

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة سعد دحلب البليدة (1)
Université Saad DahlabBlida1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Science Biologique

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Pharmacotoxicologie

THEME

Contribution à l'étude thérapeutique des parties aériennes d'*Ephedra alata*

Présentée par :

Date de soutenance le : 08/07/2025

▪ Rouane Asmaa

Devant le jury :

Dr BOKRETA S.	MCB	Présidente	USDB1
Dr MENACER A.	MAB	Examinatrice	USDB1
Dr DOUAOURI N.H.	MCB	Promotrice	USDB1
Pr CHERIF H.S.	Professeur	Co-promotrice	USDB1

Année universitaire 2024-2025

Remerciements

En premier lieu, je remercie Dieu le tout-puissant, pour m'avoir accordé la force, la patience et le courage nécessaires à la réalisation de ce modeste travail.

Du plus profond de mon cœur, je tiens à remercier tout particulièrement ma promotrice, **Docteur Douaouri Nor El Houda**, qui n'a pas seulement été une promotrice, mais aussi une sœur et une amie, m'accompagnant avec dévouement, compréhension et soutien sincère tout au long de ce parcours.

Je remercie également **Professeur Cherif Hamida Saïda**, qui a été la première à me guider au début de ce mémoire de fin d'études et a contribué à en poser les fondations.

Mes vifs remerciements vont à **Docteur Bokreta S.** et **Dr Menacer A.** pour l'honneur qu'elles m'ont fait en acceptant de juger mon travail. Qu'elles trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance

Je n'oublie pas d'exprimer ma profonde gratitude envers Monsieur **Gheribi Youssef**, l'ingénieur du laboratoire d'analyses au niveau du bloc "C" de l'institut des sciences vétérinaires de l'université Saad Dahleb Blida 01, qui m'a ouvert les portes du savoir pratique avec bienveillance et générosité, partageant avec moi des connaissances essentielles avec une grande ouverture d'esprit.

Je tiens aussi à remercier **Madame Larbi Chafika**, ingénieure du laboratoire de biologie végétale, qui ne m'a jamais laissée sans soutien, surtout dans les moments les plus difficiles.

Je tiens à exprimer ma sincère reconnaissance au personnel de **La Ferme universitaire de la Mitidja, affiliée à l'Université Blida 1 - Saâd Dahlab**, pour leur soutien indéfectible et leur accompagnement tout au long de la réalisation de nos expérimentations scientifiques.

Ainsi, je tiens à exprimer ma gratitude envers tout le personnel de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Blida 1, ainsi qu'envers tous ses éminents professeurs, dont les enseignements précieux et les efforts inlassables ont grandement contribué à mon parcours jusqu'à ce moment crucial.

Enfin, aucune parole ne saurait traduire toute ma reconnaissance. À tous ceux qui ont fait partie de ce chemin, sachez que vous occupez une place dans mon cœur et que votre empreinte restera à jamais gravée dans ma mémoire. Je prie Allah de vous récompenser en abondance et de faire de cette réussite le début d'un parcours rempli de réussites et de contributions fructueuses.

Dédicace

Avec une entière satisfaction et soumission, j'ouvre ce travail par des mots de gratitude envers mon Créateur, sans Qui ma plume n'aurait tracé une seule lettre ni mon pied fait un seul pas.

Et si le succès a un nom, c'est d'abord l'aide d'Allah, puis des cœurs qui ont aimé et soutenu, faisant de cette réalisation le fruit de leur générosité et de leurs prières.

À mes chers parents, le battement de mon cœur, mon premier refuge, ceux qui ont semé en moi l'amour de l'ambition et m'ont inculqué la persévérance depuis le premier instant...

À mes frères et sœurs, mon soutien inébranlable et ma fierté qui ne me déçoit jamais...

À mes neveux et nièces bien-aimés, les enfants de mes sœurs, la joie et la lumière de la famille, dont l'innocence m'apaise et dont les rires renouvellent mon espoir...

À mes tantes chéries et à leurs filles généreuses, pour qui j'ai dans le cœur un amour et une gratitude indescriptibles...

À ma précieuse professeur, Dr. Douaouri Nor El Houda, qui a été pour moi une enseignante, une sœur et une lumière sur le chemin du savoir...

À mes chères amies de toutes les étapes de ma vie, avec qui j'ai partagé joies et efforts, et qui ont illuminé mon parcours par leur gentillesse et nos conversations...

À tous les travailleurs et travailleuses de l'université Saâd Dahleb, qui ont fait partie de ce chemin d'une manière ou d'une autre...

Je dédie ce modeste travail à vos cœurs généreux, en gage d'amour et de reconnaissance, et en prière pour que le bien vous accompagne à chaque pas.

R. Asmaa

Résumé

La présente étude contribue à la valorisation d'une plante médicinale appartenant à la famille des Éphédracées. *Ephedra alata*, est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement des affections respiratoires et des pathologies hépatiques. Malgré ses propriétés médicinales potentiellement importantes, cette plante reste sous-exploitée dans notre région, en raison d'une méconnaissance de sa composition phytochimique et de ses effets thérapeutiques. Ce travail vise à évaluer *in vitro* comme *in vivo* les propriétés chimiques et biologiques de l'extrait hydro-éthanolique des tiges d'*Ephedra alata*, à savoir : les activités antioxydantes, anti-inflammatoires et analgésiques.

Le criblage phytochimique a dévoilé la présence des principaux métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes. L'analyse quantitative a confirmé cette richesse, avec des teneurs élevées en polyphénols totaux ($575 \pm 0,006$ mg EAG/g MS), flavonoïdes ($14,09 \pm 0,93$ mg EQ/g MS) et tanins condensés ($0,0136 \pm 0,0015$ mg EC/g MS).

L'activité antioxydante de l'extrait a été évaluée à l'aide de deux méthodes complémentaires : le piégeage du radical libre DPPH et le test FRAP. Pour le test DPPH, l'extrait a présenté une IC_{50} de 0,065 mg/ml, indiquant un fort pouvoir antioxydant. Le test FRAP a également révélé une capacité réductrice notable, confirmant l'activité antioxydante de l'extrait.

L'étude de la toxicité aiguë *in vivo* a montré que l'extrait est non toxique. Ainsi, l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo*, par le modèle d'œdème plantaire induit par la carragénine chez la souris, a révélé une inhibition hautement significative ($p < 0,0001$) et dose-dépendante de l'inflammation, atteignant 89,78 % à 400 mg/kg et 93,34 % à 800 mg/kg , après 5 heures.

Par ailleurs, l'activité analgésique, mesurée par le test des contractions abdominales induites par l'acide acétique chez la souris, a montré un taux d'inhibition des spasmes de 86,77 % (400 mg/kg) et 89,44 % (800 mg/kg), supérieurs à ceux du Livospasme (66,38 %). En conclusion, cette étude fournit des preuves scientifiques solides soutenant l'utilisation potentielle d'*Ephedra alata* comme source naturelle d'agents antioxydants, anti-inflammatoires et analgésiques.

Mots clés : *Ephedra alata*, extrait hydro-éthanolique, activité antioxydante, toxicité aiguë ,
activité anti-inflammatoire, activité analgésique.

Abstract

This study contributes to the valorization of a medicinal plant belonging to the Ephedraceae family. *Ephedra alata* is used in traditional medicine for the treatment of respiratory disorders and liver diseases. Despite its potentially important medicinal properties, this plant remains underexploited in our region due to a lack of knowledge about its phytochemical composition and therapeutic effects. This work aims to evaluate, both *in vitro* and *in vivo*, the chemical and biological properties of the hydroethanolic extract of *Ephedra alata* stems, namely: antioxidant, anti-inflammatory, and analgesic activities.

Phytochemical screening revealed the presence of major secondary metabolites such as flavonoids, tannins, and alkaloids. Quantitative analysis confirmed this richness, with high levels of total polyphenols (575 ± 0.006 mg GAE/g DM), flavonoids (14.09 ± 0.93 mg QE/g DM), and condensed tannins (0.0136 ± 0.0015 mg CE/g DM).

The antioxidant activity of the extract was evaluated using two complementary methods: DPPH free radical scavenging and the FRAP test. For the DPPH test, the extract showed an IC_{50} of 0.065 mg/mL, indicating strong antioxidant power. The FRAP test also revealed a notable reducing capacity, confirming the antioxidant activity of the extract.

The *in vivo* acute toxicity study showed that the extract is non-toxic. Furthermore, the evaluation of the *in vivo* anti-inflammatory activity, using the carrageenan-induced paw edema model in mice, revealed a highly significant ($p < 0.0001$) and dose-dependent inhibition of inflammation, reaching 89.78% at 400 mg/kg and 93.34% at 800 mg/kg after 5 hours.

Moreover, the analgesic activity, measured by the acetic acid-induced writhing test in mice, showed spasm inhibition rates of 86.77% (400 mg/kg) and 89.44% (800 mg/kg), higher than those of Livospasm (66.38%). In conclusion, this study provides strong scientific evidence supporting the potential use of *Ephedra alata* as a natural source of antioxidant, anti-inflammatory, and analgesic agents.

Keywords: *Ephedra alata*, hydroethanolic extract, antioxidant activity, acute toxicity, anti-inflammatory activity, analgesic activity.

المخلص

تُساهم هذه الدراسة في تثمين نبتة طبية تنتمي إلى فصيلة الإفيدراسيات. تُستخدم *Ephedra alata* في الطب التقليدي لعلاج الأمراض التنفسية و اضطرابات الكبد. و على الرغم من خصائصها الطبية الهامة المحتملة ، تبقى هذه النبتة غير مستغلة في منطقتنا ، بسبب نقص المعرفة بتركيباتها الكيميائية النباتية و تأثيراتها العلاجية . يهدف هذا العمل إلى تقييم الخصائص الكيميائية و البيولوجية لمستخلص سيقان *Ephedra alata* المائي الكحولي ، سواءً في المختبر أو على الجسم الحي ، و المتمثلة في : الأنشطة المضادة للأكسدة ، المضادة للالتهاب ، و المسكنة للألم .

أظهر الفحص الكيميائي النباتي وجود المستقلبات الثانوية الرئيسية مثل الفلافونويدات ، التانينات ، و القلويدات . و قد أكدت التحاليل الكمية هذا الغنى ، حيث سُجلت نسب مرتفعة من البوليفينولات الكلية (575 ± 0.006 ملغ مكافئ حمض الغاليك /غم.ج) ، الفلافونويدات (14.09 ± 0.93 ملغ مكافئ كيرسيتين/غم.ج) ، و التانينات المكثفة (0.0136 ± 0.0015 ملغ مكافئ كاتيشين/غم.ج) .

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص باستخدام طريقتين متكاملتين : تثبيط جذر الحر DPPH ، واختبار FRAP . في اختبار DPPH ، أظهر المستخلص قيمة IC_{50} بلغت 0.065 ملغ/مل ، مما يدل على قوة مضادة للأكسدة مرتفعة . كما أظهر اختبار FRAP قدرة اختزالية معتبرة ، مؤكداً النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص.

أظهرت دراسة السمية الحادة في الجسم الحي أن المستخلص غير سام. كما كشفت تقييمات النشاط المضاد للالتهاب في الجسم الحي، باستخدام نموذج وذمة القدم الناتجة عن الكاراجينين لدى الفئران، عن تثبيط كبير جداً ($p < 0.0001$) للالتهاب يعتمد على الجرعة، حيث بلغ 89.78% عند جرعة 400 ملغ/كغ و 93.34% عند جرعة 800 ملغ/كغ بعد 5 ساعات.

من جهة أخرى ، أظهر النشاط المسكن للألم ، المقاس باختبار التقلصات البطنية الناتجة عن حمض الأسيتيك لدى الفأر ، معدل تثبيط للتشنجات بلغ 86.77% (400ملغ/كغ) و 89.44% (800ملغ/كغ) ، و هي أعلى من تلك التي أظهرها دواء ليفوسبازم (66.38%).

خلاصة القول ، تقدم هذه الدراسة دلائل علمية قوية تدعم الاستخدام المحتمل لـ *Ephedra alata* كمصدر طبيعي للعوامل المضادة للأكسدة ، و المضادة للالتهاب ، و المسكنة للألم.

الكلمات المفتاحية : *Ephedra alata* ، مستخلص مائي كحولي ، النشاط المضاد للأكسدة ، السمية الحادة ، النشاط المضاد للالتهاب ، النشاط المسكن للألم.

Liste des abréviations

% INH	: Pourcentage d'inhibition de l'œdème
%AUG	: Pourcentage d'augmentation du volume de la patte
Ac	: Absorbance du contrôle
AlCl₃	: Chlorure d'aluminium
ANOVA	: Analysis of Variance
As	: Absorbance de l'échantillon testé.
BHT	: Butylhydroxytoluène
D0	: Diamètre initial de la patte avant l'injection de la carragénine.
DL50	: Dose létale médiane
Dn	: Diamètre de la patte la i ^{ème} heure après l'injection de la carragénine.
DPPH	: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
EAEA	: Extrait hydro-ethanolique d' <i>Ephedra alata</i>
EAG	: Equivalent d'acide gallique
EAME	: Extrait méthanolique d' <i>Ephedra alata</i>
Eawe	: Extraits aqueux d' <i>Ephedra alata</i>
EC	: Equivalent catéchine
EPH	: Établissement Public Hospitalier
EQ	: Equivalent Quercétine
FDA	: Food and Drug Administration
FeCl₃	: Chlorure de fer
FRAP	: Ferric reducing antioxidant power
H₂SO₄	: Acide sulfurique concentré
H₃PMo₁₂O₄₀	: Acide phosphomolybdique
H₃PW₁₂O₄₀	: Acide phosphotungstique
HCl	: Acide chlorhydrique

HME	: Extrait hydrométhanolique
HSD	: Honestly Significant Difference
IC50	: Concentrations inhibitrices à 50 %
IL-1β	: Interleukine-1 bêta
K3Fe(CN)6	: Ferricyanure de potassium
KOH	: Hydroxyde de potassium
LPS	: Lipopolysaccharide
Mc	Moyenne du nombre de contorsions des souris du lot control non traité.
MS	: Matière sèche
Mt	: Moyenne du nombre de contorsion des souris du lot traité.
NF-κB	Facteur nucléaire kappa-light-chain-enhancer des cellules B : activées
NMRI	: Naval Medical Research Institut
O.N.A.B	: Office National des Aliments du Bétail
OCDE	: Organisation de Coopération et de Développement Économiques
P.c	: Poids corporel
P38 MAPK	: p38 mitogen-activated protein kinase
PDA	: Détecteur à Barrette de Photodiodes
PGE₂	: Prostaglandine E2
RP-HPLC-ESI-QTOF-MS	HPLC couplée à la spectrométrie de masse à haute résolution :
Rpm	: Révolutions par Minute
STD	: Standard
TNF-α	: Acteur de nécrose tumorale alpha
UPLC-UV	Chromatographie Liquide Ultra Performante couplée à une : détection par Ultraviolet
UV/Vis	: Ultraviolet-Visible

Liste des figures

Figure 01 : Répartition géographique naturelle (en vert) d' <i>Ephedra alata</i>	6
Figure 02 : Aspect général de l'arbuste <i>Ephedra alata</i>	7
Figure 03 : Les fleurs d' <i>Ephedra alata</i>	7
Figure 04 : Structure chimique de l'éphedrine.....	12
Figure 05 : Localisation géographique de la zone de récolte	19
Figure 06 : Les tiges d' <i>Ephedra alata</i> avant et après le broyage.....	20
Figure 07 : Etapes de préparation de l'extrait hydro-ethanolique d' <i>Ephedra alata</i>	21
Figure 08 : Répartition des souris en deux lots (n=5 par groupe).....	28
Figure 09 : Administration des doses aux souris par gavage.....	28
Figure 10 : Mesure du diamètre des pattes.....	30
Figure 11 : Injection intrapéritonéale d'acide acétique chez la souris	32
Figure 12 : Courbe d'étalonnage d'acides gallique	39
Figure 13 : Courbe d'étalonnage de la quercétine (µg/ml).....	41
Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la catéchine (mg/ml).....	42
Figure 15 : Pouvoir antioxydant de l'extrait hydro-éthanolique	43
Figure 16 : Concentrations inhibitrice IC50 du radical DPPH.....	45
Figure 17 : Pouvoir antioxydant de l'extrait hydro-éthanolique	46
Figure 18 : Pourcentage d'augmentation du volume de la patte.....	49
Figure 19 : Pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème	51
Figure 20 : Effets analgésiques de l'extrait hydro-alcoolique.....	55

Liste des tableaux

Tableau I	: Compositions minérales des feuilles d' <i>Ephedra alata</i>	10
Tableau II	: Caractéristiques de l'extrait hydro-éthanolique des tiges d' <i>Ephedra alata</i>	35
Tableau III	: Résultats du screening phytochimique	37
Tableau IV	: Teneur en polyphénols totaux	39
Tableau V	: Teneur en flavonoïdes totaux	41
Tableau VI	: Teneur en tanins condensés	42
Tableau VII	: Concentration inhibitrice IC ₅₀ (µg/ml) du radical DPPH	44
Tableau VIII	: Dose-effet de l'extrait hydro-éthanolique	48
Tableau IX	: Moyennes des pourcentages d'augmentation	Annexe II
Tableau X	: Pourcentage d'inhibition du volume de l'œdème de la patte	Annexe II

Tables des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale 1

Chapitre I : synthèse bibliographique

I.1. Présentation de l'espèce *Ephedra alata*.....5

I.1.1 Origine et répartition géographique de la plante5

I.1.2. Description botanique6

I.1.3. Classification taxonomique d'*Ephedra alata*.....8

I.1.4. Etymologie.....9

I.1.5. Valeur alimentaire et nutritionnelle d'*Ephedra alata*.....9

I.1.6. Composition phytochimique d'*Ephedra alata*.....11

I.1.7. Usages thérapeutiques d'*Ephedra alata*.....14

I.1.7.1. Usages thérapeutiques traditionnels14

I.1.7.2. Données pharmacologiques et usages actuels15

I.1.8. Toxicité d'*Ephedra alata*.....16

Chapitre II : Matériels et Méthodes

II.1 Matériels19

II.1.1. Matériel biologique19

II.1.1.1. Présentation du site de récolte19

II.1.1.2. Matériel végétal.....19

II.1.1.3. Matériel animal	20
II.1.2. Matériel non biologique.....	20
II.2. Méthodes	21
II.2.1. Préparation de l'extrait hydro-ethanolique des tiges d' <i>Ephedra alata</i>	21
II.2.2. Analyse qualitative.....	22
II.2.2.1. Caractérisation des principaux constituants chimiques	22
II.2.3. Analyse quantitative	24
II.2.3.1 Détermination de la teneur en polyphénols totaux.....	24
II.2.3.2 Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux	25
II.2.3.3.Détermination de la teneur en tanins condensés	25
II.3. Evaluation in vitro de l'activité anti-radicalaire de l'extrait d' <i>Ephedra alata</i>	26
II.3.1 Méthode de piégeage du radical libre DPPH	26
II.3.2. Méthode de réduction du Fer : FRAP (<i>Ferricreducingantioxidant power</i>)	27
II.4.Evaluation <i>in vivo</i> de l'activité toxico-pharmacologique d' <i>Ephedra alata</i>	28
II.4.1. Etude de la toxicité aigue	28
II.4.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	28
II.4.2.1. Prétraitement par l'extrait	29
II.4.2.2. Induction de l'inflammation.....	29
II.4.2.3. Injection de la carragénine.....	29
II. 4.2.4. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	30
II.5. Evaluation de l'activité analgésique par le <i>test de torsion à l'acide acétique</i>	31
II.6. Analyse statistique	32

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Résultats de l'analyse qualitative	35
III.1.1. Rendement d'extraction.....	35
III.1.2. Caractérisation des principaux constituants chimiques	37

III.2. Résultats de l'analyse quantitative	39
III.2.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux.....	39
III.2.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux	40
III.2.3. Détermination de la teneur en tanins condensés.....	42
III.3. Résultats de l'évaluation <i>in vitro</i> du pouvoir anti-radicalaire de l'extrait d'<i>E. alata</i>	43
III.3.1 Méthode de piégeage du radical libre DPPH	43
III.3.2. Méthode de réduction du Fer : FRAP (<i>Ferric reducing antioxidant power</i>)	46
III.4. Résultats de l'étude <i>in vivo</i>	48
III.4.1 Toxicité aigüe	48
III.4.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i>	48
III.4.2.1. Pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG)	48
III.4.2.2. Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte (%INH)	51
III.4.3. Evaluation de l'activité analgésique de l'extrait hydro-éthanolique	54
IV. Conclusion.....	58
Références bibliographiques	61

Annexes

Annexe I	71
Annexe II	73

Introduction général

Introduction générale

Les plantes représentent une ressource naturelle essentielle, largement exploitées dans les systèmes médicaux traditionnels et modernes à travers le monde. Leur usage à des fins thérapeutiques remonte à l'Antiquité, comme en témoignent des écrits anciens provenant de civilisations telles que Babylone, Rome, la Chine, la Grèce et l'Égypte (**Jha et al., 2024**). En effet, il existe environ 500.000 espèces végétales sur terre, dont près de 80.000 possèdent des propriétés médicinales (**Benkhniue, 2010**).

En Afrique, les plantes médicinales occupent une place centrale dans la médecine traditionnelle. Elle font partie intégrante des systèmes de santé depuis des milliers d'années, constituant la principale source de soins de santé pour de nombreuses communautés où l'accès aux infrastructures médicales modernes est inaccessible (**Nargawe et al., 2023**). L'utilisation des plantes médicinales et aromatiques en Afrique est étroitement liée à la culture et aux pratiques sociales de ses habitants. Au-delà de la guérison, ces plantes sont également utilisées dans de divers rituels et événements de la vie (**Fajinmi et al., 2017**).

Les plantes médicinales constituent une source riche de composants biologiquement actifs qui sont responsables d'une vaste gamme des propriétés pharmacologiques. L'intérêt croissant pour leur utilisation à des fins médicinales dans le traitement des maladies et troubles divers est bien documenté dans la littérature scientifique (**Akmal, 2024**). Les métabolites végétaux, tels que les acides phénoliques, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les terpènes, les stéroïdes, les glycosides, les tanins, etc., revêtent une grande importance scientifique en raison de leurs nombreuses propriétés bénéfiques. Ces composés agissent notamment comme antioxydants, anti-inflammatoires, anthelminthiques, analgésiques, antiviraux et antimicrobiens (**Sharma et al., 2021**).

L'inflammation est un processus de protection conservé au cours de l'évolution, jouant un rôle essentiel dans la survie (**Liu et al., 2017**). Elle se traduit par une série de modifications complexes et coordonnées des tissus, visant à éliminer la cause initiale de l'agression cellulaire. Celle-ci peut être d'origine infectieuse, physiques (radiations, brûlures, traumatismes) ou chimiques (substances caustiques) (**Fialho et al., 2018**).

Généralement, cette réponse biologique complexe conduit à la restauration de l'homéostasie. Toutefois, lorsqu'elle devient chronique en raison d'une libération prolongée de médiateurs

inflammatoires ou l'activation de voies de signalisation délétères, elle peut entraîner un état pro-inflammatoire de bas grade (**Liu et al., 2017**). Ce type d'inflammation est corrélé à diverses pathologies et affections chroniques, telles que l'obésité, le diabète, le cancer et les maladies cardiovasculaires (**Nunes et al., 2020**).

Ainsi, la recherche de nouvelles molécules thérapeutiques capables de moduler les processus inflammatoires de manière efficace et sûre s'avère essentielle. Grâce à leur richesse en métabolites secondaires aux effets pharmacologiques variés, les plantes médicinales constituent une source prometteuse pour le développement de traitements innovants (**Zaynab et al., 2018 ; Li et al., 2020**).

C'est dans cette perspective que s'inscrit notre intérêt pour le genre *Ephedra*, un groupe de gymnospermes appartenant à la famille des Éphédracées. La majorité des espèces d'*Ephedra* poussent sous forme d'arbustes dans les climats arides et semi-arides à travers le monde. Parmi les plus connues figurent *Ephedra intermedia*, *E. gerardiana*, *E. alata*, *E. aphylla*, *E. foliata*, et *E. campylopoda* (**Kaur et al., 2023**).

En particulier, *Ephedra alata* connue en Algérie sous le nom d'Alanda est un arbuste sans feuilles, largement utilisé en médecine traditionnelle. Elle est réputée pour ses propriétés thérapeutiques dans le traitement des affections bronchiques, des troubles circulatoires, digestifs et rénaux, ainsi que pour ses effets bénéfiques contre les œdèmes, la fièvre, les maux de tête, les allergies, les crises d'asthme, et certaines infections bactériennes et fongiques. Ces usages sont attribués à la production de métabolites secondaires variés dotés d'activités biologiques significatives (**Fatima et Lakhdar, 2023**).

A travers notre étude, nous avons tenté de répondre aux objectifs suivants :

- *in vitro* par la :
 - Préparation de l'extrait hydro-éthanolique par macération à froid à partir des tiges d'*Ephedra alata*.
 - Analyse qualitative et quantitative du contenu phénolique des tiges d'*Ephedra alata*.
 - Evaluation du pouvoir antioxydant par deux méthodes (DPPH et FRAP)
- *in vivo* par :

- étude préliminaire de la toxicité aiguë de l'extrait hydro-éthanolique d'*Ephedra alata*. sur des souris NMRI.
- L'évaluation d'un possible effet analgésique et anti inflammatoire de la plante sur des souris NMRI.

Ce manuscrit sera donc agencé comme suit :

- ▲ Un premier chapitre qui représente une synthèse bibliographique portant des généralités sur la plante *Ephedra alata* et ses utilisations thérapeutiques, suivi d'une description des métabolites secondaire, qui englobent les composés terpéniques, les composés phénoliques, les alcaloïdes et quelques composés chimiques attribués à la plante.
- ▲ Le deuxième chapitre illustre le matériel et les méthodes d'analyses utilisées au laboratoire.
- ▲ Le troisième chapitre sera quant à lui consacré à la discussion des résultats obtenus, en terminant par une conclusion faisant le point sur l'ensemble du travail.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1. Présentation de l'espèce *Ephedra alata*

I.1.1 Origine et répartition géographique de la plante

Ephedra alata est un arbuste xérophytique largement répandu dans plusieurs régions arides du globe (**AidiWannes, 2023**). L'espèce est originaire du sud de l'Europe, du nord de l'Afrique et du sud-ouest de l'Amérique du Nord (**Alshalmania et al., 2022**).

Selon **Ozenda (1991)**, *Ephedra alata* est une espèce commune du Sahara, s'étendant du Maroc à la Libye, jusqu'en Égypte, et atteignant les régions désertiques d'Arabie Saoudite (Figure 01) (**Al-Qarawi et al., 2011**). Elle est fréquente dans des milieux ouverts et arides, notamment sur les sols sableux, caillouteux (regs), les lits sableux des oueds et les plateaux désertiques (hamadas). En Algérie, sa présence est confirmée dans le Sahara septentrional et occidental, notamment à Béchar, Ouargla, Djelfa et El Oued, où elle s'installe sur des substrats sableux à rocaillieux, à des altitudes variant entre 50 et 1200 mètres (**Ozenda, 1991 ; Ziani et al., 2019 ; Kouider et al., 2020**).

L'espèce se décline en trois sous-espèces reconnues : *E. alata* subsp. *alata*, subsp. *alenda* et subsp. *monjauzeana*, cette dernière étant endémique à l'Algérie (**Conifers.org, 2024**). Cette diversité sous-spécifique témoigne de son adaptation écologique marquée aux zones sahariennes. Elle joue un rôle important dans les systèmes ethnobotaniques locaux, étant couramment utilisée en médecine traditionnelle dans la majorité des pays arabes pour traiter diverses affections, notamment respiratoires et inflammatoires (**Ziani et al., 2019 ; Alshalmania et al., 2022**).



Figure 01 : Répartition géographique naturelle (en vert) d'*Ephedra alata* (cartes établies par le **Royal Botanic Gardens, Kew** via la base de données **Plants of the World Online (POWO)**) Source : POWO, Kew Science.

I.1.2. Description botanique

Ephedra alata est l'un des rares arbustes capables de survivre dans les conditions extrêmes du Sahara. Classée comme nanophanérophyte selon la typologie de Raunkiaer (1934), cette plante vivace se distingue par sa forme basse, dense et buissonnante, adaptée aux vents secs et aux sols pauvres. De couleur jaune-vert, elle présente une silhouette rigide, rarement haute (entre 40 et 100 cm), mais souvent plus large que haute, ce qui lui permet de mieux résister aux conditions arides (**Hadjadj et al., 2020**).



Figure 02 : Aspect général de l'arbuste *Ephedra alata* (**Kouider et al., 2020**)

Ses tiges, très reconnaissables, sont fines, dressées ou légèrement inclinées, à la fois côtelées et cannelées, d'un vert intense qui tranche avec l'environnement désertique. Elles mesurent à peine 1,5 mm de diamètre et se terminent par une petite pointe acérée. À chaque nœud, de minuscules feuilles réduites en écailles, disposées de façon opposées, rappellent l'adaptation de la plante à limiter la perte d'eau (Nemdili *et al.*, 2021).

Les fleurs, petites et discrètes, sont regroupées en cônes. Chez cette espèce, les pieds sont généralement séparés selon le sexe des fleurs, mais certains individus peuvent porter à la fois des fleurs mâles et femelles (Hadjadj *et al.*, 2020).



Figure 03 : Les fleurs d'*Ephedra alata* (Kouider *et al.*, 2020)

En outre, *E. alata* pousse à l'état naturel sur des sols caillouteux, sablonneux, argileux ou rocheux, souvent au pied de dunes mouvantes, dans les zones les plus arides du Sahara. Cette plante est particulièrement résistante à la sécheresse, une capacité qui fait d'elle un modèle d'adaptation aux milieux extrêmes (Tabi et Salhi, 2022).

Au-delà de ses qualités biologiques, *Ephedra alata* joue un rôle écologique précieux : elle contribue à stabiliser les sols sableux grâce à son réseau racinaire, participant ainsi à la lutte contre l'érosion et l'avancée des dunes (Hadjadj *et al.*, 2020).

I.1.3. Classification taxonomique d'*Ephedra alata*

Ephedra alata est une espèce appartenant au groupe des gymnospermes. Deux systèmes de classification peuvent être présentés : le système classique établi par Linné et la classification phylogénétique moderne adoptée par les grandes institutions botaniques comme le Royal Botanic Gardens, Kew.

- **Classification classique (classification de Linné) :**

Selon la classification traditionnelle, fondée principalement sur des critères morphologiques (Linné, 1753), *Ephedra alata* est classée comme suit :

Règne	:	Plantae
Sous-règne	:	Tracheobionta (Plantes vasculaires)
Divion	:	Gymnospermae
Classe	:	Gnetopsida
Ordre	:	Ephedrales
Famille	:	Ephedraceae

- **Classification moderne (selon RBG Kew – POWO)**

D'après la base de données *Plants of the World Online* du **Royal Botanic Gardens, Kew**, qui s'appuie sur les dernières recherches phylogénétiques, la classification de *Ephédra alata* est la suivante :

Règne	:	Plantae
Phylum (Division)	:	Streptophyta
Classe	:	Equisetopsida
Sous-classe	:	Gnetidae
Ordre	:	Ephedrales
Famille	:	Ephedraceae
Genre	:	<i>Ephedra</i>
Espèce	:	<i>Ephedra alata</i>

Cette classification s'appuie essentiellement sur les dernières données phylogénétiques reconnues ;

- Le phylum Streptophyta renferme toutes les plantes terrestres et certaines algues vertes, ce qui est plus large que l'ancienne division "Gymnospermae".
- La classe Equisetopsida (au sens large) est employée dans certaines classifications modernes pour regrouper toutes les plantes vasculaires à graines, y compris les gymnospermes.

I.1.4. Etymologie

Selon la littérature scientifique, les appellations courantes de *Ephedra alata* varient en fonction des langues, des régions et des usages traditionnels. Cette diversité de noms reflète la

richesse de son intégration dans les pharmacopées locales. Les dénominations les plus fréquemment rencontrées sont les suivantes :

- **Dialecte Algérien :** l-andla (العندل) (Kefif *et al.*, 2020 ; Djahafi *et al.*, 2021), Azuw (أزوو) (Baziz *et al.*, 2020), a'landa (Ouasti et Elachouri, 2023)
- **Autres appellations en arabe :** Alenda - Egypte (Eissa *et al.*, 2014), Tamatrat, Amair, La'landa - Maroc (Fakchich et Elachouri, 2021), A'landa - Palestine (Jaradat *et al.*, 2016) ; Theelmaiz, éphédra, Anabbahar, Ather, Jashia (Tadjine *et al.*, 2024)
- **En Français :** Éphédra (Tadjine *et al.*, 2024)
- **En Anglais :** Ephedra (Tadjine *et al.*, 2024)
- **En Chinois :** MaHuang (Tang *et al.*, 2023)
- **En Japonais :** Mao (Tadjine *et al.*, 2024)

I.1.5. Valeur alimentaire et nutritionnelle d'*Ephedra alata*

Ephedra alata est une plante médicinale dotée d'une richesse remarquable en composés bioactifs et en nutriments essentiels, présents dans ses différentes parties (Saoudi, 2022). Cette composition lui confère une valeur nutritionnelle significative ainsi qu'un potentiel thérapeutique prometteur (Saoudi, 2022).

Les feuilles d'*E. alata* se distinguent par leur teneur élevée en protéines (12 %) et en glucides (41 %), accompagnée de faibles concentrations lipidiques, ce qui en fait un aliment intéressant sur le plan diététique. L'analyse minérale de ces feuilles révèle également une forte présence de minéraux essentiels tels que le cuivre (Cu), le potassium (K), le calcium (Ca), le zinc (Zn), le fer (Fe), le manganèse (Mn) et le magnésium (Mg), témoignant de leur potentiel nutritif élevé (Saoudi, 2022). La composition en minéraux essentiels des feuilles de la plante médicinale *Ephedra alata* est présentée ci-dessous (Tableau I).

Tableau I : Compositions minérales des feuilles d'*Ephedra alata*

Élément minéral	Concentration mg/L
Calcium (Ca)	25.8
Magnésium (Mg)	17.32
Fer (Fe)	158.0
Potassium (K)	12.6

Manganèse(Mn)	26.03
Cuivre (Cu)	0.28
Plomb (Pb)	0.00016
Chrome (Cr)	0.0018
Zinc (Zn)	35.03

(Saoudi, 2022)

Les graines d'*E. alata*, quant à elles, présentent également des concentrations remarquables en minéraux, notamment en sodium (Na), potassium (K), calcium (Ca), magnésium (Mg), cuivre (Cu), zinc (Zn) et fer (Fe), consolidant ainsi leur intérêt comme source naturelle de micronutriments (**Mahmoudi et al., 2023**).

Il est important de souligner, à la lumière des travaux antérieurs, que les feuilles et les graines d'*Ephedra alata* renferment des teneurs acceptables en potassium (K), un élément clé considéré comme l'un des principaux ions à charge positive présents dans les liquides intracellulaires et extracellulaires, jouant ainsi un rôle fondamental dans la régulation des fonctions physiologiques de l'organisme (**Saxena et al., 2013**). Le potassium est un élément minéral essentiel, fortement requis en grandes quantités chez l'être humain pour assurer le bon fonctionnement de l'organisme, et joue également un rôle fondamental dans la croissance et la reproduction des plantes (**Saxena et al., 2013**).

Par ailleurs, cette plante est particulièrement riche en composés phénoliques et flavonoïdes, reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses. Ces substances actives offrent une protection efficace contre le stress oxydatif et la dégradation cellulaire. En raison de ces propriétés, les extraits d'*Ephedra alata* peuvent être envisagés comme additifs alimentaires naturels ou intégrés dans le développement de produits pharmaceutiques et cosmétiques (**Mahmoudi et al., 2023**).

I.1.6. Composition phytochimique d'*Ephedra alata*

De nombreuses études ont porté leurs efforts sur l'analyse des extraits polaires et non polaires des feuilles, des graines et des racines d'*Ephedra alata* pour caractériser la composition chimique de cette plante et tenter d'expliquer les caractéristiques bénéfiques démontrées par de nombreux travaux ces dernières années.

À ce jour, environ 300 composés, répartis en huit grandes catégories à savoir ; les alcaloïdes, les huiles volatiles, les flavonoïdes, les polysaccharides, les phénylpropanoïdes simples, les tanins condensés, les acides organiques et les stérol sont été identifiés chez les trois espèces d'*Ephedra* reconnues légalement (Tian *et al.*, 2022 ; Guo *et al.*, 2024).

Les composants chimiques des espèces d'*Ephedra* varient non seulement selon les parties médicinales utilisées, mais également d'une espèce à une autre, entraînant des variations dans la nature et la teneur des composés chimiques (Sun *et al.*, 2018 ; Guo *et al.*, 2024).

- **Les alcaloïdes**

Les alcaloïdes constituent les principaux composés actifs de l'*Ephedra*, dont 29 ont été identifiés à ce jour. Parmi eux, les trois paires de stéréoisomères de type amphétaminique suivantes sont les plus abondantes : L-éphédrine et D-pseudoéphédrine, L-noréphédrine et D-norpseudoéphédrine, ainsi que L-méthyléphédrine et D-méthylpseudoéphédrine. Ces stéréoisomères, généralement regroupés sous l'appellation éphédrines, sont considérés comme les principes actifs majeurs de la plante.

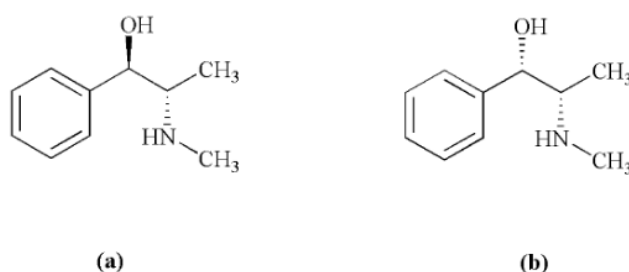


Figure 04 :Structure chimique de l'ephedrine ((a), 1R,2S-ephedrine) et pseudoephedrine ((b), 1S,2S-pseudoephedrine).

Ibragic *et al.* (2015) ont mis au point une méthode rapide par UPLC-UV, permettant de doser l'éphédrine et la pseudoéphédrine en moins de 7 minutes. Les teneurs obtenues étaient de 20,8 mg/g (poids sec) pour l'éphédrine et de 34,7 mg/g pour la pseudoéphédrine, représentant respectivement 90 % et 99 % de la teneur totale en alcaloïdes.

Par ailleurs, les alcaloïdes présents dans *Ephedra* comprennent également d'autres types structuraux, notamment des imidazoles, alcaloïdes de type amphétamine, quinolines et pyrrolidines.

- **Les polyphénols**

Une caractérisation phytochimique approfondie de l'extrait hydrométhanolique (HME) des parties aériennes d'*Ephedra alata* tunisienne a permis d'identifier 22 composés phénoliques, répartis en plusieurs sous-groupes : huit acides phénoliques (dont l'acide quinique à 85,85 %, l'acide gallique à 0,15 %, l'acide protocatéchique à 0,11 %, l'acide syringique à 0,01 %, l'acide caféique à 0,02 %, l'acide *p*-coumarique à 0,47 %), l'acide *trans*-férulique à 0,34 % et l'acide *trans*-cinnamique à 0,02 %), des flavones (comme la cirsiol à 0,52 %), des flavonols (quercétine, kaempférol), des flavan-3-ols (épicatechine à 7,19 %), des glycosides flavoniques (naringine à 1,83 %, rutine) ainsi que des flavanones comme la naringénine (Mighri et al., 2019 ; AidiWannes et SaidaniTounsi, 2024).

- **Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes désignent généralement une classe de composés caractérisés par la présence de deux cycles benzéniques (cycles A et B) portant des groupes hydroxyles phénoliques, reliés entre eux par une chaîne de trois atomes de carbone. La teneur totale en flavonoïdes (TFC) extraits d'*Ephedra* par éthanol dans un bain-marie est d'environ 0,29 %, selon les analyses réalisées par HPLC/PDA/MS (Al Rimawi et al., 2017 ; Wang et al., 2019). À ce jour, plus de 40 types de flavonoïdes ont été isolés à partir d'espèces du genre *Ephedra*, notamment la quercétine, la lutéoline et la rutine.

D'après l'étude menée par Khattabi et al. (2022) sur l'extrait hydrométhanolique d'*Ephedra alata* récoltée dans la région de Djebel Antar (Beni Abbes – Béchar, sud-est de l'Algérie), une analyse approfondie par l'HPLC couplée à la spectrométrie de masse à haute résolution (RP-HPLC-ESI-QTOF-MS) a permis d'identifier divers composés qui appartient à la famille des flavonoïdes, notamment sous forme glycosylée, avec la détection de flavonols tels que la myricétine-O-hexoside, la quercétine-O-rhamnoside, l'hypéroside, la quercétine-3-O-galactoside, l'isorhamnétine-3-O-glucoside, le kaempférolrhamnoside et la quercétine-3-O-glucoside.

Des flavonols diglycosylés ont également été identifiés, notamment la quercétine 3-O-rhamnoside-7-O-glucoside et la rutine. En ce qui concerne les flavones, plusieurs formes diglycosylées ont été détectées, telles que l'apigénine-6,8-C-dihexoside, l'apigénine 6-C-pentoside-8-C-hexoside, la lutéoline 8-C-glucoside, ainsi que la lutéoline non glycosylée. L'analyse a également mis en évidence la présence de flavan-3-ols, notamment (épi)gallocatéchine, catéchine-O-hexoside et épicatechine, ainsi qu'un flavanone identifié comme la naringénine-O-hexoside (**Khattabi et al., 2022**).

- **Les tanins**

Quant aux tanins, ces derniers forment une autre classe importante de composés polyphénoliques à structures complexes, largement répandus dans le règne végétal. Dans le cas d'*Ephedra*, les tanins sont principalement présents sous forme condensée, incluant des proanthocyanidines ainsi que des tanins hydrolysables (**Tang et al., 2023**). La méthode la plus récente pour détecter ces tanins dans *Ephedra* est la chromatographie par perméation de gel, développée par une équipe de chercheurs japonais (**Morio et al., 2020**).

En plus des composés mentionnés précédemment et identifiés dans les espèces du genre *Ephedra*, d'autres constituants ont également été isolés, notamment des polysaccharides, des lignanes, naphthalènes, esters, terpénoïdes, des quinones, des huiles essentielles. Ces composés, bien que présents en quantités moindres, contribuent à la complexité chimique globale de la plante et pourraient participer à ses effets pharmacologiques synergiques.

I.1.7. Usages thérapeutiques d'*Ephedra alata*

Ephedra alata est une plante médicinale ancestrale, largement utilisée dans les médecines traditionnelles à travers le monde pour traiter une variété de troubles physiologiques. Ses propriétés thérapeutiques sont principalement attribuées à la richesse de ses composés bioactifs, notamment les alcaloïdes, les flavonoïdes, les polysaccharides, etc., possèdent des effets pharmacologiques uniques. Cependant, le mécanisme d'action de son efficacité n'est pas encore totalement élucidé dans la littérature, et la structure moléculaire correspondante n'a pas encore été entièrement décrite (**Tang et al., 2023**).

I.1.7.1. Usages thérapeutiques traditionnels

Ephedra est utilisée dans la médecine traditionnelle russe pour le traitement des troubles respiratoires et rhumatismaux. Elle est également utilisée dans la pharmacopée traditionnelle

chinoise, où elle est prescrite contre la toux, le rhume des foins, les refroidissements, les frissons, l'asthme, les allergies et les œdèmes **(Benarba et al., 2021)**. Dans ce contexte, la plante est décrite comme étant de nature « chaude », âcre et légèrement amère, et elle est traditionnellement considérée comme agissante sur les fonctions respiratoires et urinaires. *Ephedra* est fréquemment utilisée pour soulager l'asthme, augmenter la pression artérielle et comme un agent analgésique. Plus récemment, elle a également été étudiée pour atténuer certains symptômes liés aux infections à COVID-19 **(Tang et al., 2023)**.

Traditionnellement, les tiges de *E. alata* sont préparées en décoction pour leurs effets stimulants, mais aussi pour le traitement de divers troubles respiratoires tels que l'asthme bronchique, la toux, la sinusite, ainsi que les affections rénales et certains désordres du système digestif **(Al Jaafreh, 2024)**. Elles sont également mastiquées pour traiter les infections bactériennes et fongiques, notamment buccales, ce qui témoigne de leurs propriétés antimicrobiennes naturelles **(Jaradat et al., 2021)**.

Dans certaines régions d'Algérie, notamment à Ouargla, *Ephedra alata subsp. alenda* est utilisée en médecine populaire contre la grippe, la coqueluche, la fatigue chronique et les rhumes saisonniers **(Hadjadj et al., 2020)**. Dans la région d'El Oued, son usage est encore plus diversifié : la plante est utilisée pour traiter les avortements spontanés, les cancers, le diabète, la toux, les ulcères gastriques, la grippe, les troubles digestifs (gaz, flatulences), l'obésité, l'insuffisance rénale et cardiaque, l'asthme, les allergies, les maux de tête, les frissons, la fièvre, la congestion nasale ainsi que les états d'hypotension **(Hadjadj et al., 2020)**.

I.1.7.2. Données pharmacologiques et usages actuels

Plusieurs études scientifiques sont venues confirmer ces usages traditionnels. En Algérie comme en Tunisie, cette plante est utilisée comme traitement adjuvant dans la prise en charge de certains cancers **(Sioud et al., 2020 ; Benarba et al., 2021)**. Il a également été rapporté que cette plante contribue à atténuer les effets secondaires associés à la chimiothérapie **(Benarba et al., 2021)**.

Par ailleurs, certains travaux antérieurs ont mis en évidence un potentiel effet anticancéreux particulièrement prometteur d'*E. alata*, aussi bien *in vivo* qu'*in vitro* **(Danciu et al., 2018 ; Sioud et al., 2020 ; Sioud et al., 2022 ; Bensam et al., 2023)**. Cet effet est associé à divers

mécanismes notamment, une cytotoxicité, l'induction de l'apoptose, l'inhibition de la fonction mitochondriale, l'arrêt du cycle cellulaire, l'inhibition d'enzymes clés, la réduction des dommages à l'ADN et/ou la prévention de l'angiogenèse (**Azadeh et al., 2022**).

Sur le plan pharmacologique, les extraits d'*E. alata* ont démontré des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses remarquables. Ces effets sont principalement attribués à leur teneur élevée en composés phénoliques et en flavonoïdes (**Mahmoudi et al., 2023**). Ces composés permettent de neutraliser le stress oxydatif, de réduire les inflammations chroniques, et inhiber la prolifération cellulaire anormale, ouvrant des perspectives prometteuses à la prévention de maladies dégénératives et chroniques (**Mahmoudi et al., 2023**).

Mahmoudi et ses collaborateurs (2023), rapportent dans leur étude sur les graines d'*Ephedra* un effet protecteur marqué contre le stress oxydatif, ainsi qu'une capacité inhibitrice importante vis-à-vis de plusieurs enzymes digestives clés, notamment l' α -glucosidase et l' α -amylase, impliquées dans la régulation de la glycémie. Ces résultats suggèrent un potentiel antidiabétique prometteur de cette plante (**Mahmoudi et al., 2023**).

En outre, il a été observé que les extraits obtenus à partir des graines inhibent l'acétylcholinestérase, une enzyme responsable de la dégradation de l'acétylcholine. Cette inhibition ouvre la voie à un potentiel effet neuroprotecteur, particulièrement intéressant dans le cadre de la prévention ou du ralentissement de maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer (**Mufti et al., 2022**).

Enfin, les connaissances issues de la médecine traditionnelle, corroborées par des données scientifiques récentes, convergent pour confirmer qu'*Ephedra alata* est une plante médicinale polyvalente, dotée d'un potentiel thérapeutique notable. Cette richesse d'applications lui confère un intérêt particulier dans les domaines de la phytothérapie, de la médecine préventive et du développement de formulations pharmaceutiques naturelles destinées à la prévention ou au traitement de diverses pathologies humaines.

I.1.8. Toxicité d'*Ephedra alata*

Bien que *Ephedra alata* présente un large éventail d'usages thérapeutiques validés par la tradition et soutenus par plusieurs études scientifiques, il est important de souligner que son usage n'est pas dénué de risques. Certaines recherches ont rapporté que les extraits de la

plante, en particulier ceux contenant des alcaloïdes de type éphédrine, peuvent provoquer des effets indésirables à fortes doses ou en cas d'usage prolongé (**AidiWannes et SaidaniTounsi, 2023**). Ces effets incluent une élévation de la pression artérielle, des troubles du rythme cardiaque, de l'anxiété, des tremblements, et d'autres effets cardiovasculaires ou neurologiques (**Mufti et al., 2022**). A titre d'exemple, **Boubekri et al. (2020)** ont rapporté le cas d'une intoxication chez une patiente de 70 ans, survenue après l'ingestion d'un bouillon de cette plante à des doses indéterminées dans le but de traiter une grippe. La patiente a présenté des troubles de la conscience (**Boubekri et al., 2022**). Les auteurs ont souligné l'importance de reconnaître ce type d'intoxication, de sensibiliser le public et de lutter contre la banalisation de sa consommation.

D'autre part, **Sioud et al. (2020)** ont démontré la toxicité aiguë d'*Ephedra alata* chez la souris, en déterminant une dose létale médiane (DL50) à 500 mg/kg sur 7 jours, ce qui indique que la plante peut devenir toxique en cas de mauvais dosage (**Sioud et al., 2020**).

Par ailleurs, la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis a annoncé en 2004 qu'aucun complément alimentaire ne pouvait être utilisé en association avec *Ephedra*, et l'utilisation de *Ephedra* est également restreinte dans d'autres pays (**Nelon, 2004**). Cette décision est principalement motivée par la toxicité dose-dépendante des alcaloïdes d'*Ephedra*, bien que des preuves indiquent que les composants non alcaloïdes de la plante conservent un potentiel thérapeutique. Toutefois, la sécurité clinique d'*Ephedra* reste incertaine, et sa toxicité n'a pas encore été explorée de manière approfondie (**Tang et al., 2023**).

Chapitre II

Matériels et méthodes

II.1 Matériels

II.1.1. Matériel biologique

II.1.1.1. Présentation du site de récolte

Les spécimens d'*Ephedra alata* ont été collectés dans la région de **Hassi Messaoud**, située à environ 86 km au sud-est de Ouargla, 172 km au sud de Touggourt et à près de 800 km au sud-est d'Alger, en plein Sahara algérien. Cette zone est caractérisée par un climat aride, des températures extrêmes et de faibles précipitations. Les coordonnées géographiques approximatives du site sont 31°41'45" N et 6°03'38" E (Mapcarta, n.d., 2025).

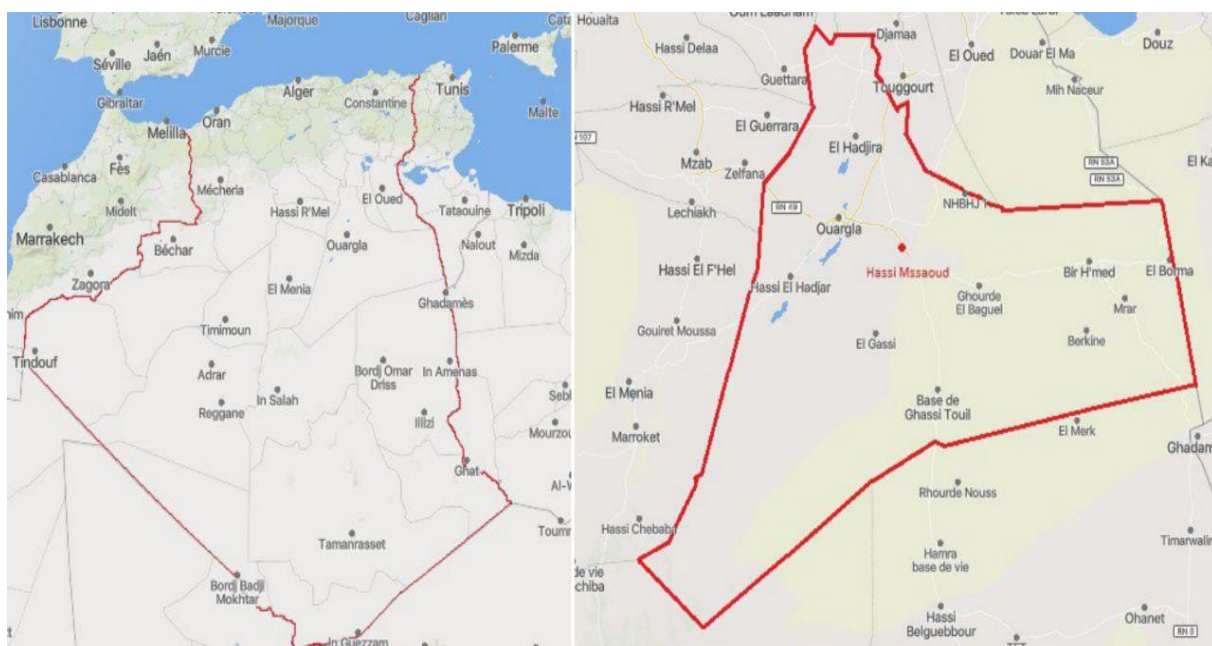


Figure 5 : Localisation géographique de la zone de récolte de l'espèce *Ephedra alata* (Mapcarta, (n.d.). Hassi Messaoud. Consulté le 2 juin 2025. Lien : <https://mapcarta.com/30005664>)

II.1.1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans le cadre de cette étude est constitué d'une espèce endémique *Ephedra alata*. Les échantillons ont été collectés à l'état spontané dans la région de Hassi Messaoud (31°40'N, 6°04'E), située dans la wilaya de Ouargla (sud-est de l'Algérie), au cours du mois de Janvier 2025.

La partie utilisée dans cette étude sont les tiges, qui ont été soigneusement lavées à l'eau distillée, séchées à l'ombre à température ambiante pendant quatre semaines, puis réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique et conservées dans des flacons hermétiquement fermés

(Figure 6), à l'abri de l'humidité et de la lumière afin d'éviter la dégradation des principes actifs et le développement des moisissures (Catier et Roux, 2007).



Figure 6 : Les tiges d'*Ephedra alata* avant et après le broyage (Originale, 2025)

II.1.1.3. Matériel animal

L'étude *in vivo* a été réalisée sur 40 souris mâles de souche NMRI (Naval Medical Research Institut), d'un poids compris entre 20 et 25 g, fournies par l'Institut Pasteur d'Alger.

Les souris ont été acclimatées pendant cinq jours aux conditions d'élevage appropriées au sein de l'animalerie de l'Université Saad Dahleb de Blida 1, avant le début de l'expérimentation. Elles ont été réparties dans quatre cages en polypropylène, chacune contenant dix individus, avec un accès libre à l'eau du robinet *ad libitum* ainsi qu'à une alimentation granulée de type "O.N.A.B.". Tout au long de l'étude, les animaux ont été manipulés conformément aux normes éthiques en vigueur relatives à l'expérimentation animale.

II.1.2. Matériel non biologique

L'appareillage, la verrerie, les réactifs ainsi que les divers produits chimiques utilisés sont mentionnés en **Annexe I**.

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation de l'extrait hydro-ethanolique des tiges d'*Ephedra alata*

La méthode d'extraction employée dans la présente étude est la macération à froid suivant le protocole décrit par **Enerijiof *et al.*, (2021)** en apportant quelques modifications. 50 g de poudre végétale sèche ont été macérés dans 200 ml d'éthanol à 80% pendant 48 heures, avec une agitation continue à l'aide d'un agitateur électrique. Le mélange est ensuite filtré à l'aide d'un papier filtre Whatman n°1. Le filtrat obtenu est ensuite évaporé à sec en utilisant un évaporateur rotatif à 40°C. L'extraction a été répétée trois fois avec le même solvant dans le but d'augmenter le rendement (**Figure 07**).

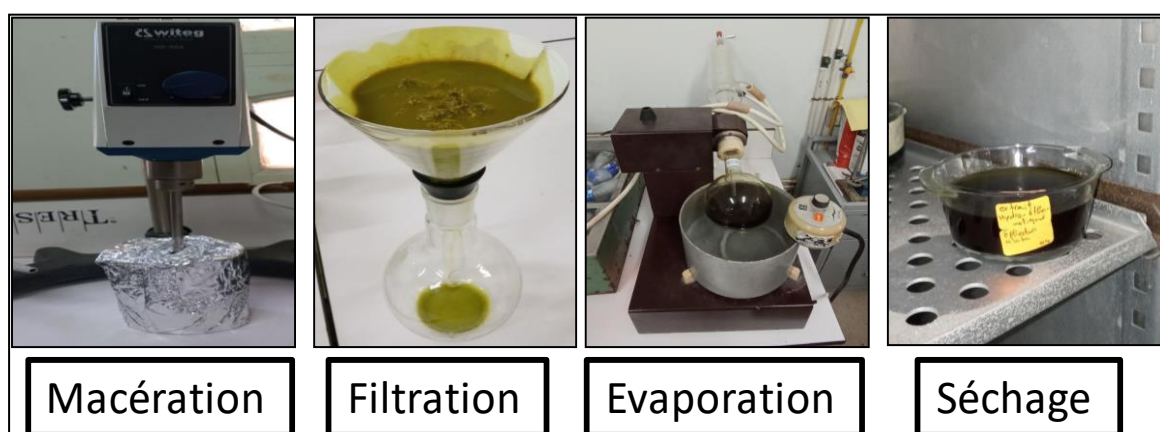


Figure 07 : Etapes de préparation de l'extrait hydro-ethanolique d'*Ephedra alata*

▪ Calcul du rendement d'extraction

Le rendement des extraits a été calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{M_{ext} \times 100}{M_{éch}}$$

Où :

- **R:** est le rendement en % ;
- **M_{ext}:** est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.
- **M_{éch}:** est la masse sèche de l'échantillon de la plante en g.

II.2.2. Analyse qualitative

Dans le cadre de cette étude, les différents groupes chimiques ont été caractérisés en se référant aux techniques décrites par **Bruneton (1999)**.

La présence de différentes substances bioactives (ou métabolites secondaires) telles que les tanins totaux, les tanins galliques, les tanins condensés, les anthocyanines, les saponines, les alcaloïdes, les flavonoïdes et les glycosides dans les tiges d'*Ephedra alata* a été évaluée à l'aide de tests phytochimiques. Ces analyses ont été réalisées en utilisant soit la poudre de la plante, soit un infusé à 5 %, selon la méthode décrite par **Bruneton (1999)**. Celle-ci consiste à infuser 5 g de poudre de tiges dans 100 ml d'eau distillée bouillante pendant 15 minutes. Le mélange est ensuite filtré, et le filtrat obtenu est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée.

Les changements de couleur ou la formation de précipités sont interprétés comme des indicateurs positifs de la présence des groupes chimiques recherchés.

II.2.2.1. Caractérisation des principaux constituants chimiques

a) Anthocyanes

A 5 ml d'infusé quelques gouttes d'ammoniaque $\frac{1}{2}$ sont ajoutées. L'apparition d'une coloration bleue confirme la présence des anthocyanes.

b) Les leucoanthocyanes

Deux grammes (02g) de poudre végétale sont ajoutés à 20 ml d'un mélange de propanol et d'acide chlorhydrique (1/1). Le mélange est chauffé au bain-marie bouillant pendant 15 minutes. L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des leucoanthocyanes.

c) Les tanins

Quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 à 5% sont ajoutées à 5 ml de l'infusé. En présence de tanins, la réaction produit une teinte bleu-noir.

d) Les tanins condensés

Dans un bécher, 7 ml du réactif de Stiasny sont additionnés à 15 ml de l'infusé. En présence de tanins catéchiques (tanins condensés), l'apparition d'une teinte rouge indique une réaction positive.

e) Tanins galliques

Cinq millilitres d'infusion sont introduits dans une fiole à l'aide d'une pipette graduée. Deux grammes d'acétate de sodium sont ensuite ajoutés, suivis de quelques gouttes de chlorure ferrique (FeCl_3). Après agitation, l'apparition d'une teinte bleu sombre indique la présence de tanins galliques.

f) Alcaloïdes

Cinq grammes de poudre végétale, préalablement humidifiée avec de l'ammoniaque ($\frac{1}{2}$ N), sont macérés pendant 24 heures dans 50 ml d'un mélange éther/chloroforme (3:1). Le mélange est ensuite filtré, et le filtrat est épuisé par 2 ml d'acide chlorhydrique 2N. Quelques gouttes du réactif de Dragendorff sont ensuite ajoutées. La formation d'un trouble ou d'un précipité indique la présence d'alcaloïdes.

g) Flavonoïdes

Dans une fiole, 5 ml d'extrait sont mélangés à 5 ml d'acide chlorhydrique, un copeau de magnésium, et 1 ml d'alcool isoamylique. Après agitation pendant quelques minutes, l'apparition d'une coloration rouge orangé indique la présence de flavonoïdes.

h) Saponosides

Deux millilitres d'infusé sont placés dans un tube à essai, puis quelques gouttes d'acétate de plomb y sont ajoutées. La formation d'un précipité blanc traduit la présence de saponosides.

i) Quinones libres

Deux grammes de poudre végétale sont humidifiés avec 2 ml d'acide chlorhydrique (1 N), puis mis en contact avec 20 ml de chloroforme pendant 3 heures. Après filtration, le filtrat est agité avec 5 ml d'ammoniaque ($\frac{1}{2}$ N). L'apparition d'une coloration rouge indique la présence de quinones libres.

j) Sénosides

Dans une fiole conique, 2,5 g de poudre végétale sont mélangés à 50 ml d'eau distillée et 2 ml d'acide chlorhydrique concentré. Le mélange est chauffé au bain-marie pendant 15 minutes. Après refroidissement, il est agité avec 40 ml d'éther. La phase éthérée est séparée, séchée avec du sulfate de sodium anhydre, puis évaporée à siccité. Le résidu est ensuite traité avec 5 ml d'ammoniaque demi-diluée ($\frac{1}{2}$ N). Une coloration jaune ou orangé se développe. Le

chauffage de cette solution au bain-marie pendant 2 mn, donne une coloration violette rouge en présence de sénosides.

k) Coumarines

Deux grammes de poudre sont portés à ébullition sous reflux dans 20 ml d'éthanol pendant 15 minutes. Après filtration, 5 ml du filtrat sont traités avec 10 gouttes de solution alcoolique de KOH à 10 %, suivies de quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 10 %. La formation d'un trouble indique la présence de coumarines.

l) Glycosides

Dix millilitres d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) sont ajoutés à 2 g de poudre végétale. L'apparition d'une coloration rouge brique, suivie d'un virage au violet, indique la présence des glycosides.

m) Amidon

Quelques gouttes d'Iode (I_2) ont été ajoutées à 2g de poudre végétale. En présence de l'amidon, une coloration bleu-violet est produite.

II.2.3. Analyse quantitative

II.2.3.1 Détermination de la teneur en polyphénols totaux

La teneur totale en composés phénoliques de l'extrait hydro-éthanolique des tiges d'*Ephédra alata* a été déterminée à l'aide du réactif de Folin-ciocalteu, selon la méthode décrite par Singleton *et al.* (1999), avec quelques modifications.

Un volume de 0,5mL de l'extrait hydro-ethanolique (1mg/ml) a été complété avec de l'eau distillée jusqu'à atteindre un volume final de 5 ml. Ensuite, 0,5mL de réactif de Folin Ciocalteu fraîchement préparé (10 fois dilué) a été ajouté. Après un temps de repos de 1 à 2 minutes, 0,5mL de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 20 % ont été incorporés. Après une heure d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée par un spectrophotomètre UV/Vis à 760 nm.

La détermination de la concentration en composés phénoliques totaux a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage linéaire de la forme $y = a x + b$, établie à l'aide de l'acide gallique comme référence.

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche de plante (mg EAG /g MS).

II.2.3.2 Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

La teneur totale en flavonoïdes totaux de l'extrait hydro-ethanolique des tiges d'*Ephedra alata* a été mesurée par spectrophotométrie suivant la méthode de **Kosalec et al. (2004)**.

Cette méthode est basée sur la formation d'un complexe flavonoïdes-aluminium, ayant une absorption maximale à 510 nm.

A 1mL d'extrait est ajouté 4mL d'eau distillée et 0.3mL d'une solution de nitrite de sodium (NaNO_2) à 5%. Après agitation, le mélange a été laissé au repos pendant 6 minutes.

Ensuite, 0,3 ml d'une solution éthanolique de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2 % ont été incorporés, suivis d'un second temps de repos de 6 minutes. Puis, 2 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) et 2,4 ml d'eau distillée ont été ajoutés. Après homogénéisation, le mélange a été incubé pendant 15 minutes à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 510 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible. Une courbe d'étalonnage ($y = a x + b$) a été établie séparément par la Quercétine pour calculer la concentration des flavonoïdes dans l'extrait.

Les résultats du dosage sont exprimés en milligramme équivalent Quercétine (EQ) par gramme de matière sèche de la plante (mg EQ/g MS).

II.2.3.3. Détermination de la teneur en tanins condensés

Le dosage des tanins a été réalisé par la méthode de la vanilline décrite par **Hagerman (2002)** *in Douaouri (2018)*.

Dans un erlenmeyer, 1mL de l'extrait hydro-ethanolique a été ajouté à 5ml du réactif d'analyse (2,5 ml de la solution de vanilline à 1% mélangée à 2,5 ml de la solution du HCl à 8% (8mL d'HCl complétés à 100 ml avec de l'éthanol)). Le mélange réactionnel est vigoureusement agité.

Après 2 minute de repos, 5 ml de la solution HCl à 4% ont été additionnée, Ensuite, l'erlenmeyer est placé dans un bain-marie à 30°C et laissé pendant 20 minutes.

La lecture des absorbances est lue à 500 nm en respectant l'intervalle d'une minute. Une courbe d'étalonnage établie par la catéchine a servi à la quantification des tanins condensés.

La teneur en tanins est exprimée en milligramme d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS).

II.3. Evaluation *in vitro* de l'activité anti-radicalaire de l'extrait d'*Ephedra alata*

II.3.1 Méthode de piégeage du radical libre DPPH

Le DPPH, ou 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl, est un radical libre organique stable (**Dobre et al., 2024**) possédant un électron de valence non apparié au niveau d'un atome d'azote (**WU, 2012**), connu pour sa couleur violette intense, ses propriétés paramagnétiques et son comportement redox (**Dobre et al., 2024**). Il est couramment utilisé dans les essais visant à évaluer la capacité antioxydante d'échantillons alimentaires en mesurant la variation de sa concentration par des méthodes spectrophotométriques lorsqu'il réagit avec des antioxydants (**Pyrzynska et Pękal, 2013**).

La méthode d'élimination des radicaux libres par le DPPH permet d'évaluer l'activité antioxydante en mesurant la capacité d'un échantillon à neutraliser les radicaux DPPH, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance (**Haleshappa et al., 2021**). Le pourcentage d'inhibition est calculé à l'aide de la formule : $[(Ac - As) / Ac] \times 100$.

où : Ac = Absorbance du contrôle (DPPH seul).

As = Absorbance de l'échantillon testé.

L'activité antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique des tiges d'*Ephedra alata* a été évaluée en utilisant la méthode décrite par (**Bouhaddouda, 2016**), suivie du calcul de l'IC50.

- **Préparation de la solution mère de DPPH :**

Une solution de DPPH a été préparée en dissolvant 4 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol. Le mélange a ensuite été agité magnétiquement pendant 30 minutes à l'abri de la lumière afin d'assurer une dissolution complète et éviter toute dégradation du radical libre.

- **Préparation de la solution mère et les dilutions de l'extrait :**

Tout d'abord, une solution mère a été préparé à une concentration de 0,5mg/ml en dissolvant 2,5 mg d'extrait dans 5 ml du solvant d'extraction à savoir ; l'éthanol à 80%.

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante, différentes dilutions de l'extrait ont été préparé dans le but d'obtenir les concentrations suivantes ; 20, 40, 60, 80, 100, 200, 250 µg/ml. A chaque dilution, 1 ml de solution éthanolique de DPPH a été ajouté.

Une solution témoin d'un antioxydant de synthèses à savoir, l'acide ascorbique (Vitamine C) a été préparé dans les mêmes conditions opératoires.

Les solutions sont incubées pendant 30 minutes à température ambiante, dans l'obscurité et à l'abri de l'oxygène atmosphérique afin de préserver la stabilité du DPPH. La lecture de l'absorbance a été mesuré à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS.

- ✓ **Calcul des concentrations inhibitrices (IC₅₀)**

La concentration inhibitrice (IC₅₀) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Elle est calculée à partir du graphe de l'activité antioxydant (en %) en fonction de différentes concentrations de l'extrait testé.

Une faible valeur d'IC₅₀ indique une forte capacité de l'extrait à neutraliser les radicaux libres (DPPH) (Shi *et al.*,2022).

II.3.2. Méthode de réduction du Fer : FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*)

L'activité réductrice du fer de l'extrait hydro-ethanolique est déterminée selon la méthode décrite par Ali *et al.* (2014).

A 1 mL d'extrait à différentes concentrations ont été ajouté 2,5 mL de solution tampon phosphate (200 mM, pH 6,6) et 2,5 mL de solution de ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ à 1 %. Le mélange a été incubé dans un bain-marie à 50 °C pendant 20 minutes. Ensuite, 2,5 mL d'acide trichloracétique à 10 % ont été ajouté afin de stopper la réaction. Les tubes sont placés dans une centrifugeuse à 3000 rpm pendant 10 minutes. 2,5 mL de surnageant a été prélevé et mélangé à 2,5 mL d'eau ultrapure et 0,5 mL de solution aqueuse de chlorure de fer (FeCl₃, 6H₂O) à 0,1 %. Après 10 minutes de repos, l'absorbance a été mesurée à 700 nm par spectrophotométrie contre un blanc.

Les contrôles positifs sont représentés par des solutions standard d'antioxydants, à savoir l'acide ascorbique (Vitamine C) et le butylhydroxytoluène (BHT), utilisés aux mêmes concentrations et conditions que celles de l'extrait hydro-éthanolique.

II.4. Evaluation *in vivo* de l'activité toxico-pharmacologique d'*Ephedra alata*

II.4.1. Etude de la toxicité aiguë

Afin d'éviter tout éventuel risque de toxicité lors des tests biologiques, il était nécessaire de réaliser des essais de toxicité. La toxicité aiguë de l'extrait a été déterminée chez la souris selon la méthode décrite par l'OCDE n°425 (2008).

Les souris à jeun depuis 18 h ont été réparties en deux groupes de cinq souris par groupe. Deux doses d'extrait des tiges d'*Ephedra alata* (400 et 800 mg/kg p.c) ont été administrées séparément aux souris de chacun des groupes au moyen d'une aiguille en acier à bulbe (Figures 06,07). Toutes les souris des groupes ont ensuite été autorisées à accéder librement à la nourriture et à l'eau et ont été observées sur une période de 14 jours pour détecter des signes de toxicité aiguë tels que l'hyperactivité, les convulsions ou la mortalité (Chan et Hayes, 1994).



Figure 08 : Répartition des souris en deux lots (n=5 par groupe) (Originale, 2025)



Figure 09 : Administration des doses aux souris par gavage (Originale, 2025)

II.4.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Pour mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'extrait d'*Ephedra alata*, un modèle expérimental d'inflammation aiguë de la patte de la souris induit par la carragénine a été sélectionné. Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après

administration de doses égales du produit de référence et du produit anti-inflammatoire à tester (Douaouri, 2018).

II.4.2.1. Prétraitement par l'extrait

Une heure avant l'injection de la carragénine, un effectif de 24 souris pesant 20 ± 5 g est divisé en 4 lots, à savoir trois lots traités et un lot témoin. Les souris ont été mises à jeun pendant 18h avant l'expérimentation.

Chaque lot reçoit par voie intra-œsophagienne à l'aide d'une sonde gastrique les solutions expérimentales comme suit :

- **Lot témoin (n=6):** reçoit par voie orale une solution d'eau physiologique de NaCl (0.9%) sous un volume de 0.5 ml.
- **Lot standard(n=6):** reçoit par voie orale 0.5 ml d'un produit anti-inflammatoire (Diclofénac® à 50mg/kg dissous dans du NaCl à 0.9%) ;

Deux lots traités avec l'extrait hydro-ethanolique de *Ephedra alata*:

- **Lot 1(n=6):** reçoit 0.5 ml de l'extrait hydro-ethanolique à une dose de 400 mg/kg de p.c dissous dans du NaCl 0.9%.
- **Lot 2 (n=6):** reçoit 0.5 ml de l'extrait hydro-ethanolique à une dose de 800 mg/kg de p.c dissous dans du NaCl 0.9%.

Les doses thérapeutiques ont été préparées et administrées en tenant compte du poids corporel des souris.

II.4.2.2. Induction de l'inflammation

Des œdèmes au niveau des pattes des souris sont induits après injection sub-plantaire (intra-articulaire) d'une solution de carragénine au niveau de la patte arrière droite, une heure après l'administration de l'extrait par voie orale. L'inflammation causée sera diminuée en présence de l'extrait ayant une activité anti-inflammatoire (Winter *et al.*, 1962).

II.4.2.3. Injection de la carragénine

Une heure après l'administration des traitements, chaque animal a reçu une injection par voie sub-plantaire dans la patte arrière droite de 50 µl d'une suspension de carragénine à 1% préparée dans un soluté physiologique (NaCl 0.9%).

II. 4.2.4. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire

- **Mesure de l'œdème**

Le diamètre de la patte a été mesuré, à l'aide d'un pied de coulisse digital avant et après induction de l'œdème à des intervalles d'une heure pendant cinq heures (Figure 08). L'évolution de l'œdème de la patte arrière droite a été déterminée à 1 h, 2 h, 3h, 4h et 5h.



Figure 10 : Mesure du diamètre de la patte avant (A) et après gonflement à l'aide d'un pied de coulisse digital (B). (Originale, 2025)

- **Calcul du pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG)**

Le pourcentage d'augmentation (%AUG) de l'œdème est calculé pour chaque groupe de souris. Il est donné par la formule suivante (Marzocco *et al.*, 2004) :

$$\%AUG = \frac{(Dn - D0) \times 100}{D0}$$

- **Dn** : diamètre de la patte la *i*^{ème} heure après l'injection de la carragénine.
- **D0** : diamètre de la patte avant l'injection de la carragénine.

- **Calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème (% INH) :**

Le pourcentage d'inhibition de l'œdème (%INH) a été calculé pour chaque groupe traité, en le comparant au groupe témoin. Ce pourcentage permet d'évaluer l'efficacité anti-inflammatoire de l'extrait testé. Il est déterminé selon la formule suivante (**Marzocco et al., 2004**):

$$\%INH = \frac{(\%AUG \text{ témoin} - \%AUG \text{ traité}) \times 100}{\%AUG \text{ témoin}}$$

- **Examen histologique**

Les souris sont anesthésiées à l'éther, et les pattes sont prélevées puis fixées dans une solution de formol à 10 % en vue de l'analyse histologique, prévue initialement **au niveau de l'EPH de Koléa**. Toutefois, **faute de temps**, cette étape n'a pas pu être réalisée dans le cadre de la présente étude.

II.5. Evaluation de l'activité analgésique par le test de torsion à l'acide acétique.

Pour mettre en évidence l'activité analgésique de l'extrait hydro-ethanolique des tiges d'*Ephedra alata*, un modèle expérimental de l'effet réducteur de spasme chez les souris de laboratoires

provoqués par l'acide acétique a été sélectionné. La méthode décrite par **Dharmasiri et al. (2003)** a été utilisée avec de légères modifications.

L'injection d'acide acétique à 1% par voie intra-péritonéale provoque chez les souris une réaction douloureuse, cette douleur se manifeste par des spasmes sous forme de mouvements de torsion de l'abdomen avec étirement des pattes postérieures (**Rahman, 2005**).

Les souris albinos sont réparties en 4 lots de 05 souris chacun dont le poids corporel est compris entre 20 et 25 g.

- **Au temps T0 :**

Les quatre solutions à savoir, l'eau physiologique, Livospasme® 80mg, l'extrait hydro-ethanolique à 400mg et 800mg/kg sont administré par voie orale :

- **Lot témoin :** Chaque souris reçoit 0,5 ml d'eau physiologique.

- **Lot essai 01** : Chaque souris reçoit 0,5 ml du produit de référence (Livospasme® 80mg/kg).
- **Lot essai 02** : Chaque souris reçoit 0,5 ml de l'extrait à 400mg/kg p.c.
- **Lot essai 03** : Chaque souris reçoit 0,5 ml de l'extrait à 800mg/kg p.c.

■ **Au temps T° +30 minute :**

Injection de l'acide acétique à 0.6% (10 mg/kg) par voie intra-péritonéale à toutes les souris mises en expérience (Figure 11).



Figure 11 : Injection intrapéritonéale d'acide acétique chez la souris (**Originale, 2025**)

■ **Après 5minute ;**

Cinq minutes après l'injection de la solution d'acide acétique, le nombre de contractions abdominales (ou spasmes) a été comptabilisé pendant une période de 10 minutes. Le syndrome douloureux se manifeste par des mouvements caractéristiques d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale (**Rahman, 2005**).

Le pourcentage d'inhibition de la réponse de contorsion a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = (M_c - M_t / M_c) \times 100$$

- **M_c**: moyenne du nombre de contorsions des souris du lot control non traité.
- **M_t**: moyenne du nombre de contorsion des souris du lot traité.

II.6. Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel R version 4.4.3. Dans un premier temps, une analyse de variance à un facteur (ANOVA) a été réalisée afin de comparer les moyennes entre les différents groupes expérimentaux (Témoin, Référence, Extrait hydro-ethanolique à 400 mg et 800 mg). La validité de l'ANOVA a été vérifiée par deux tests à savoir ;

- le test de Shapiro-Wilk, pour évaluer la normalité des données,
- le test de Levene, pour vérifier l'homogénéité des variances entre les groupes.

Chapitre III

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1. Résultats de l'analyse qualitative

III.1.1. Rendement d'extraction

Le rendement des extraits de plantes médicinales est calculé en mesurant la quantité d'extrait obtenue par rapport à la quantité de la matière végétale utilisée, en tenant compte de facteurs tels que la méthode d'extraction, l'efficacité du solvant et la durée d'extraction pour garantir une récupération phytochimique optimale (Mehra, 2023).

Notre extraithydro-éthanolique des parties aériennes d'*Ephedra alata* est obtenu après une macération de 48 heures, soumis à une filtration, séché et pesé pour déterminer son rendement et ses caractéristiques (couleur et aspect). Ces derniers sont représentés dans le **tableau II** ci-après :

Tableau II : Caractéristiques de l'extrait hydro-éthanolique des tiges d'*Ephedra alata*

Caractéristique	Aspect	Couleur	Rendement
Extrait de la plante	Pâteux	Vert foncé	23,76%

Nous constatons que l'extrait hydro-éthanolique est récupéré sous forme d'une pâte de couleur vert foncé. Ces mêmes résultats montrent que le rendement d'extraction obtenu des tiges d'*Ephedra alata* récoltées à Ouargla est de l'ordre de 23.76 %.

Il est important de souligné que très peu d'études se sont intéressées à l'évaluation de l'extrait hydro-éthanolique des tiges d'*Ephedra alata*, notamment ceux préparés avec une concentration élevée en éthanol (80%). De ce fait, nos résultats ont été comparés à ceux rapportés dans la littérature pour des extraits obtenus par macération avec d'autres solvants (eau, éthanol, méthanol, hydro-acétone).

Le rendement obtenu avec l'extrait hydro-éthanolique à 80 %, évalué à 23,76 %,est supérieur par rapport à plusieurs autres solvants classiquement utilisés dans l'extraction des composés d'*Ephedra alata*. Il est d'abord nettement supérieur aux rendements rapportés pour les extraits aqueux, notamment ceux obtenus par **Saoudi (2022)** (10,5 %), **Hibi et al. (2022)** (16,08 %).

Ensuite, comparé aux extraits obtenus avec de l'éthanol pur, le rendement de l'extrait hydro-éthanolique est également plus élevé. En effet, **Aiche et Dehas (2021)** ont rapporté un rendement de 10,8 %, tandis que **Bensam et al. (2023)** ont obtenu 7,78 %.

De même, les extraits méthanoliques, bien qu'ils soient généralement considérés comme efficaces pour l'extraction des composés bioactifs, ont montré des rendements légèrement inférieurs. À titre d'exemple, **Houba et Himeur (2018)** ont rapporté un rendement de 12,26 %, ce qui reste inférieur de celui obtenu avec l'extrait hydro-éthanolique à 80 %. Dans leurs travaux de recherche, **Benaouda et Benkerroum (2019)**, ont préparé plusieurs extraits bruts à partir des tiges d'*Ephedra alata* à l'aide de solvants de polarité variable. Les auteurs ont ainsi évalué les rendements et les caractéristiques physiques de chaque extrait.

L'extrait méthanolique a présenté le rendement le plus élevé, atteignant 22,5 %, et se caractérisait par une texture pâteuse et une couleur brune. Suivi de l'extrait aqueux qui a permis d'obtenir un rendement de 19 %, avec un aspect cristallisé et une couleur brune (**Benaouda et Benkerroum, 2019**).

L'extrait d'acétate d'éthyle a donné un rendement plus modeste de 4,35 % avec un aspect poudreux et une couleur verte. Quant à l'extrait acétonique, il a présenté un rendement de 3,9 %, avec une consistance visqueuse et une teinte verte. Enfin, l'extrait chloroformique a montré le rendement le plus faible (1,40 %), tout en présentant également un aspect visqueux et une couleur verte (**Benaouda et Benkerroum, 2019**).

L'extraction représente une étape cruciale dans le processus d'isolement des composés bioactifs à partir des plantes. Son efficacité dépend de plusieurs facteurs, tels que la nature du solvant, la taille des particules végétales, la température, la durée d'extraction et le rapport solvant/matière solide (**Zhang et al., 2018**).

De manière générale, le rendement d'extraction est influencé par l'espèce végétale utilisée, les conditions environnementales, l'organe prélevé pour l'extraction, les conditions de séchage, ainsi que par le type et la polarité du solvant employé (**Daoudi et al., 2015**).

Enfin, l'efficacité accrue de notre extraction peut être attribuée à la polarité intermédiaire du mélange éthanol/eau, qui a permis de solubiliser un spectre plus large de composés bioactifs, combinant des molécules polaires et semi-polaires.

III.1.2. Caractérisation des principaux constituants chimiques

Le screening phytochimique constitue une étape importante pour identifier les composés bioactifs présents dans certaines plantes médicinales (Kumari *et al.*, 2023). Ces composés peuvent contribuer à la formulation de nouveaux médicaments et à l'amélioration des traitements thérapeutiques (Khan *et al.*, 2023).

Dans cette optique, les tests phytochimiques réalisés ont pour objectif de détecter la présence de métabolites secondaires dans la poudre et l'infusé des tiges d'*Ephedra alata*, à l'aide de réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions reposent sur des phénomènes de précipitation ou de changement de couleur en présence de réactifs spécifiques.

Le **Tableau III** présente les résultats obtenus à l'issue de ces tests phytochimiques, réalisés sur les deux formes de l'échantillon analysé.

Tableau III : Résultats du screening phytochimique réalisés sur la poudre et l'infusé des tiges d'*Ephedra alata*

Composés phytochimiques	Observation	Résultats
Les anthocyanes	Coloration bleue	++
Les leucoanthocyanes	Coloration rouge	+++
Les tanins	Coloration bleu-noir	+++
Les tanins catéchiques	Coloration rouge	-
Les tanins galliques	Coloration bleu foncée	+++
Les alcaloïdes	développement d'un trouble / précipité	++
Les flavonoïdes	coloration rouge orangé	++
Les saponosides	formation d'un précipité blanc	+
Les quinones libres	coloration rouge	-
Les sénosides	coloration violette rouge	-
Les coumarines	formation d'un trouble	+++
L'Amidon	coloration bleue violette	-
Les glycosides	coloration violette	+++

Les résultats sont classés comme suit ; Elevé (+++), Modéré (++) , bas (+) et nul (-) sur la base de l'intensité du produit de réaction coloré.

D'après les résultats obtenus dans le tableau III ci-dessus, l'analyse phytochimique a montré que notre plante *Ephedra alata* contient une diversité de métabolites secondaires d'intérêt

pharmacologique. Une présence marquée a été observée pour les leucoanthocyanes, les tanins galliques, les tanins totaux, les glycosides ainsi que les coumarines, témoignant de la richesse de la plante en composés phénoliques.

Par ailleurs, une présence modérée des anthocyanes, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des saponosides a également été détecté. Toutefois, l'analyse n'a pas révélé la présence des tanins catéchiques, des quinones libres, des sénosides ni de l'amidon.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Alshalmania et al. (2022)**, qui ont également mis en évidence une prédominance de composés phénoliques chez *E. alata*. De leur côté, **Tabi et Salhi (2022)** ont observé une forte intensité en alcaloïdes et polyphénols, avec une faible présence de stérols et triterpènes, mais l'absence de coumarines, tandis que celles-ci ont été détectées dans notre étude.

Alors que, l'étude menée par **Yahaioui et Silat (2017)** n'a pas permis de détecter les saponosides, les tanins galliques, les leucoanthocyanes ni les coumarines. Ceci dit les tanins catéchiques, les flavonoïdes et les alcaloïdes étaient bien présents, illustrant une composition en partie différente de la nôtre.

En revanche, les travaux de **Atatra et Bouhdiche (2018)** et **Nesba et Henka (2018)**, ont révélé une diversité plus large de métabolites secondaires, comprenant les flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, saponosides, terpènes, stérols et coumarines, ce qui montre une composition plus proche de celle obtenue dans notre étude.

Enfin, **Messadia (2017)** a signalé l'absence de tanins galliques, de coumarines et de saponosides, tout en indiquant la présence de tanins catéchiques, anthocyanes et leucoanthocyanes, soulignant à nouveau une variabilité notable entre les études.

Plusieurs études antérieures menées sur *Ephedra alata* confirment globalement sa richesse en métabolites secondaires, bien que des différences soient notées selon les méthodes, les extraits ou les parties de la plante analysées. Ces variations inter-études s'expliquent probablement par plusieurs facteurs, notamment la nature du solvant d'extraction(aqueux, éthanolique ou hydro-éthanolique), le stade végétatif, ou encore les conditions climatiques et écologiques propres à la région de collecte (**Bettaieb et al., 2011, Feudjio et al., 2020 , Mohagheghian et al., 2025**).

III.2. Résultats de l'analyse quantitative

III.2.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode spectrophotométrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, un mélange d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) de couleur jaune. En présence des polyphénols et dans des conditions alcalines, ce réactif subit une réduction, formant des complexes bleus d'oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}), dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en composés phénoliques. L'absorbance a été mesurée à 760 nm (**Chedea et Pop, 2019**).

Les résultats obtenus sont exprimés en en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme de matière Sèche (mg EAG/g MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique ($y = 1,3723x + 0,0579$; $R^2 = 0,9992$) (Figure 12).

La teneur en polyphénols de l'extrait hydro-éthanolique des tiges de *Ephedra alata* est illustrée dans le **tableau IV**.

Tableau IV: La teneur en polyphénols totaux dans l'extrait hydro-éthanolique de *Ephedra alata*

Taux de polyphénols totaux (mgEAG/ g MS)	
Extrait hydro-éthanolique de <i>Ephedra alata</i>	575 ±0,006

Les résultats présentés dans le tableau IV indiquent que la teneur en polyphénols de l'extrait hydro-ethanolique des parties aériennes d'*Ephedra alata* est de $575 \pm 0,006$ mg EAG/gMS. Cette valeur est proche de celle rapportée par **Yahaioui et Silat (2017)** (653,21 mg EAG/gMS) dans un extrait méthanol-eau), ce qui confirme l'efficacité des solvants hydroalcooliques dans l'extraction des composés phénoliques.

Toutefois, notre résultat est nettement supérieur à ceux rapportés par **Messadia (2017)** qui a obtenu une teneur de $58,37 \pm 2,31$ mg EAG/g MS dans un extrait méthanolique, ainsi que par **Nehari (2022)** dont l'extrait hydro-methanolique présentait une teneur de **34,4 mg EAG/gMS**.

Plusieurs études ont montré que ces variations observées dans les teneurs en polyphénols totaux peuvent être liées à divers facteurs, tels que les différences dans la quantité de métabolites secondaires, le génotype, ainsi que le stade de maturité de la plante (Younis *et al.*, 2022).

D'autres facteurs influents incluent la nature et le volume du solvant utilisé, le type d'extraction, la période de récolte, les conditions biotiques (espèce, organe végétal, stade physiologique), ainsi que les facteurs abiotiques comme les caractéristiques du sol (facteurs édaphiques), la situation géographique, le type de sol, le microclimat, les conditions de stockage, et enfin, les étages bioclimatiques où se développe la plante (Frioua *et al.*, 2022).

III.2.2.Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

La quantification des flavonoïdes a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage obtenue à partir d'un standard de quercétine à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS). La teneur en flavonoïdes de notre extrait a été effectuée à l'aide de l'équation de la droite d'étalonnage suivante : $y = 0,038x + 0,018$, avec un coefficient de corrélation de $R^2 = 0,999$.

Les résultats du **tableau V** ci-dessous révèlent que la teneur en flavonoïde de l'extrait hydro-éthanolique des tiges de *Ephedra alata* est de $14,09 \pm 0,93$ mg EQ/ gMS .

Tableau V: La teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait hydro-éthanolique de *Ephedra alata*

Flavonoïdes totaux (mg EQ/ gMS)	
Extrait hydro-éthanolique de <i>Ephedra alata</i>	$14,09 \pm 0,93$

Dans le cadre de cette étude, la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait hydroéthanolique (80 %) des parties aériennes d'*Ephedra alata* a été estimée à $14,09 \pm 0,93$ mg EQ/g MS. Cette valeur s'avère supérieure à celles rapportées par Yahaoui et Silat (2017), qui ont obtenu 7,67 mg EQ/g MS avec un extrait méthanolique pur et 10,04 mg EQ/g MS avec un mélange méthanol-eau. Elle dépasse également les résultats obtenus par Al-Rimawi *et al.* (2017) avec de l'éthanol à 80 % (9,8 mg EQ/g) ainsi que par Abdel Wahab (2015), dont l'extrait présentait une teneur de 5,44 mg RU/g.

En revanche, cette concentration reste inférieure à celles mentionnées par **Houba et Himeur (2018)** ($26,10 \pm 1,56$ mg EQ/g) et **Nesba et Henka (2018)** ($30,60 \pm 0,97$ mg/g ES).

Les variations observés entre les différentes études peuvent être attribués à plusieurs facteurs, notamment à la nature du solvant utilisé, à sa polarité, à sa capacité de diffusion, mais aussi à la complexité structurale ou à la solubilité sélective des composés phytochimiques vis-à-vis d'un solvant donné (**Djeridane et al., 2006 ; Medini et al., 2014**).

III.2.3. Détermination de la teneur en tanins condensés

La quantification des tanins condensés a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par un standard étalon (Catéchine) à différentes concentrations et exprimée en milligramme équivalent catéchine par gramme de matière sèche de la plante (mg EC/g MS). Le taux des tanins condensés correspondants de notre extrait a été déterminé par l'équation : ($y = 0,353x - 0,001$; $R^2 = 0,997$)

Tableau VI : Teneur en tanins condensés de l'extrait hydro-ethanolique des tiges d'*E. alata*

Teneur des tanins condensés(mg EC/g MS)	
Extrait hydro-éthanolique d' <i>E.alata</i>	0,0136 ± 0,0015

Les résultats du **tableau VI** révèlent que la teneur en tanins condensés de l'extrait hydro-éthanolique des tiges de *Ephedra alata* est de $0,0136 \pm 0,0015$ mg EC/g MS. Cette valeur reste toutefois nettement inférieure à celle rapportée par **Messadia (2017)**, qui a obtenu des teneurs en flavonoïdes de $0,30 \pm 0,04$ mg EAT/g MS pour l'extrait méthanolique préparé par décoction, $0,16 \pm 0,07$ mg EAT/g MS par infusion, et $0,06 \pm 0,02$ mg/g MS par macération.

Elle est également très inférieure à celle trouvée par **Bellahcene (2020)**, qui rapporte une teneur de 17,05 mg EC/g MS pour l'extrait méthanolique des tiges feuillées. Nous constatons une différence dans les teneurs de tanins obtenu pour l'espèce *Ephedra alata*, cette différence peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment la partie de la plante utilisée (tiges seules ou tiges feuillées), la méthode et la durée d'extraction, ainsi que la nature du solvant utilisé.

De plus, la teneur particulièrement faible de notre résultat suggère soit une **très** faible concentration en tanins dans l'échantillon étudié, soit une efficacité limitée de l'extraction hydro-éthanolique pour ce type de composé.

III.3. Résultats de l'évaluation *in vitro* du pouvoir anti-radicalaire de l'extrait d'*E.alata*

III.3.1 Méthode de piégeage du radical libre DPPH

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire de notre extrait et de l'acide ascorbique *via* le test DPPH a conduit aux résultats illustrés dans la **figure 13**.

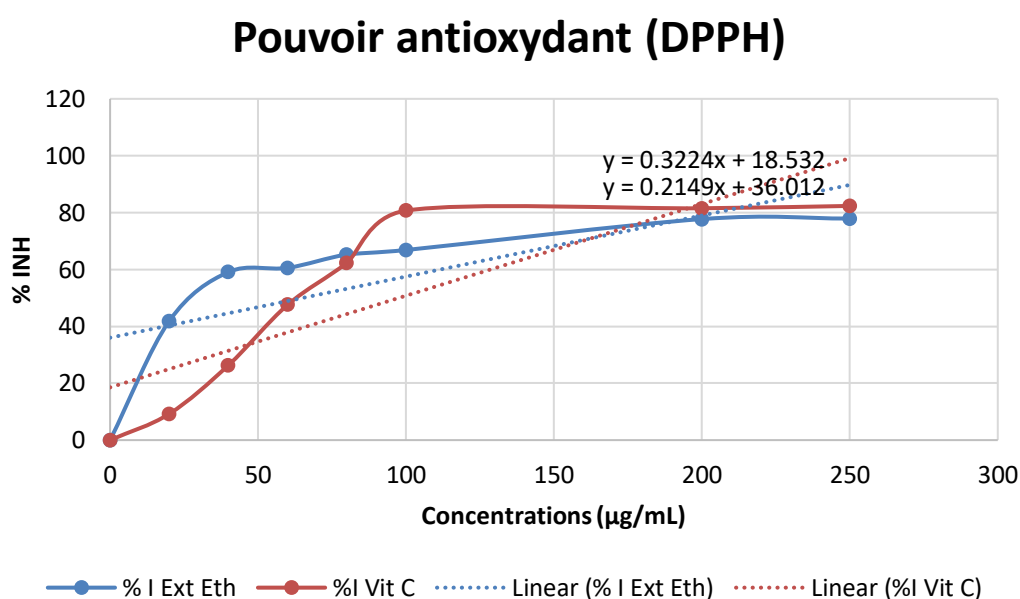


Figure 15 : Pouvoir antioxydant de l'extrait hydro-éthanolique d'*Ephedra alata* et de l'acide ascorbique (vitamine C) par la méthode du piégeage du radical libre DPPH.

Les résultats obtenus montrent que l'activité antioxydante de l'extrait hydroéthanolique d'*Ephedra alata* est dose-dépendante, se traduisant par une augmentation progressive du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait dans le milieu réactionnel. Cette activité croît jusqu'à atteindre un plateau, correspondant à la neutralisation quasi totale des radicaux libres DPPH présents.

Dans cette étude, l'activité antioxydante de l'extrait a été comparée à celle de l'antioxydant de référence synthétique, à savoir l'acide ascorbique (vitamine C), afin d'évaluer son efficacité relative.

Comme l'illustre la **figure 15**, l'extrait hydroéthanolique a présenté une activité antioxydante notable dans le piégeage du radical libre DPPH. On observe également que des pourcentages d'inhibition élevés ont été atteints, suivis d'une phase stationnaire, indiquant une saturation progressive du milieu en antioxydants. À la concentration de 0,25 mg/mL, le taux d'inhibition enregistré était de 77,91 %, témoignant de l'efficacité de l'extrait à neutraliser les radicaux libres.

Par ailleurs, il est important de souligner qu'aux concentrations de 0.2 ; 0.4 ; 0.6 et 0.8 mg/mL, l'extrait hydro-éthanolique a montré une activité antioxydante plus marquée que celle de l'acide ascorbique. En effet, les pourcentages d'inhibition obtenus pour l'extrait étaient respectivement de 41.88 %, 59.09 %, 60.56 % et 65.25 %, contre 9.24 %, 26.34 %, 47.59 % et 62.34 % pour l'acide ascorbique aux mêmes concentrations. Ces résultats indiquent une efficacité antioxydante particulièrement remarquable de l'extrait aux faibles et moyennes concentrations.

Afin de mieux illustrer le pouvoir antioxydant de notre extrait, nous avons déterminé la concentration inhibitrice 50 % (IC₅₀), correspondant à la concentration nécessaire pour inhiber 50 % du radical libre DPPH. Les valeurs d'IC₅₀ obtenues pour l'acide ascorbique et pour l'extrait hydro-éthanolique des tiges d'*Ephedra alata* sont présentées dans le **tableau VIII**.

Tableau VII : Concentration inhibitrice IC₅₀ (µg/ml) du radical DPPH

Concentration/extrait	Extrait hydro-éthanolique	Vitamine C
IC ₅₀ (µg/ml)	65,09±0.02	97,61±0.10

Les valeurs d'IC₅₀, représentées dans la **figure 16**, permettent d'évaluer l'efficacité antioxydante des extraits. Il est bien établi qu'une valeur faible d'IC₅₀ reflète une forte capacité à neutraliser les radicaux libres, car elle indique une quantité réduite d'antioxydant nécessaire pour inhiber 50 % du radical DPPH présent dans le milieu. Ainsi, plus l'IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante est élevée.

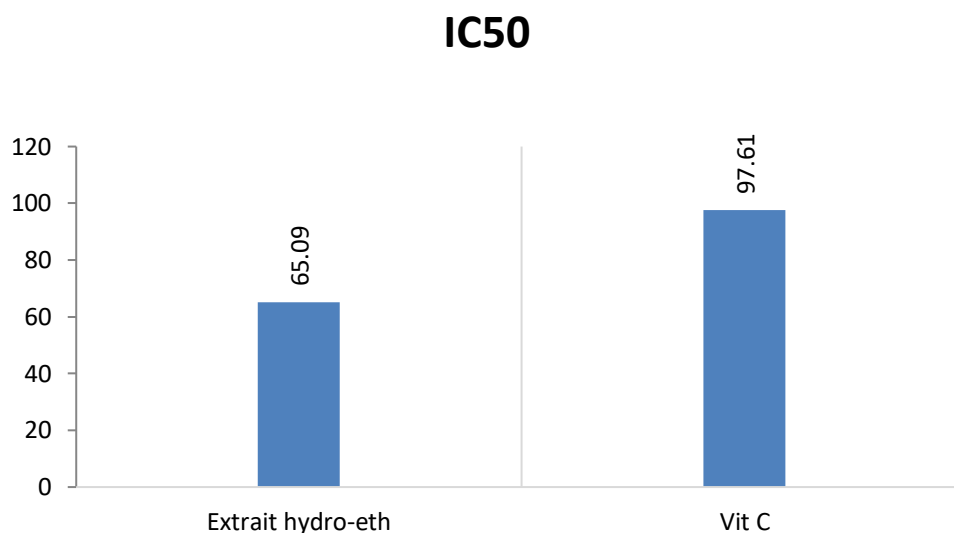


Figure 16 : Concentrations inhibitrice IC50 du radical DPPH de l'extrait hydro-éthanolique d'*Ephedra alata* et de l'antioxydant de référence (Vitamine C)

L'analyse du **tableau VII** et de la **figure 16** révèle que l'extrait hydro-éthanolique présente la valeur d'IC₅₀ la plus faible, traduisant un pouvoir antioxydant supérieur à celui de l'antioxydant de référence, l'acide ascorbique. Bien que les deux valeurs restent relativement proches, cette différence met en évidence l'efficacité notable de l'extrait.

La valeur d'IC₅₀ obtenue pour l'extrait hydro-éthanolique des tiges d'*Ephedra alata* dans cette étude est de 65,09 µg/mL (0,065 mg/ml), ce qui traduit une activité antioxydante importante.

Cette valeur est nettement plus faible que celles rapportées par **Yahaioui et Silat (2017)**, dont les extraits méthanolique et méthanol-eau ont présenté des IC₅₀ de 30,304 mg/ml et 73,61 mg/ml, respectivement.

Elle est également inférieure aux valeurs rapportées par **Al-Rimawi et al. (2017)** pour les extraits aqueux et éthanoliques (entre 88,7 et 95,3 mg/ml), ainsi qu'à celle de **Bouguettaya et Dehamnia (2019)** pour l'extrait aqueux d'*E. alata alenda* (0,49 mg/ml).

Ces variations peuvent être attribuées à divers facteurs, tels que la nature du solvant utilisé, la partie de la plante étudiée, les conditions d'extraction, ainsi que la concentration en métabolites antioxydants, en particulier les polyphénols et flavonoïdes (**Stéphane et al., 2022**).

Les résultats obtenus dans cette étude suggèrent que l'extrait éthanolique à 80 % constitue une formulation particulièrement efficace pour extraire les composés antioxydants de *Ephedra alata*.

III.3.2. Méthode de réduction du Fer : FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*)

La méthode du FRAP est basée sur une réaction de réduction en milieu acide vers un composé complexe jaune Fe^{3+} pour devenir un composé complexe bleu-vert Fe^{2+} en raison des donneurs d'électrons des composés antioxydants (Wahyudi et Nasir, 2022). L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm (Oyaizu, 1986). Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des échantillons testés (Hubert, 2006).

A partir des résultats obtenus, nous avons tracé des courbes de régressions des concentrations de l'extrait préparé à partir des tiges d'*Ephedra alata* et des standards Butyl Hydroxytoluène (BHT) et l'acide ascorbique (Vitamine C) (figure 17).

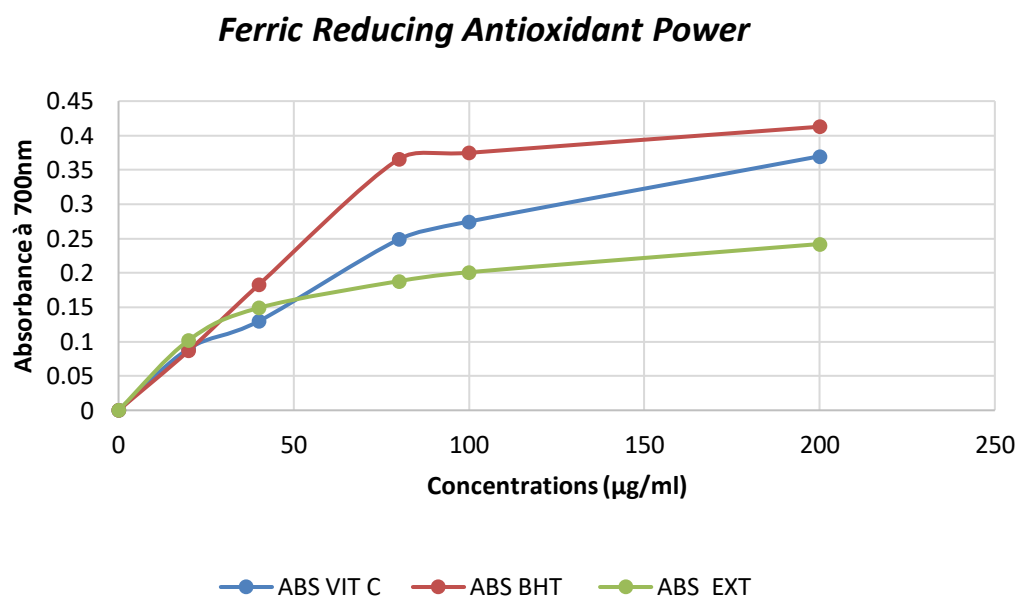


Figure 17 : Pouvoir antioxydant de l'extrait hydro-éthanolique d'*Ephedra alata* et des antioxydants de références(BHT et vitamine C) par la méthode de FRAP

Le graphique ci-dessus montre l'évolution de l'absorbance à 700 nm en fonction de la concentration (de 20 à 200 µg/ml) pour l'extrait testé ainsi que pour les deux antioxydants de références. Les résultats ont montré une évolution dose-dépendante, avec une absorbance

maximale de 0.242 enregistrée à la concentration de 200 µg/ml, traduisant une capacité réductrice modérée.

La courbe d'absorbance de l'extrait suit une progression constante, sans atteindre de plateau net, ce qui peut indiquer un potentiel antioxydant exploitable à des concentrations plus élevées.

En comparaison avec d'autres travaux antérieurs, cette activité est supérieure à celle rapportée pour certains extraits aqueux d'*Ephedra alata*, comme celui de **Houba et Himeur (2019)**, mais reste inférieure à celle des extraits méthanoliques, notamment ceux obtenus par décoction, comme l'indiquent les résultats de **Messadia (2017)**.

De plus, **Bellahcene (2020)** a rapporté une activité antioxydante élevée avec un extrait méthanolique des tiges feuillées, ce qui souligne l'influence du type de solvant et de la partie végétale utilisée sur l'efficacité antioxydante.

L'activité antioxydante observée lors de l'évaluation par le test de DPPH et FRAP pourrait être attribuée à la richesse de l'extrait en flavonoïdes et en polyphénols, considérés comme les principaux contributeurs à l'effet antioxydant des parties aériennes de l'espèce. Plusieurs études ont d'ailleurs montré une corrélation positive entre la teneur en ces composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits végétaux (**Hamoudi et al., 2022**).

Toutefois, comme le suggèrent des travaux antérieurs (**Belkhiri et al., 2017**), cette activité ne serait pas nécessairement corrélée à la concentration en polyphénols. Il est donc probable que d'autres antioxydants non phénoliques présents dans l'extrait, tels que l'acide phosphorique, la carnosine, l'acide citrique, certains acides aminés, des protéines ou encore l'acide ascorbique, contribuent à cet effet de chélation (**Hamoudi et al., 2022**).

III.4. Résultats de l'étude *in vivo*

III.4.1 Toxicité aigüe

Deux doses de l'extrait hydro-éthanolique ont été testées sur des lots de 5 souris chacun. Les doses à une seule administration par voie orale sont : 400 et 800 mg/kg (p.c). Les taux de mortalité sont résumés dans le **tableau VIII** suivant :

Tableau VIII :Dose-effet de l'extrait hydro-éthanolique de *Ephedra alata* chez les souris traitées par voie orale (toxicité aiguë).

Lots	400mg/kg p.c	800mg/kg p.c
Nombre de souris	5	5
Taux de mortalité/ lots	Négative	Négative

L'administration orale de l'extrait hydro-éthanolique aux doses de 400 et 800 mg/kg p.c aux souris n'a induit aucun signe de toxicité aiguë au cours de 14 jours d'observation. Vu la classification de la toxicité selon les lignes directrices de l'OCDE (Guideline 425), l'extrait hydro-éthanolique des tiges de *Ephedra alata* est considéré comme non toxique.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Saidi et al. (2022)**, qui ont montré que l'administration des extraits aqueux (EAW), méthanoliques (EAM) et hydro-éthanoliques (EAE) à des rats, à une dose allant jusqu'à 800 mg/kg, n'a provoqué ni mortalité ni effets physiopathologiques notables et aucune variation statistiquement significative n'a été relevée concernant la prise alimentaire ($p = 0,96$), la consommation d'eau ($p = 0,97$) ou le gain de poids ($p = 0,92$). Ces données confirment donc le profil d'innocuité de l'extrait hydro-éthanolique d'*Ephedra alata* à ces doses.

III.4.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo*

L'effet anti-inflammatoire de l'extrait hydro-éthanolique des tiges d'*Ephedra alata* contre l'œdème inflammatoire induit par la carragénine a été observé et mesuré. Les différents résultats obtenus sont présentés dans le tableau (**AnnexeII**)

III.4.2.1. Pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG)

Les résultats obtenus ont été représentés sous forme d'histogrammes, illustrant le pourcentage moyen d'augmentation du volume des pattes postérieures droites des souris à chaque point de temps (de 1h à 5h après l'injection de la carragénine), pour chacun des quatre groupes expérimentaux (Figure18).

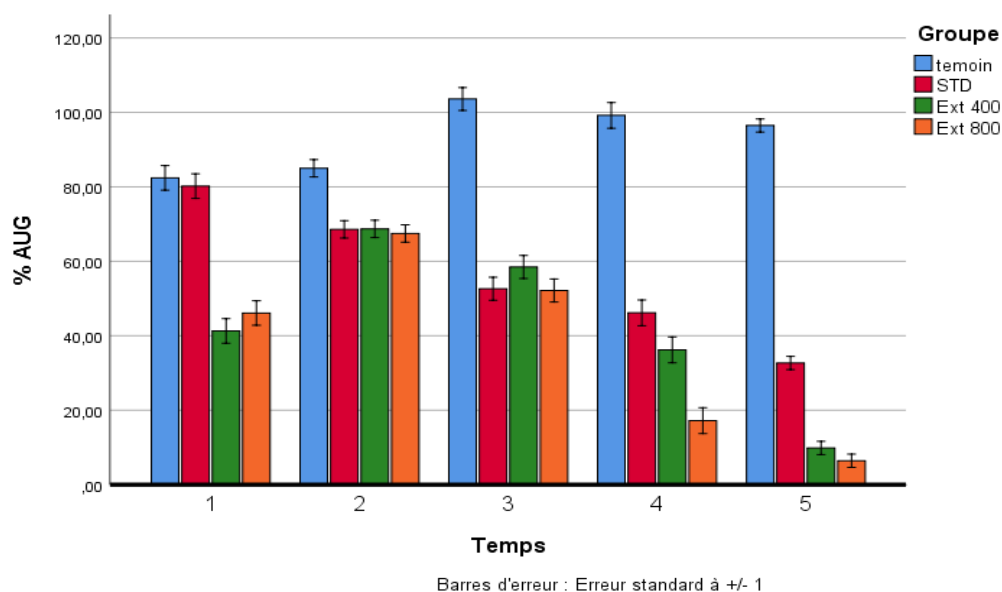


Figure 18 : Pourcentage d'augmentation du volume de la patte postérieure droite chez les souris, 5 heures après injection de la carragénine, pour les différents groupes expérimentaux (Témoin, STD, extrait hydro-ethanolique à 400 et 800 mg/kg). Les barres représentent les moyennes $\pm$ écart-type ($n = 6$).
 $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif
 Comparaison entre les groupes par heure (*** : $p < 0.001$).

Il a été observé que l'injection sub-plantaire d'une solution de carragénine à 1 % induit une réponse inflammatoire aiguë, caractérisée par une augmentation rapide du volume de la patte dès la première heure. Comme le montrent la figure et les données du tableau (**Annexe II**), cette augmentation est présente dans tous les groupes, avec un pic d'intensité particulièrement marqué dans le groupe témoin (non traité), où l'augmentation du volume atteint $82.40 \pm 5.16\%$, et dans le groupe post-traité par le Diclofénac®, avec $80.20 \pm 5.57\%$. En comparaison, les groupes traités par l'extrait hydro-éthanolique d'*Ephedra alata* ont montré des augmentations nettement plus faibles, avec $41.30 \pm 13.58\%$ pour la dose de 400 mg/kg et $46.10 \pm 4.39\%$ pour la dose de 800 mg/kg. Cette observation est confirmée par l'analyse statistique (test de Tukey à 1h), qui met en évidence une différence hautement significative ($p < 0,001$) entre les groupes (non traité ou traité au Diclofénac®) et les groupes ayant reçu l'extrait végétal. Cela suggère que l'extrait hydro-éthanolique des tiges d'*Ephedra alata*, administré par voie orale, exerce un effet anti-inflammatoire précoce, limitant significativement l'installation de l'œdème dès la première heure suivant l'induction de l'inflammation.

À la deuxième heure (T2h), une progression de l'inflammation est encore visible dans tous les groupes, mais avec des intensités variables. Le groupe témoin n'ayant reçu aucun

traitement présente les pourcentages d'augmentation de l'œdème les plus élevés ($84,97 \pm 4.03\%$), traduisant une inflammation non contrôlée. En comparaison, les groupes traités (extrait hydro-éthanolique à 400 mg/kg, 800 mg/kg et au Diclofénac à 50 mg/kg) montrent une réduction modérée de l'œdème ($68,70 \pm 4.99$, $67,48 \pm 8.61$, $68,58 \pm 3.92\%$, respectivement). L'analyse statistique (test de Tukey) confirme ces observations en révélant des différences très significatives entre le groupe Témoin et chacun des groupes traités ($p < 0,001$). En revanche, aucune différence significative n'est notée entre les groupes post traités, suggérant une efficacité anti-inflammatoire comparable à ce stade.

À la troisième heure (T3h), la diminution de l'œdème se poursuit de manière régulière, prolongeant la tendance amorcée dès la première heure. Cette baisse du volume inflammatoire est nette dans les groupes ayant reçu un traitement, en particulier ceux traités par l'extrait d'*Ephedra alata* (400 mg/kg et 800 mg/kg) et par le Diclofénac®. Les résultats du test de Tukey confirment cette évolution : ces trois groupes présentent des pourcentages d'augmentation du volume significativement plus faibles que le groupe Témoin ($p < 0,001$), ce qui traduit un effet anti-inflammatoire notable. En revanche, aucune différence significative n'est observée entre les groupes traités entre eux, suggérant qu'à ce stade, les deux doses testées de l'extrait exercent une action comparable à celle de l'anti-inflammatoire non stéroïdien (Diclofénac®).

À la quatrième heure (T4h), nous observons à partir de la figure, que l'œdème provoqué par l'injection de la carragénine continue de régresser dans les groupes traités. Cette réduction du volume de la patte est particulièrement marquée dans le groupe ayant reçu l'extrait d'*Ephedra alata* à 800 mg/kg ($17.19 \pm 11.27\%$), suivi du groupe traité à 400 mg/kg ($36.19 \pm 11.44\%$), tandis que le groupe standard a montré une diminution plus modérée ($46.15 \pm 2.80\%$). Le groupe témoin, quant à lui, conserve un volume d'œdème élevé, indiquant l'absence d'effet anti-inflammatoire spontané ($99.19 \pm 4.79\%$).

L'analyse statistique met en évidence des différences très significatives entre le groupe témoin et les trois groupes traités ($p < 0,0001$), confirmant l'efficacité des traitements. Par ailleurs, une différence significative est également notée entre les groupes 400 mg/kg et 800 mg/kg, suggérant une efficacité dose-dépendante de l'extrait. En revanche, aucune différence significative n'est observée entre le groupe standard (Diclofénac®) et le groupe traité à 400 mg/kg, traduisant une efficacité comparable entre ces deux traitements.

Enfin, à la **cinquième heure (T5h)**, une réduction marquée de l'œdème est observée dans les groupes traités par l'extrait d'*Ephedra alata*, avec des pourcentages d'augmentation du volume de $6,41 \pm 2,20 \%$ pour la dose de 800 mg/kg et de $9,85 \pm 7,27 \%$ pour la dose de 400 mg/kg, confirmant ainsi une relation dose-effet. Bien que la différence entre ces deux groupes ne soit pas statistiquement significative. Le groupe standard, traité par le diclofénac, montre également une diminution significative de l'œdème ($32,67 \pm 3,58 \%$), bien que moins marquée comparée à celle obtenue avec l'extrait à 800 mg/kg. En revanche, le groupe Témoin présente un pourcentage d'augmentation du volume nettement plus élevé ($96,47 \pm 2,18 \%$), indiquant l'absence d'effet anti-inflammatoire en l'absence de traitement. Les comparaisons multiples (test de Tukey) révèlent des différences hautement significatives ($p < 0,0001$) entre le groupe Témoin et chacun des groupes traités.

III.4.2.2. Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte (%INH)

Le pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte chez la souris est présenté dans la figure 19 ci-dessous.

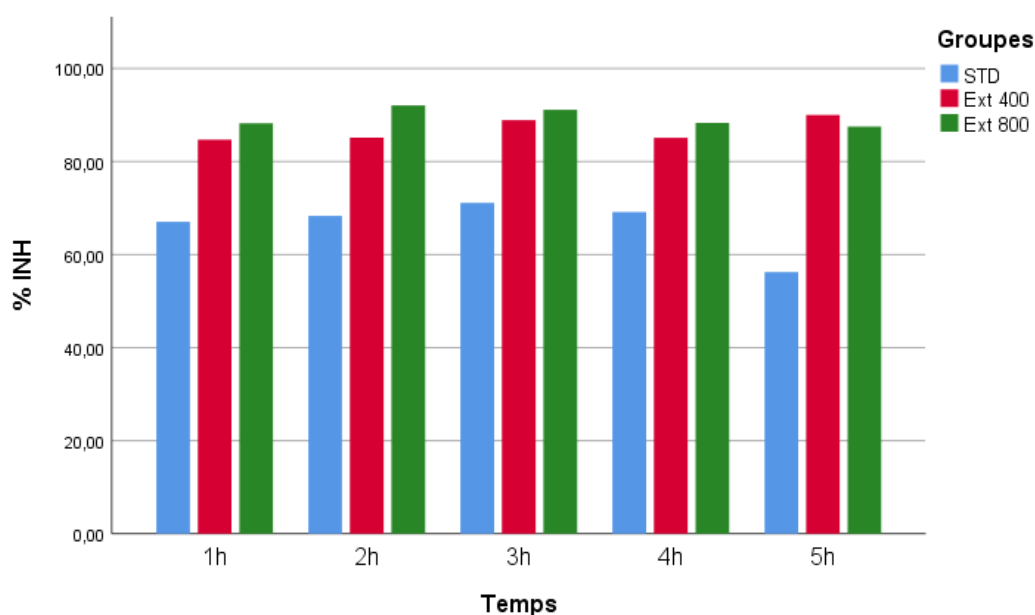


Figure 19 : Pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème de la patte des souris traitées par le produit de référence, l'extrait hydro-ethanolique à 400 et 800 mg/kg. Les résultats sont exprimés en Moyenne $\pm$ écartype, (n=6) $p < 0,01$ *significatif, $p < 0,001$ ** très significatif, $p < 0,0001$ *** hautement significatif.

A partir de ces résultats nous constatons que l'administration orale de l'anti-inflammatoire de référence à 50mg/kg a induit une activité inhibitrice hautement significative ($p < 0,0001$),

atteignant 49,13 % à la 3^{ème} heure. Cette inhibition s'intensifie au fil du temps pour atteindre 66,13 % à la 5^{ème} heure, confirmant l'efficacité progressive du traitement (Tableau X, Annexe II).

Par ailleurs, le traitement par l'extrait hydro-ethanolique des tiges d'*E. alata* (800 mg/kg) provoque une activité inhibitrice hautement significative dès la 1^{ère} heure de l'expérimentation ($p < 0.0001$). Cette inhibition se poursuit jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Nous constatons également qu'à la dose de 400 mg/kg l'effet inhibiteur de l'extrait administré par voie orale se manifeste également dès la première heure avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de (49,88%), cette activité augmente progressivement jusqu'à la dernière heure (89,78%). Sachant que cet effet inhibiteur est significatif de la 1^{ère} à la 3^{ème} heure ($p < 0.01$) et hautement significative de la 3^{ème} à la 5^{ème} heure ($p < 0.0001$).

Il est important de mentionner que le test de Scheirer-Ray-Hare, équivalent non paramétrique de l'ANOVA à deux facteurs indépendants, a été utilisé pour évaluer l'effet du temps, de groupe de traitement, ainsi que de leur interaction sur le pourcentage d'inhibition de l'œdème des pattes postérieures. Ce test est particulièrement adapté lorsque les données ne respectent pas les conditions de normalité et d'homogénéité des variances. Ainsi, les trois sources de variation (Temps, Groupe, et leur interaction) ont une influence statistiquement significative sur le pourcentage d'inhibition de l'œdème, indiquant :

- Une évolution très significative de l'effet au cours du temps ($p < 0.001$).
- Des différences d'efficacité selon les groupes de traitement ($p < 0.05$).
- Une interaction : l'effet du temps dépend du traitement administré, ou inversement ($p < 0.001$).

La carragénine est un polysaccharide qui induit un œdème de la patte en deux phases distinctes. La première phase est marquée par la libération de médiateurs tels que l'histamine, la sérotonine et les kinines, tandis que la seconde phase est caractérisée par la libération de prostaglandines, de protéases et de lysosomes. Les médicaments anti-inflammatoires les plus efficaces sur le plan clinique agissent principalement sur la seconde phase de l'inflammation (Posadas *et al.*, 2004).

Dans ce présent travail, le traitement avec l'extrait hydro-ethanolique des tiges d'*Ephedra alata* a montré une activité inhibitrice très significative de l'inflammation induite par la

carragénine chez les groupes 400 et 800mg/kg, avec une efficacité supérieure à celle du diclofénac (STD). Le taux d'inhibition de l'œdème (% INH) s'est révélé dose-dépendant ; l'augmentation du volume de l'œdème (% AUG) était significativement plus faible chez les souris traitées à 800 mg/kg par rapport à celles traitées à 400 mg/kg.

Ces résultats suggèrent que les tiges d'*Ephedra alata* exercent un effet antagoniste sur l'inflammation induite par la carragénine.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Atatra et Bouhdiche (2018) ; Bouguettaya et Dehamnia (2019) et Hamoudi et al. (2021)**, qui ont démontré l'efficacité anti-inflammatoire des parties aériennes d'*Ephedra*, récoltées respectivement à Ouargla, Khanchela et Batna, contre l'inflammation induite soit par la carragénine ou par l'huile de croton chez des animaux de laboratoire.

Cette activité anti-inflammatoire pourrait être attribuée à la richesse de l'extrait en composés phytochimiques, en particulier en polyphénols et en flavonoïdes. Ces résultats sont confirmés par les dosages effectués, qui ont révélé des teneurs élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes ($575 \pm 0,006$ mg EAG/gMS et $14,09 \pm 0,93$ mg EQ/g MS). Or, de nombreuses études ont démontré que ces classes de composés exercent un effet anti-inflammatoire notable, principalement en inhibant les médiateurs pro-inflammatoires (**Pan et al., 2010 ; El-Sayed et al., 2025**).

Au sein du genre *Ephedra*, il a été rapporté que des analogues de l'éphédrine (éphédrine, éphedroxane, pseudoéphédrine) présentent une puissante activité anti-inflammatoire *in vivo*, attribuée à l'inhibition de la biosynthèse de PGE₂ (prostaglandine E2). **Kim et al. (2010)** ont montré que l'ephedranine A et l'ephedranine B, présentes dans les racines d'*Ephedra*, exercent des effets anti-inflammatoires en inhibant la transcription des cytokines IL-1 β et TNF- α et en bloquant l'inflammation induite par le LPS. Ces substances pourraient également inhiber la translocation du facteur NF- κ B ainsi que la phosphorylation de la kinase p38 dans les voies MAPK.

Les réactions inflammatoires aiguës se manifestent par l'apparition d'œdèmes et l'infiltration de leucocytes dans les tissus. Les médiateurs chimiques libérés par les cellules résidentes modifient la perméabilité vasculaire, favorisant ainsi la formation d'un œdème. Des interactions séquentielles entre l'endothélium et les cellules inflammatoires (principalement

les neutrophiles) conduisent à l'accumulation de cellules inflammatoires dans les tissus (Vestweber, 2015).

Dans notre étude, les extraits d'*E. alata* tout comme le Diclofenac®, ont significativement inhibé la formation de l'œdème sub-plantaire. D'après **Ryu et al. (2000)**, cette activité anti-inflammatoire pourrait s'expliquer par divers mécanismes à savoir ; l'inhibition de la libération d'histamine, de la 5-lipoxygénase, du complément ou encore de l'élastase. Plusieurs études ont également suggéré que les composés phénoliques exercent leurs effets anti-inflammatoires par leur pouvoir antioxydant (**Middleton et Kandaswami, 1992 ; Kassim et al., 2010 ; Hamoudi et al., 2021**)

En conclusion, ces résultats fournissent une base scientifique pour l'utilisation traditionnelle des tiges d'*Ephedra alata* pour la gestion des douleurs inflammatoires. Cependant, d'autres expériences sont nécessaires pour isoler le principe actif et comprendre le mécanisme d'action correct du composé.

III.4.3. Evaluation de l'activité analgésique de l'extrait hydro-éthanolique

L'activité antispasmodique de l'extrait hydro-éthanolique des tiges d'*Ephedra alata* a été évaluée par le dénombrement des spasmes ou de contraction abdominale induite chez les souris par injection intra-péritonéale de l'acide acétique. Les résultats de cette étude sont consignés dans la figure ci-dessous illustre le pourcentage de protection de l'extrait hydro-éthanolique aux doses de 400 et 800 mg/kg en comparaison avec le médicament de référence et le lot témoin.

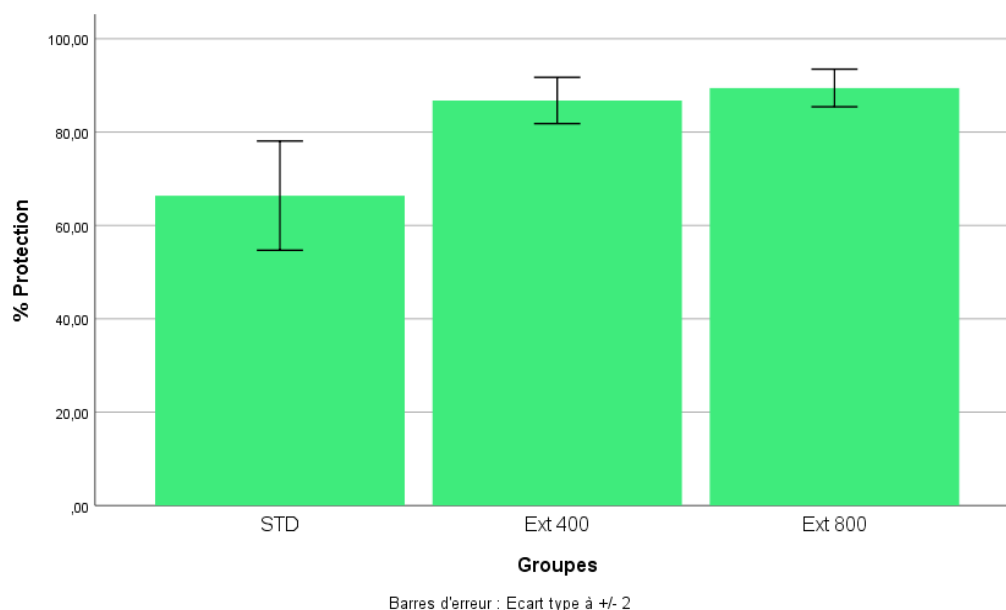


Figure 20 : Effets analgésiques de l'extrait hydro-alcoolique d'*Ephedra alata* (400 et 800mg/kg) chez des souris albinos de souche NMRI ($n = 5$).

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ écart-type. Aucune différence significative ($p > 0,05$) n'a été observée entre les extraits testés. Abreviation : (STD) = standard (livospasme 80mg/kg) ; (Ext 400 et 800) = extrait hydro-ethanolique à 400 et 800 mg/kg

Les résultats présentés dans la figure 20 montrent que l'administration de l'extrait d'*E. alata* aux doses de 400 et 800 mg/kg exerce un effet protecteur marqué contre la douleur induite par l'acide acétique. Ainsi, l'extrait hydro-éthanolique a démontré une activité analgésique significative, avec des taux d'inhibition des spasmes de $86.77 \pm 2.48\%$ pour la dose de 400mg/kg et de $89.44 \pm 2.02\%$ pour la dose de 800mg/kg. Ces résultats indiquent une réduction significative du nombre de spasmes induits par rapport au groupe témoin.

En comparaison, le livospasme administré à une dose de 80mg/kg n'a permis qu'un taux d'inhibition de $66.38 \pm 5.85\%$, ce qui est nettement inférieur à celui tenu avec l'extrait ($p < 0,001$).

Enfin, l'analyse statistique a confirmé ces observations ;

- Aucune différence significative n'a été relevée entre les deux doses testées (400 et 800 mg/kg), suggérant un effet plateau.
- En revanche, le groupe témoin diffère significativement de tous les groupes traités ($p < 0,001$), ce qui souligne l'effet protecteur significatif des extraits hydro-éthanoliques d'*E. alata*.

Ces résultats sont en concordance avec ceux rapportés par **Hamoudi et al. (2021)**, qui ont évalué l'activité analgésique des extraits méthanolique (HM) et éthanolique (HE) d'*E. nebrodensis*. Dans leur étude, l'administration de ces extraits à des doses de 200 et 400 mg/kg a significativement réduit le nombre de contorsions induites par l'acide acétique chez la souris, avec des taux d'inhibition allant de 59,06 % à 72,51 %, comparables à ceux de l'aspirine (79,14 % à 100 mg/kg).

Zerargui et al. (2022) ont rapporté que l'extrait méthanolique d'*Ephedra alata* subsp alenda récoltée dans la région de Oued souf, administré à deux doses (150 et 300 mg/kg), a exercé une activité analgésique périphérique en réduisant significativement le nombre de contorsions, avec des inhibitions respectives de 74 % et 60,09 % par rapport au témoin négatif.

Quant à **Chouikh (2020)**, ce dernier a rapporté que l'extrait méthanolique des cônes femelles d'*Ephedra alata* (50mg/kg) a induit une réduction significative du nombre de contorsions abdominales par rapport au groupe témoin. L'effet observé s'est avéré comparable à celui obtenu avec l'indométacine (10mg/kg), un anti-inflammatoire non stéroïdien de référence.

L'apparition de torsions abdominales sous l'effet de l'acide acétique implique l'activation des récepteurs péritonéaux locaux (**Ouédraogo et al., 2012**), ainsi que la libération de médiateurs tels que les prostaglandines et les cytokines (**Negus et al., 2006**). L'effet analgésique de l'extrait laisse supposer que les biomolécules contenues dans les tiges d'*Ephedra alata* pourraient inhiber la libération de ces médiateurs chimiques, comme cela a également été rapporté par **Chouikh (2020)**.

Conclusion

IV. Conclusion

La présente étude a permis de mettre en évidence certaines propriétés thérapeutiques d'*Ephedra alata*, une plante largement répandue dans le sud de l'Algérie et traditionnellement appréciée pour ses vertus médicinales.

Dans ce cadre, un criblage phytochimique préliminaire a été réalisé en vue de caractériser les principales familles de métabolites secondaires présentes dans les tiges de cette plante. L'analyse a mis en évidence une richesse en flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, anthocyanes, leucoanthocyanes et glycosides. Ces métabolites secondaires sont reconnus pour leurs importantes propriétés pharmacologiques.

L'analyse qualitative a été corroborée par une analyse quantitative de l'extrait hydro-éthanolique des tiges d'*Ephedra alata*. Les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés, déterminées respectivement par les méthodes de Folin-Ciocalteu, au trichlorure d'aluminium et à la vanilline, ont été quantifiées à $575 \pm 0,006$ mg EAG/g MS, $14,09 \pm 0,93$ mg EQ/g MS et $0,0136 \pm 0,0015$ mg EC/g MS.

L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique, réalisée à l'aide des méthodes de piégeage du radical libre DPPH et du pouvoir réducteur du fer ferrique (FRAP), a mis en évidence un fort pouvoir antioxydant de l'extrait étudié. Pour le test DPPH, l'extrait a présenté une IC_{50} de 0.065 mg/ml, indiquant une capacité significative à neutraliser les radicaux libres.

L'évaluation *in vivo* de la toxicité aiguë de l'extrait hydro-éthanolique des tiges d'*Ephedra alata*, administré par voie orale à des doses de 400 et 800 mg/kg, n'a montré aucun signe de toxicité chez la souris pendant 14 jours. Selon les critères de l'OCDE (Guideline 425), cet extrait est donc considéré comme non toxique, ce qui confirme son innocuité et soutient son potentiel pour un usage thérapeutique sûr.

L'évaluation *in vivo* de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait hydro-éthanolique, réalisée selon le modèle d'œdème subplantaire induit par la carragénine chez la souris, a révélé un effet inhibiteur significatif et dose-dépendant. Aux doses de 400 et 800 mg/kg, l'extrait a entraîné une inhibition importante de l'œdème, atteignant respectivement 89,78 % et 93,34 %.

En dernier, l'extrait hydro-éthanolique des tiges d'*Ephedra alata* a également montré une activité analgésique significative, avec des taux d'inhibition des spasmes de 86,77 % (400 mg/kg) et 89,44 % (800 mg/kg), supérieurs à ceux du Livospasme® (66,38 %). Cette efficacité pourrait être attribuée à la richesse de l'extrait d'*Ephedra* en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes. Ces derniers sont connus par leur pouvoir anti-inflammatoire dans les phases prolifératives et exsudatives de l'inflammation.

Pour conclure, ces activités biologiques valident scientifiquement quelques usages traditionnels d'*Ephedra alata*, et ne peuvent être attribuées qu'à une partie des composés phénoliques. En effet, la présence de ces composants est associée aux effets thérapeutiques et pharmacologiques induits par la plante. Toutefois, cette étude reste préliminaire.

Comme complément à ce présent travail, les points suivants nous semblent pertinents :

- **Réaliser des analyses histopathologiques** sur les tissus inflammés, afin de mieux comprendre l'effet anti-inflammatoire de l'extrait au niveau cellulaire et tissulaire et d'évaluer son impact sur les structures histologiques affectées.
- **Établir le profil phénolique détaillé** de l'extrait d'*Ephedra alata* à l'aide de techniques analytiques avancées telles que la HPLC ou la LC-MS, afin d'isoler, purifier et identifier les composés bioactifs responsables des effets observés.
- **Approfondir les études biologiques *in vitro* et *in vivo***, notamment sur les propriétés anticancéreuses potentielles de cette plante, en vue d'une valorisation pharmacologique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abdel Wahab, F. (2015). Preliminary phytochemical screening, quantitative estimation of total flavonoids, total phenols and antioxidant activity of *Ephedra alata* Decne.(Mémoire de conférence PICC). An-Najah National University.

Aiche, T., et DEHAS, L. (2021). Etude de l'activité antibactérienne, antibiofilm et anti-inflammatoire intestinale de l'extrait Éthanolique de deux plantes mÈdicinales : *Moringa oleifera* et *Ephedra alata*. In DJINNI I., YANAT B., & BOUAOUD Y., Mémoire De Fin De Cycle. Université A. MIRA - Bejaia

AidiWannes, W., &Tounsi, M. S. (2023). Phytochemicals, Traditional Uses, Biological Effects, and Possible Molecular Mechanisms of *Ephedra alata*. *Future Integrative Medicine*, 2(4), 189-199.

Al-Rimawi, F., Abu-Lafi, S., Abbadi, J., Alamarneh, A. A. A.,Sawahreh, R. A., &Odeh, I. (2017). Analysis of phenolic and flavonoids of wild *Ephedra alata* plant extracts by LC/PDA and LC/MS and their antioxidant activity. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 14(2), 130–141. <https://doi.org/10.21010/ajtcam.v14i2.14>

Alshalmania, S., Bengleilb, M., et Elshibania, F. (2022). Antimicrobial, antioxidant and anticancer activity of *Ephedra alata* growing in East of Libya1. <https://doi.org/10.37376/ljst.v11i2.2408>

Atatra, A., et Bouhdiche, L. (2018). Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-inflammatoire d'une plante médicinale : *Ephedra alata* alenda [Mémoire de Master, Université 8 Mai 1945 Guelma]. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Belhouala, K., &Benarba, B. (2021). Medicinal Plants Used by Traditional Healers in Algeria: A Multiregional Ethnobotanical Study. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2021.760492>

Bellahcene, A. (2020). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques d'*Ephedra alata* [Mémoire de Master, Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen]. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la

Terre et de l'Univers, Département de Biologie, Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA).

Benaouda, N., et Benkerroum, N. (2019). Effet des extraits d'Ephédra alata sur la croissance d'Escherichia coli responsable des infections nosocomiales [Thesis].

Benarba, B., Douad, O., Gadoum, C., Belhouala, K., &Mahdjour, S. (2021). Phytochemical profile, antioxidant and anti-inflammatory activities of Ephedra alataDecne growing in south Algeria. PharmacolToxicol, 1-15.

Bensam, M., Rechreche, H., Abdelwahab, A. E., Abu-Serie, M. M., & Ali, S. M. (2023). The role of Algerian *Ephedra alata* ethanolic extract in inhibiting the growth of breast cancer cells by inducing apoptosis in a p53- dependent pathway. Saudi journal of biological sciences, 30(6), 103650. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103650>

Bettaieb, I., Hamrouni-Sellami, I., Bourgou, S., Limam, F., &Marzouk, B. (2011). Drought effects on polyphenol composition and antioxidant activities in aerial parts of *Salvia officinalis* L. ActaPhysiologiaePlantarum, 33, 1103-1111.

Boubekri, A., Ababou, M., Kartit, N., Doghmi, N., &Bakkali, H. (2020). Intoxication à l' Ephedra alata (à propos d' un cas). PAMJ ClinicalMedicine, 3(120).

Bouguettaya, S., &Dehamnia, R. (2019). Étude de l'activité anti-inflammatoire, anti-oxydante et anti-microbienne d'une plante médicinale: Ephedra alataalenda. InBendjeddou, D, Oumeddour .A/K, &BoudenI, Mémoire de Master.

Catier, O., & Roux, D(2007).Botanique pharmacognosie phytothérapie. WoltersKluwar (3eme Ed.), 141p.

Chedea, V. S., & Pop, R. M. (2019). Total Polyphenols Content and Antioxidant DPPH Assays on Biological Samples (pp. 169–183). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813768-0.00011-6>

Dahmane, T., Kaci, Z., Hadj Mohamed, N., Abed, A., &Mebkhout, F. (2023). Ethnobotanical Study of Spontaneous Medicinal Plants Gouraya's National Park (Bejaia-Algeria). Egyptian Journal of Botany. <https://doi.org/10.21608/ejbo.2023.202565.2294>

Dobre, A. F., Mădălan, A. M., Tecuceanu, V., Hanganu, A., & Ionita, P. (2024). Synthesis of novel p-aminophenyl derivatives of DPPH free radical. *Revue Roumaine De Chimie*. <https://doi.org/10.33224/rch.2024.69.1-2.07>

Douaouri, N., 2018. Contribution à une étude phytothérapeutique, anti-inflammatoire ET antioxydante du grenadier (*Punicagranatum* L.)—Etude in vivo (Doctoral dissertation, Thèse doctorat. Université Abdelhamid ibn Badis de Mostaganem.

Duman, AD, Ozgen, M., Dayisoğlu, KS, Erbil, N., & Durgac, C. (2009). Antimicrobial Activity of Six Pomegranate (*Punicagranatum* L.) Varieties and Their Relation to Some of Their Pomological and Phytonutrient Characteristics. *Molecules*. 14 (5): 1808-1817).

El-Sayed, H. M., Rasheed, D. M., Mahrous, E. A., Eltanany, B. M., Goda, Z. M., Pont, L., ... & Abdel-Sattar, E. (2025). Metabolomics Analysis of *Cucumis melo* var. *flexuosus* Organs in Correlation to its Anti-inflammatory Activity Aided by Chemometrics. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 252, 116512.

Elsharkawy, E. R., Alghanem, S. M., & Elmorsy, E. (2020). Effect of habitat variations on the chemical composition, antioxidant, and antimicrobial activities of *Achillea fragrantissima* (Forssk) Sch. Bip. *Biotechnology reports* (Amsterdam, Netherlands), 29, e00581. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00581>

Fajinmi, O. O., Olarewaju, O. O., & Staden, J. (2017). Traditional Use of Medicinal and Aromatic Plants in Africa (pp. 61–76). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-024-1120-1_3

Fatima, Z., & Lakhdar, M. (2023). Isolation and characterization of endophytic fungi associated with *Ephedra alata* (macroscopic and microscopic characterization). *Journal of Agriculture and Applied Biology*. <https://doi.org/10.11594/jaab.04.02.03>

Feudjio, C., Yameen, M. A., Singor Njateng, G. S., Khan, M. A., Lacmata Tamekou, S., Simo Mpetga, J. D., & Kuiate, J. R. (2020). The Influence of Solvent, Host, and Phenological Stage on the Yield, Chemical Composition, and Antidiabetic and Antioxidant Properties of *Phragmanthera capitata* (Sprengel) S. Balle. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2020, 6284925. <https://doi.org/10.1155/2020/6284925>

Fialho, L., Santa-Maria, A. F., Madureira, F. A., & Iglesias, A. C. (2018). Comparative study of systemic early postoperative inflammatory response among elderly and non-elderly patients undergoing laparoscopic cholecystectomy. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 45, e1586.

Frioua, M., Ferhah, K., & Oubakhta, A. (2022). Étude des principales activités thérapeutiques des feuilles de *Moringa oleifera* Lam. [Mémoire de master, Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana]. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre, Département des Sciences Biologiques.

Gribaldo, L., Gennari, A., Blackburn, K., Clemedson, C., Deguercey, A., Meneguz, A., Pfaller, W., & Ruhdel, I. (n.d.). Acute Toxicity. <https://doi.org/10.18356/f1860653-en>

Hadjadj, K., Daoudi, B. B., Guerine, L., (2020). Importance thérapeutique de la plante *Ephedra alata* subsp. *spalenda* dans la médecine traditionnelle pour la population de la région de Guettara (Djelfa, Algérie). Université ZIANE Achour - Djelfa, 17000 (Algérie), Université ZIANE Achour - Djelfa, 17000 (Algérie), & Centre universitaire SALHI Ahmed, Naâma, 45000, (Algérie).

Haleshappa, R., Patil, S. J., & Murthy, K. R. S. (2021). Phytochemical Analysis, In Vitro Evaluation of Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of *Simarouba glauca* Seeds. 9(1), 1–8. <https://doi.org/10.13189/APP.2021.090101>

Hamoudi, M., Amroun, D., Badhiani, A., Khennouf, S., & Dahamna, S. (2016). In vitro antioxidant anti-inflammatory (in vitro and in vivo), and analgesic activities of hydroalcoholic extracts of *Ephedra nebrodensis* from Eastern Algeria. *Journal of Japanese Botany*, 91(5), 295-97.

Hamoudi, M., Amroun, D., Baghiani, A., Khennouf, S., & Dahamna, S. (2021). Antioxidant, Anti-inflammatory, and Analgesic Activities of Alcoholic Extracts of *Ephedra nebrodensis* From Eastern Algeria. *Turkish journal of pharmaceutical sciences*, 18(5), 574–580. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2021.24571>

Hibi, Z., Makhoulfi, A., & Azzi, R. (2022). Ethnobotanical, phytochemical characterization and biological activities of *Ephedra alata* Decne extracts, growing wild in Bechar region, south west of Algeria. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 12(1), 35–45. [https://doi.org/10.38150/sajeb.12\(1\).p35-45](https://doi.org/10.38150/sajeb.12(1).p35-45)

Houba, Z., &Himeur, H. (2019). Contribution à l'étude phytochimique et biochimique (*In vitro et In vivo*) des cônes femelles d'Ephedra alata DC. de la région d'Oued Souf[Mémoire de master, Université EchahidHamma Lakhdar - El Oued]. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire.

Jaradat, N., Dacca, H., Hawash, M., &Abualhasan, M. (2021). Ephedra alata fruit extracts: phytochemical screening, anti-proliferative activity and inhibition of DPPH, α -amylase, α -glucosidase, and lipase enzymes.15(1), 41. <https://doi.org/10.1186/S13065-021-00768-9>

Jha, S. K., Chauhan, S., &Lal, G. (2024). Medicinal properties of plants used in traditionalmedicinal systems (pp. 13–56). <https://doi.org/10.58532/nbennurch242>

Kada, S. (2018). Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques (By S. Dahamna, H. Bouriche, A. Senator, M. Lahouel, D. Zaama, Laboratoire de Biochimie Appliquée, Université Ferhat Abbas Sétif 1, & Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie).

Kaur, A., Kaur, S., & Kaur, S. (2023). Bioactive phytochemicals from Ephedra: An updated review. The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences. <https://doi.org/10.56808/3027-7922.2842>

Khan, F., Akram, M., Rashid, A., Shah, S. M. A., &Ayaz, S. (2023). Phytochemical screening of three traditional medicinal plants: Taraxacumofficinale, Geranium wallichianum, and Elaeagnusparvifolia. Pakistan Journal of Botany. [https://doi.org/10.30848/pjb2024-1\(39\)](https://doi.org/10.30848/pjb2024-1(39))

Khattabi, L.; Boudiar, T.; Bouhenna, M.M.; Chettoum, A.; Chebrouk, F.; Chader, H.; Lozano-Sánchez, J.; Segura-Carretero, A.; Nieto, G.; Akkal, S. RP-HPLC-ESI-QTOF-MS Qualitative Profiling, Antioxidant, Anti-Enzymatic, Anti-Inflammatory, and Non-Cytotoxic Properties of *Ephedra alata*Monjauzeana. *Foods***2022**, *11*, 145. <https://doi.org/10.3390/foods11020145>.

Kim, Y., Bayona, P. W., Kim, M., Chang, J., Hong, S., Park, Y., ...& Cho, K. W. (2018). Macrophage lamin A/C regulates inflammation and the development of obesity-induced insulin resistance. *Frontiers in Immunology*, 9, 696.

Kim, I. S., Park, Y. J., Yoon, S. J., & Lee, H. B. (2010). Ephedrannin A and B from roots of *Ephedra sinica* inhibit lipopolysaccharide-induced inflammatory mediators by suppressing nuclear factor- κ B activation in RAW 264.7 macrophages. *International immunopharmacology*, 10(12), 1616-1625.

Kumari, S., Laura, J. S., & Dhania, G. (2023). Qualitative Phytochemical Screening of Medicinal Plants Using Different Solvent Extracts. *Oriental Journal of Chemistry*, 39(3), 621–626. <https://doi.org/10.13005/ojc/390312>

Li, Q., Bian, L., Zhao, X., Gao, X., Zheng, J., Li, Z., ...& Zheng, X. (2014). Immobilised histidine tagged β 2-adrenoceptor oriented by a diazonium salt reaction and its application in exploring drug-protein interaction using ephedrine and pseudoephedrine as probes. *PLoS One*, 9(4), e94955.

Liu, X. (2011). Determination of the contents of total flavonoids in *Lonicera japonica* and its leaves by three wavelength spectrophotometry. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*.

Mahmoudi, M., Boughalleb, F., Maaloul, S., Mabrouk, M., & Abdellaoui, R. (2023). Phytochemical Screening, Antioxidant Potential, and LC–ESI–MS Profiling of *Ephedra alata* and *Ephedra altissima* Seeds Naturally Growing in Tunisia. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1–13. <https://doi.org/10.1007/s12010-023-04370-8>

Mapcarta. (n.d.). Carte de Hassi Messaoud. Mapcarta. [<https://mapcarta.com/fr/17333736>] (<https://mapcarta.com/fr/17333736>)

Mehra, N. (2023). A comparative study on conventional and advance techniques for plant extraction and effect on the extract yield: review. *Current Perspectives on Medicinal and Aromatic Plants*. <https://doi.org/10.38093/cupmap.1365128>

Messadia, S. (2017). Etude du contenu polyphénolique d' *Ephedra alata* Decne. et de l'activité antioxydante par différentes méthodes d'extraction (By Université de Larbi Tébessi 3 - Tébessa; H. Souahi, Ed.; S. Hioun, Trans.).

Mohagheghian, B., Saeidi, G., & Arzani, A. (2025). Phenolic compounds, antioxidant enzymes, and oxidative stress in barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes under field drought-stress conditions. *BMC Plant Biology*, 25(1), 1-20.

Mufti, A., Contreras, M. del M., Gómez-Cruz, I., Alshamrani, A. M., Nahdi, S., Mansour, L., Alwasel, S., Harrath, A. H., & Tlili, N. (2023). Ephedra alata Subsp. Alenda as a Novel Source of Bioactive Phytochemicals: Characterization Based on the Mass Spectrometry and Profiling of Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties. *Reproductive and Developmental Biology*, 13(2), 323. <https://doi.org/10.3390/life13020323>

Mufti, A., Tir, M., Zarei, A., Contreras, M. del M., Gómez-Cruz, I., Feriani, A., Ghazouani, L., Saadaoui, E., Allagui, M. S., Harrath, A. H., Ramazani, A., & Tlili, N. (2022). Phytochemical Profiling of Ephedra alata subsp. alenda Seeds by High-Performance Liquid Chromatography—Electrospray Ionization—Quadrupole-Time-of-Flight-Mass Spectrometry (HPLC-ESI-QTOF-MS), Molecular Docking, and Antioxidant, Anti-diabetic, and Acetylcholinesterase Inhibition. *Analytical Letters*, 55, 2450–2466. <https://doi.org/10.1080/00032719.2022.2059082>

Nargawe, L., Malathi, G., C.S., V., & Upadhyay, L. (2023). Ethnobotanical Survey of Medicinal Plants Used in Traditional Medicine in Africa. *Plant Science Archives*, 8(4), 26–28. <https://doi.org/10.51470/psa.2023.8.4.26>

NEHARI, I. (2022) Effet hémolitique et antioxydant des extraits phénoliques d'Ephedra Alata. In Université ABOUBAKER BELKAID-TLEMCEM [Thesis].

Nelson, R. (2004). FDA issues alert on ephedra supplements in the USA. *The Lancet*, 363(9403), 135.

Nemdili, I., Ghoul, H., & Foughali, D. M. E. R. (2021). L'effet protecteur de la plante Ephedra alata (Alenda) vis-à-vis de la néphrotoxicité induit par la gentamicine (By Lalaoui Korrichi; Boubekri Nassima, Bekouche Khadidja, Mouri Fouzia, & Laraba Meriem, Eds.)

Nesba, S., & Henka, F. (2018). Évaluation de l'activité biologique de la plante médicinale de la région d'El-Oued : Ephedra alata "alenda" (*in vitro et in vivo*) [Mémoire de Master, Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued]. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Noui, A., Boudiar, T., Boulebd, H., Gali, L., del Mar Contreras, M., Segura-Carretero, A., ... & Akkal, S. (2022). HPLC–DAD–ESI/MS profiles of bioactive compounds, antioxidant

and anticholinesterase activities of *Ephedra alata* subsp. *alata* growing in Algeria. *Natural Product Research*, 36(22), 5910-5915.

Nunes, C. D. R., BarretoArantes, M., Menezes de Faria Pereira, S., Leandro da Cruz, L., de SouzaPassos, M., Pereira de Moraes, L., Vieira, I. J. C., & Barros de Oliveira, D. (2020). Plants as Sources of Anti-Inflammatory Agents. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(16), 3726. <https://doi.org/10.3390/molecules25163726>

Ozenda, P. (1991). *Flore et végétation du Sahara*. Centre National De La Recherche Scientifique, Paris, 3ème Ed. 662pp. p83-94.

Pan, M. H., Lai, C. S., & Ho, C. T. (2010). Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids. *Food &function*, 1(1), 15-31.

Pyrzynska, K., & Pękal, A. (2013). Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. *Analytical Methods*, 5(17), 4288–4295. <https://doi.org/10.1039/C3AY40367J>

Ryu, S. Y., Oak, M. H., Yoon, S. K., Cho, D. I., Yoo, G. S., Kim, T. S., & Kim, K. M. (2000). Anti-allergic and anti-inflammatory triterpenes from the herb of *Prunella vulgaris*. *Planta medica*, 66(04), 358-360.

Salar, S., Ekbbal, R., & Shamim, M. (2024). Current analytical approaches in quality evaluation of medicinal plants (pp. 28–39). <https://doi.org/10.58532/v3bipn9ch6>

Saoudi, M. H. (2022). Evaluation of Phytochemical, proximate analysis, mineral composition and polyphenolic contents of aqueous extract of (*Ephedra* (*Alata*) leaves. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 13(4), 715–719. <https://doi.org/10.47750/pnr.2022.13.04.096>

Soumaya, B., Yosra, E., Rim, B. M., Sarra, D., Sawsen, S., Sarra, B., ... & Wided, M. K. (2020). Preliminary phytochemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of two Tunisian *Ephedra* species: *Ephedra alata* and *Ephedra fragilis*. *South African Journal of Botany*, 135, 421-428.

- Tabi, W., & Salhi, N. (2022). Étude phytochimique et activités biologiques de la plante *Ephedra alata* de la région Messaad - Djelfa. In Dr. Chaib Tayeb, Dr. Gougue Fatna, & Dr. Khreissat Nadjoua, Université Ziane Achour – Djelfa
- Tadjine, O., Bahloul, M., & Menassel, C. (2024). Effets curatifs de plante *Éphédra alata* contre quelques effets indésirables de la chlorpromazine (By Pr. Rouabhi Rachid, Dr. Gasmi Salim, & Dr. Bouchiha Hanene)
- Tang, S., Ren, J., Kong, L., Yan, G., Liu, C., Han, Y., Sun, H., & Wang, X.-J. (2023). *Ephedrae Herba*: A Review of Its Phytochemistry, Pharmacology, Clinical Application, and Alkaloid Toxicity. *Molecules*, 28(2), 663. <https://doi.org/10.3390/molecules28020663>
- Tiss, M., Souiy, Z., Achour, L., & Hamden, K. (2022). *Ephedra alata* extracts exerts anti-obesity, anti-hyperglycemia, anti-antipyretic and analgesic effects. *Nutrition & Food Science*, 52(1), 119-128.
- Vani, A. T., Putri, A., Abdullah, D., Dewi, N. P., & Triansyah, I. (2024). IN VIVO ACUTE TOXICITY TEST OF ALOIN EXTRACT ON CHICKEN WHITE MENCITES (*Mus musculus*). *Majority Science Journal*, 2(1), 200–206. <https://doi.org/10.61942/msj.v2i1.101>
- Vestweber, D. (2015). How leukocytes cross the vascular
- Wahyudi, H., & Nasir, M. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Srikaya (*Annona squamosa* L.) Mudadan Matang dengan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). *Al-Kimia*, 10(1). <https://doi.org/10.24252/al-kimia.v10i1.27391>
- Wang, X., Fu, W., Wang, Z. B., Kuang, H. X., & Wang, Q. H. (2019). Research progress of *Ephedra polysaccharides*. *China J. Tradit. Chin. Med. Pharm*, 34, 3138-3139.
- Wu, Z. (2012). Advanement of evaluation methods about DPPH radical scavenging activity in Screening Antioxidant. *Science and Technology of Food Industry*. https://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-SPKJ201208093.htm
- Yahaoui, A., & Silat, L. (2017). Contribution à l'étude des extraits de l'espèce *Ephedra alata* de la région de Sigus [Thesis].

Yang, Y. S., Li, C. M., & Chen, M. H. (2010). Determination of persimmon tannin content by H₂SO₄-Vanillin assay. *Food SciTechnol*, 35, 274-278.

Zaater, A., Serhoud, M. O., Ben Amor, I., Zeghoud, S., Hemmami, A., Rebiai, A., Bouras, Y., Laiche, A. T., Alsalme, A., Cornu, D., Bechelany, M., &Barhoum, A. (2024). Exploring the potential of a *Ephedra alata* leaf extract: Phytochemical analysis, antioxidant activity, antibacterial properties, and green synthesis of ZnO nanoparticles for photocatalytic degradation of methylene blue. *Frontiers in Chemistry*, 12. <https://doi.org/10.3389/fchem.2024.1367552>

Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese medicine*, 13, 20. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>

Ziani, B. E., Heleno, S. A., Bachari, K., Dias, M. I., Alves, M. J., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2019). Phenolic compounds characterization by LC-DAD-ESI/MSⁿ and bioactive properties of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. and *Ephedra alata* Decne. *Food Research International*, 116, 312-319.

Zouari Ahmed Wafa, Chadou Meriem, Ben Ghalia Wissal and Derouiche Samir. (2024). Phytochemical Profile, Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Algerian *Ephedra alata*. *Environmental Science Archives*, 3(2), 59-70. <https://doi.org/10.5281/zenodo.13742808>

Annexes

ANNEXE 1

Liste des produits chimiques, des réactifs et la verrerie utilisée au laboratoire

Produits chimiques et Réactifs	• Eau distillée, • Éthanol, • Ammoniaque, • Ether de pétrole, • Acide chlorhydrique (HCL), • Réactif de Dragendorff, • Chloroforme, • Chlorure de fer (FeCl₃), • Formol, • Acétate de sodium, • Magnésium, • Alcool isoamylique, • Acétate de plomb, • Iode (I₂), • Acide sulfurique (H₂SO₄), • Propanol, • Sulfate de sodium anhydre (Na₂SO₄) • Hydroxyde de potassium (KOH) • Réactif FolinCiocalteu, • Carbonate de sodium (Na₂CO₃), • Acide gallique, • Nitrite de sodium (NaNO₂) • Trichlorure d'aluminium (AlCl₃) • Hydroxyde de sodium (NaOH) • Vanilline, • 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH), • Acide ascorbique (C₆H₈O₆), • Butylhydroxytoluène (BHT), • Solution tampon phosphate pH 6.6 (KH₂PO₄), • Ferricyanure de potassium (K₃Fe₆), • Acide trichloracétique, • Acide thiobarbiturique (TBA), • Acide acétique, • Carragénine à 1%, • Solution physiologique (NaCl 0.9%)
Appareillages	• Agitateur à hélice de type witeg Germany model HS-50A, • Balance analytique, • Evaporateur rotatif,

	• Etuve de type Heraeus, • Bain marie, • Agitateur vortex, • Spectrophotomètre UV-Visible, • pH mètre, • pied de coulisse digital, • Thermomètre
Verreries	• Béchers, • Papier Filtre, • Entonnoir, • Erlenmeyers, • Tubes sec, • Tube à essai, • Eprouvettes graduées, • Les cuves, • Pipette graduée en verre (25ml, 10ml, 5ml), • Pipette filler, • Micropipette (de 1000µl, de 100µl et de 10µl), • fiole

avis favorable
Dr Menacer A.


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة سعد دحلب البلدية (1)
Université Saad Dahlab Blida1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Science Biologique

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Pharmacotoxicologie

THEME

Contribution à l'étude thérapeutique des parties aériennes d'*Ephedra alata*



Présentée par :

Date de soutenance le : 08/07/2025

▪ Rouane Asmaa

Devant le jury :

Dr BOKRETA S.	MCB	Présidente	USDB1
Dr MENACER A.	MAB	Examinatrice	USDB1
Dr DOUAOURI N.H.	MCB	Promotrice	USDB1
Pr CHERIF H.S.	Professeur	Co-promotrice	USDB1

Année universitaire 2024-2025