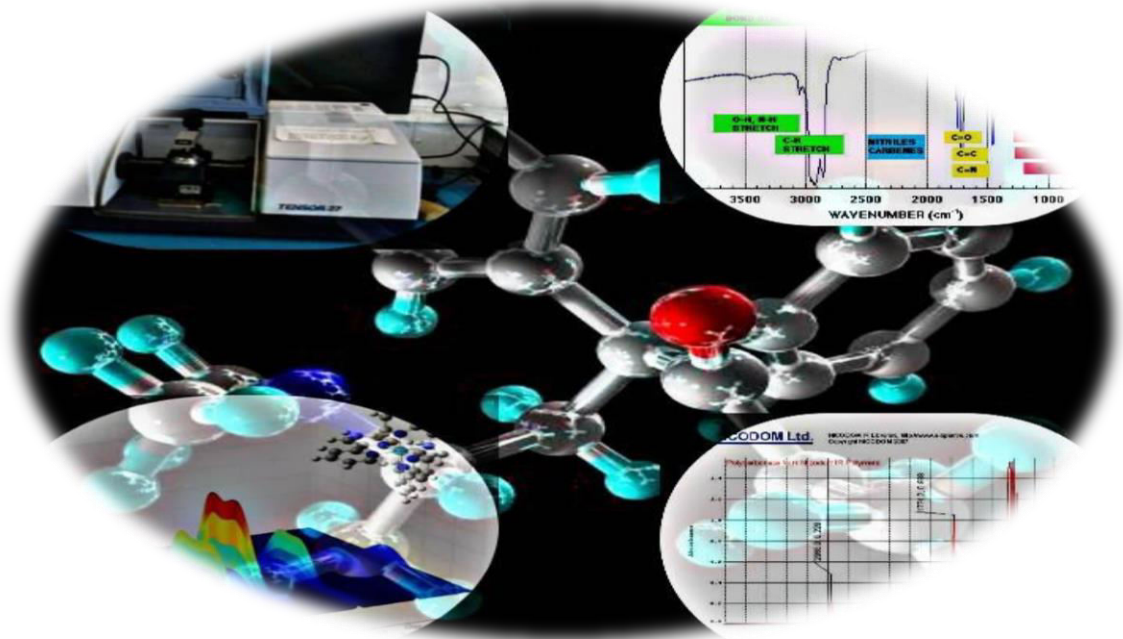
[15] **Nauciel. C, Vilde. JL, (2005).** *Bactériologie médicale*. 2ème édition. Masson, Paris, p 78- 97.

[16] **Perry. JJ, Staley. JT, Lory. S. (2004).** *Microbiologie. Cours et questions de révision*. Dunod, p 912.

[17] **Kaper. JB, Nataro. JP, Mobley. HL. (2004).** Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*, 2(2); pp 123-140.

[18] <https://www.futura-sciences.com>, consulté le 23/08/2020.

Chapitre IV : Etude structurale



*La seule façon de faire du bon travail
est ce que vous faites. Si vous n'avez
pas encore trouvé, continuez à
chercher*

Introduction :

La spectroscopie est l'étude des interactions d'un rayonnement électromagnétique avec la matière. La spectroscopie organique sera donc l'étude des interactions des radiations électromagnétiques avec des ensembles de molécules organiques ; la spectroscopie d'absorption est la plus répandue.

Pratiquement parmi les techniques spectrales utilisées pour l'identification d'un composé organique on a IR et RMN.

Le développement des outils informatiques dans les 20 dernières années, tant sur les procédures de calcul numérique que sur la puissance des ordinateurs, a augmenté considérablement le nombre d'études théoriques et de nombreuses applications, Parmi les différents logiciels utilisés pour la modélisation moléculaire, nous avons choisi le logiciel GAUSS VIEW 6.0 car il est facile à utiliser pour visualisées les différentes structures géométriques essentielles dans notre étude, à partir de la méthode de DFT avec la fonctionnelleB3LYP.

I. La spectroscopie infrarouge (IR) :

La spectrométrie infrarouge est l'un des outils les plus utilisés pour la caractérisation et l'identification des molécules organiques.

Son principe : Les photons d'un rayonnement infrarouge sont porteurs d'une énergie correspondante aux vibrations des liaisons. Lorsque la molécule est soumise au rayonnement, certaines fréquences infrarouges sont absorbées et la liaison entre en résonance. L'absorbance infrarouge fournit une information sur les liaisons qui constituent la molécule.

Un spectre IR représente la transmittance en fonction du nombre d'onde. Les bandes d'absorption IR sont caractéristiques des fonctions chimiques présentes sur la molécule. Pour chaque bande, on précise : son nombre d'ondes, son intensité (F : forte, m : moyenne, f : faible) et sa largeur (fine ou large). Par exemple, la bande vibration d'élongation de la liaison C=O est caractérisée par : 1720 cm^{-1} , F, fine.

De manière pratique, on ne cherchera pas à interpréter tous les signaux observés, mais seulement ceux caractérisant les vibrations d'élongation des fonctions chimiques présentes sur la molécule étudiée [1].



Figure 30 : L'appareil d'infrarouge.

II. La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) :

La RMN est une méthode spectroscopique d'analyse de la matière, fondée sur les propriétés magnétiques de certains noyaux atomiques. L'échantillon à étudier, placé dans un champ magnétique très intense, acquiert une aimantation nucléaire qui est détectée par sa mise en résonance avec un champ électromagnétique [2].

Les applications les plus importantes pour la chimie organique sont la RMN du proton et du carbone 13 effectuée sur des solutions liquides. Mais la RMN est aussi applicable à tout noyau possédant un spin non nul, que ce soit dans les solutions liquides ou dans les solides [3].



Figure 31 : L'appareil de RMN.

III. Logiciels utilisés :

Il existe des nombreux logiciels de modélisation moléculaire et de visualisation parmi eux : « Gaussian 09 et Gauss View 6.0 » qui sont très populaire et largement utilisé.

III.1. Logiciel Gaussian 09 :

Gaussian est un logiciel de chimie quantique, créé à l'origine par John Pople et sorti en 1970 (Gaussian 70). Il a été depuis sans cesse mis à jour. Le nom vient de l'utilisation par Pople d'orbitales gaussiennes pour accélérer le calcul par rapport aux logiciels utilisant des orbitales de Slater. Ceci a facilité le développement de la chimie quantique [4].

III.2. Utilisation de logiciel Gaussian 09 :

Ce logiciel nous permet de modéliser :

- ✓ Construction, visualisation et manipulation des molécules.
- ✓ Les propriétés magnétiques (déplacement chimiques, constantes de couplage RMN,...)
- ✓ Sauvegarde des structures [5]
- ✓ Le logiciel Gaussian09 concerne tous les aspects de la chimie, de la pharmacochimie aux sciences des matériaux. Il permet d'étudier les propriétés physiques et chimiques des molécules Gaussian09 exécute des calculs de structure électronique basés sur la DFT [6].
- ✓ Permet de pronostiquer les énergies, structure moléculaires et fréquences de vibration de système moléculaire complexe, et d'en anticiper leurs propriétés chimiques [6].

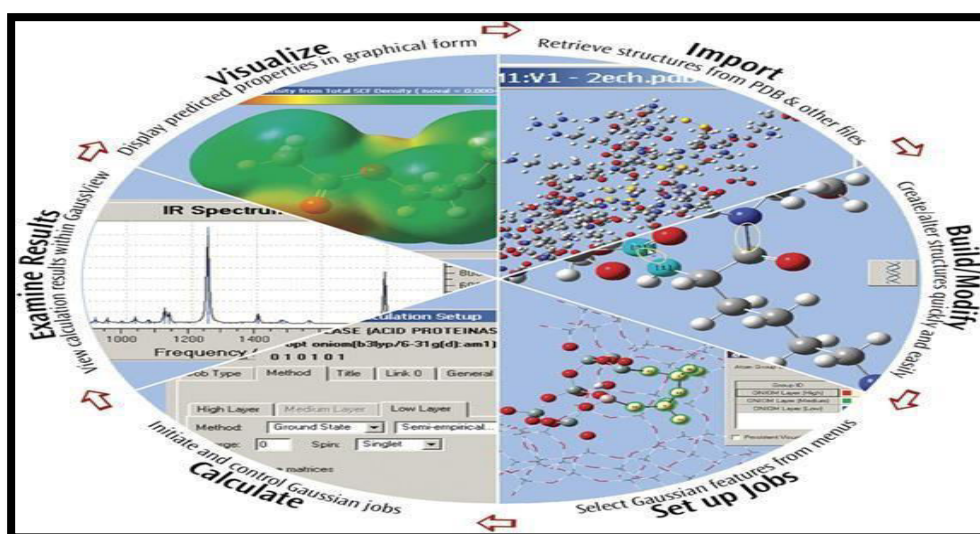


Figure 32 : Cycle de l'étude d'une molécule par modélisation moléculaire.

III.3. Logiciel GAUSS VIEW 6.0

Est une interface utilisateur graphique conçue pour vous aider à préparer une entrée pour une soumission en Gaussian 09 et à examiner graphiquement le résultat produit par Gauss.

Tout d'abord, grâce à sa fonction de visualisation avancée, la vue GAUSS vous permet d'esquisser rapidement des molécules même très volumineuses, puis de les faire pivoter, les traduire et de les zoomer à l'aide de simples opérations à la souris.

GAUSS VIEW vous permet d'examiner les résultats des calculs Gaussian09 à l'aide de diverses techniques graphiques [4].

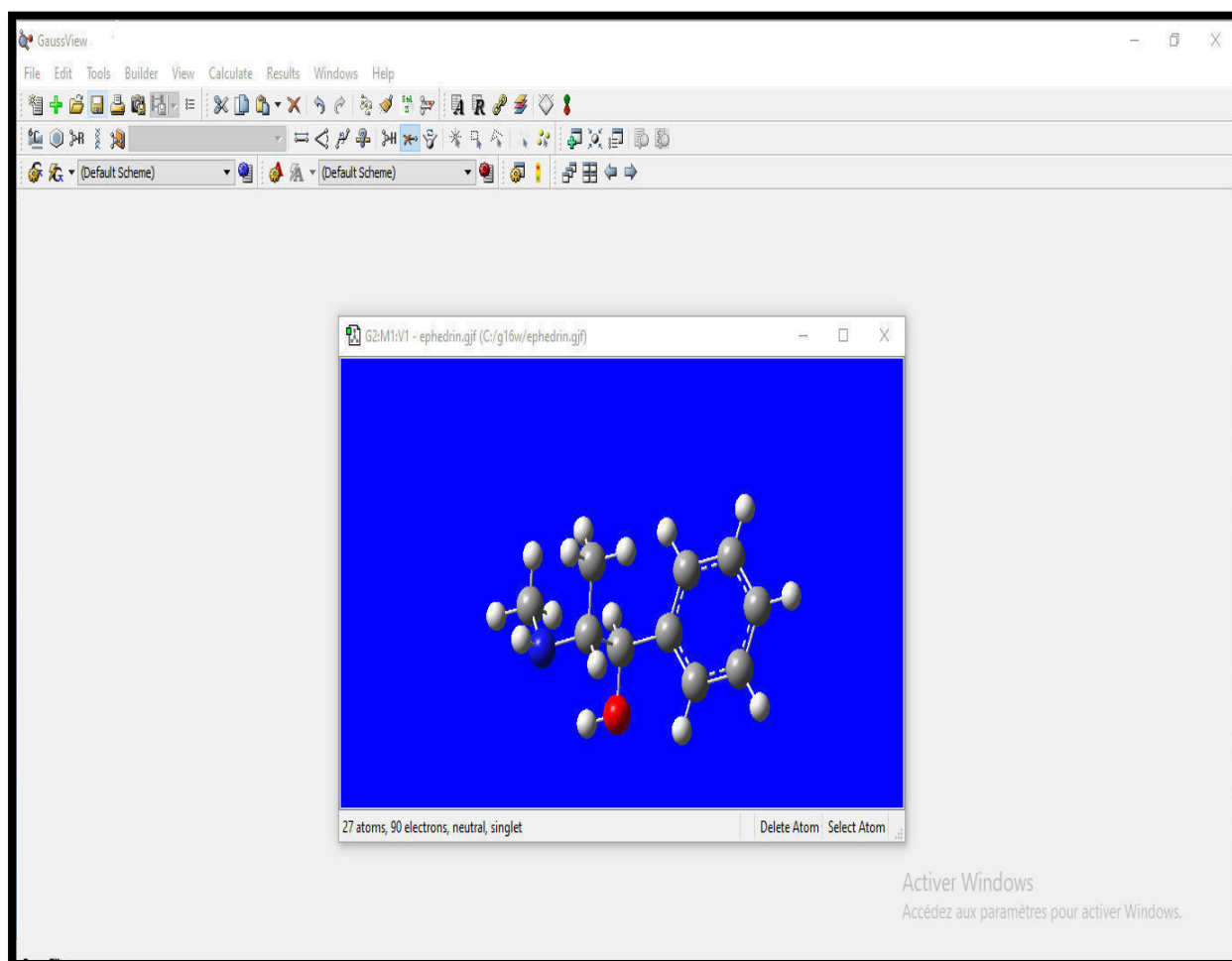


Figure 33 : Interface graphique du logiciel GAUSS VIEW 6.0.

III.4. Méthodes de la Fonctionnelle de la Densité (DFT) :

La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) s'étale sur plusieurs décennies. La DFT a véritablement débuté avec les théorèmes fondamentaux de Hohenberg et Kohn en 1964 qui établissent une relation fonctionnelle entre l'énergie de l'état fondamental et sa densité [7]. La DFT est capable de déterminer avec précision les propriétés moléculaires géométriques, les énergies de liaisons et différents types de spectre pour des molécules aussi complexes que des composés de coordination [8].

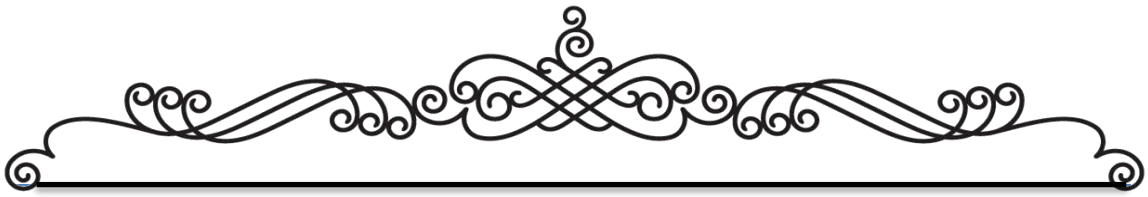
- Le fonctionnel hybride la plus populaire est connu sous le nom de B3LYP, c'est une méthode de DFT. Elle est proposée par Becke sous forme d'une expression de trois paramètres désignés par B3 et fait appel à l'approximation B88 pour l'échange et celle de Lee, Yang et Parr (LYP) pour la corrélation. Elle permet de décrire correctement les propriétés magnétiques de composés moléculaires organiques et aussi de métaux de transition et de ligands [9].

Conclusion :

Les outils informatique « logiciel Gaussian 09 et Gauss VIEW 6.0 » sont rapidement devenus des programmes de structure électronique très populaire et largement utilisé pour l'identification des molécules organiques à partir de déterminer les techniques spectrales IR et RMN.

Références bibliographiques

- [1] **Schott. MA, Valentin. J, Magadur. G. (2014).** Chimie : option PC et PSI, MPSI, 1ère année : un accompagnement au quotidien : tout-en-un : cours, exercices corrigés, Louvain-la-Neuve : De Boeck, France.
- [2] <https://www.univ-reims.fr/icmr/les-services-de-l-icmr/service-commun-d-analyse/resonance-magnetique-nucleaire-rmn,9944,17768.html?>, consulté le 26/08/2020.
- [3] https://fr.wikipedia.org/wiki/Spectroscopie_RMN, consulté le 26/08/2020.
- [4] Logiciel Gauss View 6.0.
- [5] **Kévin. M. (2013).** Etude théorique de l'interaction molécule –substrat ,UniversitéParisEst, Français.
- [6] **Fadel. L. (2006).** Structure électronique de complexes inorganiques : Interprétation théorique de la structure moléculaire et des propriétés, Thèse de doctorat d'état, Université Mentouri-Constantine.
- [7] **Bouchakri. M. (2007).** Chimie pharmaceutique, de boeck éd. Paris France, 14 : 375 – 431.
- [8] **Fiorucci. S. (2006).** Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Université Nice-Sophia Antipolis, p 198-199.
- [9] **Lee. C, Yang. W, Parr. RG.(1988).** Physical review B, 37



Partie expérimentale



Chapitre : V

Matériel et méthode



Le monde n'a progressé que grâce aux choses

Impossibles qui ont été réalisés

I. L'objectif de l'étude :

Le présent travail a pour objectif : le criblage des métabolites secondaire, l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de la plante étudié et l'étude structurale de l'éphédrine.

II. Matériel végétale :

II.1. Préparation de la matière végétale :

Le matériel végétal utilisé correspond à la partie aérienne composée des tiges de l'espèce *Ephédra alata*. La récolte était effectuée le 15/02/2020 au niveau de la localité Chechar. Les tiges ont été lavées, découpé en de petits morceaux et séché à la température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité afin d'éviter la dégradation des principes actifs et le développement des moisissures. Après séchage, les parties de la plante ont été broyées à l'aide d'un mortier pour l'obtention d'une poudre fine, cette dernière était stockée soigneusement dans un endroit sec en vue de leurs analyses.

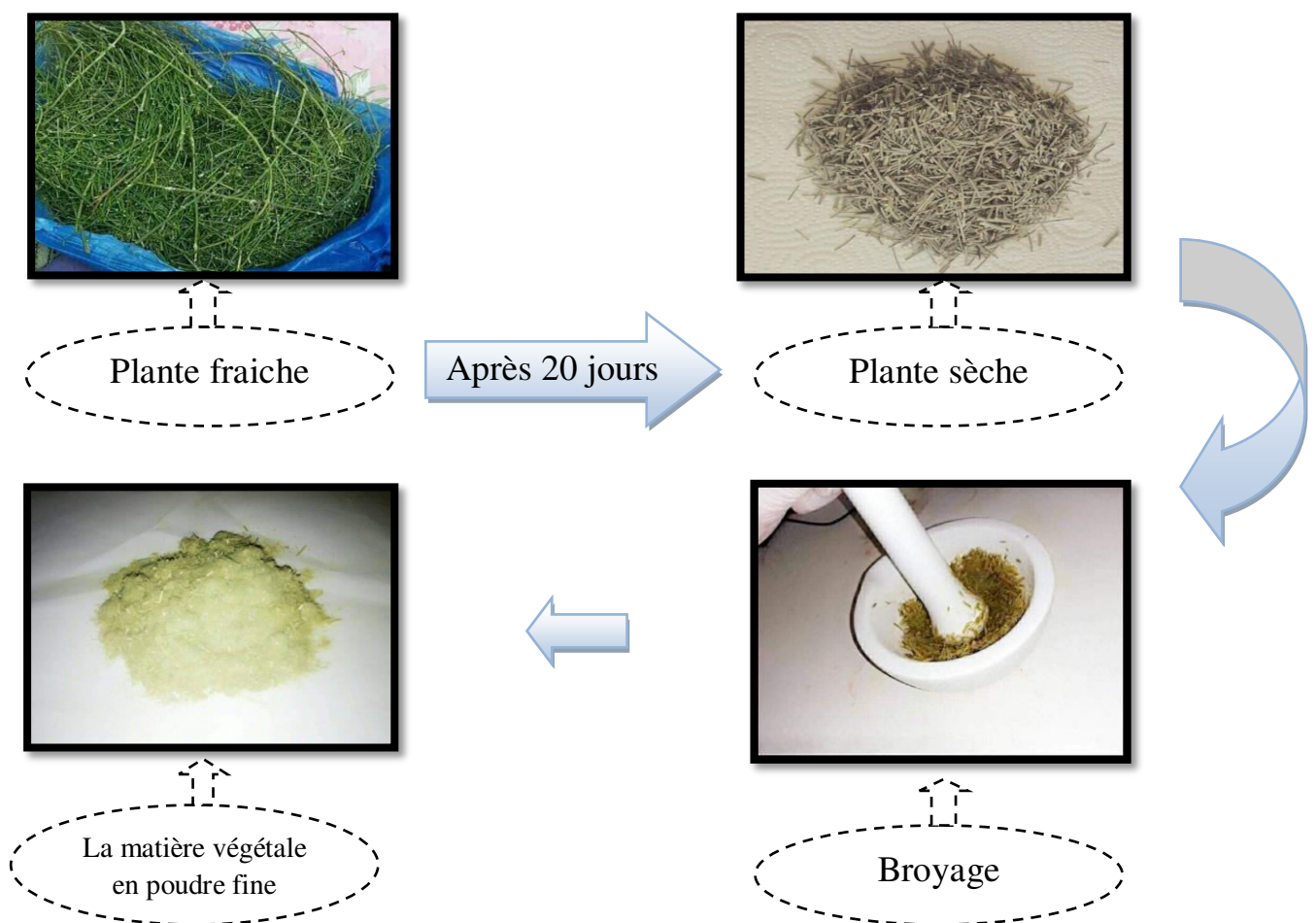


Figure 34 : Protocole de préparation de la matière végétale.

II.2. Présentation du site de récolte « Chechar » :

Chechar c'est une ville située de l'état de Khenchela dans l'est de l'Algérie, Chechar est situé au sud-est de l'État de Khenchela sur la route nationale n ° 83, reliant les États de Khenchela et Biskra, plus précisément dans la région des Amazigh Auras, délimitée au nord et à l'est par la municipalité de Babar, au nord-ouest par la municipalité de Khiran, à l'ouest par la municipalité de Jalal et au sud par Sahara el Namamsha. La ville d'Alger s'étend sur 550 km à 1243 mètres d'altitude, Elle s'étend sur une superficie de 923 km², considérée comme l'un des plus anciens districts de Khenchela (division administrative en 1974) et est l'une des plus importantes municipalités de Chechar, Khiran, Al Walaja et Jalal. [1].



Figure 35 : Localisation géographique du site de prélèvement (Chechar –Khenchela).

III. Screening phytochimique :

III.1. Préparation de l'extrait :

Il existe plusieurs méthodes pour l'extraction des composés végétaux, parmi celle nous avons choisi la macération.

La macération : est une méthode qui consiste à laisser la poudre de plante en contact prolongé avec un solvant [2].

Chapitre V : Matériel et Méthode

On prend une quantité de 20 g de la plantes étudiée est mis à macérer à l'obscurité et à température ambiante dans 100 ml d'une solution hydro-alcoolique; méthanol/eau distillée (8:2V/V) pendant 24h. Après la macération, l'extrait méthanolique est récupéré par filtration sur papier Wattman. Ensuite l'extrait a été évaporé à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif jusqu'à l'obtention d'un résidu sec.

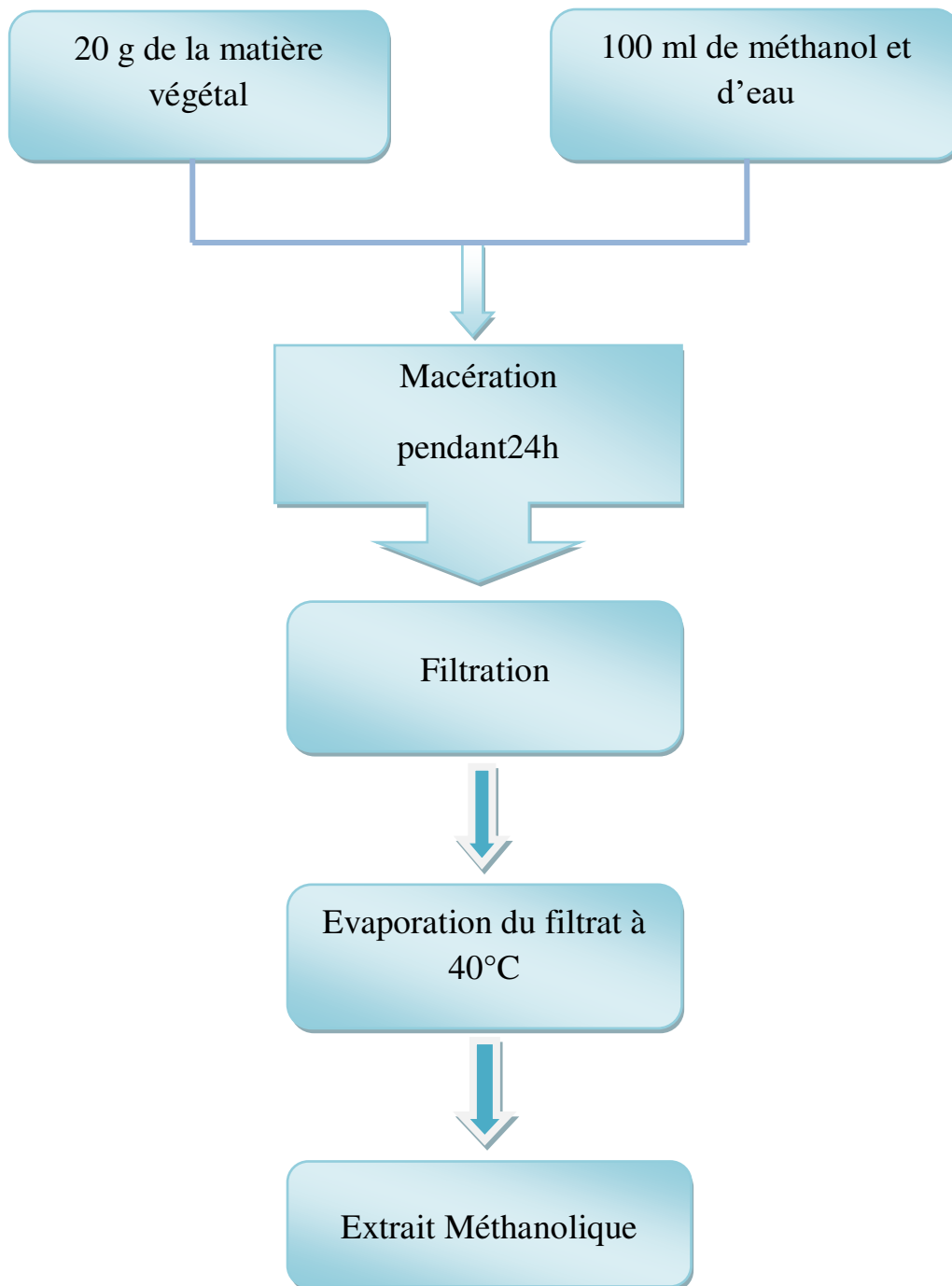


Figure 36 : Protocole d'extraction méthanolique.

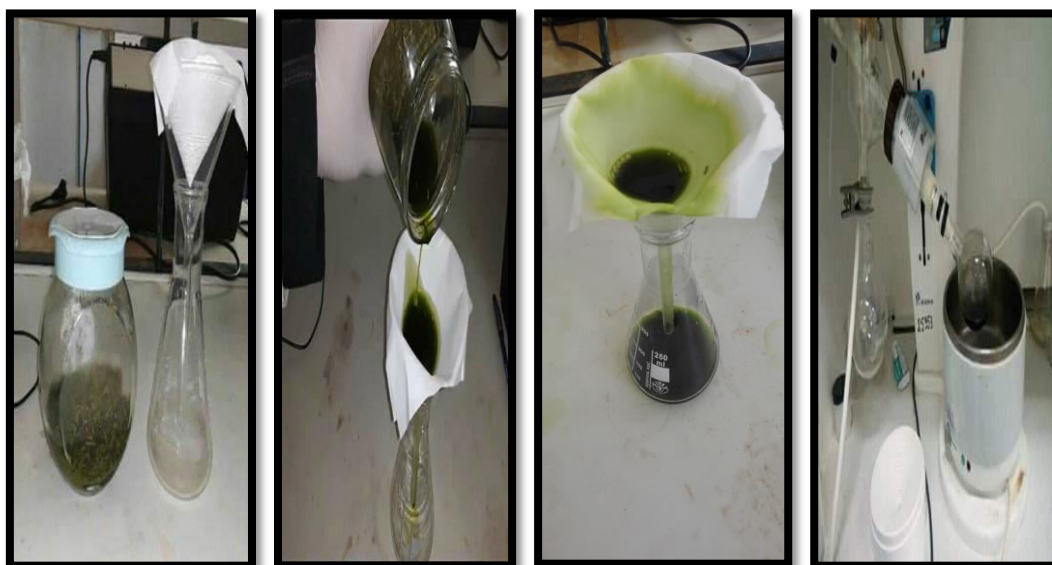


Figure 37 : Les étapes d'extraction solide-liquide.

III.2. Détermination du rendement :

Le rendement de la plante en extrait sec a été quantifié selon la formule suivante :

$$R \% = \text{PEB/PMV} \times 100$$

R : Rendement

PEB : Poids de l'Extrait Brut (g)

PMV : Poids de Matière Végétale (g) [3].

III.3. Les tests phytochimiques :

Les parties d'Ephédra alata en poudre ont subi différents tests chimiques afin de mettre en évidence la présence ou l'absence des principales familles de métabolites secondaires.

❖ Teste des flavonoïdes :

Dans un tube à essai, mettre 5ml d'extrait à tester plus 5ml d'ammoniaque (NH₃) dilué et 1ml d'acide sulfurique (H₂SO₄). L'apparition d'une couche supérieure avec une couleur jaune prouve la présence des flavonoïdes [4].

❖ Test des tanins :

Les tanins sont mis en évidence à partir de 0,5 ml d'extrait placé dans un tube en présence de quelques gouttes de FeCl₃ (préparé au méthanol). Après l'agitation de l'extrait, la couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques [5].

❖ Test des alcaloïdes :

On met 1ml de l'extrait dans 2 tubes à essai, on ajoute 1,5 ml de HCl à 2%, et aussi on ajoute 5 gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube, 5 gouttes de réactif de Wagner dans le deuxième tube. La présence des alcaloïdes est révélée par l'apparition de précipité blanc, brun, respectivement [6 ; 7].

❖ Test des saponines :

Les saponines sont caractérisées par l'apparition d'une mousse. Leur détection est réalisée en ajoutant 2,5ml d'eau distillé à 2,5 ml de l'extrait méthanolique dans des tubes de 1,3 cm de diamètre, après l'agitation, la teneur en saponines est évaluée par la mesure de la hauteur de mousse :

- ✓ Pas de mousse = test négatif,
- ✓ Mousse moins de 1cm = test faiblement positif
- ✓ Mousse de 1-2cm = test positif

✓ Mousse plus de 2cm = test très positif [8].

❖ Test des terpénoïdes :

Dans un tube à essai, ajouter à 5ml d'extrait de plante, 2ml de chloroforme (CHCl_3) et 3ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré. La formation d'une couleur brune rougeâtre indique la présence des terpénoïdes [9].

❖ Test des stéroïdes :

Pour 1ml d'extrait végétal ajouter 0,5ml de solution d'acide acétique, est suivi par 0,5ml de H_2SO_4 concentré. Si la solution ne donne aucune couleur verte cela prouve la présence de stéroïdes non saturés. Dans un 2ème tube, le même volume de H_2SO_4 est ajouté. La présence de la couleur rouge indique la présence des dérivés des stéroïdes [10].

❖ Test des coumarines :

Une quantité de 10ml d'extrait est solubilisée dans 2 ml d'eau chaude. La solution obtenue est divisée en deux parties égale dont la première représente un témoin et la deuxième est traitée avec 0.5 ml de NH_4OH L'examen est réalisé sous la lumière ultra violette et l'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence de coumarines [11].

❖ L'huile essentielle d'E. alata :

Les principaux constituants de l'huile essentielle d'E. alata sont :

L' α -terpinéol, le terpinen-4-ol, le linalool, le 2,3-dihydro-2- méthylbenzo-furanne, le cis-p-menth-2-ène-7-ol., le p-vinylanisole, le 3-méthyl-2-butén-1-ol, le phytol et le γ -eudesmol[12].

IV. Les activités biologiques :

IV.1. Première partie : L'activité antioxydante :

Beaucoup de tests sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des extraits. La plupart de ces tests sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude on a utilisé : « Le test DPPH » en raison de sa simplicité et rapidité.

IV.1.1. Matériels et produits :

Tableau 6 : Produits chimiques et matériels utilisé :

Matériels et appareillages	Produits chimique
-Spectrophotomètre	-DPPH
-Cuve spectre	-Ethanol
-Balance	
-Les tubes à essais	
-Micropipette	
-Pipette	

IV.1.2. Modes opératoires :

Un volume de 200 µl d'extrait préparé par l'éthanol (différentes concentrations) est ajouté à 800 µl de solution alcoolique du DPPH (0,025 g/l) fraîchement préparée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Pour le blanc, l'extrait est remplacé par l'éthanol [13].

IV.1.3. Expression des résultats :

Les résultats obtenus pour l'extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour α -Tocophérol pris comme antioxydant standard.

Le pourcentage d'inhibition du DPPH est déterminé par la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d' inhibition \%} = \frac{Ac - At}{Ac} \times 100$$

Ac : Absorbance control

At : Absorbance test

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant des extraits, nous avons introduit le paramètre IC₅₀ (concentration inhibitrice 50).

L'IC₅₀ est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH, ils sont calculés graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés ; Les résultats sont exprimés en µg/ml. La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que son IC₅₀ est petit [13].

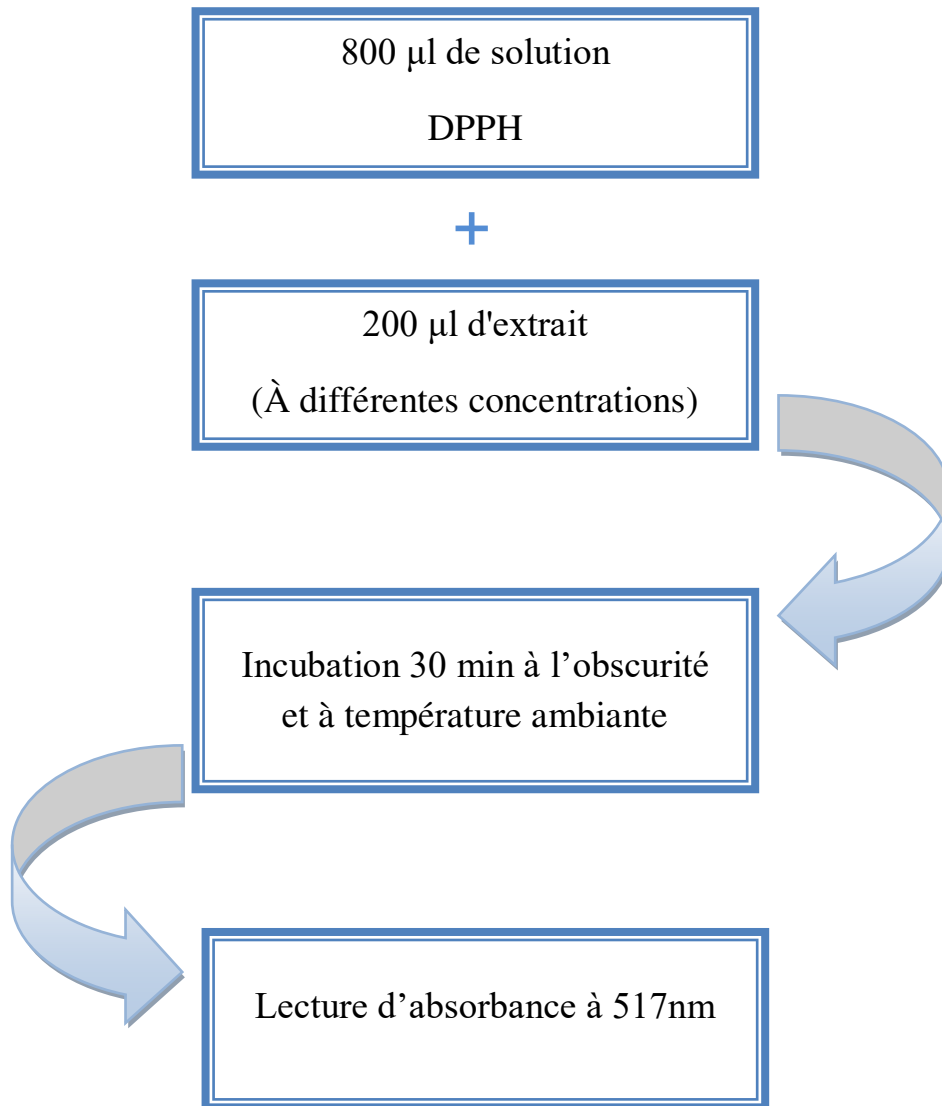


Figure 38 : Protocole de réduction de radical DPPH.

IV.2. La deuxième partie : Activité antibactérienne

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de la plante, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme), celle-ci permet de déterminer la sensibilité et les résistances des souches à partir d'une gamme de concentrations d'extrait. L'absence de croissance bactérienne se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré et exprimé en millimètre [14].

IV.2.1. Les souches testées :

Les germes testés pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits d'Ephédra Alata sont les suivants [15] :

Tableau 7 : Les souches bactériennes utilisées.

La souche	Gram
Staphylococcus aureus	Positif
Escherichia coli	Négatif
Listeria monocytogenes	Positif

IV.2.2. Matériels et produits :

Tableau 8 : Produits chimiques et matériels utilisés.

Matériels et appareillages	Produits chimique
-Autoclave	-Eau physiologie
-Etuve	-La gélose
-Boîtes de pétrie	- DMSO
-Disques de papier filtre	
-Balance	
-Micropipette	
-Pipette	
-Ecouvillon	
-Pince stérile	
-Tubes à essai	
-Bec benzène	

IV.2.3. Les milieux de culture :

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens sont les suivants :

- ✓ La gélose nutritive pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes.
- ✓ La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries [15].

IV.2.4. Mode opératoire :

IV.2.4.1. Stérilisation des matériels :

L'eau physiologie, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 30 minutes [15].

IV.2.4.2. Préparation des suspensions :

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétrie contenant de la gélose nutritive. Après 18h d'incubation à 37°C, des suspensions microbiennes d'une densité optique de 0.5 Mc Farland et été préparées, pour chaque microorganisme, dans 5 ml d'eau physiologie stérile [15].

IV.2.4.3. Préparation des boîtes :

- ✓ La gélose Mueller- Hinton stérile bouillie dans un bain marie pendant 1 heure du temps couler
- ✓ Couler la gélose dans les boîtes de pétrie dans une zone stérile jusqu'à une épaisseur de 4 à 5 mm
- ✓ Laisser 1 heure pour la solidification [14].

IV.2.4.4. Ensemencement :

L'ensemencement a été faite sur un milieu Géloses Muller Hinton (MH), les étapes de l'ensemencement sont résumées comme suivant :

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

Chapitre V : Matériel et Méthode

- ✓ 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 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 ;
- ✓ Une série de dilutions (1/1, 1/2, 1/4 et 1/8) de l'extrait méthanolique dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) est réalisée à partir d'une solution mère 200 mg d'EMet préalablement dissouts dans un ml DMSO [15].

IV.2.4.5. Application des disques :

L'opération d'application des disques au niveau de boîtes de pétrie est résumée dans les étapes suivantes :

- ✓ Des disques de papier Wattman de 6,0 mm de diamètre sont imprégnés individuellement avec 15 µl d'extrait à différentes concentrations.
- ✓ A l'aide d'une pince stérile on applique les disques à la surface des milieux déjà ensemencés.
- ✓ Un disque de l'antibiotique (Gentamicine 30µl) est placé dans la boîte de pétri comme contrôle positif.
- ✓ Un disque imprégné de 5 µl de DMSO est utilisé comme témoin négatif.
- ✓ Chaque test est réalisé en trois répétitions.
- ✓ Les boîtes sont fermées et incubées à température ambiante pendant 20 min, ensuite dans une étuve à 37 °C /24 h [15].



1. Couler la gélose dans les boîtes 2. Les boîtes de pétrie dans une zone stérile 3. Frotter l'écouvillon 4. Préparation des disques

Figure 39 : Différentes étapes de l'activité antibactérienne [15].

IV.2.4.6. La lecture :

La lecture se fait après 18 à 24 h d'incubation à 37° C, l'obtention d'un halo clair autour du disque indique l'inhibition de la croissance microbienne. Le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré en mm incluant le diamètre du disque.

Cette sensibilité est classée comme suit :

- ✓ Non sensible pour un diamètre inférieur à 8 mm
- ✓ Sensible pour un diamètre de 9-14 mm ;
- ✓ Très sensible pour un diamètre de 15-19 mm
- ✓ Extrêmement sensible pour diamètre supérieur à 20 mm [16]

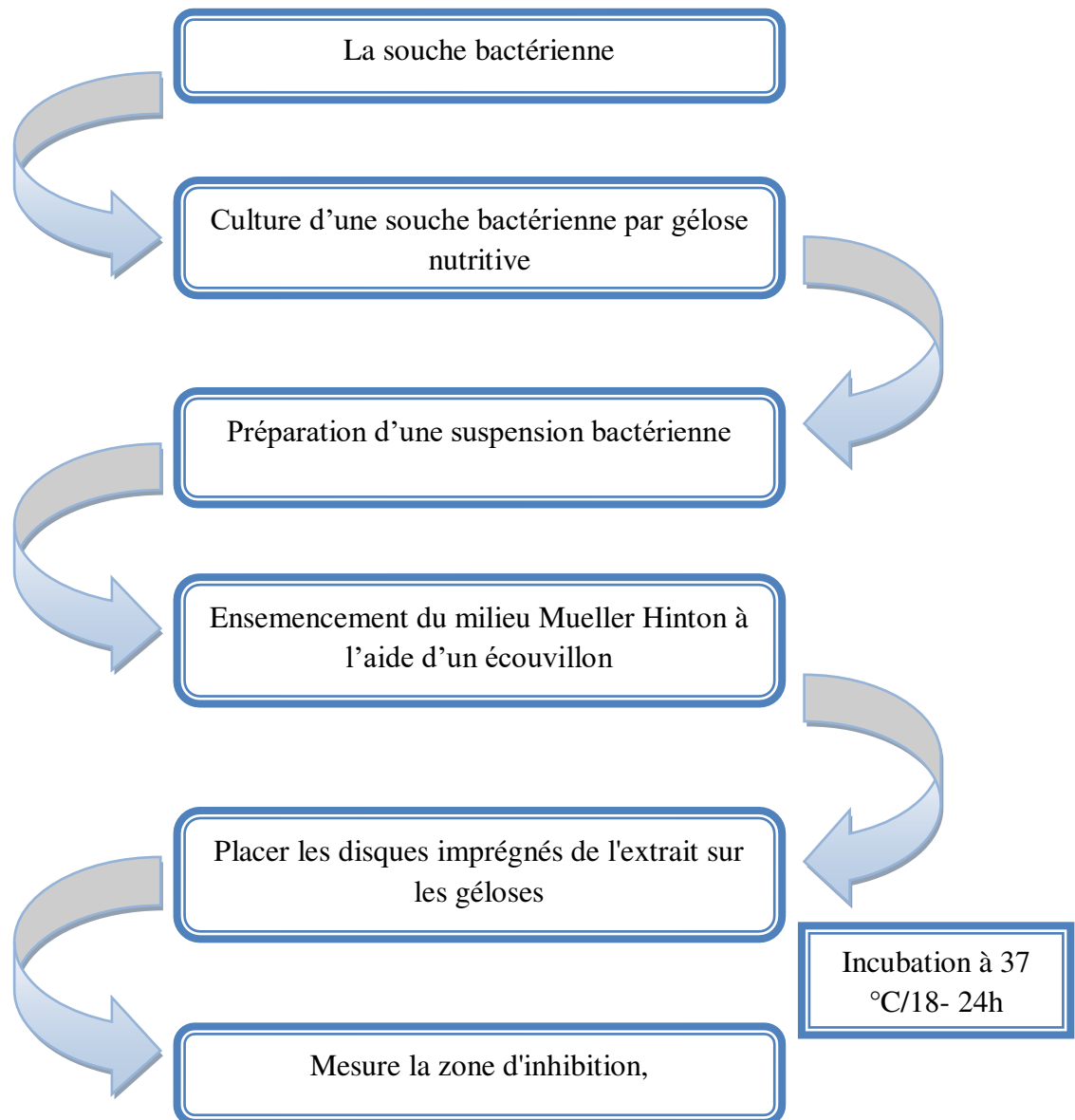


Figure 40 : Protocole de l'activité anti bactérienne

Références bibliographiques

- [1] (Chechar), <https://fr.wikipedia.org>, consulté le 24/08/2020.
- [2] **Lagnika .L. (2005)**. Etude phytochimique et activité biologique de substances Naturelles isolées de plantes béninoises (Doctoral dissertation, Université Louis Pasteur (Strasbourg)).
- [3] **Okou et al., (2018)**. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de *Solanum torvum* Swartz (Solanaceae) sur la croissance in vitro de 3 souches d'entérobactéries, p 12298.
- [4]**Prashant. T, Bimlesh. K, Mandeep. K, Gurpreet. K, Harleen. K. (2011)**. Phytochemical screening and Extraction: A Review. Internationale Pharmaceutica Scientia.| Jan-March 2011. Vol 1, p 104.
- [5]**Karumi. Y, Onyeyili. PA, Ogugbuaja. VO. (2004)**. Identification of active principals of *M. balsamina* (Balsam apple) leaf extract. J Med Sci, 4, 179-182.
- [6]**Gacem. MA. (2011)**. Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de *Citrullus colocynthis* sur la croissance de quelque moisissure d'altération de blé tendre stocké. Mémoire de magister : Microbiologie Appliqué. Universite Kasdi Merbah-Ouargla, p 70.
- [7]**Mojab. F, Kamalinejab. M, Ghaderi. N, Vahidipour. HR (2003)**.Phytochemical screening of some species of Iranian plants. Iranian Journal ofPharmaceutical Research, pp77-82.
- [8]**Bruneton. J. (1999)**. Pharmacognosie phytochimie, plantes médicinales.3ème Ed. Tec et Doc, Paris, p 1120.
- [9]**Dharmendra. S, Poonam. S, Abhishek. G, Shikha. S, Ekta. S, Rajeev. N. (2012)**. Qualitative Estimation of the Presence of Bioactive Compound in *Centella Asiatica*: An Important Medicinal Plant. International Journal of Life Science and Medical Science. Vol. 2 N° 1, pp 5-7.
- [10]**Harborne. JB. (1980)**. Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology, New series, p 329-402.

- [11] **Yahaoui. A, Silat. L. (2017).** Contribution à l'étude des extraits de l'espèce *Ephedra alata* Alanda de la région de Sigus, p 20.
- [12] **HUANG J. ET PRICE R.A., 2003-** estimation of the age of extant ephedra using chloroplast rbcL sequence data. *mol. biol. evol.*, vol. 20, n°3, pp435–440.
- [13] **Digheche. S, Khalfallah. M. (2019).** Evaluation de l'activité antioxydant et antibactérienne des extraits et des alcaloïdes totaux de l'*Ephedra alata* Alanda de la région de Oued Souf, p 18-19.
- [14] **Boulberhane. S, Nabhti. H. (2017).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et l'activité antifongique des deux plantes : *Artemisia compestris* L. et *Ephedra alata* Alanda Staph , p 57.
- [15] **Mebarkia. O, Ouadaoui. H. (2019).** Etude comparative de deux extraits de la plante *Ephedra alata*. Université Abbes Laghrour Khenchela, p 46-49.
- [16] **Ponce. AG, Fritz. R, Del Valle. CE, Roura. SI. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und – Technologie*, 36:679–684.

Chapitre VI : Résultats et discussion



*Les portes de l'avenir sont ouvertes à ceux
Qui savent les pousser*

I. Screening phytochimique :

I.1. Rendement d'extrait méthanolique :

L'extrait obtenu après macération dans le méthanol d'aspect collant et pâteux, de couleur marron foncé a été pesé pour déterminer son rendement.

Le rendement est calculé par rapport au poids de la matière sèche de plante étudiée par macération est représenté dans le Tableau 9.



Tableau 9 : Rendement d'extrait d'Ephédra alata.

Poids sec utilisée (g)	Poids d'extrait brut (g)	Rendement (%)
20	2,19	10.95%






I.2 Tests phytochimiques

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.

Tableau 10 : Mise en évidence de certaines familles de métabolites secondaires dans l'E.alata.

Métabolites secondaires	Observations	Les testes	Résultats
Flavonoïdes [1]	L'apparition d'une couleur jaune		+++
Tanins [1]	Coloration verdâtre ou bleu-noirâtre		+++

Chapitre VI : Résultats et discussion

<p>Alcaloïdes [1]</p>	<p>Réactif de Mayer : l'absence de formation d'un précipité blanc</p> <p>Réactif de Wagner : La formation d'un précipité brun</p>		<p>++</p>
<p>Saponosides [2]</p>	<p>La présence d'un mousse 1 cm</p>		<p>++</p>
<p>Coumarines [1]</p>	<p>L'apparition d'une fluorescence intense</p>		<p>+</p>
<p>Terpénoïdes [1]</p>	<p>La formation d'une couleur brune</p>		<p>+</p>
<p>Stéroïdes [2]</p>	<p>L'apparition d'une couleur rouge</p>		<p>++</p>

Les résultats sont interprétés comme suit :

- ✓ Le signe (+) : présence des traces de principe actif.
- ✓ Le signe (++) : présence d'une qualité appréciative de principe actif.
- ✓ Le signe (+++) : plante riche en principe actif.

Chapitre VI : Résultats et discussion

- ✓ Le signe (-) : absence en principe actif.
- ✓ L'étude phytochimique d'extrait méthanolique d'Ephédra alata a montré une forte présence des flavonoïdes et tanins.
- ✓ Alcaloïdes, saponosides et les stéroïdes sont présents en quantités moyennes dans l'extrait méthanolique.
- ✓ La plante est faible en coumarines et terpénoïdes.
- ✓ La composition chimique de la plante éphédra alata peut être expliquée par l'influence des facteurs sur la présence, l'absence et la répartition des différents principes actifs comme, le climat, la nature du sol, eau, altitude ...etc. [3].

II. Activité biologique :

II.1. Evaluation de l'activité antioxydante :

Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique du DPPH en présence d'un antioxydant. La forme non radicalaire DPPH-H est formé, l'évaluation de l'activité de notre extrait a été fait en comparaison avec celle de l'antioxydant standard : α -Tocophérol. Les résultats illustrés par la figure 41.

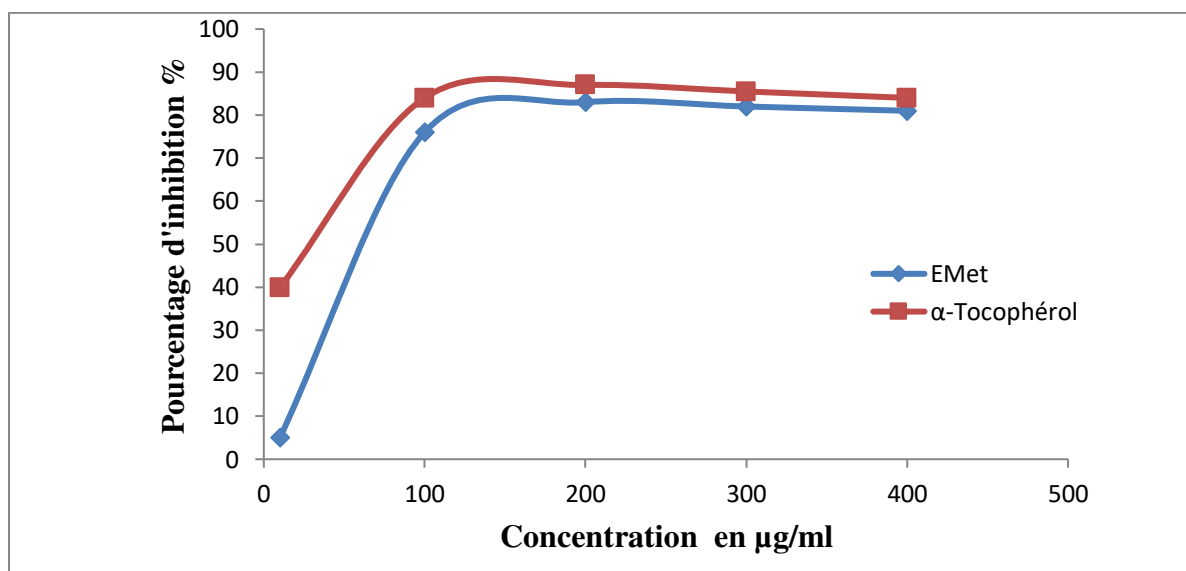


Figure 41 : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire de l'EMet de la plante et de standard α -Tocophérol.

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

Chapitre VI : Résultats et discussion

L'EMet d'E.alata a enregistré un pourcentage d'inhibition de $84,77\% \pm 4,30$ à une concentration de $125 \mu\text{g/ml}$, ce résultat est inférieur à ceux trouvés pour le standard α -Tocophérol ($89,52\% \pm 0,33$).

La cinétique du pourcentage d'activité anti-radicalaire nous a permis de déterminer l'IC₅₀, qui correspond à la concentration d'extrait nécessaire à l'inhibition de 50% du DPPH présent dans le milieu. Notant que plus l'IC₅₀ est faible plus l'activité antioxydante du composé est importante.

La concentration inhibitrice IC₅₀, qui assure le piégeage de 50% du radical DPPH, enregistrée par l'EMet est égale à $63,83 \pm 6,56 \mu\text{g/ml}$ ce qui est largement supérieure à celle de α -Tocophérol dont la valeur de $13,02 \pm 5,17 \mu\text{g/ml}$ [4].

Ces résultats montrent que l'extrait de la plante Ephédra alata possède une puissante activité antioxydante s'expliqueraient non seulement par la richesse des extraits en phénols, mais aussi par la nature de leurs composés phénoliques hydrosolubles (polaire). Ces composés sont caractérisés par la présence des groupements hydroxyles qui jouent un rôle primordial dans l'activité anti radicalaire [5].

En comparant le résultat de l'extrait méthanolique avec d'autre extrait d'éphédra alata on trouve : l'EMet d'E.alata présente la valeur la plus faible de l'IC₅₀ et donc une activité anti-radicalaire plus importante comparativement à l'extrait aqueux d'E.alata (IC₅₀ = $1270 \mu\text{g/ml}$). Ce qui indique que l'extrait méthanolique de la plante Ephédra alata possède un grand potentiel antioxydant par rapport à l'extrait aqueux.

Cette grande activité antioxydante de l'extrait méthanolique peut être expliquée par leur forte teneur en flavonoïdes et polyphénols qui sont considérés comme des excellents antioxydants [1].

II.2. Evaluation de l'activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne de l'extrait a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé. La méthode de disque a permis de déterminer l'action d'extrait sur les différentes souches, celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné de l'extrait, comme témoin de l'absence de la croissance bactérienne dans cette zone, les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 11 :

Chapitre VI : Résultats et discussion

Tableau 11 : Résultats de diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne.

Souches	Diamètres des zones
Escherichia coli	22.667±10.3 ⁽⁺⁺⁾
Staphylococcus aureus	0.00
Listeria monocytogenes	11.33±5(+)

Diamètre : $D < 8\text{mm}$, $9 \leq D \leq 14\text{mm}$, $15 \leq D \leq 19\text{mm}$, $D > 20\text{mm}$ est considérée respectivement comme souche résistante (-), sensible (+), très sensible (++) , extrêmement sensibles (+++)

Les mesures sont représentées dans le tableau 11 qui nous révèlent que l'extrait de la plante étudiée est réagi seulement avec les deux souches E. coli et L. monocytogenes mais n'ont pas réagi avec S.aureus.

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et ça indique que l'effet de l'extrait d'E.alata est varié d'une souche à l'autre dont E. coli, bactéries à GRAM négatif, est plus sensible de façon très hautement significative dans l'EMet que la souche L. monocytogenes à GRAM positif. La souche bactérienne S. aureus, bactérie à GRAM positif n'a aucune activité dans l'extrait.

Les résultats montrent donc la résistance des bactéries à GRAM positif de notre extrait par rapport à la bactérie à GRAM négatif ciblée [1].

La sensibilité des souches utilisées traduit l'action antibactérienne des flavonoïdes. En fait cette sensibilité est en relation avec le nombre des hydroxyles libres. **Cowan, (1999)** supposait que les flavonoïdes dépourvus des groupements hydroxyles libres ont plus d'activité antimicrobienne par rapport à ceux qui en sont pourvus [6].

Ephédrine :

L'éphédrine est une amine sympathicomimétique et un alcaloïde fréquemment utilisé comme décongestionnant issu des plantes du genre *Éphédra* (famille des *Ephedraceae*) [7].

L'éphédrine contient 27 atomes et 90 électrons d'après Gauss view6.0.

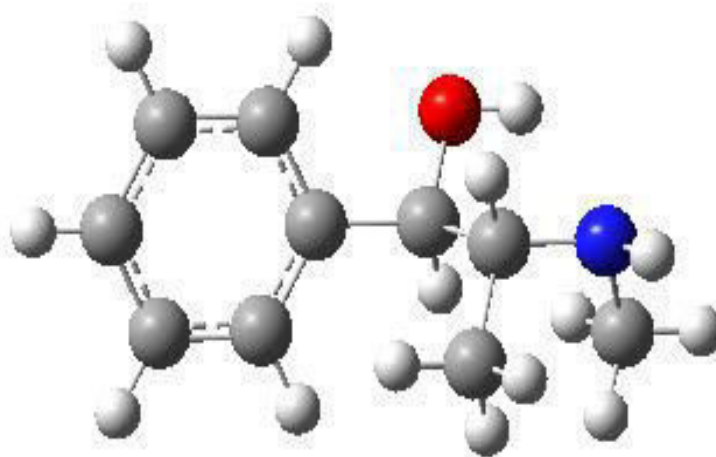


Figure 43 : La structure optimisée de la molécule éphédrine $C_{10}H_{15}NO$ déterminé avec DFT B3LYP.

III.3. Analyse de spectre IR de la molécule éphédrine :

Dans cette partie, nous avons donné de spectre infrarouge d'éphédrine, après avoir optimisé les systèmes moléculaires, le résultat obtenu nous a permis de tracer le spectres IR au moyen du logiciel Gauss-View 6.0, nous avons donné par la suite la correspondance des pics sur ces spectre IR.

Le spectre IR d'éphédrine représenté dans la figure (43) est caractérisé par une bande faible à 3875 cm^{-1} de vibration d'élongation de N-H de l'amine, 3375 cm^{-1} une forte et fine bande caractéristique d'élongation de la liaison O-H de l'alcool et phénol, $1562,5\text{ cm}^{-1}$ une bande moyenne de vibration d'élongation de C=C Alcène et une bande à $1062,5\text{ cm}^{-1}$ forte de vibration d'élongation C-C Alcane , et à 625 cm^{-1} une forte bande indique de vibration d'élongation de C-H aromatique .

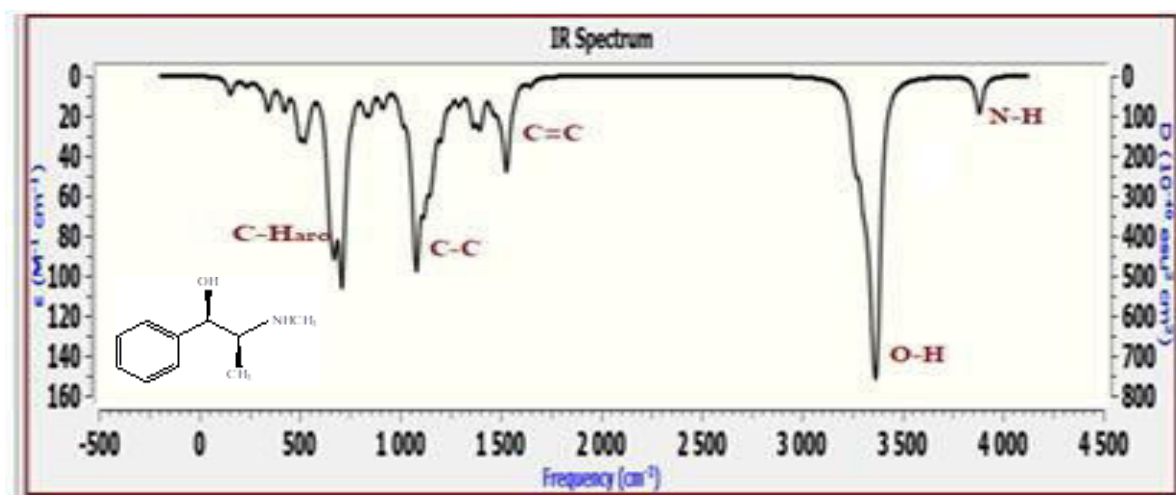


Figure 44 : Le spectre IR optimisée avec DFT B3LYP du C₁₀H₁₅NO.

Tableau 12 : Les valeurs des fréquences en (cm⁻¹) des spectres IR du C₁₀H₁₅NO.

Fonction	Liaison	Fréquence cm ⁻¹	Vibration	Intensité
Amine	N-H	3875	Élongation	Faible
Alcool et phénol	O-H	3375	Élongation	Forte ; Fine
Alcène	C=C	1562,5	Élongation	Moyenne
Alcane	C-C	1062,5	Élongation	Forte ; Fine
Benzène	C-H	625	élongation	Forte ; Fine

III.4. Les spectres RMN de C¹³ et H¹ de la molécule éphédrine :

III.4.1. Analyse de spectre RMN H¹ de C₁₀H₁₅NO :

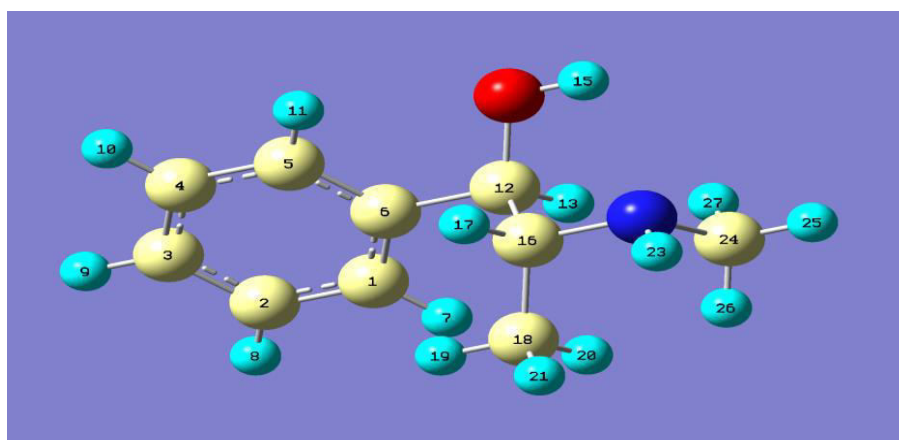


Figure 45 : La numérotation des atomes d'éphédrine déterminé avec DFT B3LYP.

Chapitre VI : Résultats et discussion

Le spectre RMN H^1 présenté dans la figure 45 obtenu par la méthode DFTB3LYP montre la présence de tous les atomes d'hydrogène de la molécule $C_{10}H_{15}NO$ (la formule de l'éphédrine indique la numérotation des atomes d'H), le signal de proton H-23 ($\delta=33,75\text{ppm}$) nous montre qu'il excite la fonction amine N-H, et aussi le signal de proton H-15 ($\delta=31,2\text{ppm}$) suggère que la molécule contient la fonction O-H. Tous les déplacements chimiques des atomes de d'hydrogènes sont regroupés dans le tableau (13) à l'aide de logiciel Gaussian09.

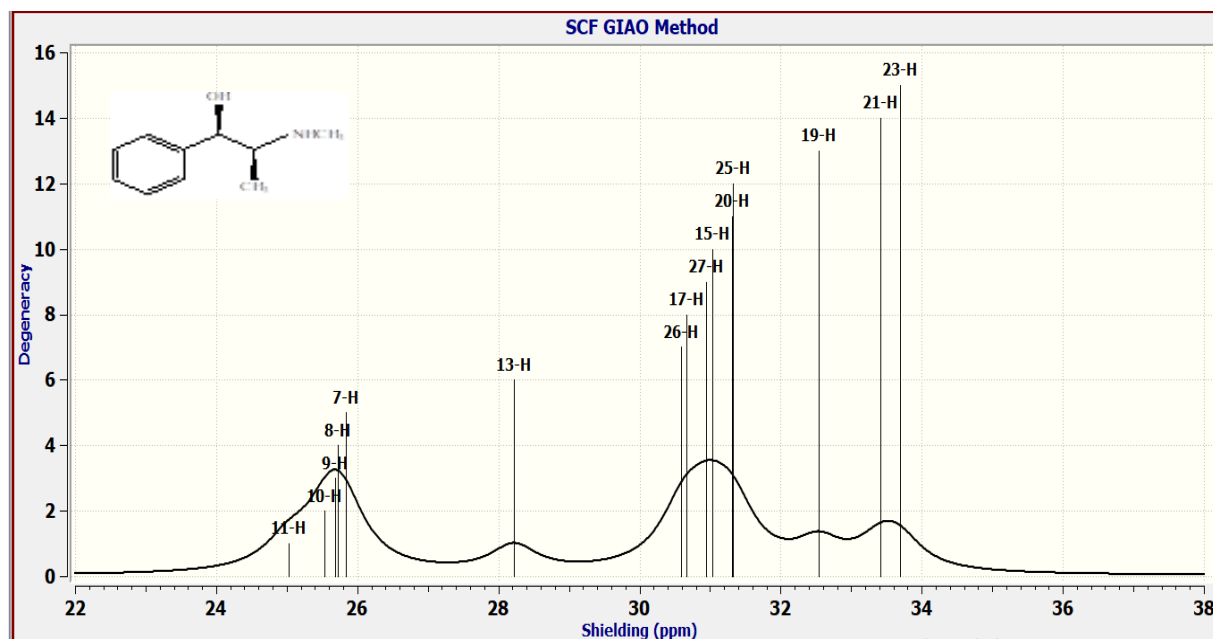


Figure 46 : Spectre RMN d'hydrogène H^1 de la molécule éphédrine déterminé avec DFT B3LYP.

Tableau 13 : Déplacement chimique (ppm) d'hydrogène H^1 du l'éphédrine.

Atome	δ (ppm)	Atome	δ (ppm)
H-11	25	H-17	30,7
H-10	25,75	H-27	31
H-9	25,87	H-15	31,2
H-8	25,88	H-20	31,26
H-7	25,93	H-25	31,26
H-13	28,25	H-19	32,6
H-26	30,62	H-21 ; H-23	33,3 ; 33,75

III.4.2. Analyse de spectre RMN C^{13} de $C_{10}H_{15}NO$:

La RMN du carbone 13 simplement appelée RMN du carbone est l'application de la spectroscopie RMN du carbone. Il est analogue à la RMN du proton (RMN H^1) et permet l'identification des atomes de carbone dans une molécule organique comme la RMN du proton identifie des atomes d'hydrogène. Ainsi, la RMN du C^{13} est un outil important dans la détermination de la structure chimique en chimie organique [8].

- ❖ L'observation des signaux de déplacements chimiques sur le spectre RMN C^{13} déterminées par la méthode DFT B3LYP illustrée dans la figure (46) indique la présence de tous les atomes de carbone de la molécule $C_{10}H_{15}NO$ (la formule de l'éphédrine explique la numérotation des atomes de C), le déblindage de carbone C-24 ($\delta=172$ ppm) montre que la molécule contient la fonction N-H et les carbones C-2, C-3 et C-5 presque la même nature. Tous les déplacements chimiques des atomes de carbone sont regroupés dans le tableau 14 à l'aide de logiciel Gaussian09.

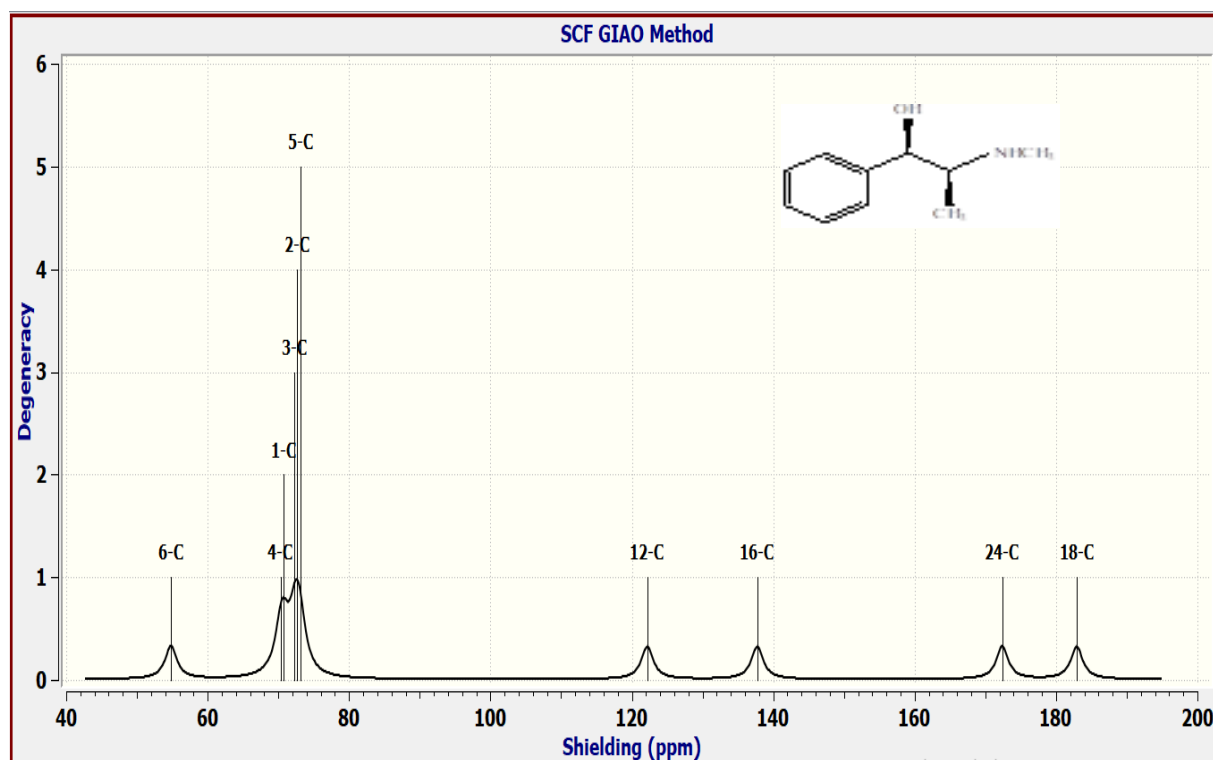


Figure 47 : Spectre RMN du carbone C^{13} de la molécule éphédrine déterminé avec DFT B3LYP

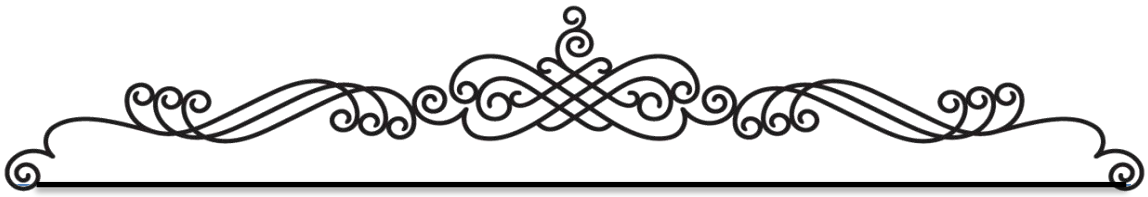
Chapitre VI : Résultats et discussion

Tableau 14 : Déplacement chimique (ppm) de carbone C¹³ du l'éphédrine

Atome	δ (ppm)	Atome	δ (ppm)
C-6	54,4	C-5	73,5
C-4	70	C-12	122
C-1	71	C-16	138
C-3	72	C-24	172
C-2	73	C-18	183

Références bibliographiques

- [1] **Mebarkia. O, Ouadaoui. H. (2019).** Etude comparative de deux extraits de la plante Ephédra alata. Université Abbas Laghrour Khenchela, p 50-51-52-62-63-64.
- [2] **Benkezzim. F, Derradji. L. (2016).** Contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation des activités biologiques des extraits aqueux, méthanolique et alcaloïdique de deux plantes médicinales Daphne gnidium (L.) et Ephédra alata alenda. Université M'hamed Bougara de Boumerdes, p 31.
- [3] **Boughrara. B. (2016).** Inventaire et étude ethnobotanique et chimique des plantes à intérêt thérapeutiques et nutritif de parc nationale El-kala. Thèse de doctorat : phytochimie. Université Badji Mokhtar-Annaba, p 136.
- [4] **Hamedeyazdan. S, Sharifi. S, Nazemiyeh. H, Fatihazad. F. (2014).** Evaluating antiproliferative and antioxidant activity of Marrubium crassidens . Advanced Pharmaceutical Bulletin, 4(1): 459-464.
- [5] **Digheche. S, Khalfallah. M. (2019).** Evaluation de l'activité antioxydant et antibactérienne des extraits et des alcaloïdes totaux de l'Ephédra alata alenda de la région de Oued Souf, p 25-27.
- [6] **Cowan. MM. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. Clinical microbiology review 12(4).
- [7] **Ludlow. RF, Ottos. (2008).** Two-vial, LC-MS identification of ephedrine receptors from a solution-phase dynamic combinatorial library of over 9000 components., sep 17;130(37):12218-9.
- [8] https://fr.wikipedia.org/wiki/Spectroscopie_RMN, consulté le 28/08/2020.



Conclusion générale



Le succès est toujours un enfant de

L'audace

Conclusion Générale

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques et chimiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture.

Ce travail dont l'objectif était de contribuer à la valorisation de l'une des espèces de la famille des Ephedraceae, Ephédra alata de la région de kenchela « Chechar », nous a permis d'aboutir à des résultats intéressants. Avec une valeur de rendement de 10,95% d'extrait méthanolique d'E. alata.

Dans le présent travail, le screening phytochimique réalisé, a révélé la richesse de notre plante en métabolites secondaires, où nous avons constaté la présence des Alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes, les Saponines, les coumarines, les terpénoïdes, et les stéroïdes.

L'étude de l'activité antioxydante de l'extrait de l'espèce Ephédra alata, selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH a montré que l'extrait méthanolique possède une activité antioxydante importante. Cette activité anti-radicalaire de l'extrait est donc relativement dépendante de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes donc ces molécules sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques.

L'activité antibactérienne réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé contre trois souches bactériennes E.coli, S.aureus, L.monocytogenes. Les résultats obtenus montrent la résistance des bactéries à GRAM positif (S.aureus, L.monocytogenes) à notre extrait par rapport à la bactérie à GRAM négatif (E.coli).

L'analyse de composé bioactif «éphédrine» a été réalisée par des méthodes spectroscopiques telles que l'infrarouge IR et la spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire RMN du H¹ et du C¹³. La structure du composé C₁₀H₁₅NO a également été étudiée à travers la méthode de la fonctionnelle de la densité DFT de fonctionnelle B3LYP, à l'aide du logiciel Gaussian09 et Gauss View6.0.

Finalement, on conclue que la plante éphédra alata est un sujet très riche et possède un domaine de recherche très vaste

Résumé

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la contribution à la valorisation d'une plante médicinale de la région de Chechar, *Ephédra alata*, dotée d'une grande importance pharmacologique dans le monde.

Le screening phytochimique affirme la présence de divers métabolite secondaire dans la plante tels que les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes, les terpènes, et les saponines.

La méthode de diffusion sur disques en milieu gélosé, a montré une forte activité d'extrait de la plante contre la croissance d'*Escherichia coli*, et une faible activité inhibitrice de la croissance de *Listeria monocytogenes* et aucune activité contre *Staphylococcus aureus*.

Pour les résultats de l'activité antioxydante réaliser par la méthode de réduction du radical libre DPPH, révèlent que l'extrait méthanolique d'*Ephédra alata* a une activité antioxydante très importante avec une IC_{50} faible.

L'analyse de composé bioactif « éphédrine » a été réalisée par des méthodes spectroscopiques tels que l'infrarouge IR et la spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire RMN du H^1 et du C^{13} obtenus à l'aide du logiciel Gaussian09 et Gauss View6.0.

Mots clés : *Ephédra alata*, métabolites secondaires, antioxydante, antibactérienne, Gaussian09, Gauss View 6.0.

Abstract:

This study is part of the contribution to the valuation of a medicinal plant from the region of Chechar, *Ephedra alata*, of great pharmacological importance in the world.

Phytochemical screening asserts the presence of various secondary metabolites in the plant such as alkaloids, tannins, flavonoids, terpenes, and saponins.

The agar disc diffusion method showed strong activity of plant extract against growth of *Escherichia coli*, and weak activity of growth inhibitor of *Listeria monocytogenes* and no activity against *Staphylococcus aureus*.

For the results of antioxidant activity achieved by the DPPH free radical reduction method, show that the methanolic extract of *Ephedra alata* has very high antioxidant activity with a low IC_{50} .

The analysis of the bioactive compound "ephedrine" was performed by spectroscopic methods such as infrared IR and H^1 and C^{13} NMR Nuclear Magnetic Resonance spectrometry obtained using Gaussian09 and Gauss View6.0 software.

Keywords: *Ephedra alata*, secondary metabolites, anti-bacterial, antioxidant, Gaussian09, Gauss View 6.0.

ملخص

هذه الدراسة هي جزء من المساهمة في تطوير نبات طبي من منطقة Chechar، Ephedra alata، ذو أهمية دوائية كبيرة في العالم. يؤكد الفحص الكيميائي النباتي وجود مستقلبات ثانوية مختلفة في النبات مثل القلويات والعفص والفلافونويد و التربين والصابونين.

أظهرت طريقة نشر قرص الأجار نشاطاً قوياً للمستخلصات النباتية ضد نمو الإشريكية القولونية، ونشاطاً ضعيفاً لمتببط نمو الليستريا المستوحدة، وعدم وجود نشاط ضد المكورات العنقودية الذهبية.

للحصول على نتائج النشاط المضاد للأكسدة، التي يتم تحقيقها من خلال طريقة تقليل الجذور الحرة DPPH أظهر أن المستخلص الميثانولي للإيفيدرا ألاتا يحتوي على نشاط مضاد للأكسدة مرتفع للغاية مع IC_{50} منخفض.

تم إجراء تحليل المركب النشط بيولوجياً "الإيفيدرين" بالطرق الطيفية مثل الأشعة تحت الحمراء IR و NMR مقياس الطيف بالرنين المغناطيسي النووي 1H و ^{13}C الذي تم الحصول عليهم باستخدام برنامج Gauss و Gaussian09 View6.0.

كلمات مفتاحية: الإيفيدرا ألاتا، المستقلبات الثانوية، مضاد للأكسدة، مضاد للبكتيريا، Gaussian09، Gauss View 6.0