REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Chimie

Spécialité : Chimie Macromoléculaire

Par :

HADJI Saida

BENSALEM Mohamed

Thème :

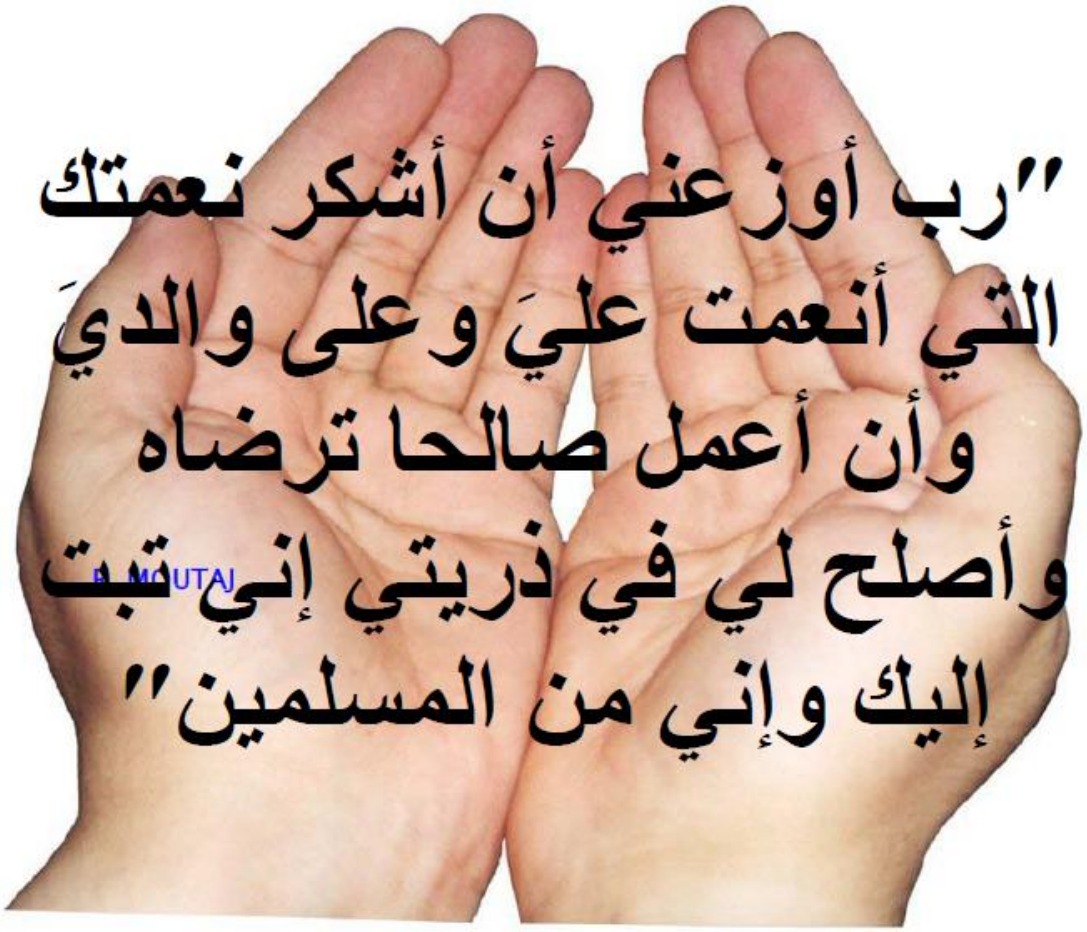
Etude comparative de quelques propriétés chimiques et biologiques d'extraits de plantes

Soutenue publiquement le : 22 /06 /2020. Devant le jury composé de :

M^me^ MAACHOU H	MCB	Univ de Médéa	Présidente
M^me^ BOUCHRIT N	MCB	Univ de Médéa	Examinatrice
M^me^ MIMI N	MCB	Univ de Médéa	Encadreur

Année universitaire: 2019/2020


بسم الله الرحمن الرحيم


"رب أوزعني أن أشكر نعمتك
التي أنعمت عليَ وعلى والديَ
وأن أعمل صالحا ترضاه
وأصلح لي في ذريتي إني تبت
إليك وإني من المسلمين"

R.MOUTAJ

ملخص

الهدف من هذا البحث هو إجراء دراسة مقارنة بين مستخلصات بعض النباتات الطبية الزنجبيل ونوعين من العلندى: علندى alata من الصحراء الجزائرية والعلندى الانتقالية التي تم الحصول عليها من الأردن .عن طريق النقع و الماء المغلي لتقييم آثارها المضادة للبكتيريا ومضادات الأكسدة. تظهر هذه الخصائص الآثار العلاجية لهذه النباتات الطبية الهامة.

لسوء الحظ ، لم نتمكن من إنهاء هذا البحث ، ولا تقييم نشاط مضادات الأكسدة ، نظرًا لوضع البلد مع هدا المرض الخطير الذي يصيب العالم بأسره .تم تنفيذ التأثير المضاد للبكتيريا فقط بالإضافة إلى التحليل بواسطة CCM و. IR

يتركز اهتمامنا على هذه النباتات ، الزنجبيل والعلندى ، نظرًا لتأثيراتها العلاجية المضادة للسكري و السرطان.

Résumé

L'objectif de ce travail de recherche est d'effectuer une étude comparative entre des extraits de quelques plantes médicinales, de gingembre et deux espèces d'Ephédra : Ephédra alata provenant du sahara Algérien et Ephedra transitoria (العلندى الانتقالية) provenant de Jordanie, obtenus par macération et décoction, pour évaluer leurs effets antibactériens et antioxydants.

Ces propriétés montrent les effets thérapeutiques de ces plantes médicinales importantes.

Malheureusement nous n'avons pas pu finaliser ce travail de recherche, ni d'évaluer l'activité antioxydante, vu la situation du pays avec cette maladie grave qui frappe le monde entier. Seul l'effet antibactérien ainsi qu'une analyse par CCM et IR sont réalisés.

Notre intérêt est porté sur ces plantes, gingembre et éphédra, vu leurs effets thérapeutiques antidiabète et anticancer

Remerciements

Ce travail de mémoire a été réalisé au laboratoire de biologie de l'université YAHIA Farés de MEDEA, une partie de l'étude a été effectuée aux laboratoires physicochimique et microbiologique du groupe SAIDAL de Médéa.

Tous d'abord nous remercions énormément Dieu tout puissant et Miséricordieux, qui nous a tout donné pour vivre sur terre et chercher à apprendre pour accomplir la mission pour laquelle il nous a crée.

En premier lieu nous tenons à adresser nos plus vifs remerciements à notre encadreur M^{me} MIMI , maitre de conférence à la faculté des Sciences de l'université YAHIA Farés de MEDEA, pour avoir encadré et dirigé ce travail de recherche et d'avoir porté une attention constante à notre travail.

Nos vifs remerciements vont à mesdames les membres du jury Dr MAACHOU et Dr BOUCHERIT d'avoir accepté de consacrer de leur temps pour juger ce travail, de l'intérêt qu'elles ont bien voulu prodiguer à nos activités de recherche, en acceptant d'être examinatrices en participant au Jury de soutenance de ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent aussi à tous les ingénieurs de laboratoires de biologie et de chimie de l'université de Médéa pour leur aide et leur patience avec les étudiants.

Nous désirons aussi remercier le personnel du groupe SAIDAL de Médéa pour l'aide précieux qu'ils nous ont porté.

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail de recherche.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail:

À mes parents, ma mère pour ses précieux conseils, mon père qui m'a donné la volonté, qui m'a pousser à terminer mes etudes et réussir en fournissant les necessities

À mes frères, ma soeur

À toute ma famille, mes proches surtout mes tantes

A tous mes amis et mes collégues: salah, abdo, djamel

À tous ceux qui m'ont aidé dans ma carrière universitaire



…Mohamed

Dédicaces

Je dédie ce travail de mémoire

A mes parents

A mes soeurs et frères

A toute ma famille, proche ou éloignée



Saida

LISTE DES ABRÉVIATIONS

VIH-1 : virus de l'immunodéficience humain

COX-1 : la cyclooxygénase-1

COX-2 : la cyclooxygénase-2

DMH : Diméthylhydrazyine

NF-KB : Neclear facteur-kapp B

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

D: Diamétre

KBr : Bromure de potassium

AFNOR : Association Française de Normalisation

Kcal : Kilocalorie

KHz : Kilohertz

GHz : Gigahertz

DCM: Dichlorométhane

DEA: Diéthylamine

C-Hex: Cyclohexane

MeOH: Méthanol

AcOEt: Acétate d'éthyle

EtOH: Ethanol

n-ButOH: n-butanol

LISTE DES FIGURES

Figure I.1 : Rhizomes de *gingembre*.....5

Figure I.2 : Feuilles, fleurs et rhizome frais du *gingembre*……6

Figure I.3 : Carte géographique avec la distribution géographique du *gingembre* ……...6

Figure I.4 : Champs de *gingembre* en Indonésie……7

Figure I.5 : Quelques composants bioactifs de *gingembre*…….8

Figure I.6 : Représentation de l'*éphédra* ….……...……...14

Figure I.7 : Répartition géographique de l'*éphédra* dans le monde sites de répartition des espèces du genre *éphédra* ….……...…….....14

Figure I.8 : L'extracteur de soxhlet……..17

Figure I.9 : Equipement d'extraction par le CO2 supercritique……...20

Figure I.10 : Structures chimiques de quelques antioxydantes synthétique…….22

Figure I.11 : Structures chimiques des antioxydantes naturels…….23

Figure I.12 : gram positif……..24

Figure I.13 : gram négatif…….24

Figure II.1 : Etapes photographiques de l'extraction réalisée au laboratoire de biologie de la faculté des sciences d'université de Médéa……..29

Figure II.2 : Presse hydraulique de laboratoire physico-chimique du groupe SAIDAL de Médéa……30

Figure II.3 : Spectrophotomètre FTIR du groupe SAIDAL du Médéa……31

Figure II.4 : Biotes à pétries contenants les souches bactériennes……...32

Figure II.5 : Ensemencement des boites par la suspension bactérienne……..33

Figure II.6 : Les milieux spécifiques des souches bactériennes……...33

Figure II.7 : La plaque émergée dans une cuve en verre préalablement saturée par la phase mobile…….34

Figure III.1: Résultats des rendement d'éxtraction……...36

Figure III.2 : Résultats des rendement par macération et décoction……..37

Figure III.3: Spectres infrarouge des trois plantes étudiées avant extraction ……38

Figure III.4: Les trois spectres superposés……..39

Figure III.5: Spectre IR de l'extrait *d'Ephedra alata* obtenu par macération à l'éthanol …..39

Figure III.6: Les énantiomères de l´éphédrine et de la pseudoephedrine…….....40

Figure III.7: (*Gingembre, Ephédra alata , Ephedra transitoria*) sur les souches testées à méme pourcentages : **a**- Escherichia coli , **b**- Staphylococcuse aureus , **c**-Pseudomonas aeruginosa.....42

Figure III.8: (*Gingembre, Ephédra alata , Ephedra transitoria*) sur les souches testées à méme pourcentages : **d**-Candida albicans , **e**- Saccharomyces cerevisiae, **f**-bacillus subtilis , **g**-salmonella typhimurium.....44

Figure III.9 : Zones d'inhibition obtenues par l'action de l'extrait sec des plantes (*Ephédra* alata, *Ephédra* transitoria) sur les souches bactériennes (Le diamètre d'inhibition n'est pas mesuré) 46

Figure III.10 : Activité antibactériènne des extraits de *gingembre d'ephedra alata et d'éphedra transitoria* sur les souches Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa et Escherichia Coli (M : Macération à l'éthanol, D : décoction, E : *Ephédra*).....47

Figure III.11 : Effets antibactériens des extraits obtenu par décoction en comparaison à ceux obtenus par macération, M: macération à l'éthanol, D: décoction 48

Figure III.12: Préparation de phase mobile ……49

Figure III.13: Préparation d'échantillons……50

Figure III.14 : Résultat final de l'analyse…….50

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Composition nutritionnelle de *gingembre* …….9

Tableau 2: Conditions chromatographiques de séparation des alcaloïdes……..26

Tableau 3: Résultats des rendements d'extraction …….35

Tableau 4: Valeurs des diamètres d'inhibition des souches bactériennes utilisées ……45

Tableau 5 : Masses totales d'alcaloïdes extraits des deux plantes : éphédra alata et éphédra transitoria [74]…….50

Sommaire

Introduction……1

Chapitre I : Synthése bibliographique

I -Les plantes médicinales……4

I-1. Le gingembre «Zingiber officinale »……4

a) Classification…… ……...4

b) Historique …… ……4

c) Description botanique de gingembre (Zingiber officinale) ……5

c)-1. Partie souterraine ……...5

c)-2. Partie aérienne……5

d) Distribution géographique……....6

e) Compositions chimiques et molécules bioactives ……..7

f) . Usages thérapeutiques …….…….9

f)- 1. Action anti-inflammatoire ……..9

f)-2. Action hypoglycémiante ……...…….10

f)-3. Activité anti- bactérienne et antivirale ……...…10

f)-4. Action antioxydante……..…….10

f)-5. Autres utilisations……..10

g) . Cancer et diabète ……11

g)-1. Cancer : anticancéreux……11

g)-1-1 . Cancer colorectal ……11

g)-1-2. Cancer de la prostate ……12

g)-1-3. Cancer de l'ovaire ……12

g)-2. Diabète……13

I-2. L'Ephédra ……13

I-2-1. Famille des Ephedraceae ……13

I-2-2. Ephédra……13

a) Description botanique ……13

b) Répartition géographique ……..14

c) Compositions phytochimiques ……15

d) Propriétés et utilisation de l'éphédra ……15
I-3. Méthodes d'extraction ……16

I-3-1. Méthodes d'extraction traditionnelles (anciennes) ……16

a) La percolation.……16
b) La décoction ……..16
c) Macération.……16
d) Infusion.……..16
e) Distillation.……..17

I-3-2. Méthodes D'extraction Alternatives (nouvelles).……17

A) Le Soxhlet.……..……17
B) Extraction assistée par ultrason ……18
C) Extraction assistée par micro- ondes ……..……19
D) Extraction par Fluides Supercritiques ……..……19
E) Extraction par Eau Surchauffée ……20
I-4.Caractérisation des plantes médicinales.……...……21
I-4-1.Activité antioxydante ……...……21
I-4-1.1.Les antioxydants primaires ……...……21
I-4-1.2.Les antioxydants secondaires ……22
I-4-1.3. Les sources des antioxydants ……...……22
a-Sources synthétiques ……...……..22
b-Sources naturelles ……22
I-4-2. Caractérisation biologique: Activité antimicrobienne ……23
a- Introduction.……23
b- La diversité du monde microbien ……23
b-1. Les bactéries ……23
b-1-1. Bactéries à gram négatif ……24
a-Escherichia coli ……24
b- Pseudomonas aeruginosa ……25
b-1-2. Bactéries à gram positifs ……25
a-Staphylococcus aureus ……25
b-Enterococcus faecalis ……..……25
I-4-3. Chromatographie sur couche mince CCM ……..26

Chapitre II : Matériels et méthodes

II- Matériels et méthodes……27
II-1.But de l'étude……..……..27
II-2.Le matériel végétal ……..…….27
II-3. Matériels et produits utilisés ……..……..27
II-4. Procédés d'extraction ……28
a- Extraction par macération à l'éthanol……...……28
b- Extraction par décoction ……..……28
II-5. Caractérisation ……30
II-5-1. Détermination du rendement d'extraction.……30
II-5-2. Analyse infrarouge à transformée de Fourier FTIR……..30
II-6. Activité antibactérienne……31
- Mode opératoire ……31
a) Préparation de l'inoculum ……31
b) Préparation des milieux de culture……31
c) Ensemencement ……31
d) Dépôt des disques ……32
e) Lecture ……..32
II-7.Chromatographie sur couche mince (CCM)……...……33
II-7.1.préparation de phase mobile……..……...……34
II-7-2. Conditions de travail……...……34

Chapitre III : Résultats et interprétations

a- Rendement de l'extraction ……..……35
b- Analyse infrarouge ……37
c- Activité antibactérienne et antifongique ……..……41
d- Chromatographie sur couche mince (CCM)……..49
Conclusion……51
Références Bibliographiques……52

Introduction

INTRODUCTION

Depuis la plus haute antiquité, les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition jusqu'au XIXe siècle, les médecins se contentaient, pratiquement, d'utiliser les plantes pour soulager les maux de leurs patients. C'est alors que les chimistes ont réussi à isoler les principes actifs de certaines plantes importantes. Poursuivant leurs recherches, au début du XXe siècle, ils ont fabriqué des molécules synthétiques [1].

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme [1-10]. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie : elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus [1].

Si les plantes sont faciles à utiliser, certaines d'entre elles provoquent également des effets secondaires. Comme tous les médicaments, les plantes médicinales doivent être employées avec précaution. Il est recommandé de n'utiliser une plante que sur les conseils d'un spécialiste ; par exemple *l'éphédra*, originaire de la Chine du Nord et de Mongolie [1], une plante qui pousse aussi en Jordanie en Palestine ainsi qu'en sud Algérien [2], peut causer des effets toxiques si elle est mal utilisée (mal dosée) [1].
Au paravent, les gens avaient l'habitude de consommer du thé à l'*éphédra* afin de rester vigilants. Aujourd'hui, elle est utilisée pour soigner diverses affections : coups de froid, fièvres, asthme [1,2] et maladies cancéreuses [11,12].

Epice et condiment très répondu, le *gingembre* est également l'un des remèdes les plus utilisés au monde. Depuis les temps les plus reculés, il est très prisé en Asie. Le gingembre soulage les nausées matinales et le mal des transports et soigne très bien les troubles circulatoires [1,2].

Les premiers traitements utilisés par l'homme étaient des préparations simples à base d'eau pour extraire les principes actifs des plantes médicinales. L'utilisation de la tisane, que ce soit infusion, décoction ou macération, est retrouvée parmi les méthodes les plus anciennes à côté des fumigations, des inhalations de vapeur, de l'application d'une solution sur le corps. La tisane n'est pas uniquement un apport d'eau. Il s'agit

d’une préparation médicinale utile en médecine et en phytothérapie. L’eau permet ainsi de récupérer certains constituants actifs hydrosolubles [7].

L’étude de la chimie des plantes est toujours d’une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l’industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve les alcaloïdes, les composés phénoliques, les tannins et les flavonoïdes [6]**.** Cependant, l’évaluation des propriétés anti oxydantes et antimicrobienne demeure une tache très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d’une utilisation rare ou moins fréquente [7]**.**

L’objectif de ce travail de recherche est d’effectuer une étude comparative entre des extraits de quelques plantes médicinales, de *gingembre* et deux espèces d’*Ephédra: Ephédra alata provenant du sahara Algérien et Ephedra transitoria (العلندى الانتقالية) provenant de Jordanie,* obtenus par macération et décoction, pour évaluer leurs effets antibactériens et antioxydants. Ces propriétés montrent les effets thérapeutiques de ces plantes médicinales importantes.

Malheureusement nous n’avons pas pu finaliser ce travail de recherche, ni d’évaluer l’activité antioxydante, vu la situation du pays avec cette maladie grave qui frappe le monde entier. Seul l’effet antibactérien ainsi qu’une analyse par CCM et IR sont réalisés. Notre intérêt est porté sur ces plantes, *gingembre et éphédra,* vu leurs effets thérapeutiques antidiabète [4, 6, 8] et anticancer [11,12]

Notre travail est organisé en trois chapitres :

Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique regroupant les différentes définitions, les méthodes d’extractions ainsi qu’une présentation des différentes plantes utilisées dans ce travail, *gingembre* et *Ephédra*, leur description, composition chimique et leurs propriétés pharmacologiques correspondantes.

Le deuxième chapitre regroupe les différents modes opératoires et matériels utilisés pour nos expériences.

Le troisième chapitre présente les résultats obtenus et leurs interprétations.

Enfin, nous terminons avec une conclusion présentant les différents résultats obtenus ainsi que les perspectives envisagées.

Chapitre I
Synthèse bibliographique

I -Les plantes médicinales

La phytothérapie est le traitement des maladies par des plantes dites médicinales. La phytothérapie vient du grec et signifie « soigner par les plantes ». Elle repose en partie sur une pratique traditionnelle, fondée sur l'utilisation ancestrale et locale des plantes. Depuis la nuit des temps et à travers le monde les plantes sont utilisées à des fins thérapeutiques [2].

Les plantes médicinales sont des drogues végétales qui possèdent des propriétés médicamenteuses [1,2]. Elles renferment de nombreux principes actifs qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques. Ces principes actifs ont été étudiés et reproduits chimiquement pour être incorporés de nos jours dans de nombreux médicaments. Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques [2].

Parmi les plantes les plus employé depuis l'antiquité le *gingembre* et l'*éphédra* dont les propriétés sont les suivantes :

I-1. Le *gingembre «Zingiber officinale »*

a) Classification



Famille : *Zingiberaceae*

Genre : *Zingiber*

Espèce : *Z. officinale*

Nom Commun : *Gingembre*

Nom Anglais : *Ginger*

Nom Arabe : *Zanjabile* (زنجبيل)

b) Historique

Le *gingembre* est une grande herbe tropicale poussant dans les régions ensoleillées et humides, qui peut attendre 3 m de hauteur. Son épais rhizome, partie utilisée en thérapeutique, est constitué de tubercules globuleux ramifiés, qui ressemblent aux doigts de la main, à la chair jaune pâle juteuse, d'odeur aromatique avec une saveur chaude et. Piquante [2]. En raison de son importance dans la famille à laquelle il appartient, il a été nommé d'après sa famille zingibéracées [9].

Le *gingembre (zingiber officinale)* est membre de la famille des zingibéracées qui comprend la cardamome est le curcuma. Le fort arôme du *gingembre* est le résultat de cétones

piquantes, y compris le gingérol. L'utilisation médicinale du rhizome de *gingembre* date de 2500 ans en chine et inde [10]. Ou il était prescrit pour traiter les maux de tète, les nausées, les rhumatismes et les rhumes.

Cette plante médicinale ou bien épice orientale (Figure I.1) a traversé la mer Méditerranée pour la première fois grâce aux phéniciens pour arriver à l'Europe durant l'Empire romain dès le premier siècle [11]. Le *gingembre* s'est répondu après dans l'Egypte antique comme un composant des techniques de momification. Aujourd'hui cette plante est cultivée dans les régions tropicales humides, bien que l'Inde reste le plus grand producteur [12].



Figure I. 1 : Rhizomes de *gingembre* [13] **.**

c) Description botanique de *gingembre* (Zingiber officinale)

Il existe environ 100 variétés d'espèce que l'on ne rencontre plus que rarement à l'état sauvage, du moins en ce qui concerne le *Zingiber officinale* qui est une plante vivace herbacée, originaire des régions tropicales d'Asie [14]. Le *Zingiber officinale* est divisé en deux parties :

c)-1. Partie souterraine

Elle présente des rhizomes horizontaux et ramifiés, peau beige pâle, il devient de plus en plus fibreux avec l'âge et son odeur est très aromatique avec une saveur chaude et piquante [15].

c)-2. Partie aérienne

Cette partie est formée des feuilles et d'une tige de 1.50 mètre et peut atteindre 3 mètre de hauteur [11]**.** On trouve deux sortes de tiges ; les hautes tiges qui sont stériles, servent a l'assimilation et portent des feuilles alternes, longues et étroites, alors que les basse tiges servent à la reproduction et ne présentent pas de feuilles [14]**.** Les fleurs de cette plante sont parfumées, blanches et jaunes, avec des traînées rouges sur les lèvres. La floraison a lieu entre

les mois d'août et novembre. Ses fruits sont des capsules trivalves contenant des graines noires [15].



Figure I. 2 : Feuilles, fleurs et rhizome frais du *gingembre*

d) Distribution géographique

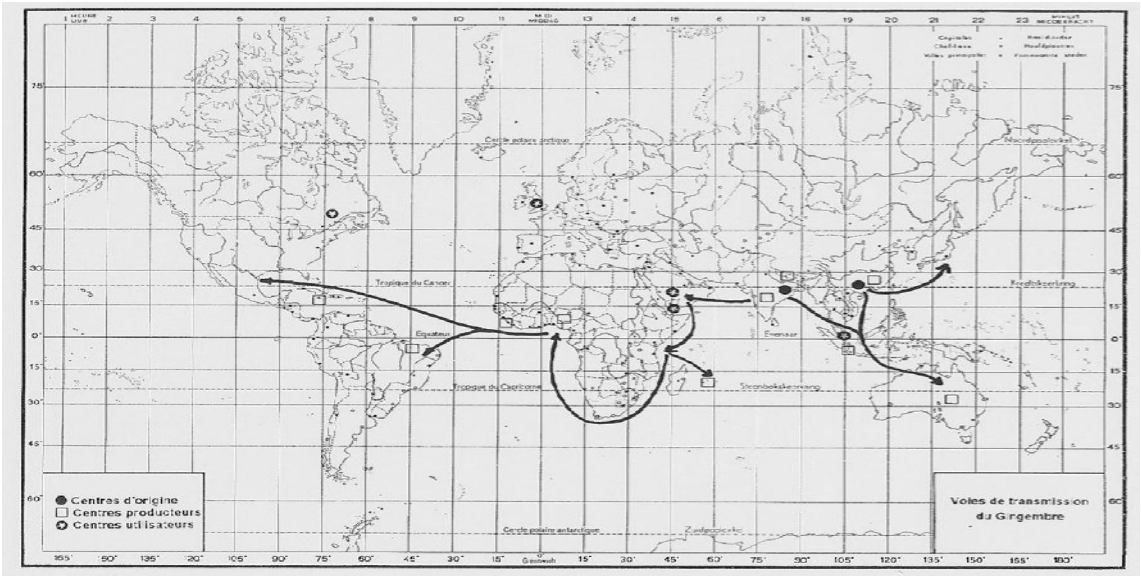


Figure I.3: Carte géographique avec la distribution géographique du *gingembre* [16]**.**

Les principaux pays producteurs sont en premier l'Inde, en second la Chine, l'Indonésie, le Japon, la Mauritanie, le Nigéria, l'Australie, la Jamaïque en produisent également. On peut également le cultiver sur l'Himalaya à une altitude de 1600 m, au cap Comorin, au Sri Lanka, au Vietnam, au Cambodge, au Laos, en Thaïlande, en Malaisie, aux Philippines, au Népal, en Corée du Sud, au Bhoutan, en Sierra Leone, au Cameroun, au Congo, au Ghana, en Ethiopie, en Côte-d'Ivoire, au Bénin, en Guinée, au Sénégal, au Ghana, au Burkina Faso, à la Réunion, à

Madagascar, à Saint-Barthélémy, en Polynésie Française, à l'est du Brésil, au Mexique, au Costa Rica, au Guatemala, aux Etats-Unis, en Colombie, au Venezuela, en Guyane, en République Dominicaine, à Mayotte, en Martinique, à Cuba, en Nouvelle-Calédonie, dans les îles Fidji, dans les îles Solomon, à l'île Maurice, dans l'archipel de Tonga .

Il est aussi cultivé depuis peu en Europe avec des serres en Suisse. À partir de nouvelles techniques utilisées à Java, une étude a permis d'adapter les conditions de cultures du *gingembre* à Genève et d'en faire une méthode innovante actuellement confidentielle [17].

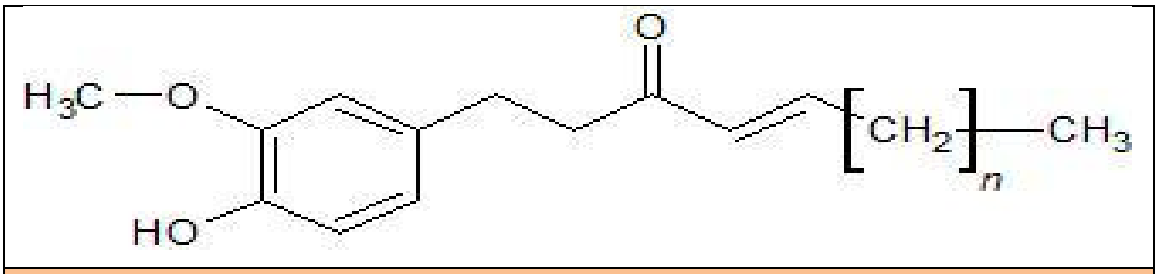


Figure I.4 : Champs de *gingembre* en Indonésie [18].

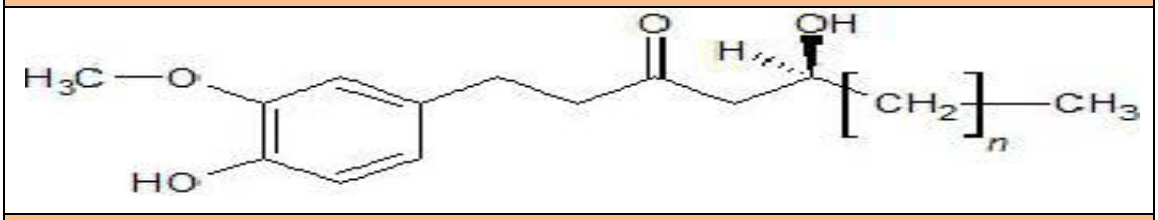
e) Compositions chimiques et molécules bioactives

La majorité des composants chimiques sont situés principalement dans le rhizome, ce dernier contient essentiellement :

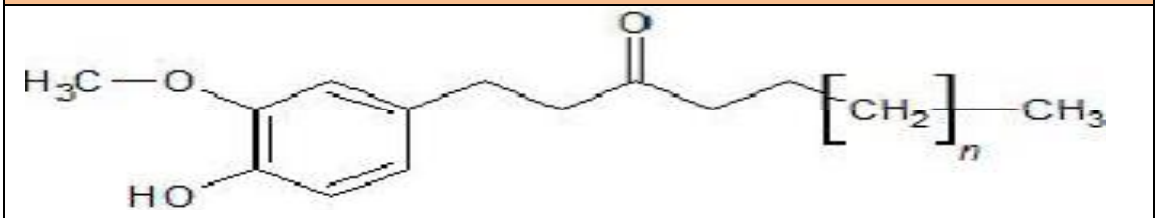
- L'amidon (60%), des protéines et des lipides (10%) et 10 à 40 ml /kg d'huile essentielle (volatile) qui est constitué de : Mono et sesquiterpènes dont les sesquiterpènes représentant le principale composant (30 à 70 % de l'huile essentielle) [19]. Ces huiles sont variables selon l'origine géographique, les conditions agronomiques, et si les rhizomes sont frais ou sec [20].
- L'oléorésine contient des composés phénoliques responsables du goût piquant : shagoal, [6]- gingérol, paradol, zingérone [11] (Figure I.5) et des composés responsables de la saveur très marqué de la drogue sèche ([6]- gingérol).
- Le *gingembre* contient également quelques flavonoïdes comme la quercétine, la rutine, fisétine, morine, acide gallique, acide ferulique, acide vanillique (ou acide 4-hydroxy-3-méthoxybenzoïque) [21].



Shogaol



Gingerol



Paradol

Figure I.5 : Quelques composants bioactifs de *gingembre* [22]**.**

Ainsi que les valeurs nutritionnelles du *gingembre* sont listées dans le **Tableau 1**.

Tableau 1: Composition nutritionnelle de *gingembre* [23].

Nutriment	Quantité par 100 g
Energie	332 Kcal
Eau	9.94 g
Protéines	8.98 g
Lipides	4.24 g
Oil	
Acide Gras saturés	2.6 g
Oméga 3	0.223 g
Oméga 9	0.357 g
Glucides	57.5 g
Sucre	3.34 g
Fibres	14.1 g
Minéraux et oligo-éléments	
Calcium	**114 mg**
Cuivre	**0.48 mg**
Magnésium	214 mg
Manganèse	33.3 mg
Phosphore	168 mg
Potassium	1320 mg
Sodium	27 mg
Zinc	3.64 mg
Vitamines	
Vitamine A	18 µg
Vitamine B1	0.046 mg
Le gingembre contient 46% de protéines completes	
Acides aminés essentiels	**mg /g de protein**
Histidine	16
Isoleucine	28
Leucine	41
Valine	40
Tryptophane	7

f) . Usages thérapeutiques

Au cours des dernières années le *gingembre* est utilisé pour traiter certaines anomalies en raison de ses activités biologiques.

f)- 1. Action anti-inflammatoire

Le *gingembre* permet d'abaisser certaines douleurs grâce à ces composées shagoal, [6]-gingérol et paradol :

- Les douleurs musculaires et articulaires (l'arthrite, l'arthrose et les rhumatismes).
- Les blessures et les fractures.

- Les œdèmes et les douleurs intestinales [24].

Aussi bien, le *gingembre* modulerait certaines voies biochimiques activées lors d'une inflammation où le [6]- gingérol est un puissant inhibiteur de la synthèse du monoxyde d'azote, des prostaglandines E2 par inhibition de COX-1, COX-2 [25].

f)-2. Action hypoglycémiante

Le *gingembre* baisse la glycémie et permet une meilleur résistance à l'insuline, de ce fait il est conseillé pour les personnes diabétiques [26].

f)-3. Activité anti- bactérienne et antivirale

Les études récentes réalisées sur l'huile, l'oléorésine, les extraits et les molécules actives du *gingembre* dévoilent diverses propriétés, soit activité antivirale respiratoire, anti-VIH1, soit activité antibactérienne. Il réduit les symptômes de la fièvre, les états grippaux, la toux, les angines, l'asthme et les allergies [27].

f)-4. Action antioxydante

Le *gingembre* entre dans la formulation de produits cosmétiques comme les poudres de massage. Il est très intéressant sur le plan cosmétique puisqu'il contient plusieurs composés antioxydants. Ces derniers protégeant les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres (un des facteurs responsables du vieillissement cutané). Il contient également du cuivre, nécessaire à la formation du collagène (protéine servant à la structure et la réparation des tissus cutanés). Des études ont montré son effet sur les rides et l'élasticité de la peau**.** Cette propriété antioxydant de Zingiber officinale est liée au gingérol qu'il contient**.** Aussi la consommation de gingembre aide à lutter contre l'action des radicaux libres et de prévenir les maladies neurodégénératives et certains cancers comme le cancer de la prostate**.** Aussi bien il améliore l'efficacité d'un traitement du cancer cervical [28].

f)-5. Autres utilisations

- En Asie, le *gingembre* est utilisé comme plante médicinale pour soigner les problèmes d'estomac et la diarrhée [27].
- Plusieurs essais cliniques sur des femmes enceintes, ont démontré que le *gingembre* était plus efficace que la vitamine B6 et aussi efficace qu'un traitement sur les nausées et les

vomissements pendant la grossesse. Cette propriété antiémétique s'est confirmée pour la prévention des patientes, en chirurgie postopératoire (gynécologie, laparoscopie) [11].

- Son goût piquant est parfois utilisé pour masquer le goût désagréable d'autres médicaments.
- L'association d'un repas protéiné à du *gingembre* diminue de façon importante les nausées retardées observées après une chimiothérapie et permet de réduire l'utilisation d'un traitement antiémétique [11].
- Cette plante possède un effet antiulcéreux très proche de celui du médicament « Oméprazole » [29].
- Le *gingembre* a été utilisé aussi en médecine vétérinaire in vivo comme vermifuge de nématodes gastro-intestinaux des moutons [30].

g) . Cancer et diabète

g)-1. Cancer : anticancéreux

Le *gingembre* détiendrait des propriétés anticancer. Certaines études menées sur des souris, chez lesquelles on avait volontairement provoqué un cancer, auraient mis en avant le fait que la consommation d'un composé du *gingembre*, le gingérol, ralentissait la prolifération des cellules les cancéreuses [31]. Voici les études les plus éprouvées de l'effet du *gingembre* ;

g)-1-1 . Cancer colorectal

Des études *in vitro* ont montre des effets anticancéreux. Récemment il y a eu plusieurs essais cliniques portant sur les avantages du *gingembre* pour traiter le cancer colorectal. Une équipe a effectue un essai randomise sur 20 personnes présentant un risque augmente de cancer colorectal pour évaluer les effets du gingembre sur l'apoptose, la prolifération et la différenciation des cellules de la muqueuse colique. Dans cet essai pilote, les volontaires ont reçu soit 2 g de *gingembre* soit 2 g de placebo par jour pendant 28 jours. Les résultats suggèrent que le *gingembre* peut réduire la prolifération des cellules cancéreuses dans l'épithélium colorectal en augmentant l'apoptose par rapport a la prolifération des cellules cancéreuses, en particulier dans la zone de différenciation des cryptes du colon. Il faudra faire d'autres études pour être plus concluant sur les avantages du *gingembre* dans le traitement ou la prévention du cancer et approfondir ces découvertes. Une autre étude a été faite sur l'effet du *gingembre* sur les stades d'initiation de la carcinogenèse du colon induite par la 1,2-diméthylhydrazine (DMH) chez les rats males. Les rats ont reçu une injection sous-cutanée hebdomadaire de DMH à la dose de 20 mg/kg de poids corporel dans l'aine pendant 15 semaines. On a administre quotidiennement par voie orale du *gingembre* (50 mg/kg de poids corporel) aux rats au stade d'initiation, et après l'initiation de la carcinogenèse. En présence du

DMH, carcinogène connu du colon, la peroxydation lipidique plasmatique et la survenue du cancer ont été significativement augmentées, tandis que les concentrations en antioxydants enzymatiques et non enzymatiques ont diminue par rapport aux rats témoins. Le nombre de tumeurs ainsi que l'incidence du cancer ont été significativement diminués lors du traitement avec le *gingembre*. De plus, la supplémentassions en *gingembre* a l'étape d'initiation et également aux stades post-initiation de la carcinogenèse a significativement améliore la quantité d'enzymes anti-oxydantes ainsi que la quantité des antioxydants non enzymatiques. La supplémentassions en gingembre supprime la carcinogenèse du colon après administration du DMH pro-carcinogène. Pour prouver l'inhibition du développement des tumeurs, des expériences *in vitro* ont été faites. Les mécanismes d'action suggères sont que le [6]-gingérol est efficace dans l'hyperprolifération et les processus inflammatoires qui initient et favorisent la carcinogenèse et la métastase.

D'autres chercheurs rapportent que dans le cancer colorectal, il y a une inhibition de la synthèse de molécules inflammatoires a partir de l'acide arachidonique [32].

g)-1-2. Cancer de la prostate

Des études ont été également réalisées sur des cellules cancéreuses de prostate et les résultats montrent que l'extrait entier de gingembre exerce des effets inhibiteurs significatifs sur la croissance et sur l'induction de la mort des cellules cancéreuses de la prostate. Des études approfondies ont confirme que ces extraits ont perturbe la progression du cycle cellulaire et ont module celui-ci, altère la capacité de reproduction, et a perturbe les molécules régulatrices de l'apoptose en favorisant l'apoptose mitochondriale dans les cellules cancéreuses de la prostate humaine. De façon remarquable, l'administration orale quotidienne de 100 mg/kg de poids corporel d'extrait entier de *gingembre* a inhibe la croissance et la progression de xénogreffes de cellules cancéreuses de prostate humaine chez les souris. Plus important encore, ces extraits n'ont exerce aucune toxicité détectable dans les tissus normaux, a division rapide, tels que l'intestin et la moelle osseuse. C'est le premier rapport a démontrer l'activité anticancéreuse *in vitro* et *in vivo* des extraits entiers de *gingembre* intéressante pour le traitement du cancer de la prostate [33, 34].

g)-1-3. Cancer de l'ovaire

En ce qui concerne l'inhibition du développement des cancers ovariens, le mécanisme propose est que le *gingembre* a inhibe la croissance et module la sécrétion de facteurs angiogéniques dans les cellules cancéreuses de l'ovaire. Le traitement a entraine une inhibition de l'activation de NF-*k*B qui est un facteur transcriptionnel qui contribue a augmenter la

transcription et la traduction des facteurs angiogéniques et qui sont probablement impliques dans le développement de cancers humains, ainsi qu'une diminution de la sécrétion de VEGF qui est un facteur également implique dans la néo-angiogenèse et une diminution d'IL-8, une interleukine activatrice des cellules immunitaires.

Les propriétés anticancéreuses du gingembre sont attribuées à la présence de certains vanilloides, de [6]-gingérol et de [6]-paradol, ainsi que de certains autres constituants tels que shogaols, zingerone, etc. Le [6]-shogaol a été juge le plus efficace dans ce mécanisme [35].

g)-2. Diabète

De récentes études effectuées sur des rats auraient mis en évidence le fait que la consommation de gingembre ferait diminuer le taux de glucose sanguin. Une action qui ne s'exerce pas chez le rat non diabétique. Une raison de plus de mettre du gingembre au menu quand on a des petits soucis avec sa glycémie [4 .6. 8, 31].

I-2. *L'Ephédra*

I-2-1. Famille des *Ephedraceae*

La famille des *Ephedraceae* représentée par le seul genre *Ephédra* inclue environ 40 espèces dans le monde [35]. Les espèces de ce genre peuvent pousser dans des conditions semi-arides et désertiques, ce qui rend les six continents appropriés pour la croissance de ce genre. Ce dernier se développe habituellement dans des sols sableux, des pentes sèches et des côtés secs de montagnes et qui poussent surtout dans la Chine, l'Inde, l'Egypte, le Moyen-Orient, en Europe et dans les Amériques [36].

I-2-2. *Ephédra*

Nom : En arabe : العلندى , en français: *éphédra* et *ephedra* en anglais.

a) Description botanique

Cette espèce, qui est réputée pour sa tolérance élevée à la carence en eau dans les régions sahariennes, est un arbuste de 1 à 3 mètres de haut, à rameaux articulés et très ramifiés d'une couleur vert-jaunâtre, portant au niveau des nœuds de petites feuilles opposées, alternant d'un nœud à l'autre. Les fleurs sont en petits cônes blanchâtres, dioïques (fleurs mâles et femelles sur des pieds différents) et les fruits entourés de bractées largement membraneuses. Elle présente un système de racines latérales extrêmement puissant [38] représenté sur la figure I.6.



Figure I.6: Représentation de l'*Ephédra* [39].

b) Répartition géographique

L'espèce *Ephédra* est une plante médicinale originaire d'Asie, y compris l'Arabie Saoudite [40]. Elle est commune dans le Sahara du Maroc à la Libye jusqu'à l'Egypte et l'Arabie Saoudite. En Algérie, L'*éphédra* se trouve dans le Sahara septentrional et occidental au niveau des terrains sableux, des regs et les lits sablonneux des oueds. Elle est même rencontrée dans le sable de l'étage tropical et la Hamada de Tinghert [37], La figure I. 7 montre la répartition du genre *Éphédra* dans le monde.

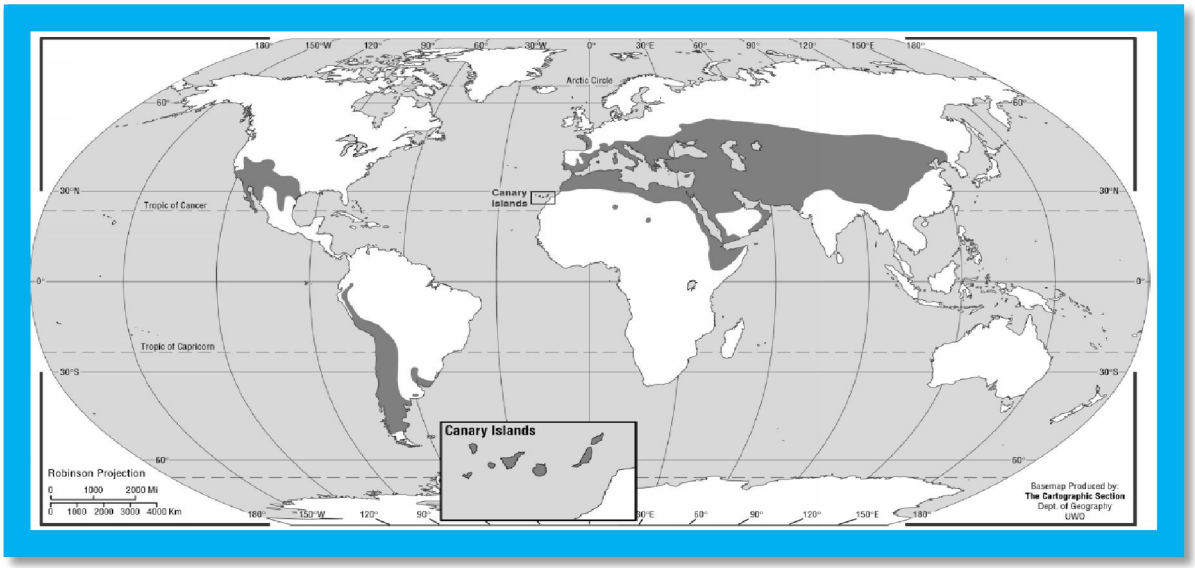


Figure I.7: Répartition géographique de l'*Ephédra* dans le monde [41].

c) Compositions phytochimiques

Les espèces de l'*Ephédra* sont des sources naturelles de nombreux phytoconstituants (« phyto- » signifie « plante » en grec) incluant des alcaloïdes, des tanins, des saponines, des proanthocyanidines, des acides phénoliques, des flavonoïdes et des huiles essentielles [36]. Il est bien connu dans la littérature que les propriétés biologiques traditionnelles de l'*Ephédra* sont attribuables en grande partie aux alcaloïdes de type éphédrine, proto-alcaloïdes dérivés de la phénylalanine [41]. Notons que l'éphédrine et la pseudoéphédrine sont généralement les plus abondantes, ils représentent environ 80% de la teneur en alcaloïdes dans la plante séchée [42].

d) Propriétés et utilisation de l'*éphédra*

Les espèces du genre *Ephédra* sont parmi les plus anciennes herbes médicinales connues de l'humanité. *Ephédra sinica* est l'espèce principale qui a été utilisée en Chine depuis plus de 5000 ans. *Ephédra gerardiana* a aussi été utilisée dans la médecine traditionnelle indienne depuis l'ancien temps. Même durant le temps de l'empire Romain, l'*Ephédra* était bien connue [43]. En Algérie, *l éphédra* s'utilise contre la grippe, la coqueluche et la faiblesse générale en tisane et par inhalation ainsi que sous forme de gouttes nasales contre les rhumes [44]. Elle est très appréciée par le dromadaire. Au Maroc, elle est utilisée pour lutter contre le diabète. Ainsi, les tiges broyées d'*éphédra* et cuites dans du beurre, seraient ingérées par les femmes du Sahara pour avorter [45]. Les espèces *Ephédra* d'Asie ont été récemment utilisées dans la fabrication clandestine d'une drogue de rue, de la méthamphétamine (d-desoxyéphédrine). En Egypte, l'éphédra est utilisée en médecine traditionnelle comme dépurative, hypotensive, antiasthmatique et agent astringent [46]. En Arabie Saoudite, l'*Ephédra* est l'une des plantes de parcours les plus répandues. Elle a été utilisée comme pâturage pour de nombreux animaux attirés par son arôme acceptable [40].

Les organes utilisés dans la médecine traditionnelle sont les tiges vertes séchées, qui sont usuellement bouillies dans de l'eau pendant environ trente minutes et administrées comme thé chaud [43].

I-3. Méthodes d'extraction

I-3-1. Méthodes d'extraction traditionnelles (anciennes)

L'extraction veut dire la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impures sous forme de liquides, semi-solides ou poudres exclusivement destinés à un usage oral ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales [47].

La tisane, que ce soit infusion, décoction ou macération, est un procédé d'extraction de constituants actifs des plantes médicinales. Le mot tisane vient du grec ptisané qui désignait orge monde, puis tisane d'orge. L'utilisation de la plante en tisane est retrouvée parmi les méthodes les plus anciennes à côté des fumigations, des inhalations de vapeur, de l'application d'une solution sur le corps. L'eau chaude permet ainsi de récupérer certains constituants actifs hydrosolubles [48].

a) La percolation :

Elle consiste à laisser couler un solvant (généralement très chaud) sur un lit de solides finement divisés. Elle est plus rapide et donne une meilleur qualité de substances aromatique mais charge les huiles essentielles en substances non volatiles ; on parle alors d'essence de percolation. La préparation du café relève de cette opération [49].

b) La décoction :

Elle convient pour l'extraction de matières végétales dur ou très dur : bois, écorce, racines, ou des plantes avec des constituants peu solubles (ex : l'acide silicique). Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min, pour bien extraire les principes médicinales [50]

c) Macération :

C'est une méthode d'extraction solide-liquide similaire à l'infusion qui s'effectue à température ambiante. Elle est généralement utilisée pour l'extraction de composés sensibles à la chaleur.

d) Infusion :

C'est une méthode d'extraction des principes actifs ou des arômes d'un végétal par dissolution dans un liquide initialement porté à ébullition que l'on laisse refroidir.

Le terme désigne aussi les boissons préparées par cette méthode, comme les tisanes et le thé.

e) Distillation :

C'est une pratique très ancienne utilisant la vapeur d'eau pour récupérer les principes volatiles. Développée par Jabir Ibn Hayyan (Geber 721-815) qui a rajouté l'alambic à l'ancien appareil de distillation pour la réfrigération, mais utilisée par Al Kindi (Alchindius 805-873) et Ibn Sina (Avicenne 980-1037) pour la préparation des parfums. Les eaux distillées ou hydrolats, sont obtenues par distillation de la plante (feuilles, tiges…), alors que les eaux florales sont obtenues de la même manière mais à partir des fleurs [51].

I-3-2. Méthodes D'extraction Alternatives (nouvelles)

Les méthodes d'extraction conventionnelles des plantes médicinales utilisaient les solvants organiques, soit par macération (extraction discontinue) ou en utilisant certains appareils comme le Soxhlet Figure I. 8 qui est une extraction continue inventé pour la première fois en 1879 par l'allemand Franz von Soxhlet (1848-1926), mais certains inconvénients se présentent avec cet appareil à cause de la taille limitée de la cartouche qui porte la plante, et la chaleur qui peut dégrader les composés chimiques [52].

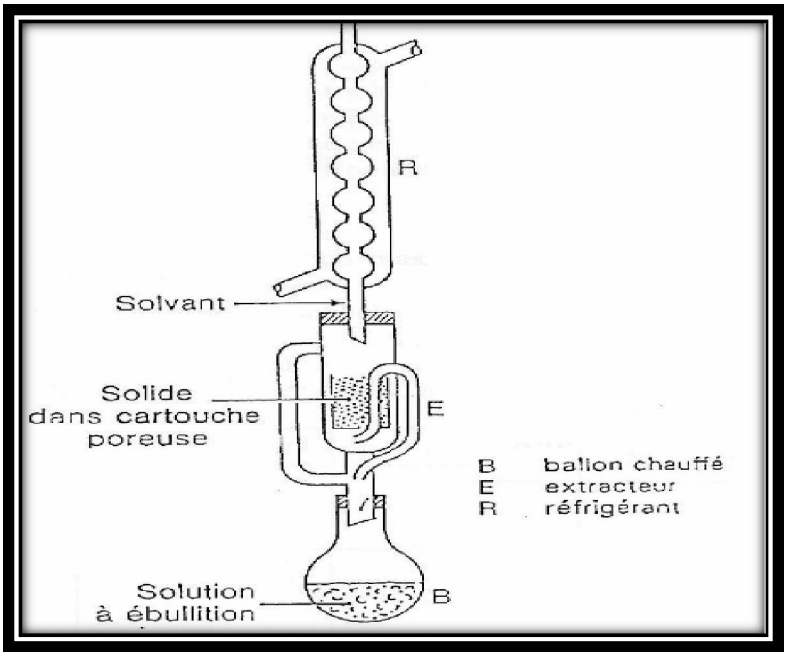


Figure I. 8 : L'extracteur de Soxhlet**.**

A) Le Soxhlet : C'est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide. L'échantillon entre rapidement en contact avec une portion fraiche de solvant, ce qui aide à déplacer

l'équilibre de transfert vers le solvant. Les inconvénients les plus significatifs de cette méthode sont : la durée importante d'extraction et la grande quantité de solvant consommée, ce qui conduit non seulement à des pertes économiques mais pose aussi des problèmes sur le plan environnemental. Les échantillons étant portés à haute température pendant une période relativement longue, le risque de thermodestruction de certains composés n'est pas à négliger si la matière végétale contient des composés thermolabiles. Etant donné la grande quantité de solvant utilisée, l'étape postérieure d'évaporation/concentration devient limitante [53].

B) Extraction assistée par ultrason

La technique d'extraction par ultrasons est la plus utilisée à l'échelle industrielle pour améliorer les phénomènes de transfert de masse. Elle a été reconnue pour son application potentielle dans l'extraction des plantes et leurs huiles (carvone, gingérols, huile d'amande…), les protéines (soja), polyphénols, anthocyanines, saponines de ginseng, polysaccharides, la pasteurisation et la production de produits laitiers [54].

L'ultrason fait référence aux ondes sonores mécaniques et élastiques avec des fréquences plus hautes que celles détectable par l'oreille humaine, c'est-à-dire autour de 18 kHz. Les fréquences ultrason d'intérêt pour réactions chimiques (20-100 kHz) sont plus faibles que dans applications médicales, mais le pouvoir utilisé est plus grand supérieur à une dizaine de Watt. En usage médical, les ondes à hautes fréquences (3-10 MHz) sont utilisées pour le diagnostic et à faible niveau d'énergie inférieur à 1Watt. L'application des faibles fréquences sur le corps peut endommager les tissus, alors que l'usage des hautes fréquences en chimie est sans valeur [55]. Les principaux avantages de l'utilisation des ultrasons dans l'extraction de solide-liquide incluent :

- Réduction de la température de fonctionnement permettant l'extraction des composés thermolabiles.
- Faible coût de l'appareillage et facilité de l'opération par comparaison à d'autres nouvelles techniques d'extraction telles que l'extraction assistée par micro-ondes.
- Possibilité d'utilisation de n'importe quel solvant ce qui permet d'intervenir dans l'extraction d'une large variété de composés naturels
- L'augmentation de la cinétique et du rendement d'extraction,

C) Extraction assistée par micro- ondes

Les micro-ondes sont des rayonnements électromagnétiques de fréquence allant de 0.3 à 300 GHz. L'extraction assistée par Micro-ondes (EAM) offre un transfert rapide d'énergie et un chauffage simultané de l'ensemble « solvant et matrice végétale solide ». En absorbant l'énergie des micro-ondes, l'eau présente dans la matrice végétale favorise la rupture des cellules facilitant ainsi la libération des produits chimiques de la matrice et améliorant leur extraction [54]. Elle utilise de plus petites quantités de solvant, n'est pas couteuse et est considérablement rapide. Cependant, la température opératoire de cette technique est relativement élevée (100 – 150 °C), ce qui pose des problèmes quand il s'agit de l'extraction d'antioxydants [55].

D) Extraction par Fluides Supercritiques

En 1822, le physicien français Charles Cagniard de la Tour (1777-1859) remarque qu'au-dessus de certaines températures et pressions, les substances simples ne se condensent pas et ne s'évapore pas mais existent sous forme de fluides. Au-dessous de ces conditions les deux phases gaz et liquide possèdent la même densité et aucune distinction entre les deux phases, c'est l'état critique [56].

Toutes les substances sur terre possèdent trois états: solide, liquide et gaz, alors que l'état supercritique est distinct et qui ne peut être atteint que si la substance est soumise à une température et une pression au-delà de son point critique. Le fluide supercritique ressemble au gaz dans sa propriété de diffusion, viscosité et la tension de surface, et il ressemble au liquide dans sa densité et son pouvoir de solvatation. Ces propriétés le rendent convenable pour l'extraction des composés en un temps court avec un rendement élevé [56]. Le dioxyde de carbone (CO2) est considéré comme le solvant idéal pour l'extraction supercritique, sa température critique est 31°C qui est proche de la température ambiante, alors que sa pression critique est faible de l'ordre de 74 bars (pour l'eau Tc=374°C, Pc=220atm), ce qui offre la possibilité d'opérer à pressions modérées généralement entre 100 et 450 bars. L'inconvénient du CO2 est qu'il a une faible polarité qui le rend idéal pour les lipides, les graisses et les substances non polaires, mais inapproprié pour la plupart des échantillons pharmaceutiques.

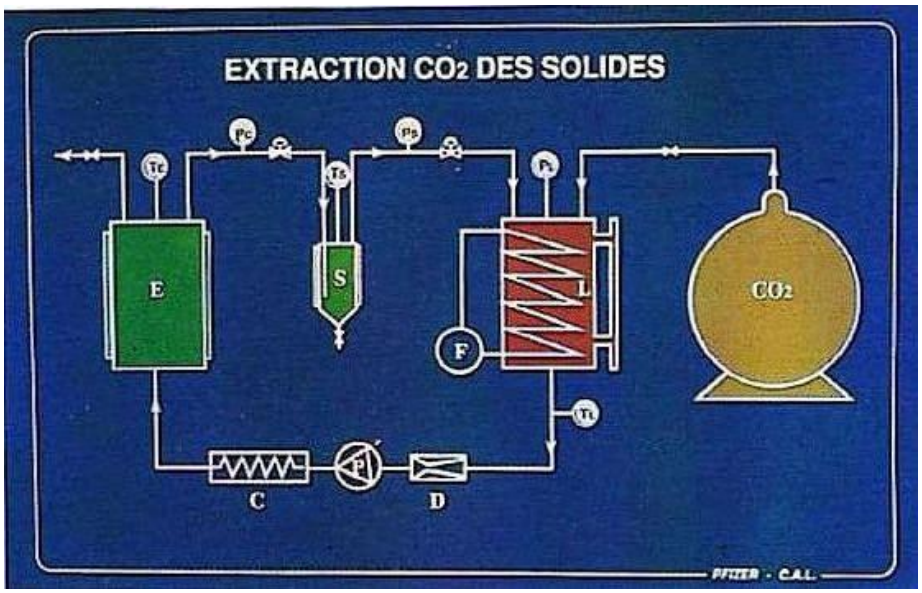


Figure I. 9 : Equipement d'extraction par le CO2 supercritique
E: Extracteur S: Séparateur L: Liquéfacteur P: Pompe
F:Echangeur Froide C: Echangeur Chaud D: Débitmètre [57].

Ce problème a pu être surpassé par l'usage de petites quantités de solvants chimiques pour augmenter la polarité du CO2, par exemple 0.5ml de dichlorométhane (CH2Cl2) peut augmenter l'extraction qui est égale à quatre heurs d'hydrodistillation. Certains avantages de cette technique se résument comme suit [58]:

- Cette technique utilise de faibles quantités de solvants organiques et par conséquent elle est considérée comme «amie» de l'environnement.
- Elle est utile pour les molécules très volatiles du fait qu'elle peut être couplée aux techniques chromatographiques.
- Le recyclage et l'usage à nouveau du fluide supercritique est possible ce qui diminue la génération des déchets.

E) Extraction par Eau Surchauffée

L'eau surchauffée ou subcritique est l'eau liquide au-dessus de sa température d'ébullition (100°C) sous pression. Sous ces conditions l'eau liquide est moins polaire qu'à la température ambiante et possède une capacité croissante à dissoudre les composés organiques, ainsi lui donnant un caractère étendu des solvants organiques polaires. Le terme eau surchauffée est attribué à l'eau liquide sous pression à température comprise entre 100°C et 374°C qui est sa température critique. Pour l'extraction des produits naturels la température ne peut pas être trop élevée à cause de leur thermosensibilité, alors l'intervalle entre 100 et 200°C est le plus utilisé. Les propriétés de l'eau changent lorsque sa température augmente, à cause

de la rupture des liaisons hydrogène et sa constante diélectrique diminue. A température ambiante cette constante est de l'ordre de 80, mais lorsque la température augmente elle chute. à 205°C, la constante diélectrique est égale à 33 comme celle du méthanol à température ambiante. Ainsi, entre 100 et 200°C l'eau surchauffée se comporte comme un mélange eau-méthanol.

La solubilité des composés organiques dans l'eau surchauffée est supérieure à leur solubilité dans l'eau à température ambiante pour deux raisons: la première est le changement dans la constante diélectrique et l'eau devient moins polaire; la seconde est lorsqu'un composé possède une faible solubilité à température ambiante aura une grande enthalpie positive de la solution et par conséquent une augmentation de sa solubilité. Les composées ayant une grande solubilité dans l'eau surchauffée sont généralement polarisables, comme les composés aromatiques, les huiles essentielles ou ceux possédant un caractère polaire [59].

I-4.Caractérisation des plantes médicinales

Il existe plusieurs méthodes de caractérisation des plantes médicinales parmi lesquelles nous citons : l'activité antioxydante, l'activité antibactérienne et la chromatographie sur couche mince CCM.

I-4-1.Activité antioxydante

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité de résister à l'oxydation. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($OH^{\bullet}$) et superoxydes ($O^{\bullet}_2$) **[60]**.

Les antioxydants sont des molécules qui aident le corps à lutter contre les radicaux libres en les neutralisant, afin qu'ils deviennent inoffensifs **[61],** ils peuvent être classés en deux groupes selon le niveau de leur action : les antioxydants primaires et les antioxydants secondaires.

I-4-1.1.Les antioxydants primaires

Ils sont appelés également les antioxydants vrais ou antioxydants radicalaires, sont des molécules (notées AH) capables d'interrompre la chaine auto catalytique de l'oxydation en bloquant les radicaux lipidiques $R^{\bullet}$ et $ROO^{\bullet}$ par transfert d'un atome d'hydrogène pour reformer RH et ROOH. De la même manière, ils peuvent transformer les radicaux $RO^{\bullet}$ en ROH, bloquant ainsi la formation des aldéhydes **[61]**.

I-4-1.2.Les antioxydants secondaires

Ils sont appelés aussi préventifs qui assurent l'inhibition de la production des radicaux libres. Ce sont des molécules exogènes; des substances décomposant les hydro-peroxydes en alcools, des thiols (glutathion, acides aminés soufrés) ou des disulfures, des protecteurs vis-à-vis des UV **[61]**. Contrairement aux enzymes antioxydants, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes **[62]**.

I-4-1.3. Les sources des antioxydants

a- Sources synthétiques

Ils constituent une source importante d'antioxydants. Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les anti-hyper-lipoprotéinémiques, les β-bloquants et autres antihypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés antioxydantes (Figure I.10) **[62]**.

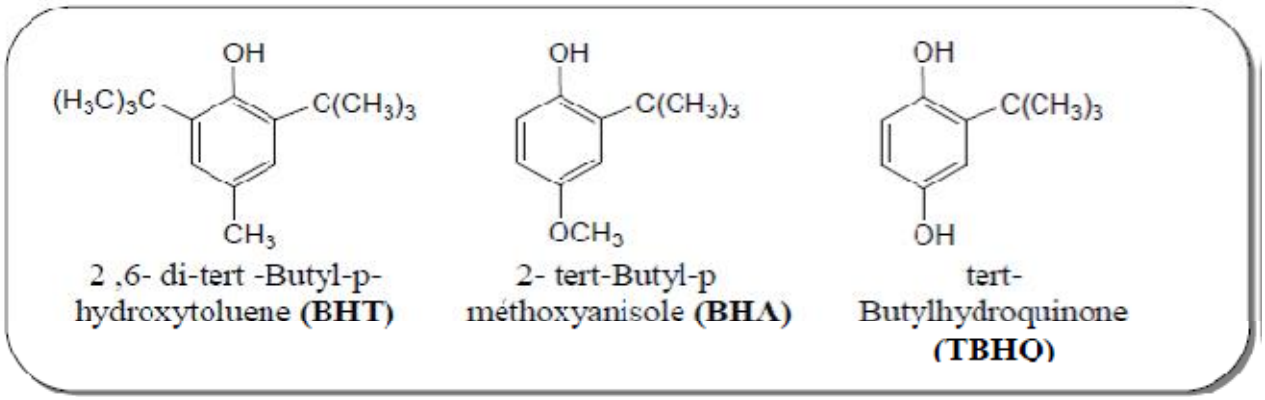


Figure I.10 : Structures chimiques de quelques antioxydants synthétiques.

b-Sources naturelles

Les antioxydants d'origine alimentaire sont nombreux, certains sont liposolubles comme : tocophérols ; β carotène ; lycopène, d'autres sont hydrosolubles comme l'acide ascorbique ; et d'autre sont plus hydrosolubles que liposolubles comme les polyphénols.

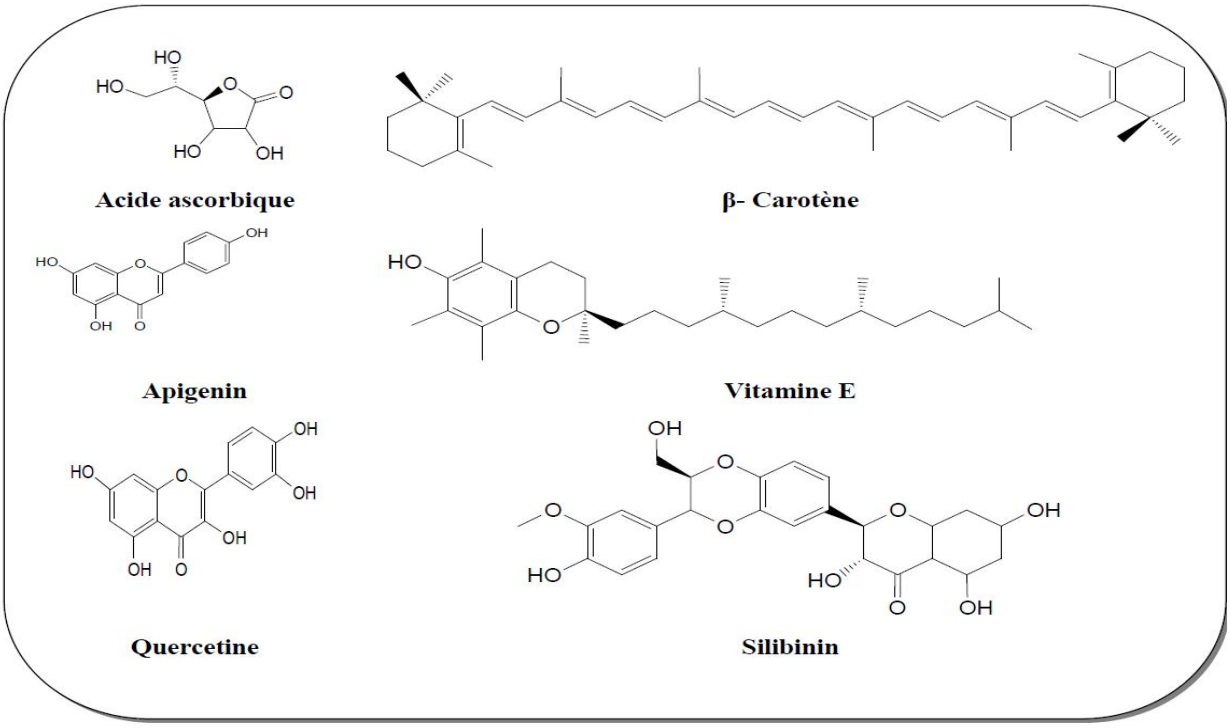


Figure I. 11: Structures chimiques des antioxydants naturels.

I-4-2. Caractérisation biologique: Activité antimicrobienne

a- Introduction

L'organisme humain, constamment exposé à une multitude de microbes, bactéries, virus, parasites, champignons), possède un système complexe de défense qui lui permet de rencontrer ou d'héberger ces microbes sans leur permettre d'envahir ses tissus **[63]**. Cependant, dans certaines conditions, l'infection peut entraîner une maladie infectieuse grave **[64]**.

Les maladies infectieuses causées par les bactéries et les champignons affectent des millions de personnes dans le monde entier, et causent de lourdes pertes au niveau économique. De nombreux programmes ont été conduits pour découvrir et développer de nombreux agents antimicrobiens d'origine biologique **[65]**.

b-La diversité du monde microbien

b-1. Les bactéries

Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires et procaryotes présents dans tous les milieux. La plupart des bactéries possèdent une paroi cellulaire glucidique. Les bactéries les plus grosses mesurent plus de 2 µm et, jusqu'au début du XXIe siècle, les spécialistes considéraient que les plus petites mesuraient 0,2 µm, mais il existe des « ultramicrobactéries », y compris en eau douce **[66]**.

Les bactéries présentent de nombreuses formes: sphériques (coques), allongées ou en bâtonnets (bacilles), des formes plus ou moins spiralées.

Pour distinguer entre les bactéries au microscope optique, une méthode importante et largement utilisée en bactériologie, c'est "la coloration de Gram". Elle consiste à traiter des bactéries fixées à la chaleur, par un colorant basique (violet de gentiane) puis une solution iodo-iodurée (mordançage), toutes les cellules se colorent en violet. Soumises ensuite à l'action de l'alcool éthylique elles se répartissent en : cellules qui conservent la coloration violette dites à **gram positif** et qui sont décolorées, appelées à **gram négatif**. Pour mieux distinguer ces deux catégories, le frottis bactérien est finalement traité par de la fuchsine basique, les bactéries à gram négatif sont roses et celles à gram positif restent violettes **[67]**.

Après leur réaction avec les différents colorants utilisés par cette méthode, les bactéries se divisent en deux groupes majeurs : bactéries à gram positif (colorées en violet), bactéries à gram négatif (colorées en rose). Cette distinction de réponse à la coloration de gram est due à la différence qui existe dans la composition des parois bactériennes, celles des bactéries à gram négatif laissent passer la solution alcoolique, tandis que celles des bactéries à gram positif représentent une véritable barrière que la solution alcoolique ne peut franchir **[67,68]**.

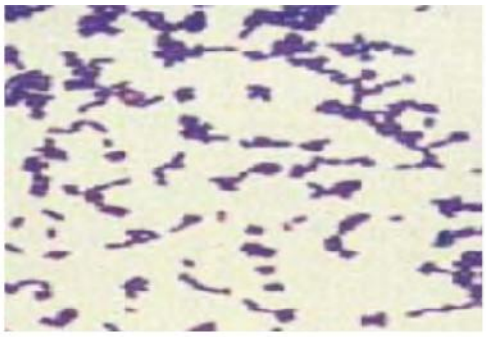


Figure I.12: Gram positif.

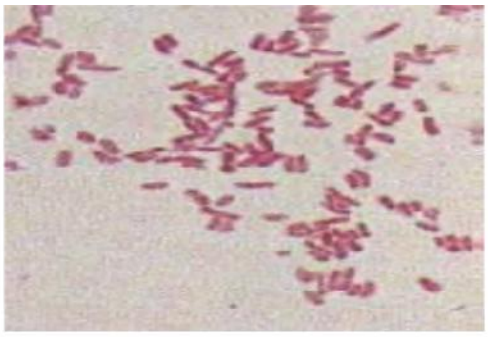


Figure I.13 : Gram négatif.

b-1-1. Bactéries à gram négatif

a-Escherichia coli

Le genre Escherichia fait partie de la famille des entérobactéries et comprend cinq espèces dont une seule, l'Escherichia coli, est utilisée à titre d'indicateur de la qualité des eaux. La presque totalité des souches d' l'Escherichia coli sont pas pathogènes puisque cette bactérie est un hôte normal de l'intestin des mammifères **[69]**. L'Escherichia coli est le seul qui soit sans équivoque toujours d'origine fécale et, à ce titre, il est de plus en plus considéré comme l'organisme indicateur spécifique d'une pollution fécale.

b- Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa, autrement connu sous le nom de bacille pyocyanique, bacille du pus bleu, est une bactérie gram-négative du genre Pseudomonas. Les bacilles sont fins, droits et très mobiles grâce à un flagelle polaire : ciliature monotriche, dépourvus de spores et de capsules. Ils apparaissent la plupart du temps isolés ou en diplobacilles. Elle peut, dans certaines conditions, être pathogène. Très résistante, elle est avec d'autres bactéries à gram négatif de plus en plus souvent responsable d'infections nosocomiales. C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement. Le taux de mortalité atteint 50 % chez les patients vulnérables (immunodéprimés) **[67]**. Est une cause rare mais connue de septicémie néonatale et d'une forme de méningite à évolution grave, provoquant une mortalité de 10 à 80 %. Plusieurs infections ont été mises en rapport avec la consommation d'aliments pour nourrissons.

b-1-2. Bactéries à gram positifs

a-Staphylococcus aureus

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques, qui se divisent sur plusieurs plans pour former des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin, d'où leur nom (en grec staphylos), ils sont immobiles et cultivent sur des milieux contenant 5% de NaCl et pour certains jusqu'à 10 et même 15%. Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs.

Le staphylococcus est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes, de septicémies physiques (greffe, prothèses cardiaques). Staphylococcus aureus se présente comme une coque en amas (grappes de raisin), gram positif et catalase positif. Sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée à l'origine de son nom **[66]**.

b-Enterococcus faecalis

Enterococcusfaecalis est une bactérie commensale à gram positif, habitant dans le tube digestif des humains et d'autres mammifères.

Comme d'autres espèces du genre Enterococcus, E. faecalis peut causer des infections mortelles chez l'homme et le singe, particulièrement dans un environnement hospitalier : le haut niveau de résistance naturelle aux antibiotiques de la bactérie contribue à sa pathogénicité et au risque nosocomial. Elle peut aussi déclencher des inflammations chroniques de l'intestin [68].

I-4-3. Chromatographie sur couche mince CCM :

La chromatographie est une méthode de séparation très utilisé pour la mise en évidence des constituants d'un mélange. Le principe de cette méthode est basé sur la répartition sélective des constituants à séparer entre deux phases, la phase mobile et la phase stationnaire.

La chromatographie sur couche mince repose sur des phénomènes d'adsorption et la répartition des constituants dans ce cas est en fonction :

- de la nature de la phase mobile,
- de la nature de la phase stationnaire,
- des propriétés physico-chimiques des constituants à séparer.

Le tableau ci-dessous illustre les conditions chromatographiques de séparation et de mise en évidence des composés alcaloïdiques sur une phase stationnaire de gel de silice.

Tableau 2: Conditions chromatographiques de séparation des alcaloïdes [11]

Phase mobile
MeOH
MeOH-DCM (5:5)
$CHCl_3$-DEA (9:1)
C-Hex-DEA (9:1)
C-Hex-$CHCl_3$-DEA (5:4:1)
$CHCl_3$-Acétone-DEA (5:4:1)
n-BuOH-eau-Acide formique (7:2:1)
Toluène-AcOEt-DEA (7:2:1)
Toluène-$CHCl_3$-EtOH (28,5:57:14,4)
$CHCl_3$-Dioxane-MeOH-NH_4OH-Acétonitrile (3,5:15:2:1,5:15)

Chapitre II

Matériels et méthodes

II- Matériels et méthodes

II-1.But de l'étude

Ce travail de recherche a été réalisé au laboratoire de biologie de l'université de Médéa. Son objectif est l'étude de quelques propriétés chimiques et biologiques d'extraits de plantes « *Gingembre, Ephédra alata* (du Sahara Algérien), *Ephédra Transitoria (* العلندى الانتقالية *)* (de Jordanie) et d'effectuer une comparaison entre leurs effets antibactériens et antioxydants ainsi que leurs composition en elements chimiques. Malheureusement, l'analyse antioxydante n'a pas été réalisée car le travail a été interrompu à cause de la situation du pays avec cette maladie grave. Seul l'effet antibactérien ainsi qu'une analyse par CCM et IR sont réalisés.

Notre travail a consisté, dans un premier temps, à l'extraction des constituants des plantes: *Gingembre, Ephédra alata* et *Ephédra Transitoria* par macération et décoction; ensuite à effectuer leurs analyses par différentes méthodes de caractérisation. Une partie de cette caractérisation a été réalisée aux laboratoires physico-chimique et microbiologique du groupe SAIDAL de Médéa.

II-2.Le matériel végétal

L'*Ephédra Transitoria* à été acheté à Amman la capitale de la Jordanie et l'*Ephédra alata* du Sahara Algérien a été acheté à Alger ainsi que le *Gingembre* (originaire d'Asie).

L'éphédra est choisi dans cette étude essentiellement pour son effet anticancer, des gens, au moyen orient, sont guérit avec cette plante. Ils l'ont utilisé en faisant bouillir 400g de cette plante dans 8 litres d'eau pendant 2 heures à petit feu. Après filtration, ils gardent le filtrat dans le réfrigérateur et prennent une dose de 2litres par jour pendant quelques mois.
Parmi les cas qui ont été guéris grâce à Dieu: Leucémie (سرطان الدم), cancer de la vessie, cancer de la prostate et cancer du foie

Le gingembre est également utilisé pour son effet thérapeutique essentiellement antidiabète [8,27] vu ces caractéristiques antioxydantes. Des études ont montré que le gingembre possède également des effets contre le cancer de la prostate [34] et du colon [35]. Une consommation régulière du gingembre permet de protéger la personne contre ces maladies graves.

II-3. Matériels et produits utilisés

Matériels	Produits
- Bécher - Erlenmeyer - Balance - Agitateur magnétique - Etuve - Rotavapeur - Burette - Spectrophotomètre IR - Papier filtre - Boites à pétrie - Tubes à essais - Entonnoir - Pipette graduée - Flacons en verre	- Gingembre - Ephédra Algérie - Ephédra Jordanie - Eau distillé - Ethanol, - Acide gallique - Souches bactériennes - Bromure de potassium (KBr) - Réactif dragendorff - Ammoniaque-

II-4. Procédés d'extraction

L'extraction par solvant est réalisée selon le travail d'Aswan et al [5] par macération à l'éthanol et décoction, avec quelques modifications, comme suit:

a- Extraction par macération à l'éthanol

On fait piler dans un mortier 30 g de plante (*Gingembre, Ephédra alata, Ephédra Transitoria*) à l'aide du pilon (Figure II.1 B). On Introduit la poudre obtenue dans 200 ml d'éthanol, à température ambiante pendant 24h sous agitation magnétique (Figure II.1 C). Après filtration (Figure II.1 D), on garde le filtrat et on ajoute 200ml d'éthanol au résidu sous agitation magnétique pendant 24 h.

Ensuite, On rassemble les deux filtrats et on fait concentrer le mélange en évaporant le solvant à l'aide du rotavapeur à température comprise entre 40 à 45 °C (Figure II.1 E).

Enfin, on fait sécher l'extrait obtenu à l'étuve à 40°C (Figure II.1 G) et on pèse l'extrait sec (Figure II.1. H) pour déterminer le rendement.

b- Extraction par décoction :

On prend 20g de la poudre végétale on leur ajoute 400 ml d'eau bouillante, on laisse le mélange 20 min sous agitation magnétique à 60 °C. La température de chauffage ne doit pas atteindre l'ébullition pour éviter la perte les huiles essentielles de la plante qui sont volatiles, Puis on fait filtrer et après filtration on fait concentrer le filtrat avec le rotavapeur (Tp 65°C à

68 °C), puis on fait sécher l'extrait aqueux obtenu à l'étuve à 40°C. La température de séchage ne doit pas dépasser 45 °C pour éviter la dégradation des constituants de la plante.

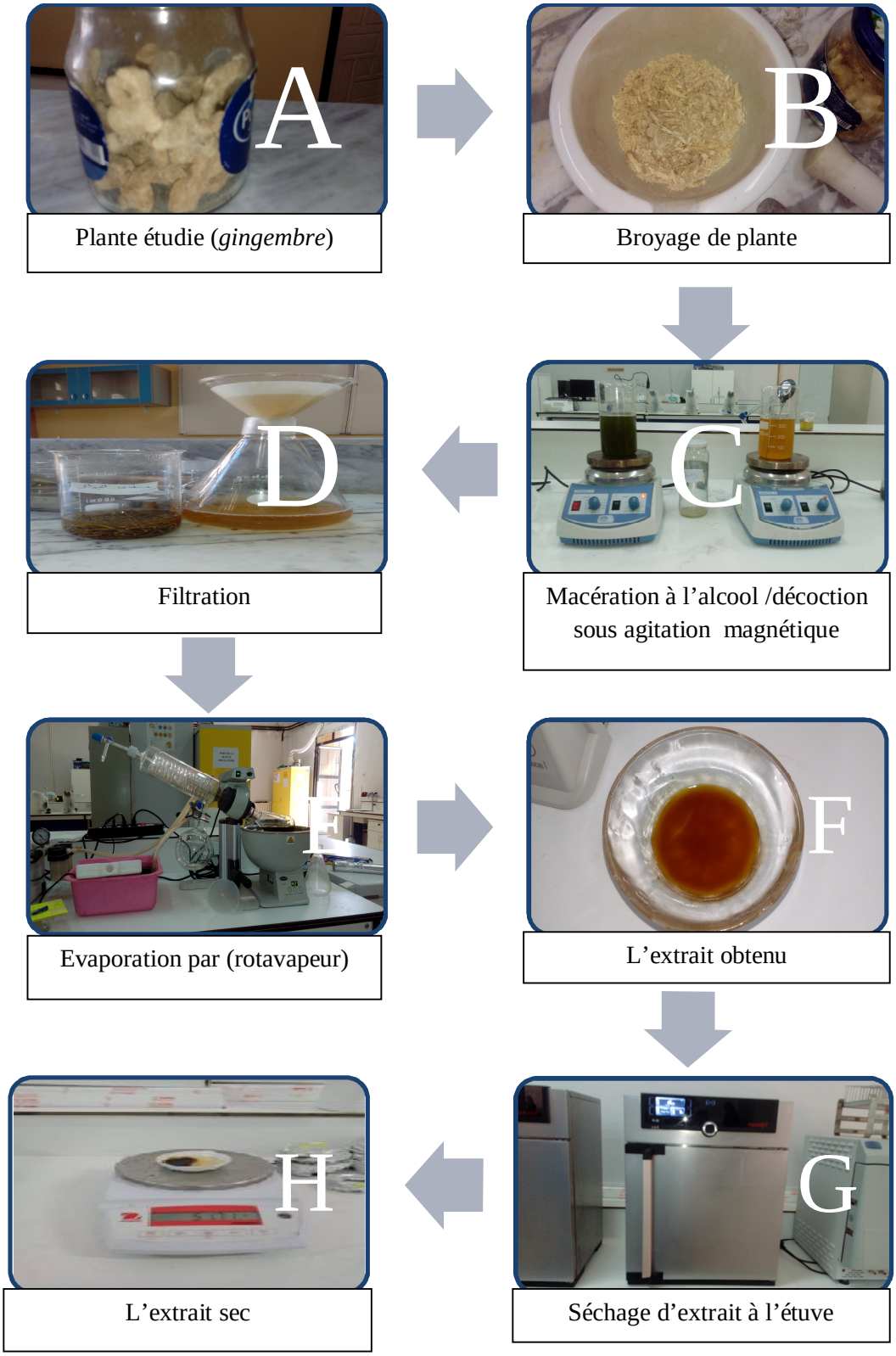


Figure II.1 : Etapes photographiques de l'extraction réalisée au laboratoire de biologie de la faculté des Sciences de l'université de Médéa.

II-5. Caractérisation

II-5-1. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement, est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue par macération ou décoction (Me) et la masse de la matière végétale utilisée (Mv). Il est donné par la formule suivante:

$$R\% = (Me / Mv) * 100$$

R%: Rendement en %.

Me : Masse l'extrait sec

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction.

II-5-2. Analyse infrarouge à transformée de Fourier FTIR

Les spectres infrarouges ont été obtenus grâce à un spectrophotomètre FTIR- 8400 de marque SHIMADZU , à partir de pastilles de KBr anhydre renfermant environ 1 % en masse de poudres d'échantillons constituées de poudre de *Gingembre, Ephédra* d'Algérie, *Ephédra de* Jordanie.

Dans un premier temps on effectue la préparation de l'échantillon en pastille. L'échantillon en poudre est incorporé à un support qui n'absorbe pas dans l'IR moyen, C'est le bromure de potassium KBr.

Un mélange homogène à l'état 1% de poudre / poudre KBr est préparé puis déposé dans un moule qui est soumis à une très forte pression dans une presse hydraulique (Figure II.2). Il est ensuite extrait du moule sous forme d'une pastille.



Figure II.2: Presse hydraulique de laboratoire Physico-chimique du groupe SAIDL de Médéa

La pastille est placée dans le compartiment de mesure du spectre. Le signal enregistré par le détecteur donne le spectre IR de l'échantillon.



Figure II. 3: Spectrophotomètre FTIR du groupe SAIDL de Médéa

II-6. Activité antibactérienne

- Mode opératoire

a) Préparation de l'inoculum

- Réaliser une suspension bactérienne à partir de culture jeune de bactéries (18-24h), prélever quelques colonies isolées et incorporer dans 5 ml d'eau physiologique.
- Agiter et homogénéiser la suspension manuellement.
- 4 tubes correspondant aux 4 souches utilisées ont été préparés
- Mesurer la densité des suspensions bactériennes à l'aide de densitomètre (0.5 Mac Farland) pour chaque suspension.
- Incubé les suspensions bactériennes dans l'étuve à 37°C pendant 20 à 25 mn.

b) Préparation des milieux de culture

- Liquéfier les milieux de culture gélosés dans un bain marie à 95°C et garder la surfusion dans une étuve à 45°C.
- Sous hotte à flux laminaire, verser aseptiquement les milieux de culture gélosés sur les boites de pétrie en raison d'épaisseur 4mm de boite pétrie.
- Laisser refroidir et solidifier à température ambiante et conserver dans des conditions évitant toute modification de leur composition.

c) Ensemencement

- Imbiber aseptiquement un écouvillon avec la suspension bactérienne.

- Essorer l'écouvillon en pressant fermement et entourant sur la paroi interne du tube, afin de décharger du surplus de suspension.
- Ensemencer aseptiquement une boite de Pétrie en frottant délicatement l'écouvillon sur la surface de la gélose en stries serrées, répéter l'opération trois fois, en entourant la boite à 60°C de façon à croiser les stries, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

d) Dépôt des disques

- Prélever aseptiquement un disque stérile de 9 mm avec une pince stérile.
- Mettre en contacte le bout de disque avec huile essentielle pure, qui va être absorbée par le disque par capillarité.
- Déposer le disque ainsi imbibé d'huile essentielle à la surface de la gélose, au centre de boite de Pétrie.
- Incuber les boites à 37°C durant 24 h.

e) Lecture

- Observer l'absence ou la présence de la zone claire autour des disques.
- Mesurer avec précision le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition. Ils ont classé les diamètres des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne en 5 classes:

- Très fortement inhibitrice : D ≥30 mm.
- Fortement inhibitrice : 21 mm ≤ D ≤ 29 mm.
- Modérément inhibitrice : 16 mm ≤ D ≤ 20 mm.
- Légèrement inhibitrice : 11mm ≤ D ≤16 mm.
- Non inhibitrice: D < 10 mm.

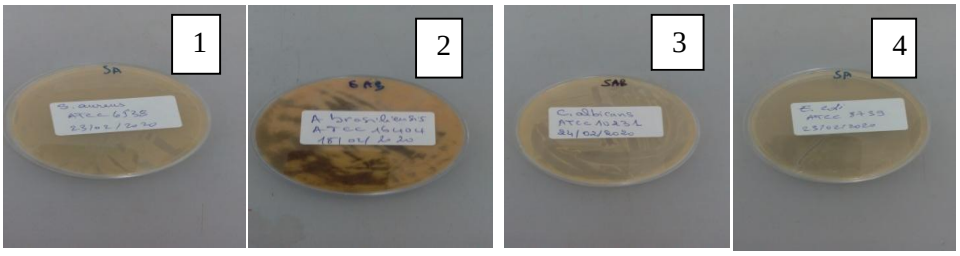


Figure II.4 : boites à pétries contenants les souches bactériennes

1 : Staphylococcus aureus , 2 : Aspergillus brasiliensis

3 : Candida albicans , 4 : Escherichia coli

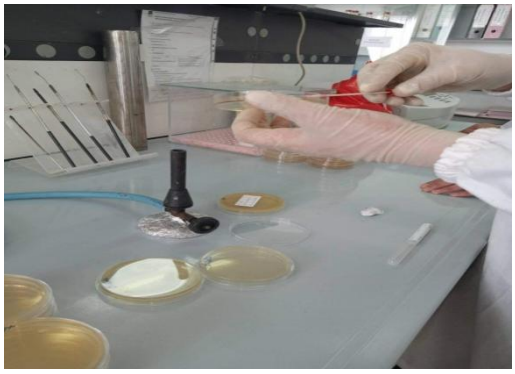


Figure II.5 : Ensemencement des boites par la suspension bactérienne



Figure II.6 : Les milieux spécifiques des souches bactériennes

II-7.Chromatographie sur couche mince (CCM)

En dépit du développement des techniques d'analyse plus fines et plus sensibles, cette méthode demeure une technique de routine largement utilisée dans les laboratoires vu son faible coût de revient. La simplicité de sa réalisation, la valeur des informations apportées ainsi que son utilisation aussi bien à l'échelle analytique qu'à l'échelle préparatoire sont des facteurs qui la rendent très intéressante. Il s'agit d'une méthode physique de séparation, dans laquelle les composés à séparer sont distribués différemment, selon leurs caractéristiques particulières entre deux phases, l'une stationnaire et l'autre mobile. Cette dernière se déplace à travers la première phase dans une direction définie.

Dans ce travail, la CCM est utilisée pour la séparation et la mise en évidence des composés phénoliques et alcaloïdiques présents dans les extraits obtenus afin de vérifier s'il ya une différence d'efficacité entre les différentes méthodes d'extraction.

II-7.1.préparation de phase mobile

Phase mobile	100ml du toluene
Préparation de l'échantillon	10mg d'extrait + 1ml du chloroforme
Révélateur de la plaque de CCM	Vapeur d'ammoniaque et réactif dragendroff

II-7-2. Conditions de travail

Les analyses sont effectuées avec des plaques de silice déposées sur des feuilles d'aluminium, ce qui constitue la phase stationnaire. 10µl de chaque extrait sont déposés à 1cm du bord inférieur de la plaque sous forme des traits.

Après séchage, la plaque est émergée dans une cuve en verre préalablement saturée par la phase mobile.

Après développement, les plaques CCM doivent être séchées, observées à l'œil nu, sous lampe UV 254 nm.

La révélation des polyphénols se fait par le passage de la plaque sur les vapeurs d'ammoniaque, tandis que pour les alcaloïdes le réactif dragendroff soit vaporisé afin d'avoir des taches orangées indiquant leurs présence.

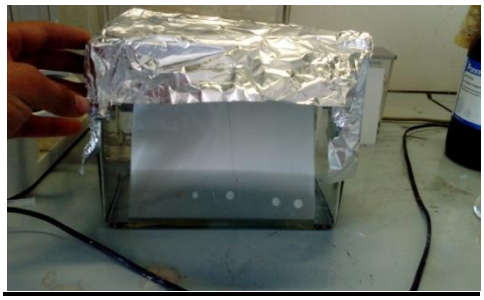


Figure II.7: La plaque émergée dans une cuve en verre préalablement saturée par la phase mobile (Groupe SAIDL de Médéa)

Chapitre III

Résultats et interprétations

CHAPITRE III : RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS

A- RENDEMENT DE L'EXTRACTION

Le rendement de l'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction ainsi que de sa polarité. Les rendements enregistrés avec les différents extraits varient entre 2,8 % et 11,05 % (Tableau 3).

Tableau 3: Résultats des rendements d'extraction

Expériences	Solvant d'extraction	Volume total du solvant d'extraction (en ml)	Matière végétale	Masse de la matière végétale (en g)	Masse de l'extrait (en g)	Rendement en %
1	Ethanol	400	*Ephedra Jordanie*	30	0.84	2.8
2	Ethanol	400	*Ephedra Algérie*	30	1.62	5.4
3	Ethanol	400	*Gingembre*	30	0.96	3.2
4	**Eau**	400	*Ephedra Jordanie*	20	1.05	5.25
5	**Eau**	400	*Ephedra Algérie*	20	2.21	11.05
6	**Eau**	400	*Gingembre*	20	1.91	9.55

Le rendement d'extraction dépend du mode d'extraction ainsi que la nature de la plante étudiée. L'extraction par décoction a donné des rendements plus élevés par rapport à la macération à l'éthanol et cela pour les trois plantes étudiées (Figure III.1); le rendement est compris entre 5,25 % et 11,05% pour l'extraction par décoction. Cela est peut être dû à la température élevée de l'eau chaude qui peut favoriser l'extraction de plusieurs substances.

Ce résultat est en accord avec le travail de Achour et Keddar sur le *gingembre* [10] qui trouvent un rendement de 33 % pour la décoction et 14% pour la macération. LEHOUT et LAIB [71] trouvent un rendement de 13.3 % par macération avec un mélange méthanol/eau (70/30) (v/v) et 21% par décoction.

Nos résultats sont plus faibles par rapport à leurs valeurs vu le temps d'extraction qui était plus court (macération 2 fois) en comparaison à leur mode opératoire dans lequel ils ont effectué l'extraction trois fois.

Kebili [11] qui a travaillé sur l'*Ephédra alata* a trouvé un rendement de 3,24% (partie souterraine de la plante) et 16,21 % (partie aération) en utilisant la macération au méthanol. Alors que son résultat, toujours sur l'*éphédra*, en utilisant l'acétate d'éthyle comme solvant d'extraction est de 1,02% ; ce résultat montre l'influence de la nature du solvant d'extraction sur le rendement.

Il apparait clairement que le rendement augmente avec la polarité des solvants.

Le travail de Amari [70] sur le gingembre a donné un rendement de 5,37 % en utilisant la macération avec un mélange Ethanol/Eau à 70/30 (v/v) alors qu'avec le chloroforme le rendement est de 2,29 %. Ce résultat montre que les rendements des extractions par des solvants polaires, sont plus importants par rapport aux solvants moins polaires.

Le choix d'un solvant pour l'extraction de la matière végétale, doit répondre à un certains nombres de critères dont la faible toxicité et la facilité de l'évaporation à basse température. Le méthanol est recommandé, et est fréquemment employé pour l'extraction des composés phénoliques. En plus, le méthanol/ eau est deux fois plus efficace que le méthanol pur pour l'extraction des composés phénoliques [70].

Les solvants de polarité faible sont de bons solvants pour l'extraction des composés actifs biologiques non polaires [70].

On constate que la méthode d'extraction, la température, le temps d'extraction, la quantité ainsi que la nature du solvant d'extraction jouent un rôle primordial sur le rendement

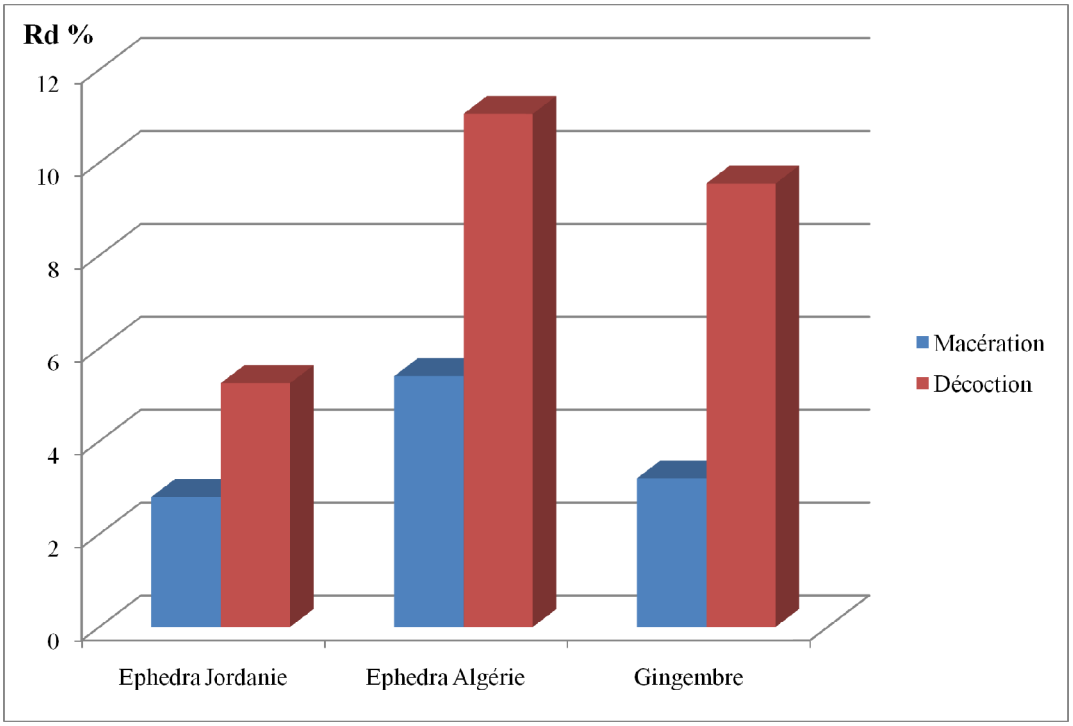


Figure III.1 Résultats des rendements d'extraction

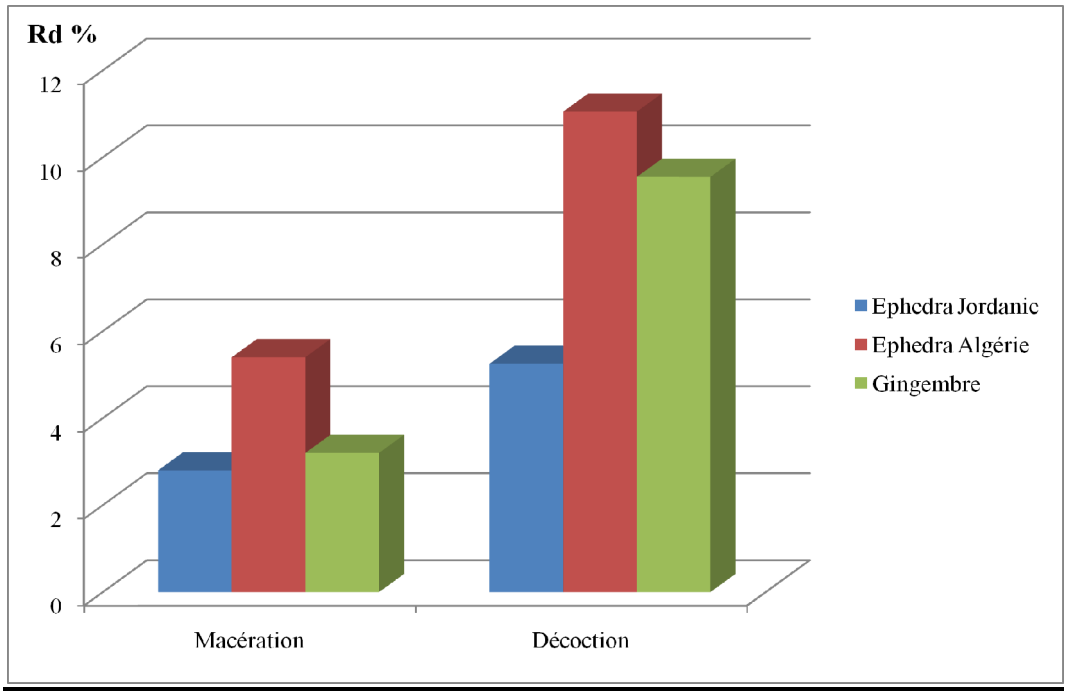
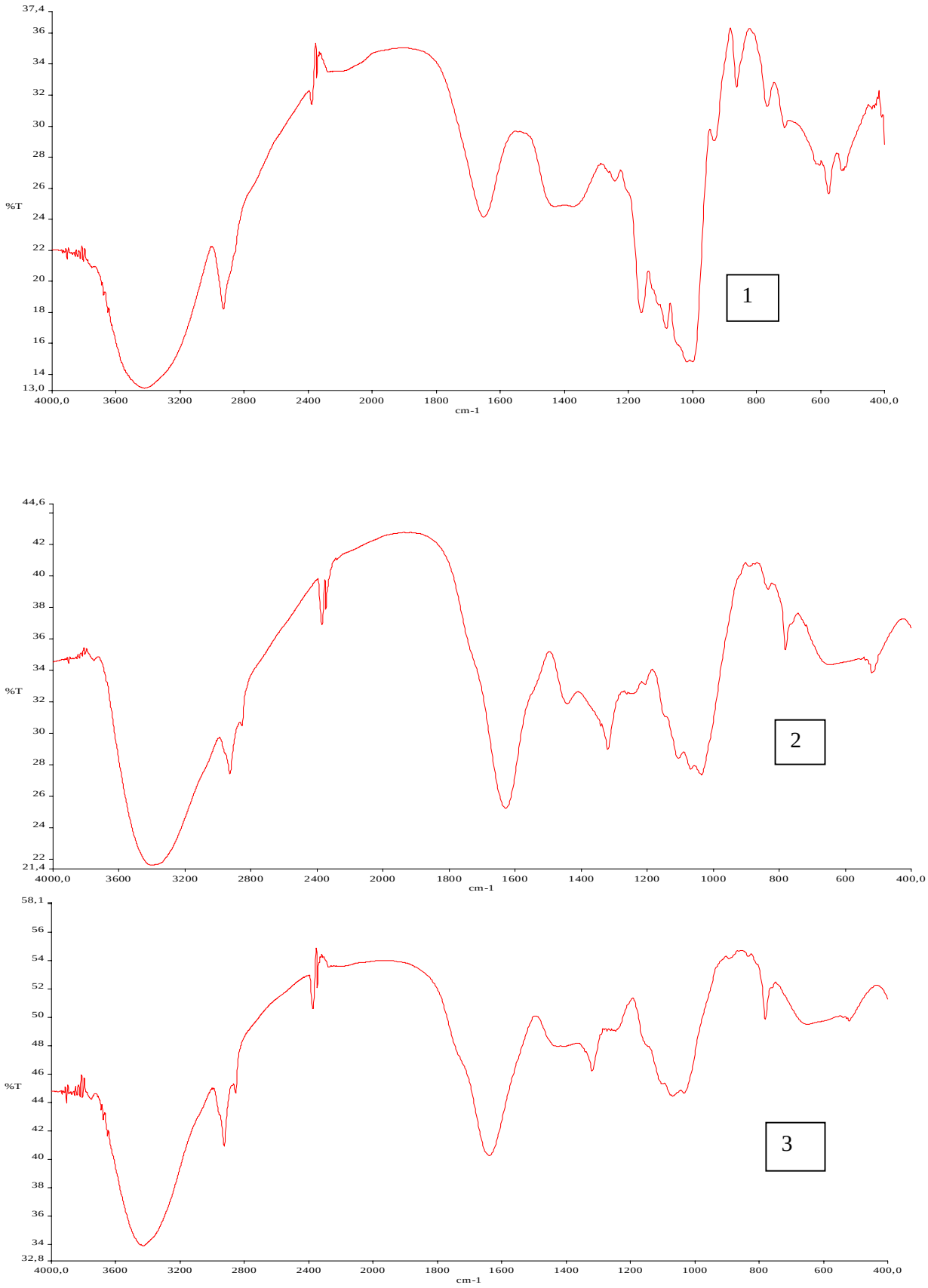


Figure III.2 Résultats des rendements par macération et décoction

B- ANALYSE INFRAROUGE

Les spectres infrarouges ont été obtenus grâce à un spectrophotomètre FTIR de marque Shimadzu 8400, sur des pastilles de KBr anhydre renfermant environ 1 % en masse de poudre de différentes plantes.

Les spectres FTIR correspondants aux poudres des trois plantes avant extraction sont représentés sur la figure suivante.



Figures III.3: Spectres infrarouge des trois plantes étudiées avant extraction :

1- *Gingembre* 2- *Ephedra alata* 3- *Ephedra Transitoria*

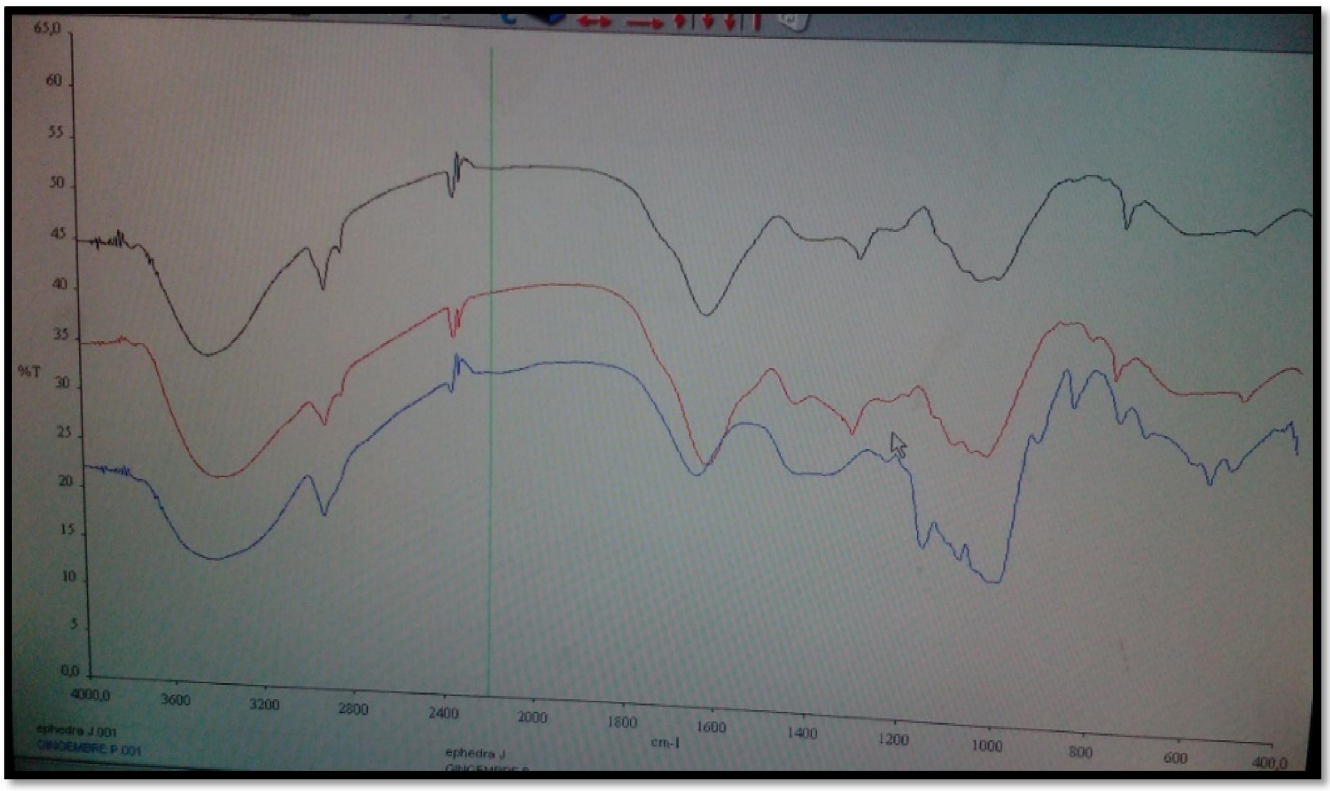


Figure III.4: Les trois spectres superposes (en noir : *Ephedra transitoria* , en rouge *Ephedra alata*, en bleu: *Gingembre*)

Concernant les extraits obtenus, seul celui de *l'éphédra alata* qui a été analysé (Figure III.5)

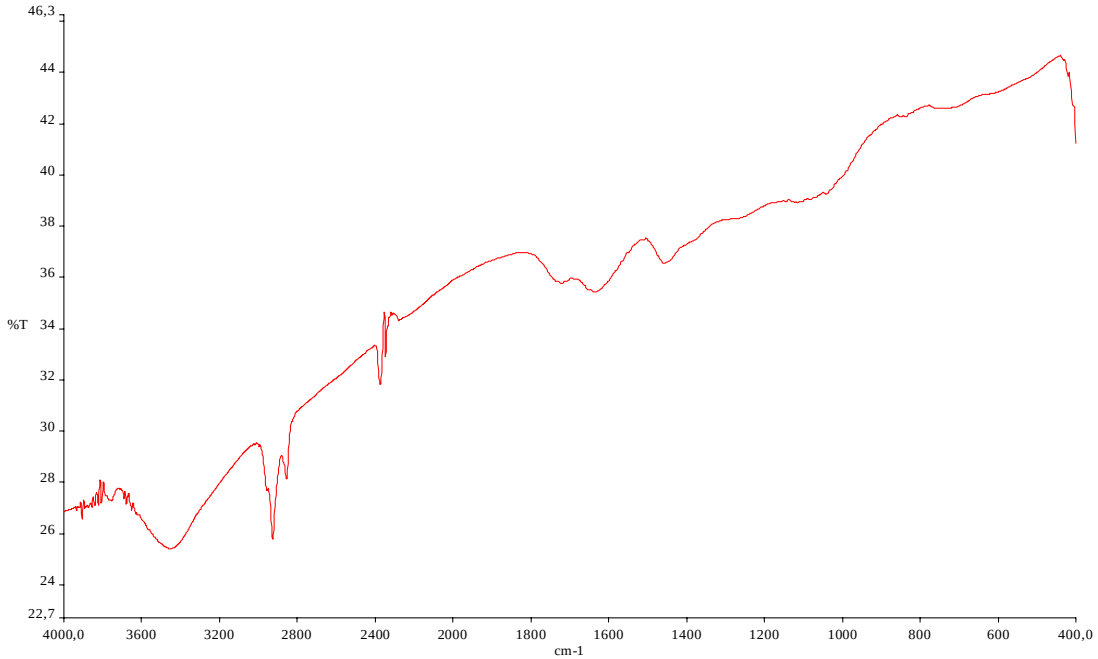


Figure III.5: Spectre IR de l'extrait d'*Ephédra alata* obtenu par macération à l'éthanol

La région infrarouge plus utile pour le type d'études que nous réalisons est comprise entre 4000 et 400 cm^{-1}. Chaque bande est caractérisée par sa fréquence, sa largeur et sa forme générale. La fréquence, ou la longueur d'onde d'absorption dépend des masses relatives des atomes, de la constante de force des liaisons et de la géométrie des atomes. La largeur de la bande est proportionnelle entre autres à la vitesse de mouvement de la molécule. Les spectres obtenus sont caractéristiques des composants présents dans l'échantillon. Ils nous fournissent de l'information sur la structure chimique et sur la conformation et la dynamique de l'échantillon étudié.

Les deux specters d'*éphedra alata et d"éphedra transitoria* sont superposable (Figure III.3) vu que ces deux plantes contiènnent plusieurs principles actifs en commun. La seule difference peut être le pourcentage en differents elements chimiques. L'effet antibactérien et antioxydant est fonction de la quantité en polyphénol, flavonoides et alcaloides.

En comparant le spectre de l'extrait éthanolique de l'*éhedra alata* (Figure III.5) à celui de la poudre de plante de l'*ephedra alata* avant extraction (Spectre 2 de la Figure III.3), il apparait que le spectre de la figure III. 5 possède plusieurs pics d'absorption semblables, mais qui sont moins intense, que celui du spectre 2 de la figure III.3. Il vient que la caractérisation par spectroscopie IR a montre bien la présence des bandes caractéristiques de quelques fonctions qui existent au sein de *l'éphédra alata* et de ces principes actifs essentiellement l'éphédrine qui est un alcaloide. *L'éphedra* est connu en médicine en raison de l'éphedrine qu'elle contient [1]. Ce principe actif existe sous quatres stéréoisomères d'éphédrine et de pseudoephedrine. La pseudoephedrine est un diastéréoisomère de l'éphédrine (Figure III.6).

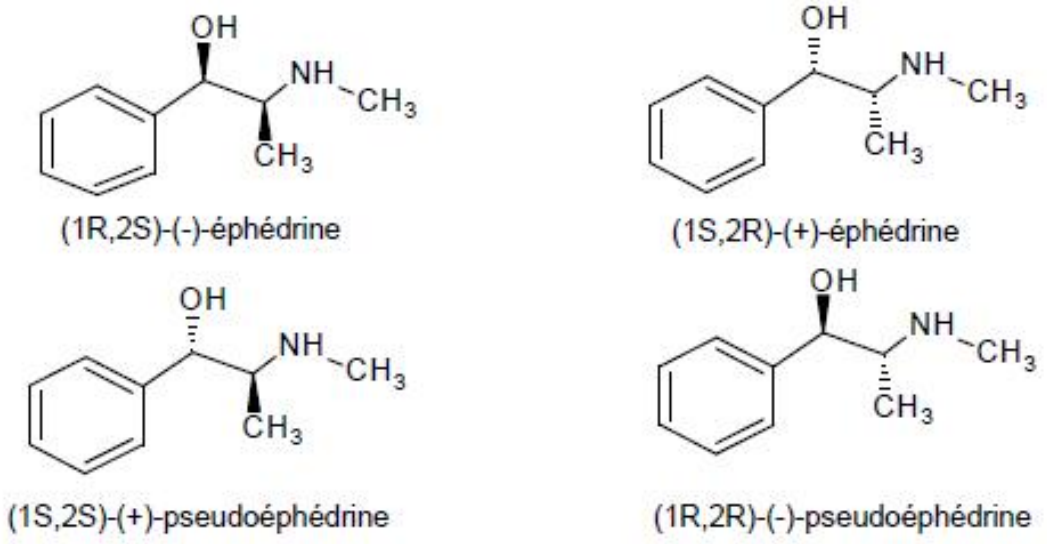


Figure III.6: Les énantiomères de l´éphédrine et de la pseudoéphédrine [72]

L'analyse par IR permet une etude qualitative. Pour évaluer la composition chimique de nos extraits, il nous faut une analyse quantitative comme la chromatographie.

C- ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE ET ANTIFONGIQUE

Il s'agit de déterminer le diamètre d'inhibition et la concentration minimale inhibitrice (CMI). La plus faible concentration se traduit par l'inhibition de la croissance visible des bactéries en utilisant la méthode de disque.

- **Etude de l'effet antimicrobien par la méthode de disque**

La méthode de disque a permis de déterminer l'action de nos extraits sur les différentes souches. Celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des échantillons explique les variations de leurs compositions chimiques

L'évaluation de l'activité antimicrobienne permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) à partir d'une gamme de concentrations des différents extraits en mesurant les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne autour des disques. Ces derniers représentent l'activité antimicrobienne maximale. Nous illustrons ces résultats sur la figures III.7 et III.8.

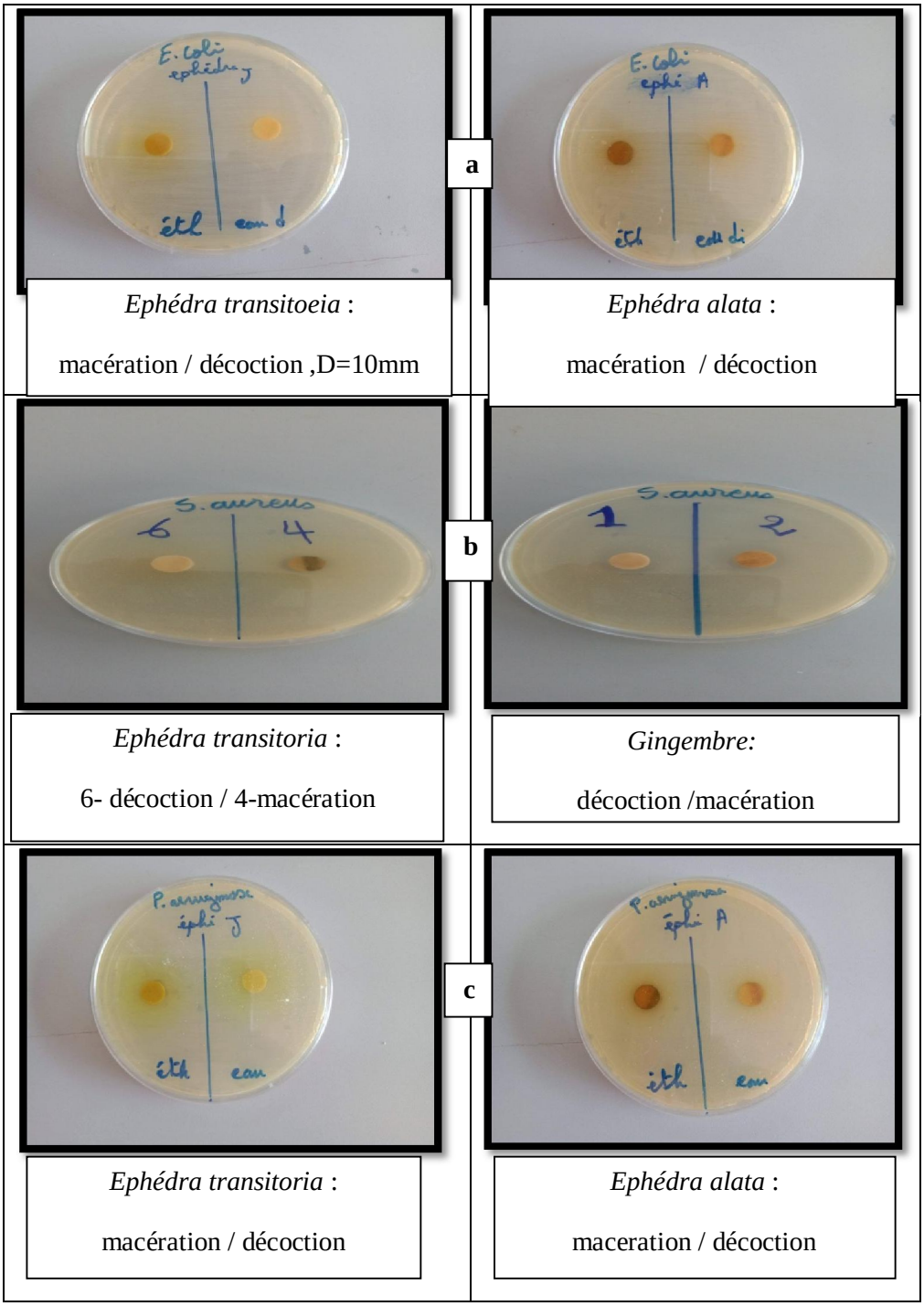


Figure III. 7 : Zones d'inhibtion obtenues par l'action de l'extrait sec des plantes (*Gingembre*, *Ephédra alata* , *Ephedra transitoria*) sur les souches testées à méme pourcentages .

a- Escherichia coli , **b**- Staphylococcuse aureus , **c**-Pseudomonas aeruginosa



Gingembre :

macération / décoction

d



Ephédra transitoria:



Ephédra alata : macération / décoction

e



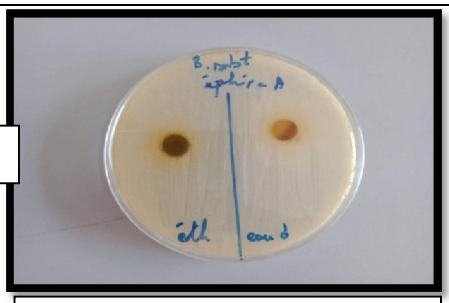
Gingembre : macération / décoction



Ephedra transitoria :

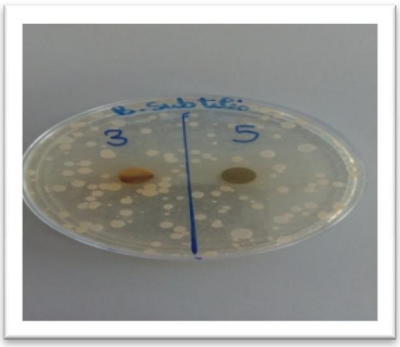
macération / décoction

f



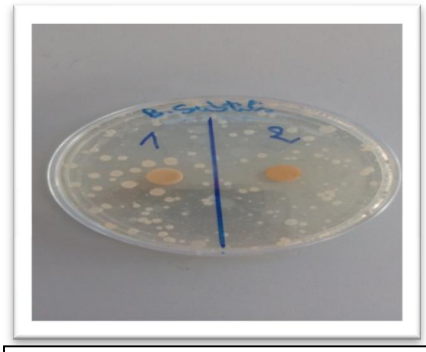
Ephedra alata :

macération/ décoction



Bacillus subtilis :

Ephedra alata (3- décoction , 5- macération)



Bacillus subtilis :

Gingembre (1- décoction , 2- macération)

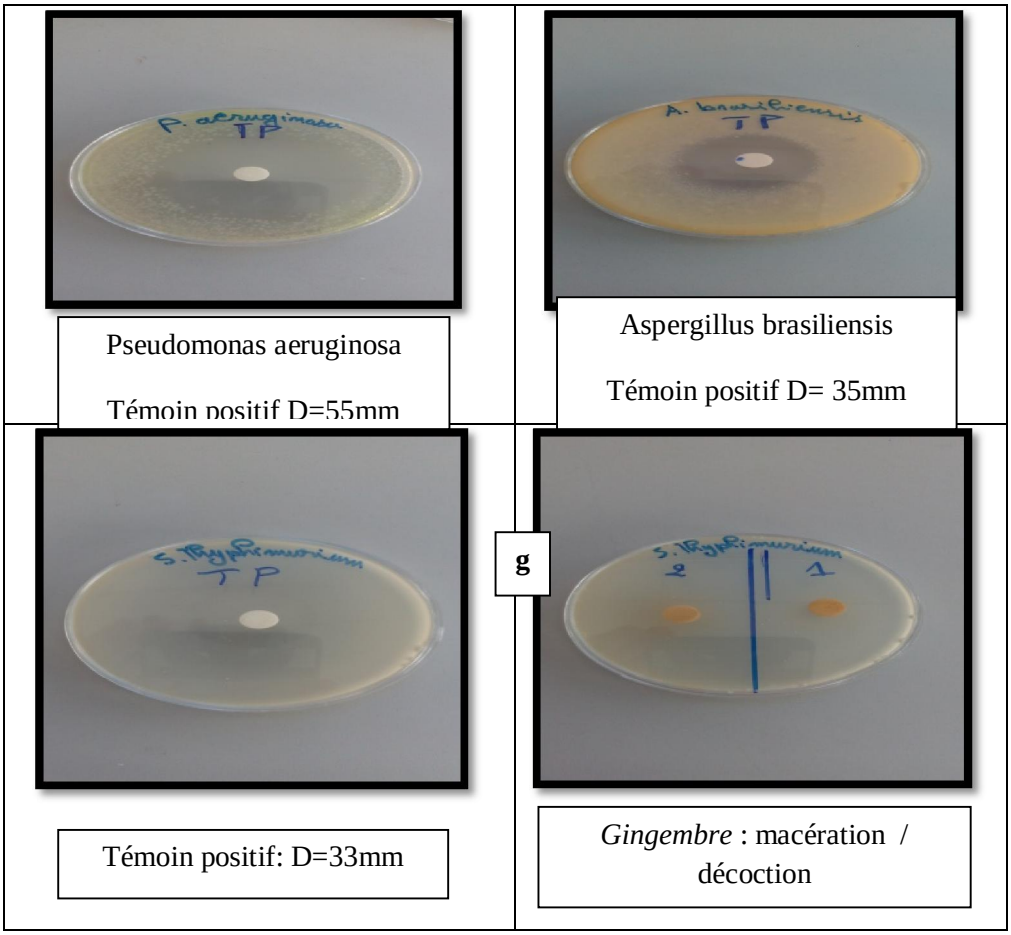


Figure III. 8 : Zones d'inhibtion obtenues par l'action de l'extrait sec des plantes (*Gingembre, Ephédra alata , Ephedra transitoria*) sur les souches testées à méme pourcentages .
d-Candida albicans , **e**- Saccharomyces cerevisiae, **f**-bacillus subtilis , **g**- salmonella typhimurium

Tableau 4 : Valeurs des diamètres d'inhibition des souches bactériennes utilisées en (mm)

Souche	Milieux de culture	Extrait de ***gingembre*** maceration	Extrait ***d'Ephedra transitoia*** macération	Extrait d'*Ephedra alata* macération	Extrait de ***gingembre*** **decoction**	Extrait ***d'Ephedra transitoria*** **décoction**	Extrait ***d'Ephedra Alata*** **decoction**	Temoin Positif
Staphylococcus aureus	Soja agar	**15**	**12**	**11**	**13**	**10**	**10**	**N.I**
Pseudomonas aeruginosa	Cetrimi de agar	**10**	**10**	**12**	**11**	**10**	**12**	**55**
Escherichia Coli	Soja agar	**N.I**	**N.I**	**N.I**	**N.I**	**10**	**N.I**	**N.I**
Salmonella Typhimurium	/	**N.I**	**N.I**	**N.I**	**N.I**	**N.I**	**N.I**	**33**
Saccharomyces Cerevisiae	/	**N.I**	**N.I**	**N.I**	**N.I**	**N.I**	**N.I**	**26**
Aspergillus Brasiliensis	/	**NP**	**NP**	**NP**	**NP**	**NP**	**NP**	**35**
Candida Albicans	/	**N.I**	**N.I**	**N.I**	**N.I**	**N.I**	**N.I**	**23**

N.I :Non inhibition **NP** : n'est pas mesuré (**Bactérie en gras: des champignons)**

Nos échantillons possèdent une activité antibactérienne sur les souches: Staphylococcus aureus et Pseudomonas aeruginosa mais pas d'activité antifongique sur les souches : Saccharomyces cerevisiae et Candida Albicans tandis que le diamètre d'inhibition de nos extraits sur l'Aspergillus brasiliensis n'est pas déterminé à cause du temps très court qui a été donné pour ce travail de recherche vu la situation du pays.

Les extraits d'*E alata* et *E tansitoria* possèdent une activité antifongique sur Aspergillus brasiliensis cela est bien illustré sur la figure III.9. Ces images montrent que les extraits obtenus par décoction ont donné des diamètres d'inhibition plus importants que la macération à l'éthanol. Peut être les principles actifs de ces plantes, qui possèent un effet antifongiques sur ce type de champignons, ne se trouve pas dans la fraction volatile.



Aspergillus brasiliensis : *Ephédra transitoria* (4- macération à l'éthanol, 6- décoction)	**Aspergillus brasiliensis :** *Ephédra alata* (3- décoction , 5- macération à l' éthanol)

Figure III.9 : Zones d'inhibition obtenues par l'action de l'extrait sec des plantes (*Ephédra* alata, *Ephédra* transitoria) sur les souches bactériennes (Le diamètre d'inhibition n'est pas mesuré)

l'Ephédra transitoria possède un effet antibactérien sur l'Escherichia Coli (Figure III .10). Cet effet est peut être attribué à la présence de la transtorine, qui est un alcaloide de quinoléine (acide 4-quinolone-2-carboxylique), dans *l'éphédra transitoria*, qui possède une forte action inhibitrice contre l'E coli ainsi que d'autres types de bactéries [73].
Les autres plantes n'en possèdent pas d'effet inhibiteur contre l'E coli. Peut être la concentration d'extraits utilisée pour le *gingembre* et l'*E alata* n'est pas assez suffisante pour inhiber cette bactérie.

Dans Le travail de Missoun et al **[3]** sur le *gingembre*, extrait par macération à l'éthanol, l'étude a montré un effet antibactérien sur l'Escherichia Coli mais pour des concentrations supérieures à 50mg/ml. Pas d'inhibition pour une concentration de 25mg/ml. Le diamètre d'inhibition augmente en fonction de la concentration, il passe de 15,33 mm pour une concentration de 50mg/ml à 23mm pour une concentration de 100mg/ml..
Daprès le travail de Kebili [11] sur l'extrait d'*éphédra alata*, obtenu par macération avec différents solvants, cette plante possède un effet antibactérien sur plusieurs types de bactéries parmi lesquelles l'Escherichia coli mais avec de faibles diamètres d'inhibition.

Concernant les autres bactéries, il apparait clairement sur la figure III.11 que l'éffet antibactérien des extraits obtenus par maceration est plus prononcé en comparaison à ceux obtenus par decoction, cela est peut être dù à une perte de la fraction volatile des plantes qui représentent les huiles essentielles et qui peuvent contenir des elements importants

antibactérien et antioxydants. Nous avons diminuer la temperature de chauffage (60°C) pour éviter la perte des huiles essentielles, mais finalement on ne peut pas juger qu'il n'y avait aucune perte de cette fraction.

Ce résultat est en accord avec la literature [3, 6]. L'effet antibactérien est influencé par la méthode d'extraction comme c'est montré dans le travail de Mohamed Ibrahim et al [6] sur le *gingembre* qui a obtenu des diamètres d'inhibition plus importants pour la macération à l'éthanol en comparaison à la décoction et à l'extraction par l'eau froide et cela pour plusieurs bactéries y compris les trois bactéries étudiées dans ce travail de recherche.

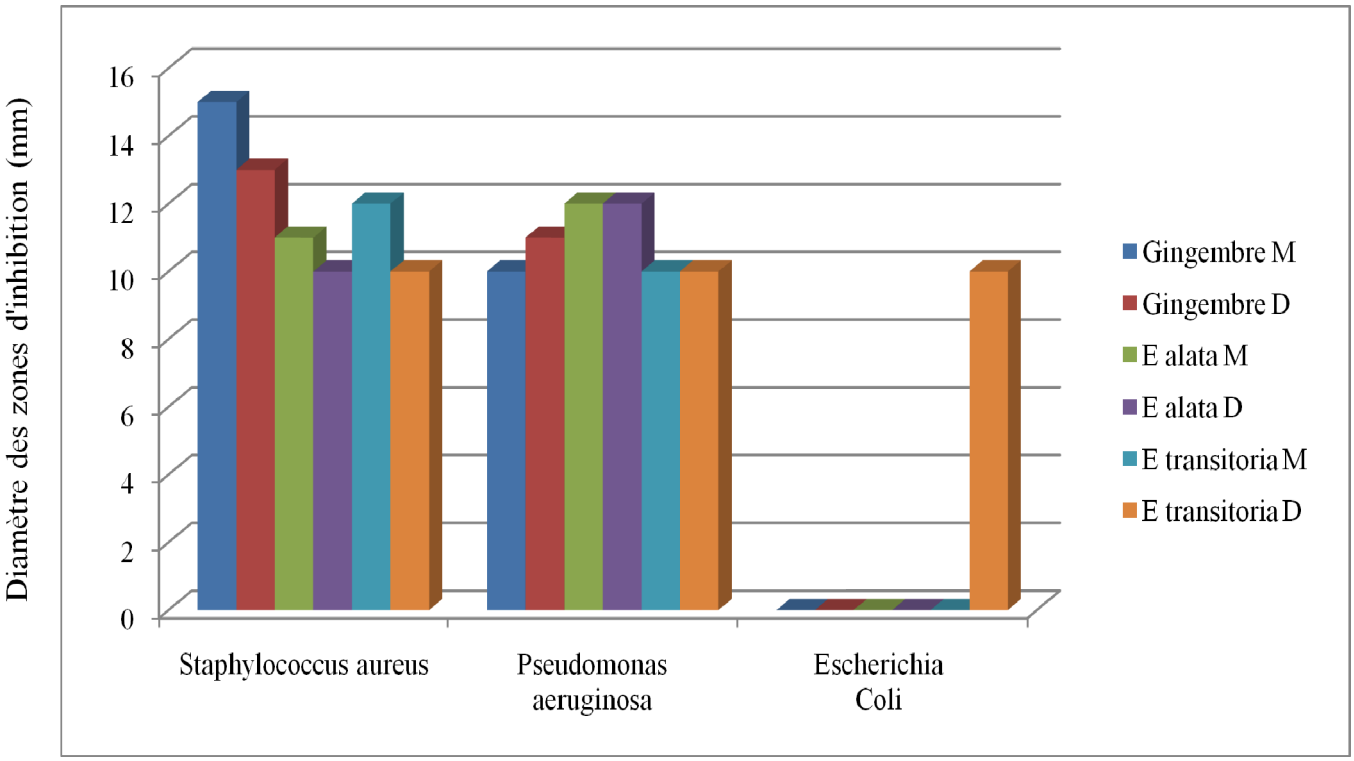


Figure III.10: Activité antibactériènne des extraits de *gingembre d'ephedra alata et d'éphedra transitoria* sur les souches Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa et Escherichia Coli (M : Macération à l'éthanol, D : décoction, E : *Ephedra*)

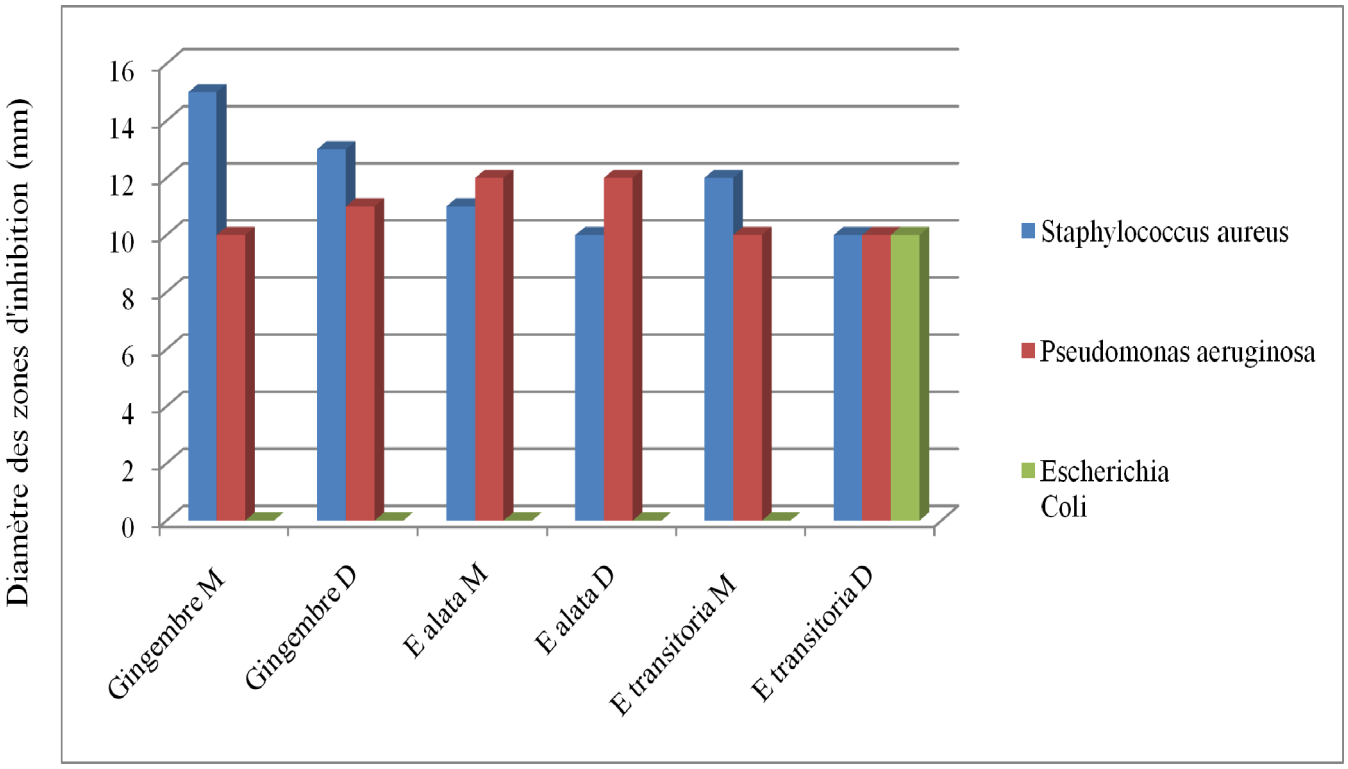


Figure III.11: Effets antibactériens des extraits obtenu par decoction en comparaison à ceux obtenus pa maceration, M: macération à l'éthanol, D: décoction

B- CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM)

Dans ce travail, la CCM est utilisée dans un but de séparer et mettre en évidence les composés phénoliques et alcaloidiques contenus dans nos extraits, Malheureusement la phase mobile utilisée n'a pas permis une bonne separation. D'autres phases mobiles utilisées dans la litérature ont permi une bonne separation.

D'après le travail de *BOUMAZOUNA et GUENNAD* [9] *sur le gingembr*e (macération à l'éthanol); une plus bonne séparation est réalisée en utilisant une phase mobile composé de toluène (93ml) + acétate d'éthyle (7ml)

Concernant l'*éphédra alata* et d'après le travail de Kebili [11] l'utilisation de AcOEt-Cyclohex-MeOH-NH4OH (70:15:10:5) comme phase mobile donne une bonne separation des alcaloides. Pour mettre en évidence les composés phénoliques, Kebili a utilisé deux phases mobiles : 1-AcOEt-Acide formique-acide acétique glacial-Eau (100:11:11:26) 2-C-Hex-AcOEt (7:3)

Le rapport frontal Rf, de l'éphédrine ou ses dérivés, doit être compris entre 0.4 et 0.5 en utilisant la phase mobile AcOEt-C-Hex-MeOH-NH_4OH (70:15:10:5) [11].

Dans le travail de Benkezzim et Derradji [12] *sur l'éphédra alata*, La phase mobile constituée d'acétate d'éthyle / méthanol/eau distillé 100 /13.5 /10 (v/v/v) utilisée pour la séparation des polyphénols et le système solvant utilisé pour la séparation des alcaloïdes qui est constitué de toluène/acétone/ éthanol/ ammoniaque (40 /4 /8 /3 v/v/v/v) ont donné de bonnes séparations.

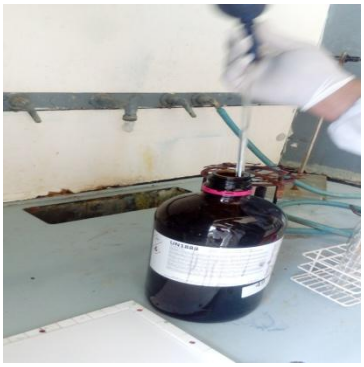


Figure III.12 : Préparation de phase mobile (100 ml de toluène)



Figure III.13: Préparation des échantillons (10mg +1ml de chloroforme)



Figure III.14.Résultat final de l'analyse
(Après avoir pulvérisé les détecteurs)
Pas de séparation

Selon l'étude de Ekbal et al [74] sur *l'éphédra alata* et *l'éphédra Transitoria*, il a été montré que *l'éphédra transitoria* contient une quantité d'alcalloides supérieure à celle contenue dans *l'éphédra alata* (tableau 5), et cela pour deux périodes de récolte.

Tableau 5 : Masses totales d'alcaloïdes extraits des deux plantes : *éphédra alata et éphédra transitoria* [74]

Plant Name	Month	Isolated Alkaloids	
		Wt.(mg)	%
E. alata	July	500	0.2
	October	550	0.22
E. transitoria	July	608	0.24
	October	801	0.32

Conclusion

CONCLUSION

Les plantes médicinales sont utilisées depuis longtemps comme remèdes des maladies humaines puisqu'elles contiennent des composants chimiques de valeur thérapeutique.

Dans ce travail de recherche deux procédés d'extraction sont utilisés: la macération à l'éthanol et la décoction , les principaux résultats obtenus sont les suivants:

- L'extraction par décoction a donné des rendements plus élevés que la macération à l'éthanol et cela pour les trois plantes étudiées**.** Le rendement d'extraction dépend du mode d'extraction ainsi que la nature de la plante étudiée.
- Les spectres IR obtenus sont caractéristiques des composants présents dans l'échantillon. Ils nous fournissent de l'information sur la structure chimique et sur la conformation et la dynamique de l'échantillon étudié. La spectroscopie IR a montre la présence des bandes caractéristiques de quelques fonctions qui existent au sein de *l'éphédra alata* et de ces principes actifs
- Nos échantillons possèdent une activité antibactérienne sur les souches: Staphylococcus aureus et Pseudomonas mais pas d'activité antifongique sur les souches : Saccharomyces et Candida Albicans. L'éffet antibactérien des extraits obtenus par maceration est plus prononcé en comparaison à ceux obtenus par decoction. Seule *l'Ephédra transitoria* possède un effet antibactérien sur l'Escherichia Coli. Les extraits d'*E alata* et *E tansitoria* possèdent une activité antifongique sur Aspergillus brasiliensis .
- La CCM est utilisée dans un but de séparer les composés phénoliques et alcaloidiques de nos extraits. Malheureusement la phase mobile utilisée n'a pas permis une bonne separation.

PERSPECTIVES

En perspectives, dans le but de compléter cette étude, on propose :

- d'utiliser les méthodes d'extraction nouvelles de la chimie verte
- d'évaluer l'activité antioxydante de tous les extraits
- de tester et exploiter d'autres systèmes de solvants pour améliorer l'extraction de certains constituants de ces plantes.
- d'étudier l'activité antioxydante des huiles essentielles de ces plantes.
- d'identifier les principes actifs de ces espèces avec les méthodes chromatographiques.
- d'évaluer l'activité anticancéreuse.

Références Bibliographiques

[1] Andrew Chevalier « Encyclopédie des plantes médicinales », 2001.

[2] Institut Européen des substances végétales « Les plantes médicinales » 2015

[3] ميسون خضر البياتي، عبد اللطيف محمد جواد، مروى حسين خضر " تقييم فعالية مستخلصات نبات الزنجبيل المضادة لبعض انواع البكتريا المرضية " المجلة العراقية للعلوم، المجلد ٥١ ، العدد ٢٠١٠ ،٣ ، ، الصفحة *403* -*409*

[4] منتهى محمود القطان رجاء مصطفى العناز إيمان سامي السراج " **تأثير المستخلص المغلي لنبات الزنجبيل في بعض الصفات الفسلجية والكيميائية الحياتية لذكور الأرانب المحلية"** مجلة زراعة الرافدين(X 316 – 1815 ISSN) ألمجلد) ٣٥ العدد (١) ٢٠٠٧

[5] اسوان حمد الله عبود البيار "**تاثير طريقة الاستخلاص لجذور الزنجبيل في الفعالية المضادة للاكسدة**" مجلة العلوم الزراعية العراقية -40 (1) :101-109 (2009).

[6] *Mohammed Ibraheem Nader, Kais Kassim Ghanima, Safaa Abdalrasool Ali* Dalia Ahmad Azhar «* Antibacterial activity of ginger extracts and its essential oil on some of pathogenic bacteria », Baghdad Science Journal Vol.7(3) 2010.

[7] Benzeggouta Naïrouz, Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de plantes médicinales seules et combinées. Thèse de Doctorat en Sciences Université Mentouri-Constantine, (2015)

[8] Ihsan Lutfi Al-Omari« The protective and therapeutic effects of ginger extract on streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats » Thèse de doctorat de l'université de Jordanie, 2009

[9] BOUMAZOUNA Meriem, GUENNAD Hiba, « Contribution à la caractérisation physico-chimique et microbiologique de l'extrait de gingembre. Préparation d'une teinture à base de gingembre et l'étude de son activité antiseptique et cicatrisante » mémoire de Master, Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana 2017.

[10] ACHOUR TALET abdessamad, KEDDAR imane, « Dosage des composés phénoliques et recherche d'activité antiradicalaire d'extraits aqueux préparés de *Curcuma longa L.* et Zingiber officinale », Mémoire de Master, Université Aboubakr Belkaïd – Tlemcen, 2017.

[11] Kebili Z, Contribution a l'étude de quelques activités biologiques des extraits de Ephedra alata de la région de Ouargla. Thèse de magistère ,Université Kasdi Merbah-Ouargla, (2016), p.3.

[12] Benkezzim Ferial, Derradji Lamia « Contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation des activités biologiques des extraits aqueux, méthanolique et alcaloïdique de deux plantes médicinales *Daphne gnidium* (*L.*) et ***Ephedra*** *alata alenda* », Mémoire de Master, Université M'hamed Bougara de Boumerdes, 2017.

[13] Ramya. p, sudisha.j, lakshmi. D, s.m. aradhy, Antibacterial and anti-oxydant activities of Fenugreek (*Trigonella foenum graecum L*) Leaves, *Research Journal of Medicinal Plants, 5: 695-705.*

[14] Gigon. F, Le gingembre, une épice contre la nausée. Phéto, (2012), p.87-91.

[15] Bode. AM et Dong. I. F. F, Wachtel-Galor S. (2011). Herbal Medicine-Biomolecular and chimical Aspects.2ed Edition CRC Press.

[16] Braga. M.E.M., Moreschi S.R.M., Meireles M.A.A , Effects of Supercritical Fluid Extraction on Curcuma longa L. and Zingiber officinale R. Starches, Carbohydrate Polymers, (2006). 63:p. 340-346.

[17] Favier. A, « Oxidative stress in human diseases » Ann.Pharm.Fr, (2006), 64:p. 390-396.

[18] Euring A., B. Ergo Msc. Dessin d'une tige florale et d'une tige sterile de gingembre, [En ligne], Disponible: abergo1.e-monsite.com/medias/files/ginger1.doc, (2017).

[19] Devendeville C. Les Zingiberacees : description et utilisations des principales epices de la famille, These d'exercice en pharmacie, France : Faculte de pharmacie Lille 2; 2009.

[20] Zadeh J B et Kor M M, Physiological and pharmaceutical effects of Ginger (Zingiber officinale Roscoe) as a valuable medicinal plant. European Journal of Experimental Biology, (2014), 4(1):p. 87-90.

[21] Mishra R K, Kumar A, Kumar A, Pharmacological Activity of Zingiber officinale.ijpcs, (2012), 1(3):p.1422-1427.

[22] Ghasemzadeh A., Jaafar H.Z.E., Rahmat A, Elevated Carbon Dioxide Increases Contents of Flavonoids and Phenolic Compounds, and Antioxidant Activities in Malaysian Young Ginger (Zingiber officinale Roscoe.) Varieties, Molecules, (2010), 15:p. 7907-7922.

[23] Banerjee S, Mullick H I, Banerjee J, Zingiber officinale: a natural gold. International Journal of Pharma and Bio Sciences, (2011), 2: 0975-6299.

[24] BEGGAS Lynda & BENDOUKHANE Meryem, Etude de l'activité antioxydante de gingembre Zingiber officinale. Mémoire présenté de Master, Université des Frères Mentouri Constantine, 2017.

[25] Grzanna et Frondoza .CG, Ginger an herbal medicinal product with broad anti-inflammatory actions. Journal Medical of Food, (2005), p.125-132.

[26] Efthimiou et Kukar, Complementary and alternative medicine use in rheumatoid arthritis: proposed mechanism of action and efficacy of commonly used modalities. Rheumatol Int, 2010 p. 571-586.

[27] Mobasseri M, Mahluji S1, Attari VE, Payahoo L,Ostadrahimi A, Golzari SE, Effect of ginger (*Zingiber officinale*) on plasma glucose level, HbA1c and insulin sensitivity in type 2 Diabetic patients. Int J Food Sci Nutr, Sept (2013), 64(6):682-6.

[28] Platel et Srinivazan **,** Digestive stimulant action of species: a myth or reality? Indian J Med Res May, (2004), 119(5):p.167-79.

[29] Sharma C., Ahmed T., Sasidharan S., Ahmed M., Hussain A, Use of Gemcitabine and Ginger Extract Infusion May Improve the Efficiency of Cervical Cancer Treatment, African Journal of Biotechnology, (2009), 8: 7087-7093.

[30] U**z** Zaman S., Mirje M.M., Ramabhimaiah S, Evaluation of the Anti-Ulcerogenic Effect of *Zingiber officinale* (Ginger) Root in Rats, International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, (2014), 3:p. 347- 354.

[31] Qbal Z., Lateef M., Akhtar M.S., Ghayur M.N.,Gilani A.H, *In vivo* Anthelmintic Activity of Ginger Against Gastrointestinal Nematodes of Sheep. Journal of Ethnopharmacology, (2006), 106:p. 285-287.

[32] Carole.M , Claire pinson « gingembre et curcuma, » (2012), p.79-185.

[33] FOINE Angèle, Les Zingiberaceae en phytothérapie : l'exemple du gingembre. diplôme d'état de docteur en pharmacie universite de lille 2, (2017).

[34] Karna, P., Chagani, S., Gundala, S.R., Rida, P.C., Asif, G., Sharma, V., Gupta, M. V. and Aneja, R. 'Benefits of whole ginger extract in prostate cancer'. British Journal of Nutrition. (2012), Vol.107(4). P. 473-484.

[35] Jeong, C., Bode, A.M., Pugliese, A., Cho, Y., Kim, H., Shim, J. Li, H., Jiang, H. and Dong, Z. '[6]-Gingerol Suppresses Colon Cancer Growth by Targeting Leukotriene A4 Hydrolase'. Cancer Res. (2009), 69. P. 5584-5591.

[36] Evans W.C., Trease and Evans' Pharmacognosy. Saunders (2009), 16eme Ed.

[37] Hegazi G.A.E. et El-Lamey T.M., In vitro Production of Some Phenolic Compounds f rom *Ephedra alata* Decne. J. Appl. Environ. Biol. Sci, (2011) Vol,1, N°8, pp.158-163.

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

[39] Derbel S., Touzard B., Triki MA. et Chaieb M., Seed germination responses of the Saharan plant species *Ephedra alata ssp. alenda* to fungicide seed treatments in the laboratory and the field. Flora, (2010) Vol. 205, pp. 471–474.

[40] Fouad msanda, biodiversité végétale du sud ouest marocain. (2019).

[41] AL-Qarawi A.A., Abd_Allah E.F. et Abeer H., ***Ephedra*** *alata* as biologically-based strategy inhibit aflatoxigenic seedborne mold. African Journal of Microbiology Research, (2011) Vol. 5, N°16, pp. 2297-2303.

[42] Soni M.G, Carabin I.G., Griffiths J.C., et Burdock G.A., Safety of ***ephedra***: lessons learned. Toxicology Lettersn, (2004), Vol. 150, pp. 97–110.

[43] Abourashed E.A., El-Alfy A.T., Khan I.A. et Walker L, ***Ephedra*** in perspective–a current review. Phytother. Res, (2003), Vol. 17, PP. 703-712 .

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

[45] Ghourri M., Zidane L., Douira A, Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). Journal of Animal &Plant Sciences, (2013), Vol.17, pp. 2388-2411.

[46] Nawwar M.A.M, El-Sissi H.I., Barakat H.H., Flavonoid constituents of ***Ephedra*** *alata*. Phytochemistry. (1984), Vol. 23, N°. 12, pp. 2937-2939.

[47] Handa S.S, An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. *In*: Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D. (Eds) Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre For Science and High Technology, Trieste, Italy. (2008), p 21-54.

[48] Goetz P, Plaidoyer pour la tisane médicinale, Phytothérapie,(2004) 1, 8-15.

[49] Leybros, J. and P, "Extraction solide-liquide. Frémeaux (1990).

[50] Baba-Aïssa F, Encyclopédie des Plantes Utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. EDAS Algérie, (2000).

[51] Penchev P.I, Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, France. (2010)

[52] Goula A.M, Ultrasound-Assisted Extraction of Pomegranate Seed Oil – Kinetic Modeling, Journal of Food Engineering, (2013), 117, 492-498.

[53] Lancaster M, Green Chemistry: An Introductory Text. The Royal Society of Chemistry.(2002), p225, 226.

[54] Kaufmann, B., P. Christen, "Parameters affecting microwave-assisted extraction of withanolides." Phytochemical Analysis, (2001), 12: 327-331.

[55] BOUHADDOUDA Nabila, Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : Origanum vulgare et Mentha pulegium. Thèse de Doctorat de l'université BADJI MOKHTAR Annaba,(2016).p.31.

[56] Evans W.C, Trease and Evans Pharmacognosy. Saunders, Edinburgh, (2002), UK. p137,138.

[57] E.BENETEAUD , les technique d'éxtraction , comité francais du parfum 2011.

[58] Azmir J., Zaidul I.S.M., Rahman M.M., Sharif K.M., Mohamed A., Techniques for Extraction of Bioactive Compounds from Plant Materials: A Review, Journal of Food Engineering, (2013), 117,p.426-436.

[59] Clifford A.A, Extraction of Natural Products with Superheated Water. *In*: Clark J., Macquarrie D. (Eds) Handbook of Green Chemistry and Technology. Blackwell Science Ltd. (2002), p. 524-531.

[60] Barus C, Etude électrochimique de molécules antioxydantes et de leur association en milieux homogène et diphasique - Application aux produits cosmétiques , Thèse de Doctorat université de Toulouse, (2008), p.8

[61] Alain dit Philippe BIDIE, Banga B. N'GUESSAN, Adou F. YAPO, Jean David N'GUESSAN, Allico Joseph DJAMAN, Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne, Sciences & Nature Vol. 8 N°1: 1 - 11 (2011).

[62] Rolland Y., Antioxydants naturels végétaux, *Oléagineux, CorpsGrasLipides(CPL)*, (2004), 11 (6) : 419-24.

[63] Diallo A., Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guine e nse* Willd (Myrtacées), Thèse de Doctorat en Pharmacie université de Bamako, (2005), p.11, 13.

[64] Persidis A., Antibacterial and antifugal drug discovery. Nature Biote ch nology, (1999),17:1141-1142.

[65] Rhayour K., Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur Esherichia coli, Bacillussubtilis et sur Mycobacterium phlei et Mycobacterium fortuitum, Thèse de Doctorat de Biologie Cellulaire université de Fès, 2002, p.2.

[66] Hahn M. W., Lunsdorf H., Schauer M., Hofle M. G., Boenigk J., and Stadtler P., Isolation of novel ultra-micro-bacteria classified as actinobacteria from five freshwater habitats in Europe and Asia. Applied Environmental of Microbiology, (2003), 69:1442-1451.

[67] Leclerc H., Gaillard J-L, Simonet M., Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien, Doin Editeur, Paris, (1995), p.506.

[68] Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J., Brock Biology of Microorganisms, Prentice Hall International Ed., (1997).

[69] Edberg S.C., Rice E.W., Karlin R.J., Allen M.J., *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology, (2000), 88: 106S-116S.

[70] Amari Sihem, Étude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienneet antioxydante de deux extraits de la plante *Zingiber officinale*, *Mémoire de Master de l'université* ABOU BEKR BELKAID-Tlemcen, 2016.

[71] LEHOUT ROUMEISSA, LAIB MAYA, Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba Asso*, Mémoire de Master de l'Université des Frères MentouriConstantine,2015.

[72] Pierre Schlungs, Analyse chirale de stimulants du groupe «éphédrine» par électrophorèse capillaire, Laboratoire National de Santé Division Toxicologie Luxembourg, 2012-2013

[73] S al-Khalil [1] , A Alkofahi, D el-Eisawi, A al-Shibib, Transtorine, a New Quinoline Alkaloid From Ephedra Transitoria, J Nat Prod 1999 Aug;62(8):1214

[74] Ekbal Al-khateeb, Hakeem Al-Ani, Kalid Al-Kadi, Essam D.F. Al-Obaidi, Naeem Shalan, Naser Al-Rawi, Investigation of the Alkaloids of two Ephedra Spp. Widly Grown in Irak, Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences, Volume 7, N°3, 2014.