



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie

Effets de l'extrait hydro-alcoolique de l'*Ephedra alata alenda* sur l'histologie des organes et l'appareil reproducteur des souris mâles NMRI

Présenté par : - HEREM Rayane
- SAADAoui Nassima

Soutenu le 06 / 07 / 2022, Devant le Jury :

Nom & Prénom	Grade	Affiliation / institution
Président: M ^{me} BELKASMI Farida	MCB	Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, BBA
Encadreur: M ^{me} BOUMAIZA Souad	MAA	Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, BBA
Examineur: M ^{me} ROUAIGUIA Nadia	MAA	Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, BBA

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Allah de nous avoir donné la santé, le courage et la patience et de nous avoir placés sur le chemin de la connaissance.

Nous voulons tout d'abord adresser toute notre reconnaissance à la directrice de ce mémoire, Madame « BOUMAIZA Souad » pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

Nous tenons à remercier tout particulièrement M^{me} « BELKASMI Farida » maître de conférence (classe B) à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de BBA, d'avoir accepté de présider le jury.

Nous exprimons notre vifs remerciements à M^{me} « ROUAIGUIA Nadia » maître Assistant (classe A) à la faculté des sciences de la nature et de la vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université de BBA, d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

Nous tenons également à remercier les professeurs Moulay BELKHODJA (Université d'Oran) et Hachemi BENHASSAINI (Université de Sidi Bel-Abbès).

Un grand merci à Amina chef laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital de BOUZIDI Lakhdar et ces collègues. Ils ont fournis les outils nécessaires à la réussite de nos études universitaires.

Nous remercions aussi les responsables du laboratoire de T2 et T3 pour leur gentillesse et leurs soutiens, et le chef des laboratoires.

Enfin, nous souhaitons exprimer notre gratitude à nos amis et collègues qui apporteront leur soutien moral et intellectuel tout au long de nos parcours.

Dédicace

Du plus profond de mon coeur, je dédie ce modeste travail à la communauté scientifique et à tous ceux qui me sont chers,

A MES CHERS PARENTS

aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie

A MES CHERS FRÈRES

Aymen, Issam et Mohamed, vous êtes tout ce dont j'ai besoin, vous avez rempli ma vie de bonheur, vous êtes mes trois cristal de joie, une source d'inspiration, que dieu vous facilite votre chemin et vous ouvre ses portes de réussite et de sérénité.

A MON MARIE

depuis le début tu m'as été de grand aide dans toutes les étapes que j'ai parcouru, tu m'as fait montrer la voie que je devais prendre dans les moments les plus bas, tu m'as appris à aimer et connaître le fruit de l'amour sincère et honnête. Je t'aime tellement que ma vie ne serait aussi magique sans ta présence et ton amour.

A TOUTE MA FAMILLE MATERNELLE ET PATERNELLE

NASSIMA



Dédicace

*A l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie,
J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur

de ma vie ma mère Amina qui ma apporté son appui

durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice

et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.A

Mon chère qui vive au fond du mon cœur mon père.

A mes frères et mes sœurs Radouane,

Redha et Souad et Naima

A ma petite famille

A ma petite princesse ILYA & Mon cher époux Ammar

HERMOUCHE que j'aime énormément, pour la patience et le

soutien dont il a fait preuve pendant toute

la durée de ce travail et à qui je voudrais exprimer

mes affections et mes gratitudes.

Sans oublies mes beaux-parents qui m'ont encouragé et

fait preuve de patience.

Merci infiniment.

Rayane



SOMMAIRE

Remerciements

Dédicaces

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

Liste des abréviations

ملخص

Résumé

Abstract

Introduction.....1

Rappel Bibliographique

I. Présentation de la plante : *Ephedra alata alenda*3

I.1. Répartition géographique.....3

I.2. Description botanique.....4

I.2.1. Classification.....4

I.3. Utilisations traditionnelles.....5

I.4. Pharmacologie de l'éphédrine.....5

I.5. Effets pharmacologique.....6

I.5.1. Effet antibactérien.....6

I.5.2. Effet antifongique.....6

I.5.3.Effet antioxydant.....6

I.5.4. Effet hypoglycémiant.....7

I.5.5. Effet anticancéreux.....	7
I.5.6. Effet anti-inflammatoire.....	7
I.6. Effets secondaires, toxicité et contre-indications.....	8

Matériel et Méthodes

I. Matériel.....	10
I.1. Produits et équipements utilisés	10
I.2. Matériel végétal.....	10
I.3. Matériel animal.....	11
II. Méthodes.....	11
II.1.Méthodes d'extraction.....	11
II.1.1. L'extraction par macération.....	12
II.1.2. L'extraction par décoction.....	14
II.1.3. L'extraction par infusion.....	14
II.2. Calcul de rendement.....	15
II.3. Protocole expérimental.....	16
II.4. Evaluation de la toxicité.....	16
II.4.1. Signes et suivie clinique.....	16
II.4.2. Effet dépresseur d' <i>Ephedra alata</i>	16
II.4.2.1. Test de la natation forcée (forced swimming test).....	16
II.4.3. Prélèvement sanguin et dosage des paramètres hématologiques.....	17
II.4.4. Prélèvement des organes.....	17
II.4.5. Spermogramme.....	17
II.4.6. Histopathologie.....	18
II.5. Analyses statistiques.....	20

Résultats et discussion

I.1. Calcul des rendements.....	21
---------------------------------	----

I.2. Signes de toxicité.....	22
I.3. Testes neurocomportementaux.....	22
I.3.1. Test de la nage forcée.....	22
I.4. Evolution pondérale.....	23
I.4.1. Poids relatifs des organes.....	25
I.5. Paramètres hématologiques.....	28
I.5.1. Paramètres de lignée leucocytaire.....	28
I.5.2. Paramètres de lignée érythrocytaire.....	29
I.6. Spermogrammes.....	30
I.6.1. Types d'anomalies observées.....	31
I.7. Etude histologique.....	35
I.7.1. Effet de l'extrait d'<i>Ephedra alata alenda</i> sur l'histologie du foie.....	35
I.7.2. Effet de l'extrait de <i>Ephedra alata alenda</i> sur l'histologie des reins.....	36
I.7.3. Effet de l'extrait d'<i>Ephedra alata alenda</i> sur l'histologie des testicules... 	38
Conclusion et perspectives.....	39
Références bibliographiques.....	40

Liste des tableaux

Tableau I : Classification de l' <i>Ephedra alata alenda</i>	5
Tableau II : Produits et équipements utilisés	10
Tableau III : Poids corporels des souris de groupes traités et groupes témoins pendant 14 jours de traitement.	24
Tableau IV : Poids relatifs des organes chez les souris du groupe témoin et de groupes traités par l'extrait hydro-alcolique d' <i>Ephedra a lata</i>	25
Tableau V : Nombre total de spermatozoïdes et taux de cellules mortes et vivantes chez les souris témoins et traitées par l'extrait de l' <i>ephedra alata</i> .	31
Tableau VI : Anomalies morphologiques des spermatozoïdes chez les groupes traités et le groupe témoin.	31

Liste des figures

Figure 1 : Répartition géographique mondiale de l'Ephédra.	3
Figure 2 : Plan d'extraction par macération.	13
Figure 3 : Plan d'extraction par décoction.	14
Figure 4 : Plan d'extraction par infusion.	15
Figure 5 : Rendement (%) d'extractions hydro-alcooliques obtenus par trois méthodes d'extraction solide-liquide.	21
Figure 6: Effets d' <i>Ephedra alata</i> sur le temps de natation (mobilité) pendant le test de nage forcée chez les souris mâles de souches NMRI.	22
Figure 7 : Effets d' <i>Ephedra alata</i> sur le temps d'immobilité (flottement) pendant le test de nage forcée chez les souris mâles de souches NMRI.	23
Figure 8 : Les poids des souris témoins, traités avec une dose de 100 mg/kg et traité avec 150 mg/kg au début de l'expérience (jour 0).	24
Figure 09 : Valeurs de la masse relative du foie (%) des souris mâles témoins et traitées par l'extrait hydro-méthnolique de <i>l'ephedra alata alenda</i> .	26
Figure 10: Valeurs des masses relatives des reins (%) des souris mâles témoins et traitées par l'extrait hydro-méthnolique de <i>l'ephedra alata alenda</i>	26
Figure 11 : Valeurs des masses relatives des testicules (%) des souris mâles témoins et traitées par l'extrait hydro-méthnolique de <i>l'ephedra alata alenda</i> .	27
Figure 12 : Valeurs des masses relatives des rates (%) des souris mâles témoins et traitées par l'extrait hydro-méthnolique de <i>l'ephedra alata alenda</i> .	27
Figure 13 : Valeurs des masses relatives des poumons (%) des souris mâles témoins et traitées par l'extrait hydro-méthnolique de <i>l'ephedra alata alenda</i>	28
Figure 14 : Taux de lymphocytes ($10^3/\mu\text{l}$) chez les souris témoins et traitées par l' <i>Ephédra Alata</i> .	29
Figure 15 : Taux de Monocytes chez les souris témoins et traitées par l' <i>Ephédra Alata</i> .	29
Figure 16 : Taux d'hémoglobine chez le groupe témoin et les groupes traités par l' <i>Ephédra Alata</i> .	29

Figure 17 : Taux des Plaquettes chez le groupe témoin et les groupes traité par l'*Ephédra Alata* **29**

Figure 18 : Taux des globules rouges (%) chez les souris témoins et traitées par 100 mg/kg et 150 mg/kg de l'extrait hydrométhanolique de l'*Ephédra Alata*. **30**

Liste des photos

Photo 1 : <i>Ephedra alata</i> : partie aérienne (A), Rameau et fleur en épanouissement (B) et Racines (C).	4
Photo 2 : Souris albinos mâles de souche NMRI.	11
Photo 3 : Test de natation forcée : période de natation (A), période de flottement (B).	17
Photo 4 : (A) Prélèvement des organes ; (B) pesage des organes.	18
Photo 5 : (A) la fixation des organes dans le formaldéhyde tamponné à 10 % v/v ; (B) les cassettes ; (C) l'appareil de circulation ; (D) enrobage des échantillons à chaud et à froids.	19
Photo 6 : (A) Microtome rotatif ; (B) appareil de coloration des lames.	19
Photo7: Spermatozoïde normal d'une souris du groupe témoin.	32
Photo 8: Spermatozoïde présentant une anomalie de la tête.	32
Photo 9: Spermatozoïde présentant une anomalie de la pièce intermédiaire.	33
Photo 10: Spermatozoïde présentant une anomalie de la queue d'une souris du groupes traitée.	33
Photo 11 : Spermatozoïde présentant une anomalie de la tête d'une souris du groupe traité.	34
Photo 12 : Spermatozoïde décapité avec une tête détachée d'une souris témoin.	34
Photo 13 : Observation au microscope optique des coupes histologiques de foie .	36
Photo 14 : Observation au microscope optique des coupes histologiques des reins.	37
Photo 15 : Observation au microscope optique des coupes histologiques des testicules.	38

Liste des abréviations

°C : Degré Celsius

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

DPPH: 1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

E. alata: *Ephedra alata*

EDTA : L'acide éthylène diamine tétra acétique

EFSA: Panel on Food Additives and Nutrient Sources

EHE: Ephedra Herba Extract

FDA: Food and Drug Administration

Fig: Figure

FNS: Formule Numération Sanguine

g : Gramme

GR: Globules rouges

HGB: Hémoglobine

LPS : Lipopolysaccharide

MCF-7 : Michigan Cancer Foundation – 7 (Ligne de cellules tumorales mammaires)

mg: Milligramme

ml: Millilitre

PLT: Plaquettes

SNC : **S**ystème Nerveux Central

T47D : Ligne de Cellules cancéreuses

TDH: Texas Department of Health

α : Alpha

β : Beta

μ l : Microlitre

الملخص

هدفت هذه الدراسة إلى التحقق من سمية المستخلص المائي -الكحولي للجزء الهوائي من نبتة العلندة *Ephedra alata alenda* على ذكور فئران من سلالة NMRI للتحقق من مدى سلامتها بالنسبة للأشخاص الذين يستخدمونها. لهذا الغرض تم استخدام ما مجموعه 25 فأراً تم تقسيمهم إلى خمس مجموعات . تلقت حيوانات المجموعة الشاهدة ماء الحنفية عن طريق التغذية القسرية بينما تم إعطاء المجموعات الأخرى 100 و 150 mg/kg من وزن الجسم من مستخلص النبات.

أظهرت النتائج انخفاض غير معتبر في وزن الجسم وعدم وجود فرق معتبر في وزن الكبد والبروتين، وزيادة معتبرة في الأوزان النسبية للكلى والطحال والخصيتين. كذلك ظهرت مجموعة من التغيرات المورفولوجية على مستوى الكبد، الكلى والخصيتين. كما لاحظنا اضطراب نتائج تحاليل الدم و المنى و زيادة غير معتبرة في وقت التنقل في اختبار السباحة القسري والتي قد ترجع إلى التأثير المحفز للنبات على الجهاز العصبي.

أخيراً، بعد تحليل النتائج يمكننا استخلاص أن العلندة قد تكون نبتة سامة لها آثار جانبية ضارة على صحة الإنسان، رغم أنها تستخدم في علاج العديد من الأمراض ، إلا أنه يجب استخدامها بأقصى قدر ممكن من الحرص.

الكلمات المفتاحية

العلندة ، السمية، السباحة القسرية؛ التحاليل الدموية، تحاليل المنى.

Résumé

Cette étude visait à étudier l'effet toxicologique de l'extrait hydro-alcoolique de la partie aérienne d'*Ephedra alata alenda* chez les souris mâles de souche NMRI. Un total de 25 souris, regroupées en cinq groupes ont été utilisées pour l'étude. Les groupes témoins ont reçu l'eau de robinet par gavage et les autres groupes ont été administrés respectivement de 100 et 150 mg/kg du poids corporel de l'extrait végétal.

Les résultats ont révélé une diminution non significative du poids corporel au cours d'expérimentation, aucune différence significative des poids pondérales des foies et des pommons, et une augmentation significative des poids relatifs des reins, rates et testicules. Ainsi, des altérations morphologiques au niveau des foies, reins et testicules et une perturbation des paramètres hématologiques et du spermogramme. En outre, une augmentation non significative dans le temps de mobilité dans le test de natation forcée qui peut être dû à un effet excitateur de plante sur le système nerveux.

Enfin, après l'analyse des résultats *Ephedra alata alenda* pourrait être une plante toxique, avec des effets secondaires néfastes pour la santé des êtres humains, malgré qu'elle est utilisée pour la guérison de plusieurs maladies, mais il faut l'utiliser avec le maximum d'attention.

Mots-clés : *Ephedra alata alenda*; effet toxique ; natation forcée ; paramètres hématologiques ; spermatozoïdes.

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the toxicological effect of hydro-alcoholic extract of the aerial part of *Ephedra alata alenda* in NMRI male mice, to verify its safety for those who use it. A total of 25 mice divided to five group. The mice of control group received tap water and the treated groups were administered 100 and 150 mg/kg body weight of the plant extract, respectively.

The results revealed a non-significant decrease in body weight during the experiment, no significant difference in the weight of the livers and lungs, and a significant increase in the relative weights of the kidneys, spleens and testicles. Thus, morphological alterations in the livers, kidneys and testicles and a disturbance of the hematological parameters and the spermogram. Also, a non-significant increase in mobility time in the forced swimming test which may be due to a plant excitatory effect on the nervous system.

Finally, after the analysis of the results *Ephedra alata alenda* could be a poisonous plant, with harmful side effects for the health of human beings, despite that it is used for the cure of several diseases, but it must be used with the maximum attention.

Keywords: *Ephedra alata alenda*; toxic effects; forced swimming test; hematological parameters; spermogram.

INTRODUCTION

Introduction

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales constituent une source précieuse de diverses thérapies et représentent toujours un fonds essentiel de nouveaux produits naturels d'origine végétale dont les dérivés ont d'importantes activités biologiques (**Chouitah, 2019**). Elles constituent la principale source de soins de santé pour la plupart des pays en développement (**Olaolu et al., 2014**). Bien que les herbes médicinales soient considérées à faible risque comparativement aux drogues synthétiques, elles ne sont pas complètement exemptes d'effets toxiques ou d'autres effets indésirables (**Han et al., 2013**).

Les plantes et les produits végétaux ont été documentés pour posséder des propriétés curatives, y compris anticancéreuses, antipaludéennes, antidiabétiques, antihypertensives...etc. Certains métabolites secondaires des plantes étaient la source probable de leur «vertu curative» caractéristique. Ils sont très bénéfiques pour la santé humaine, notamment les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les glycosides, les phénols, les anthocyanes et plusieurs autres (**Olaolu et al., 2014**).

L'Algérie est l'immense pays bordier de Méditerranée, reconnu par sa variété en plantes médicinales et aromatiques, ainsi que leurs diverses utilisations populaires dans les terroirs du pays. La richesse de la flore algérienne est incomptable, avec ses 4300 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires. Il abrite de nombreuses espèces classées selon leur degré de rareté : 289 espèces plutôt rares, des espèces rares, 640 espèces très rares, 35 espèces extrêmement rares et 168 espèces endémiques (**Hadjadj et al., 2019**).

Ephedra, appelée en Algérie « Alenda », est une plante médicinale appartenant à la famille des *Ephedraceae*. C'est un genre de plantes à graines non florales appartenant aux Gnetales, le plus proche parent vivant des Angiospermes. L'éphédra est utilisée depuis plus de 5 000 ans en médecine traditionnelle chinoise pour traiter les allergies, l'asthme bronchique, les frissons, le rhume, la toux, l'œdème, la fièvre, la grippe, les maux de tête, le rhume et la congestion nasale (**Chabouiate et al., 2014**).

Les activités de l'éphédra comprennent des effets antioxydants, anti-asthmatiques, anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiprolifératifs, hypoglycémiques et réducteur du poids. Les plantes d'éphédra sont riches en composés bioactifs, y compris les polyphénols et les alcaloïdes. Les composés bioactifs les plus connus de l'éphédra sont les alcaloïdes de type éphédrine, dont le contenu varie d'une espèce à l'autre (**Hikino et al., 1980 ; Al-Qarawi et al., 2012 ; Khalil et al., 2020**).

Ephedra alata comporte plusieurs classes phytochimiques telles que le glycoside cardiaque, les alcaloïdes, les phénols et les flavonoïdes. Malgré le manque de preuves cliniques, *Ephedra alata* est très souvent utilisé en médecine populaire pour traiter diverses maladies comme le cancer. De plus, *Ephedra alata* a été suggéré par certains groupes de recherche pour le traitement du diabète sucré de type II (Kittana et al., 2016).

L'objectif de ce travail consiste à évaluer l'effet toxicologique de l'extrait hydro-méthanolique de la partie aérienne de l'espèce *Ephedra Alata alenda* récoltée dans la région de Marsat El-hadjedj, wilaya d'Oran, pour vérifier sa sécurité pour les personnes qui l'utilisent.

Ce mémoire comprend:

- L'extraction de la partie aérienne d'*Ephedra alata alenda* par trois méthodes (macération, décoction et infusion).
- L'étude du profil toxicologique de l'extrait hydro-méthanolique d'*Ephedra alata alenda* à fin de cerner les risques encourus à la suite de son gavage.
- Cette étude est focalisée sur la toxicité subaiguë en évaluant les signes d'intoxication, l'évolution du poids corporel et des poids relatifs des organes, l'appareil reproducteur mâle, les paramètres hématologiques et histologiques.
- Tester l'effet dépresseur via le test de natation forcée (forced swimming test).

RAPPEL
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Présentation de la plante : *Ephedra alata alenda*

Les *Ephedraceae* sont des plantes phylogénétiquement très anciennes appartenant au groupe des gymnospermes « graines nues », qui ne renferment qu'un seul genre *Ephedra*. Ce sont de petits arbres aux branches étroites, angulaires et striées dont les feuilles sont réduites en écailles membraneuses (Lee, 2011).

I.1. Répartition géographique

Les espèces du genre *Ephedra* poussent principalement dans les régions les plus sèches de l'Asie centrale et de l'ouest, en Europe méditerranéenne, en Amérique, au Moyen-Orient, en Afrique du Nord-Ouest, y compris les îles Canaries (Figure1) (Freitag et Maier-Stolte, 1989 ; Caveney et al., 2001).

La plante est indigène aux latitudes tempérées et subtropicales d'Europe. *Ephedra alata* est distribuée en Afrique (Algérie ; Egypte, Libye, Maroc, Tunisie, Mauritanie, Tchad et Mali) et en Asie (Arabie Saoudite, Irak, Iran, Palestine, Liban, Jordanie et Syrie) (Caveney et al., 2001 ; Al-Sanafi , 2017).

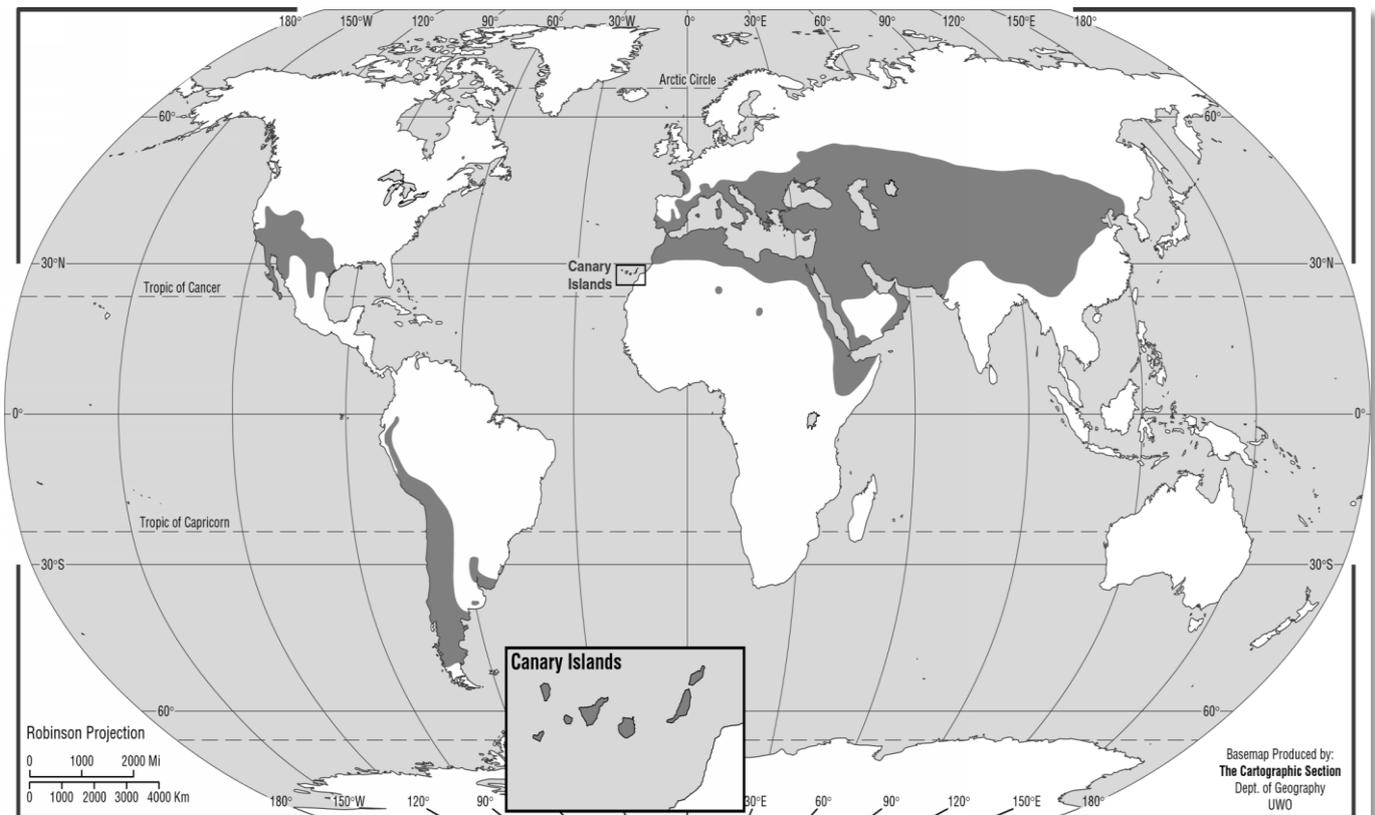


Figure 1 : Répartition géographique mondiale de l'Ephédra (Caveney et al., 2001).

I.2. Description botanique

Le genre *Ephédra* compte environ 67 espèces distribuées dans tous les biomes terrestres. Les plantes de ce genre sont des arbustes dioïques vivaces à rameaux articulés, dont la hauteur peut atteindre 1 à 3 mètres avec des tiges minces et dressées, à couleurs vertes jaunâtres intersectées et légèrement nervurées. Les canalicules de 1,5 mm de diamètre se terminent par un point souvent tranchant aux nœuds espacés de 4 à 6 cm. Les feuilles réduites en écailles apparaissent triangulaires. Elles se développent en paires opposées ou en verticilles de trois, donnant à la plante l'aspect d'un arbuste sans feuilles (Figure 3). Les fleurs sont en petits cônes, les mâles et les femelles sont généralement sur des pieds différents et les cônes bractées femelles poussent lors de la maturation (**Ozenda, 1991**).

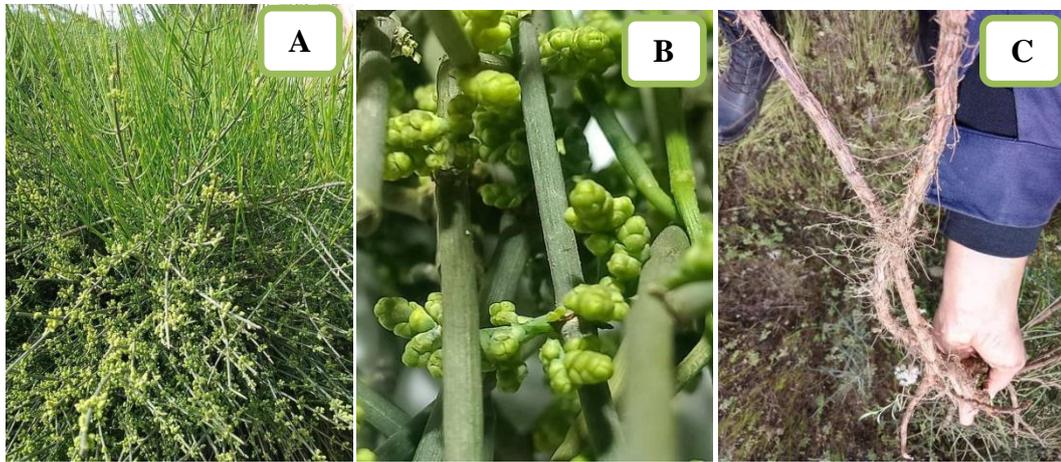


Photo 1 : *Ephedra alata* : partie aérienne (A), Rameau et fleur en épanouissement (B), Racines (C).

I.2.1. Classification

Selon **Bell et Bachman (2011)**, et le catalogue de **Dobignard et Chatelain (2010)**, la position systématique d'*Ephédra alata* est la suivante :

Tableau I : Classification de *Ephedra alata alenda*

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Gymnospermes
Class	Gnetopsida
Ordre	Ephedrales
Famille	Ephedraceae
Genre	<i>Ephedra</i>
Espèce	<i>Ephedra alata</i>
Sous-espèce	<i>Ephedra alata alenda</i>

I.3. Utilisations traditionnelles

L'espèce *Ephedra alata* est reconnue dans la population égyptienne pour ses effets dépuratifs, hypotenseurs, antiasthmatiques et astringents (**Nawwar et al., 1984**). En Arabie saoudite, cette plante est préconisée pour le pâturage des animaux à cause de son arôme acceptable (**Al-Qarawi et al., 2012**).

Au Maroc, *Ephedra alata* est utilisée contre le diabète (**Ghourri et al., 2013**), mais en Algérie, elle est appliquée sous forme de tisane et par inhalation contre la grippe, la coqueluche, la faiblesse générale (**Ould El Hadj et al., 2003**) et pour le traitement du cancer (**Miara et al., 2019 ; Bouafia et al., 2021**).

Les Amérindiens et les Espagnols du sud-ouest des États-Unis utilisaient l'éphédra à diverses fins médicinales, en particulier les maladies vénériennes (**Al-Snafi, 2017**).

I.4. Pharmacologie de l'éphédrine

L'éphédrine est l'un des 8000 composés naturels rattachés à la famille des alcaloïdes (**Laccourreye et al., 2015**). Cette alcaloïde a été obtenu sous forme pure et nommé éphédrine. Une enquête pharmacologique a révélé que ce composé était toxique, mydriatique et sympathomimétique (**Al-Snafi, 2017**).

L'éphédrine tire son nom de petits arbustes du genre *Ephedra* dont les extraits de la tige et les feuilles (qui comportent aussi de la pseudoéphédrine) sont utilisés à des fins médicales depuis l'antiquité. Ces amines sympathomimétiques agissent en stimulant le

système des récepteurs adrénérgiques au niveau de la jonction entre fibre sympathique et muscle lisse des parois vasculaires. Elles simulent ainsi l'action vasoconstrictrice de la norépinéphrine physiologiquement produite par la fibre nerveuse sympathique (**Laccourreya et al., 2015**).

I.5. Effets pharmacologiques

I.5.1. Effet antibactérien

L'activité antimicrobienne de l'extrait méthanique d'*Ephédra alata* utilisant une méthode de diffusion de disque a été étudié contre le gramme bactéries positives (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*) et bactérie gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*). La zone d'inhibition a été mesurée et les diamètres inférieurs à 5 mm ont été considérés comme ayant un effet inhibiteur. Les résultats ont montré une puissante activité antibactérienne de l'extrait méthanique de la plante étudiée contre le *Staphylococcus aureus* gram positif spécialement avec zone d'inhibition (63,15 %) qui était la souche la plus sensible à l'extrait. Activité modérée pour bactéries *Bacillus subtilis* et Gram négatif; *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* ont été obtenus avec le même extrait, qui a montré des effets presque similaires avec des zones d'inhibition 41,38%, 43,33% et 46,67% respectivement. Ce résultat corrobore les études précédentes qui montraient que les extraits de butanol, d'acétate d'éthyle et de dichlorométhane d'*Ephédra alata* étaient actifs contre les bactéries Gram positif et négatif (**Chebouat et al., 2014**).

I.5.2. Effet antifongique

Concernant l'activité antifongique, l'effet de l'extrait contre *Aspergillus flavus* représente 18% alors que l'effet contre *Candida albicans* était de 21% (**Salmin et al., 2020**).

I.5.3. Effet antioxydant

L'évaluation de l'activité antioxydante devient de plus en plus appropriée dans le domaine de la nutrition parce qu'elle donne des informations bénéfiques avec la pertinence santé aidant et la qualité fonctionnelle des matières premières, qu'il s'agisse ou non de fruits, de légumes ou de plantes médicinales. Ce facteur explique la présence de radicaux oxygénés efficaces, comme les composés phénoliques. L'activité antioxydante des composés phénoliques est principalement due à leurs propriétés redox, qui les font agir comme des agents réducteurs, des donneurs d'hydrogène et des accepteurs d'oxygène simples. L'extrait méthanolique d'*E. alata* a eu des effets importants sur le radical DPPH, comparativement à l'acide gallique. Les résultats ont montré une corrélation honnête entre l'activité antioxydante et le contenu en flavonoïdes. Cette conclusion a également été soutenue par des rapports antérieurs qui ont montré que l'*Ephedra alata* cultivé en Palestine est riche en antioxydants,

composés phénoliques et flavonoïdes. Leur activité antioxydante est comparable ou supérieure à celle de l'Ephédra d'autres pays. Il existe une corrélation entre les activités antioxydantes et la teneur phénolique totale (**Salmin et al 2020**).

I.5.4. Effet hypoglycémiant

Ephedra alata présentait des effets hypoglycémiques persistants une heure après son administration à des rats à jeun (**Shabana et al., 1990**). Cinq glycanes actifs isolés de *E.distachya* (ephedranes A, B, C, D et E) ont réduit significativement le taux de glucose sanguin chez des souris normales et diabétiques (**Yahaioui et Silat, 2017**).

L'activité antidiabétique a été rapportée par l'identification de nouveaux dipeptidyl humain inhibiteurs peptidase-IV d'origine naturelle qui sont un des candidats potentiels pour le traitement du diabète de type II (**Rehouma et Guemari, 2018**).

I.5.5. Effet anticancéreux

Certaines espèces d'Ephédra se sont vu attribuer un potentiel anticancéreux contre diverses lignées cellulaires. Par exemple, des extraits obtenus avec différents solvants d'*Ephédra aphylla* ont montré une activité antiproliférative contre les lignées cellulaires de cancer du sein T47D et MCF-7. L'extrait hydro- alcoolique d'*Ephédra alata Decne* présente un potentiel antiprolifératif, pro-apoptotique et cytotoxique contre la lignée cellulaire du cancer du sein humain MCF-7 (**Al-Awaida et al., 2018**).

I.5.6. Effet anti-inflammatoire

Ephédra alata a été utilisée en phytothérapie traditionnelle pour traiter les maladies inflammatoires (**Kmail et al., 2017**). La partie aérienne d'Ephédra a été soumise à des essais biologiques pour l'activité anti-inflammatoire. À partir de l'extrait de méthanol actif, la pseudoéphédrine a été isolée et a montré l'activité anti-inflammatoire la plus intense (**Hikino et al., 1980**).

I.6. Effets secondaires, toxicité et contre-indications

Contrairement à la plupart des autres médicaments à base de plantes, l'éphédra comporte un risque pour la santé, qui est aggravé par leur mauvais usage et / ou l'abus. Selon l'évaluation de la **Food and Drug Administration (FDA)** en 2004, les suppléments alimentaires contenant des alcaloïdes d'éphédra représentaient un risque inacceptable pour la santé. La **FDA** a interdit tous les médicaments en vente libre contenant de l'éphédrine. Selon **l'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA)**, de nombreux événements cardiovasculaires et cérébrovasculaires indésirables ont été associés à l'utilisation de suppléments alimentaires contenant des alcaloïdes d'éphédra. Au cours des deux années 1993-1995, le Bureau de **Food and Drug Safety**, **Texas Department of Health (TDH)**, a

reçu environ 500 déclarations d'événements indésirables chez des personnes qui ont consommé des suppléments alimentaires contenant de l'éphédrine et des alcaloïdes connexes (pseudoéphédrine, noréphédrine et N-méthyléphédrine).

Ces rapports faisaient état d'événements indésirables allant de tremblements et de maux de tête à la mort chez huit consommateurs d'éphédrine et comprenaient des cas d'accident vasculaire cérébral (**CDC**), d'infarctus du myocarde, de douleurs thoraciques, de convulsions, d'insomnie, de nausées et de vomissements, de fatigue et d'étourdissements. Sept des huit décès signalés ont été attribués à un infarctus du myocarde ou à un accident vasculaire cérébral. Cependant, les effets secondaires enregistrés avec des doses toxiques d'éphédrine étaient les convulsions, nausées, vomissements, frissons, cyanose, irritabilité, nervosité, fièvre, comportement suicidaire, tachycardie, pupilles dilatées, vision floue, opisthotonos, spasmes, œdème pulmonaire, respiration haletante, coma, insuffisance respiratoire et changements de personnalité (**Woolf et al. ,2005 ; Ebadi, 2007**).

L'éphédra ne doit pas être utilisée chez les patients atteints de thrombose coronarienne, de diabète, de glaucome, de maladie cardiaque, d'hypertension, de maladie thyroïdienne, d'altération de la circulation du cerveau, de phéochromocytome ou d'hyperplasie de la prostate (**Al-Snafi, 2017**).

MATERIEL

&

METHODES

I. Matériel

I.1. Produits et équipements utilisés

Tableau II : Produits et équipements utilisés.

Produits (pourcentage, firme)	Equipements
Méthanol CH ₃ OH (99,80 %) (RANKEM)	Rota-vapeur (BÜCHI)
Formaldéhyde (10 %)	Balance de Précision (KERN ABS)
Eosine (0,1 %)	Agitateur Magnétique
Ether diéthylique (99,80%) (BIOCHEM Chemopharma)	Système de filtration sous vide
Eau distillée	Plaque chauffante (Leica)
Xylène (Honeywel)	Etuve (Mettler)
Ethanol (95 %) (Pharm Khodja)	Microscope optique (OPTIKA)
Paraffine	Appareil de circulation (Leica)
Hématoxyline	Appareil d'inclusion à chaud (Leica)
	Appareil d'inclusion à froid (Leica)
	Cellule de Malassez
	Thermomètre IR

I.2. Matériel végétal

Il est constitué de la partie aérienne de la plante médicinale *Ephedra alata*. La récolte du matériel végétal a été réalisée le 27 mars 2022, dans la région de Marsat El-hadjedj, wilaya d'Oran- Algérie.

L'identification de la plante a été faite par le Pr. Moulay BELKHODJA (Université d'Oran) et le Pr. Hachemi BENHASSAINI (Université de Sidi Bel-Abbès).

Les échantillons de la plante ont été laissés sécher à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant 20 jours. Les parties aériennes sèches ainsi obtenues ont été broyées à l'aide d'un moulin à café pour obtenir une poudre fine qui va servir à l'extraction.

I.3. Matériel animal

Des souris albinos mâles de souche NMRI pesant de 26 à 41 g ont été obtenues auprès de l'institut pasteur-Alger. Avant le début de l'expérience, les souris ont été placés dans des cages en plastique dans une salle à une température ambiante; cycle naturel de lumière et obscurité, pendant 20 jours d'acclimatation avec accès libre à la nourriture et à l'eau ad libitum.



Photo 2: Souris albinos mâles de souche NMRI.

II. Méthodes

II.1. Méthodes d'extraction

Les extractions solide / liquide d'*Ephedra alata* ont été réalisées selon trois modes de préparation : infusion, décoction et macération.

- **L'infusion** : Une infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale, en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minutes (Sofowora, 2010).
- **La décoction** Les plantes sont versées dans l'eau froide et portées à ébullition un temps plus ou moins long, deux ou trois minutes pour les feuilles, les tiges et les fruits ; cinq minutes ou plus pour les écorces et les racines (Pierre et Lis, 2007).
- **La macération** Le liquide de macération peut être de l'eau, de l'alcool ou du vinaigre. Dans le cas de la macération à l'eau, les plantes doivent être versées dans le liquide froid ou tiède pendant quelques heures (10 ou 12 heures). Les macérations à l'eau ne

doivent pas dépasser une douzaine heures par risque d'oxydation et de fermentation du liquide (**Pierre et Lis, 2007**).

II.1.1. L'extraction par macération

On mélange 2 g de poudre de la plante avec le méthanol / eau (30 : 70 v/v), et on agite de temps à temps et la laisse reposer pendant 24 heures. Puis, on fait la filtration de ce mélange par un système de filtration sous vide pour obtenir le premier filtrat et un résidu au-dessus de papier filtre. Ce résidu a été mélangé une autre fois par le méthanol / eau (30 : 70 v/v) et on refait les mêmes étapes jusqu'au troisième jour. Les filtrats des trois jours sont réunis puis filtrés sur le papier-filtre et ils sont évaporés à sec dans l'étuve de 55°C.

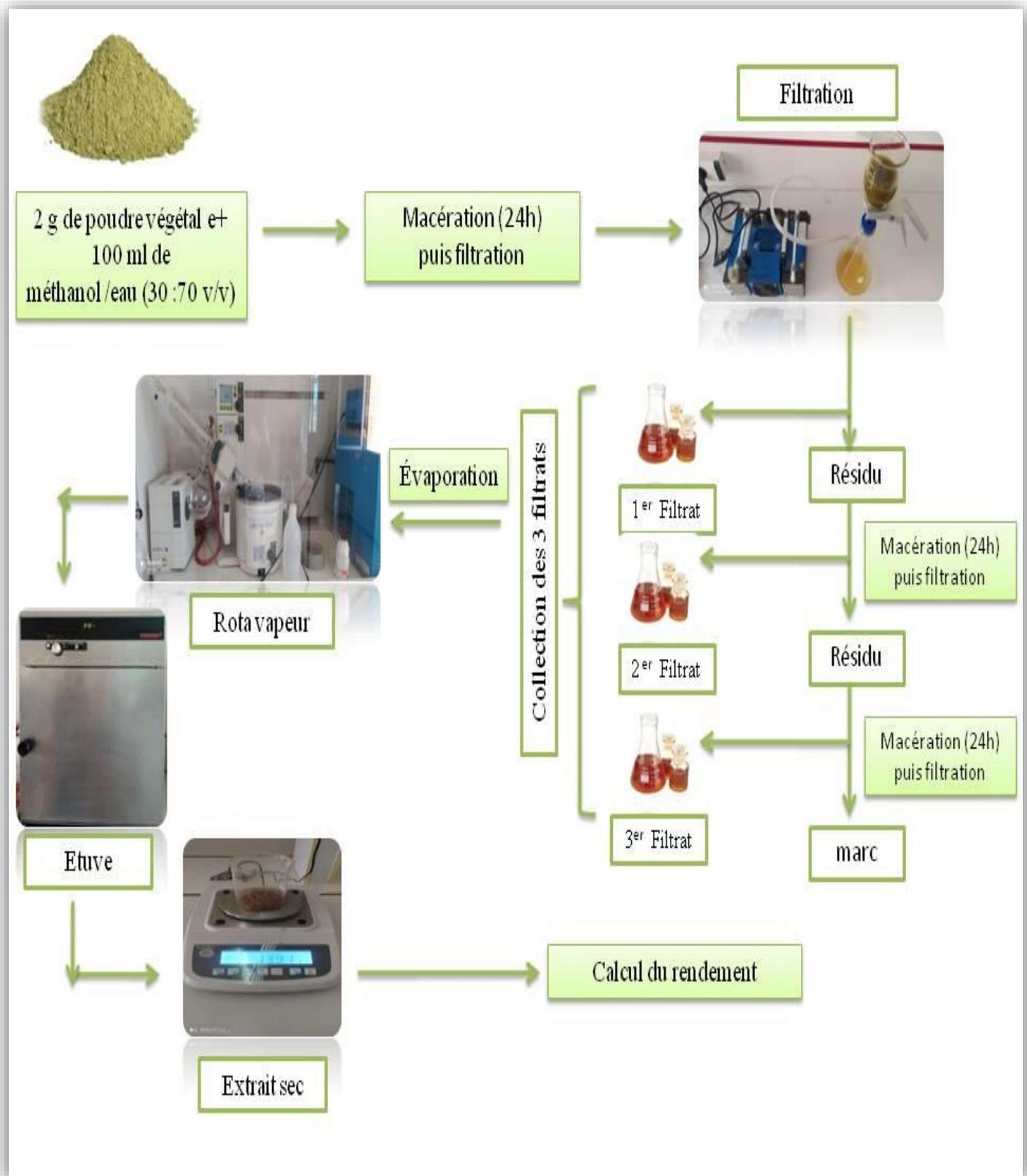


Figure 2 : Plan d'extraction par macération.

II.1.2. L'extraction par décoction

On mélange 2 g de poudre de la plante avec le méthanol / eau (30 : 70 v/v), ce mélange est mis dans un chauffe-ballon et laissé bouillir pendant 15 minutes. Après refroidissement, l'échantillon est filtré et les filtrats sont évaporés à sec dans l'étuve à 55°C.

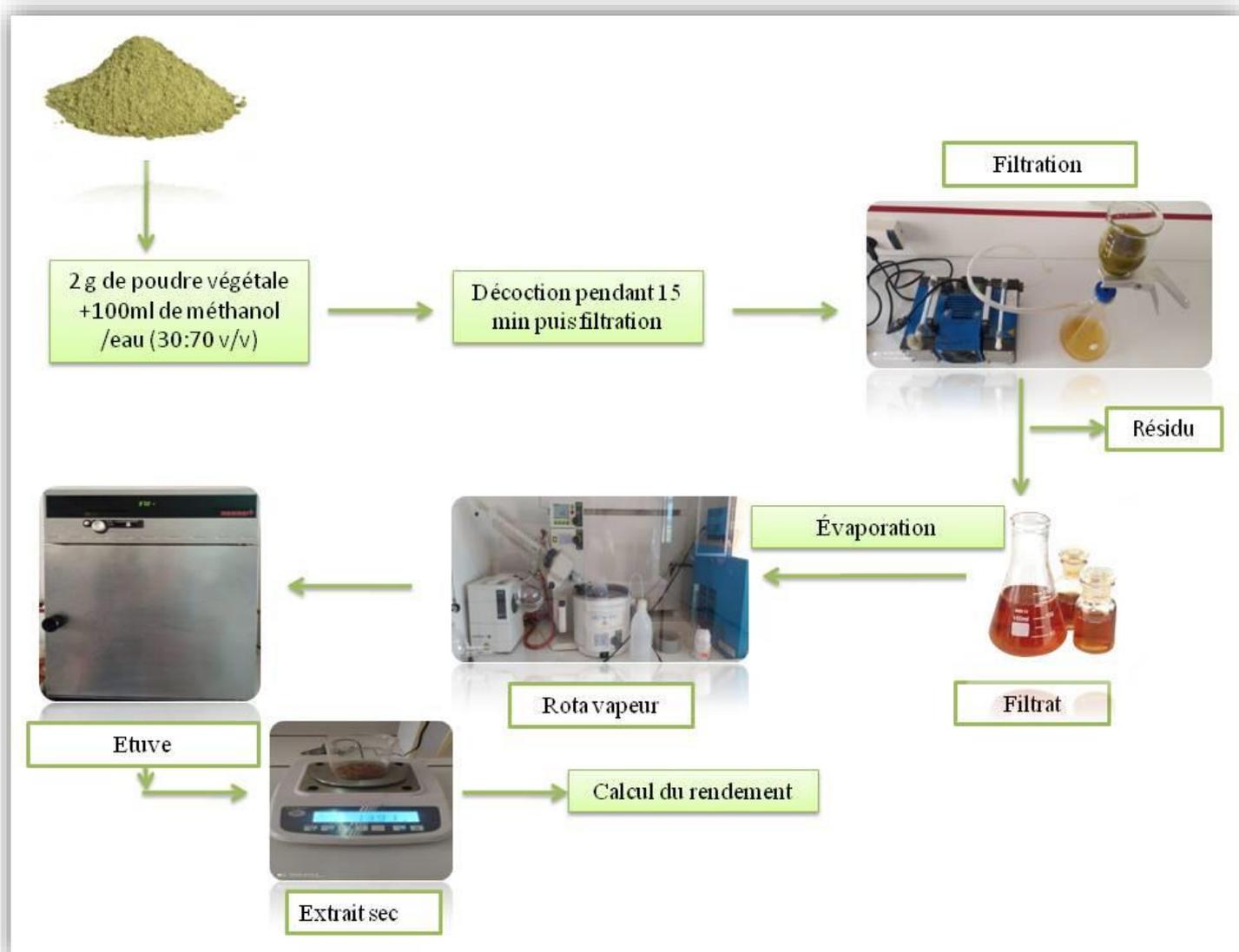


Figure 3 : Plan d'extraction par décoction.

II.1.3. L'extraction par infusion

On verse un mélange 30 ml de méthanol et 70 ml de l'eau distillée bouillants sur 2 g de poudre de la plante. On laisse le mélange reposer et refroidir puis on fait la filtration. Le filtrat est évaporé à sec dans l'étuve à 55°C.

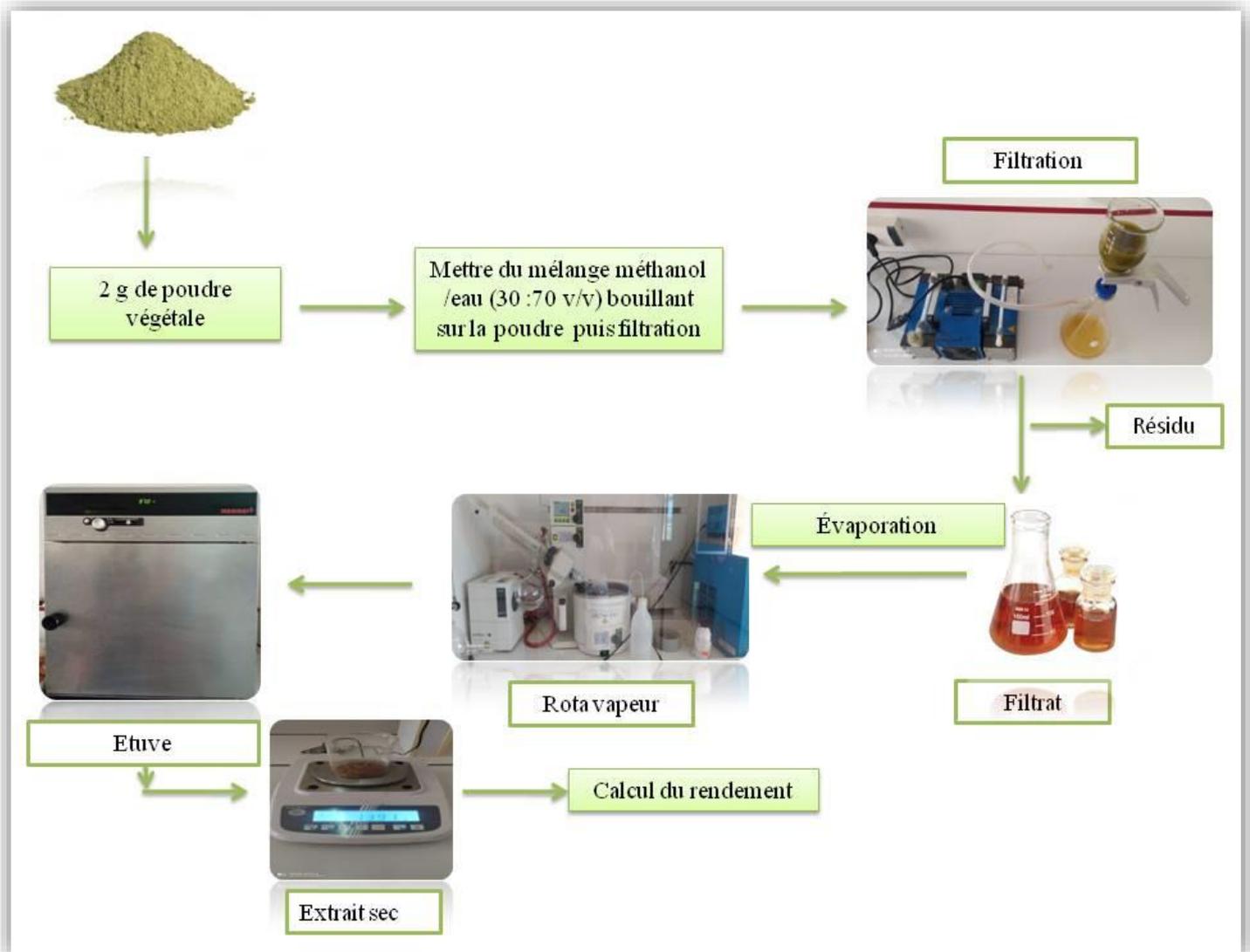


Figure 4 : Plan d'extraction par infusion.

II.2. Calcul des rendements

Les rendements d'extraction ont été calculés par la formule donnée par **Fallah et ses collaborateurs (2008)**.

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

R (%) : Le pourcentage de rendement.

M_{ext} : La masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg.

M_{éch} : La masse sèche de la plante en mg.

II.3. Protocol expérimental

Les 25 souris mâles pesant de 26g à 41g ont été répartis complètement par randomisation en cinq groupes de cinq souris chacun, comme suit :

- **Groupe T (Groupe témoin)** : administration orale de l'eau de robinet (5j/semaine) ;
- **Groupe 1** : administration orale de 100 mg/kg du poids corporel de l'extrait (5j/semaine) pendant 14 jours.
- **Groupe 2** : administration de 100 mg/kg du poids corporel de l'extrait (5j/semaine) pendant 21 jours ;
- **Groupe 3** : administration de 150 mg/kg du poids corporel de l'extrait (5j/semaine) pendant 14 jours ;
- **Groupe 4** : administration de 150 mg/kg du poids corporel de l'extrait (5j/semaine) pendant 21 jours.

Les extraits ont été dilués dans l'eau distillée et administrés par voie orale aux animaux (par gavage à l'aide d'une canule fixée à une seringue graduée) entre 9^h:00 et 10^h:00 du matin. Les poids des animaux ont été pris et enregistrés chaque jour. Enfin, les souris ont été sacrifiées 24 heures après leurs dernières doses.

II.4. Evaluation de la toxicité

II.4.1. Signes et suivie clinique

Chaque animal a été observé quotidiennement pendant la période préalable, deux fois par jour (avant et après l'administration) pendant la période de traitement, et une fois avant le sacrifice pour la mortalité et les signes cliniques. Lorsque des constatations anormales ont été observées, le type de symptôme, le jour de l'événement a été consigné. Les animaux ont été pesés le jour de l'arrivée, avant la randomisation, chaque jour pendant le traitement (après l'administration), et avant le sacrifice.

II.4.2. Effet dépresseur d'*Ephedra alata*

II.4.2.1. Test de la natation forcée (forced swimming test)

Chaque souris a été placée dans un réservoir d'eau chaud (25°C) mesuré de (18 x 14 cm); pendant 5 min. Les durées de natation (mobilité) et de flottement (immobilité) ont été

enregistrés à l'aide d'une camera installée en haut du réservoir. Après le test chaque souris a été bien séchée avant de la remettre dans sa cage (**Costa et al., 2013**).

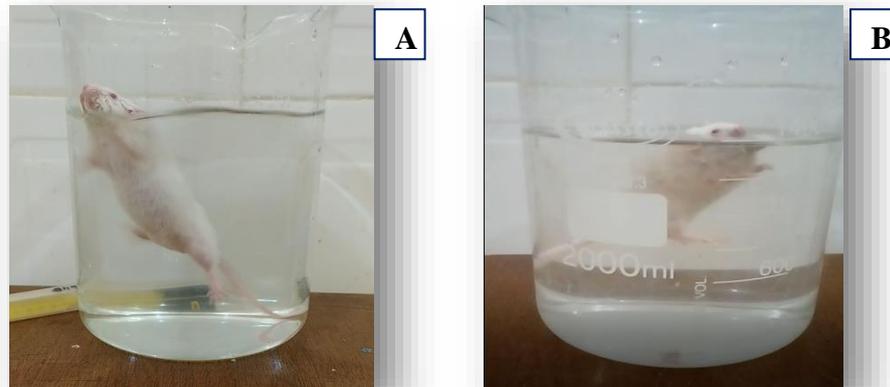


Photo 3 : Test de natation forcée : période de natation (A), période de flottement (B).

II.4.3. Prélèvement sanguin et dosage des paramètres hématologiques

Les souris ont été anesthésiées par l'éther d'éthylque puis sacrifiées par décapitation pour la collecte du sang et des organes. Le sang récupéré dans des tubes EDTA serve aux analyses hématologiques (FNS) par un automate type **ERMA INC**. Les analyses ont été réalisés au niveau d'EPSP (Etablissement publique de santé à proximité, Bordj Bou Arreridj, Algérie).

II.4.4. Prélèvement des organes

Après la dissection des animaux, les organes prélevés (le foie, les testicules, les pommons, la rate et le cœur) ont été bien dégraissés et rincés avec de l'eau de robinet puis de l'eau physiologique, puis ils ont été pesés et fixés immédiatement dans la solution de formol à 10% pour une analyse histopathologique ultérieure.

II.4.5. Spermogramme

L'épididyme de la souris a été excisé après le sacrifice. Les spermatozoïdes sont obtenus en réalisant des petites coupures avec des ciseaux sur la section distale de la queue des deux épидидymes proche du canal efférent. Les queues coupées sont laissées baigner dans 2 ml de solution d'eau physiologique préchauffée à 35-37°C pendant 3 minutes pour une meilleure diffusion des spermatozoïdes. Le sperme est mélangé par agitation et une deuxième dilution de 1/20^{ème} est effectuée avec la même solution pour compter les spermatozoïdes sur une cellule de Malasez (**Allouche, 2008**).

La viabilité des spermatozoïdes (rapport vivant/mort) a été évaluée à l'aide de la technique de coloration d'éosine. Les spermatozoïdes morts ont absorbé la tache tandis que les spermatozoïdes mobiles vivants sont restés non souillés. Le pourcentage de spermatozoïdes viables a été calculé à partir de cela. Le nombre de spermatozoïdes a été estimé à l'aide d'une vidéo camera. Les spermatozoïdes présentant une morphologie anormale ainsi ceux malformés ont été comptés (Allouch et al., 2009 ; Obembe et Raji, 2018).

II.4.6. Histopathologie

Les animaux ont été mets à jeun une nuit avant leur sacrifice. Après la dissection des animaux, les organes (foie, reins, cœur, testicules, pommons, et rate) ont été prélevés, dégraissés, rincés par l'eau physiologique, pesés, ensuite ont été fixés dans le formol à 10% pour des analyses histologiques.

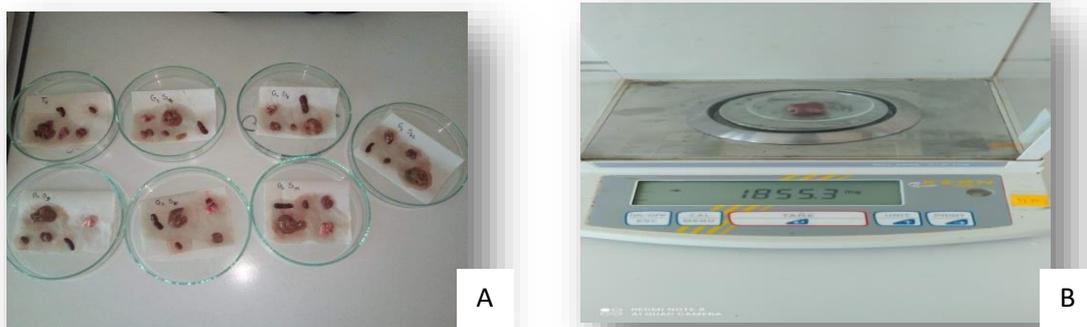


Photo 4 : (A) Prélèvement des organes ; (B) pesage des organes.

Les organes ont été coupés et mis dans des cassettes bien numérotées, ensuite imprégnés dans une solution de formaldéhyde tamponné à 10 % v/v pour les fixer, après ont été déshydratés par l'intermédiaire des grades ascendants d'éthanol (70, 90 et 95 % v/v). Ils ont été éclaircissés dans le xylène, imprégnés et noyés dans la cire de paraffine. Ce processus est fait par un appareil de circulation automatisé pendant une durée de 16 heures. Après cette durée on passe par l'inclusion de ces particules dans les cassettes avec la paraffine chaude (45°C) et on les laisse refroidir.

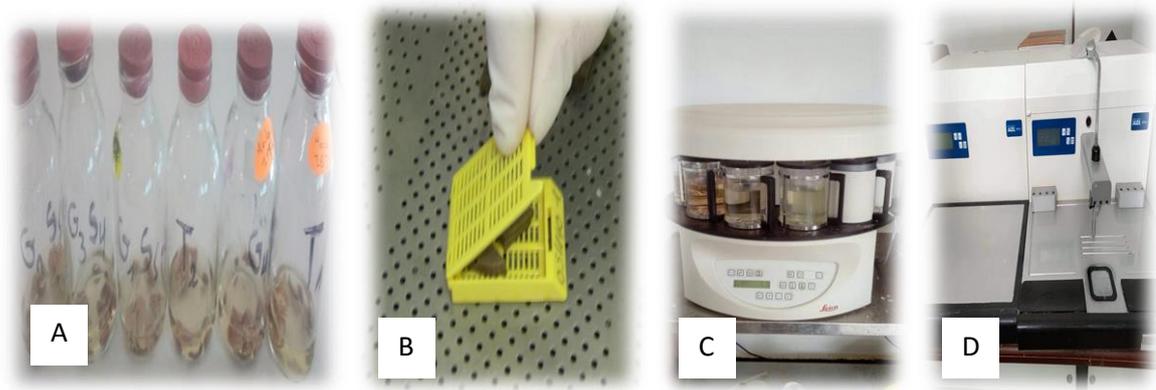


Photo 5 : (A) la fixation des organes dans le formaldéhyde tamponné à 10 % v/v ; (B) les cassettes ; (C) l'appareil de circulation ; (D) enrobage des échantillons à chaud et à froids.

Ces blocs de paraffine ont été coupés à 4 μm sur un microtome rotatif. Les sections ont été projetées sur des lames de microscope propres, qui avaient auparavant été séchées pour empêcher le décollement des lames pendant la procédure de coloration. Ils ont été séchés sur une plaque chauffante (37°C). Après la coloration, les lames ont été passées par huit bacs de xylène, quatre bacs

d'alcool, eau courante, un bac d'hématoxyline, eau courante, deux bacs d'éosine, eau courante, quatre bacs d'alcool et quatre bacs de xylène (avec 2 minutes pour chaque bac).

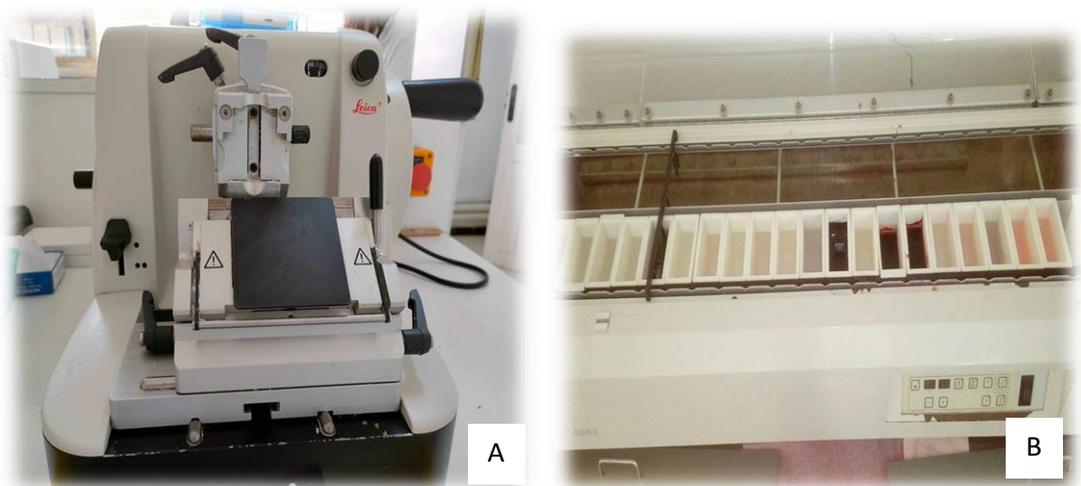


Photo 6 : (A) Microtome rotatif ; (B) appareil de coloration des lames.

Un support de montage permanent a été mis sur la section de tissu. Une fine lamelle recouverte de verre a été placée sur le milieu de recouvrement et les sections de tissus sous-jacents ont été laissées sécher. Ceci a été observé plus tard en utilisant le microscope optique. Ce processus est fait dans l'hôpital de BOUZIDI Lakhdar, laboratoire d'anatomie-pathologique.

II.5. Analyses statistiques

Les résultats obtenus ont été codés et validés dans le logiciel *IBM SPSS statistics 25.0*, puis analysés statistiquement. Les résultats ont été présentés sous la forme de moyenne \pm erreurs sur la moyenne. Les données ont été évaluées par la méthode d'analyse ANOVA one-way suivie du test de comparaison multiple de Tukey au seuil de 5% pour apprécier la signification des différences observées. Les différences sont considérées significatives pour $p \leq 0,05$.

Enfin, les représentations graphiques ont été réalisées par le logiciel Excel.

RESULTS

&

DISCUSSION

I. Résultats

I.1. Calcul des rendements

La préparation des extraits hydro-alcooliques à partir de la partie aérienne d'*Ephedra alata alenda* été effectuée selon trois méthodes par deux solvants « le méthanol 30% et l'eau 70%»:

- ✦ Extraction par macération ;
- ✦ Extraction par décoction ;
- ✦ Extraction par infusion.

Ces méthodes ont permis d'obtenir plusieurs extraits dont les rendements étaient calculés selon la formule suivante (Hamoudi, 2021) :

$$R(\%) = \frac{\text{La masse de l'extrait après évaporation du solvant (mg)}}{\text{La masse sèche de la plante (mg)}} \times 100$$

Les résultats sont résumés dans l'histogramme suivant :

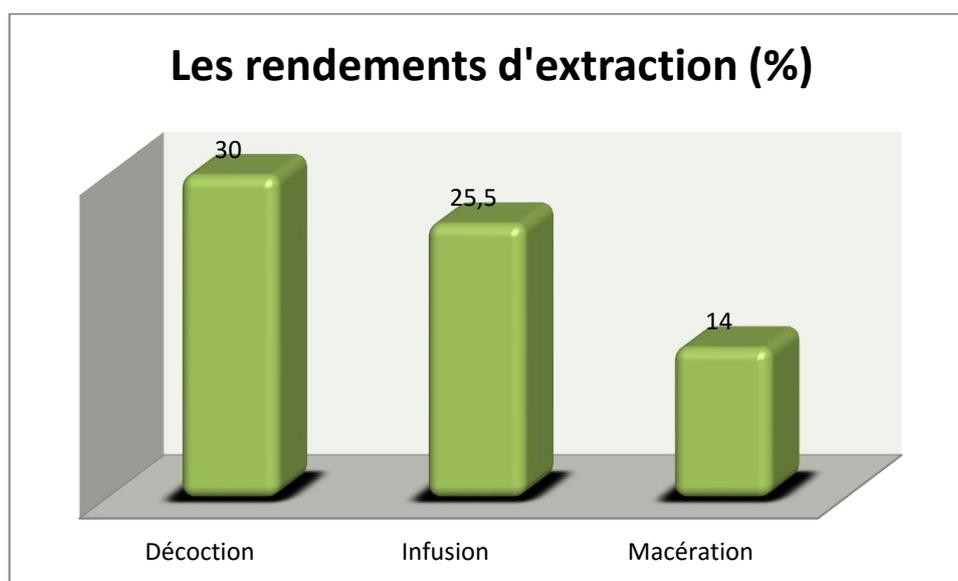


Figure 5: Rendements (%) d'extractions hydro-alcooliques obtenus par trois méthodes d'extraction solide/liquide.

À partir des résultats obtenus, nous avons constaté que l'extrait préparé par décoction a le rendement le plus élevé, soit 30 %. Au contraire, les extraits préparés par infusion et macération ont un rendement d'environ 25,5% et 14% respectivement. Le meilleur rendement d'extraction, des trois méthodes utilisées est le rendement de la décoction. Ces résultats sont inférieurs à ceux trouvés par Messadia, (2017) sur *Ephedra alata Decne*. Il convient de

souligner qu'il est difficile de comparer les rendements aux résultats de la bibliographie, parce que le rendement d'un extrait n'est que relatif et dépend du procédé et des conditions dans lesquels il a été extrait. Aussi les conditions dans lesquelles la plante était vécue (le climat, l'humidité, la région de récolte etc...). Toutes ces conditions sont susceptibles d'influer sur le pourcentage de rendement.

Dans ce travail on a choisis de faire l'extraction par la décoction par ce qu'elle a le meilleur rendement.

I.2. Signes de toxicité

Plusieurs mortalités ont été enregistrées chez les animaux traités par l'extrait hydro-méthanolique tout au long de l'expérience. Une diarrhée et une perte de poids ont été observées comparativement au groupe de témoins. Cette perte de poids pourrait être le résultat d'une diminution de l'apport en nourriture et en eau, ou une perte de l'appétit.

I.3. Tests neurocomportementaux

I.3.1. Test de la nage forcée

Les variations des temps d'immobilité et des temps de la nage chez les souris témoins et traités subissent le test de la natation forcée au 8^{ème} jour de traitement sont présentées dans les figures suivantes :

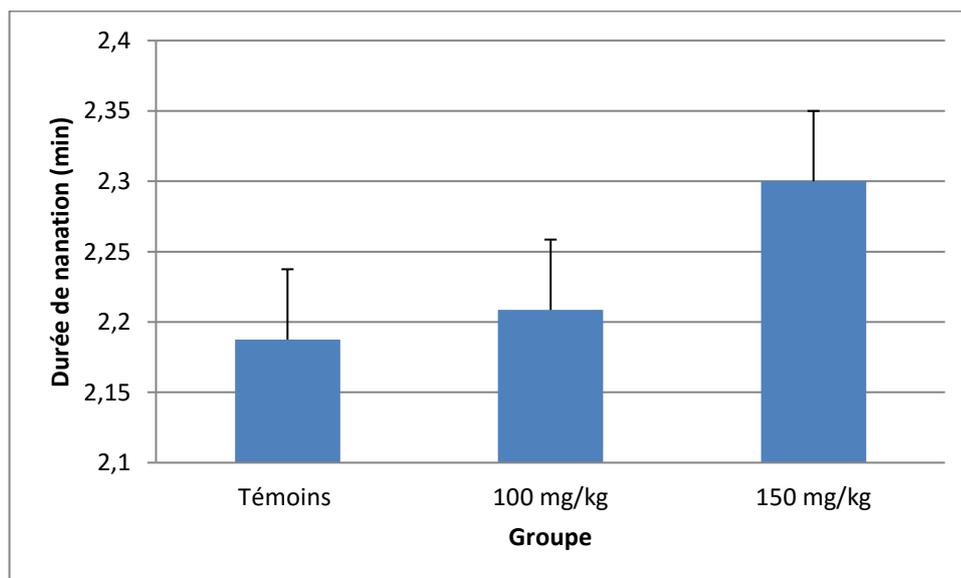


Figure 6: Effets d'*Ephedra alata* sur le temps de natation (mobilité) pendant le test de nage forcée chez les souris mâles de souches NMRI. Les valeurs sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM

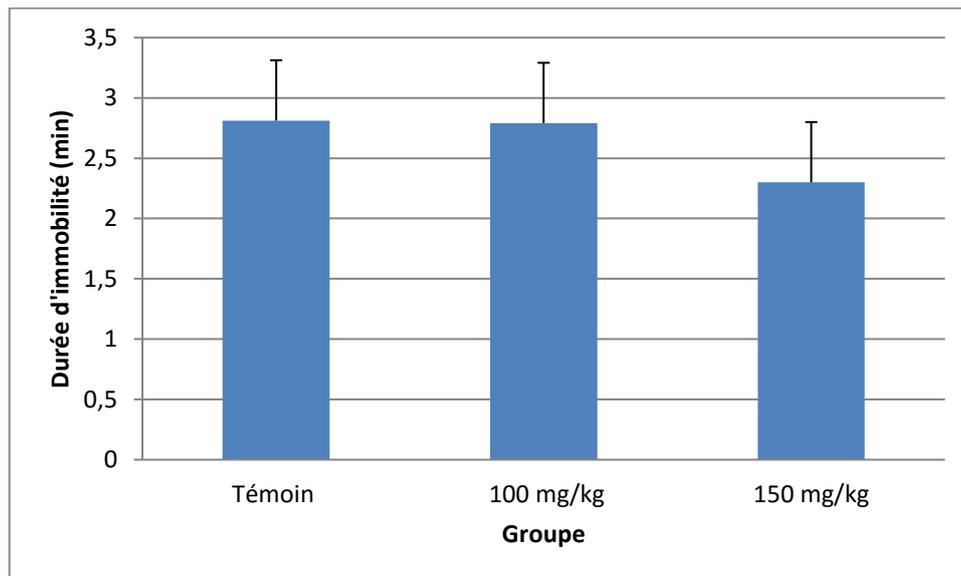


Figure 7: Effets d'*Ephedra alata* sur le temps d'immobilité (flottement) pendant le test de nage forcée chez les souris mâles de souches NMRI. Les valeurs sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM

À partir des résultats obtenus, nous avons constaté que le temps d'immobilité (flottement) chez les souris traitées par l'extrait a été diminué, alors que le temps de mobilité (nage) a été augmenté par rapport aux souris témoins. Néanmoins, ces résultats ne sont pas significatifs ($p=0.95$). Cela indique que cette plante peut avoir un effet stimulateur. **Hiroaki Takemoto et al (2018)**, ont trouvé que l'*Ephedra herba* réduit le temps d'immobilité des souris d'une manière dépendante de la dose dans le test de nage forcée, ce qui indique que cette plante avait une action excitatrice. L'administration de l'EHE (700 mg/kg) a augmenté l'activité locomotrice et a également raccourci le temps d'immobilité, suggérant que l'EHE a des effets de stimulation centrale.

I.4. Evolution pondérale

La figure suivante illustre le poids des souris au début d'expérience, on peut dire que les groupes ayant presque le même poids donc ils sont homogènes au démarrage d'étude.

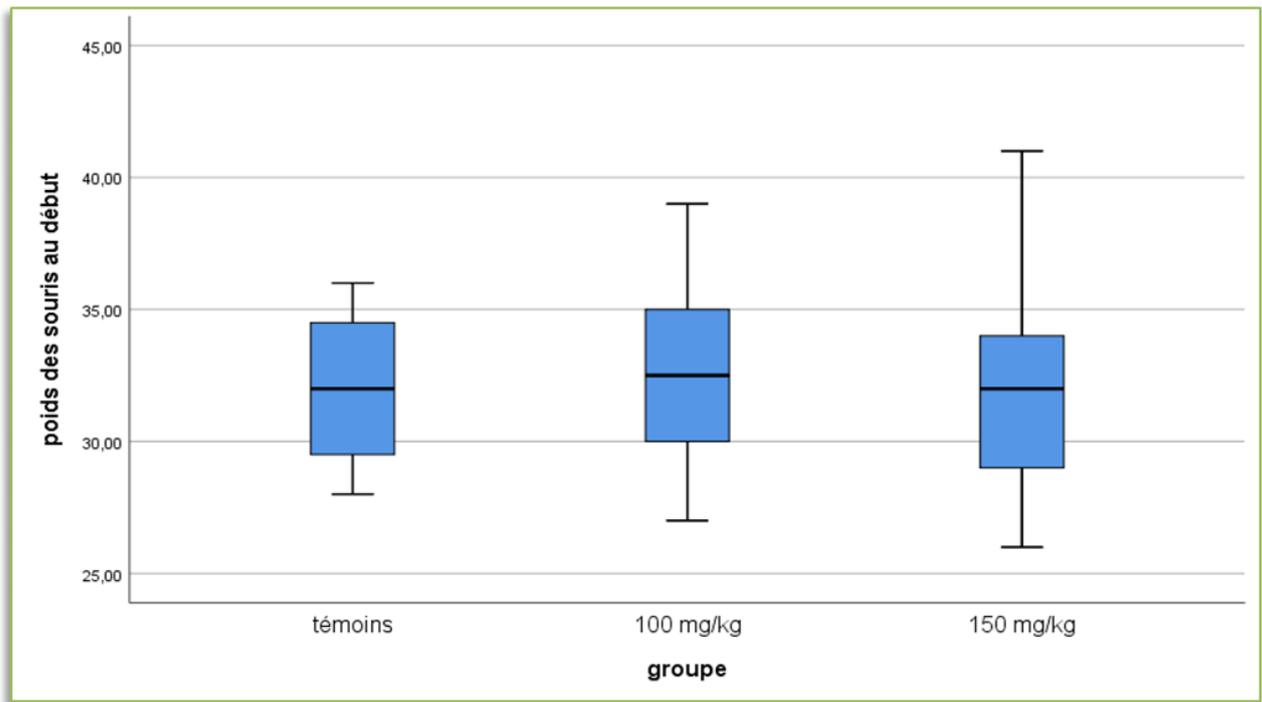


Figure 8: Les poids des souris témoins, traités avec une dose de 100 mg/kg et traité avec 150 mg/kg au début de l’expérience (jour 0).

Tableau III: Poids corporels (g) des souris de groupes traités et groupes témoins pendant 14 jours de traitement.

jours	Témoins	100 mg/kg	150 mg/kg
1 ^{er}	32 ± 3,36	32 ± 3,59	32 ± 4,23
7 ^{ème}	33 ± 3,46	29 ± 3,42	28 ± 4,74
14 ^{ème}	33 ± 2,70	28 ± 1,73	31 ± 3,53

Le tableau indique les changements de poids corporels des souris de groupe traités par rapport aux témoins pendant 14 jours de traitement par l’extrait. On a noté une diminution non significative du poids corporel des groupes traités avec l’extrait à la dose 100 mg/kg, les souris traités par la dose 150 mg/kg ont subit une diminution du poids au cour de 7^{ème} jour du traitement ($28 \pm 4,74342$ g), puis une prise de poids au 14^{ème} jour du traitement. Ce gain de poids, n’est pas significatif aussi ($p=0.14$).

I.4.1. Poids relatifs des organes

Les calculs des poids relatifs des organes après 14 jours du traitement sont présentés dans le tableau IV et les figures (9, 10, 11, 12 et 13) au dessous.

Tableau IV : Poids relatifs des organes (%) chez les souris du groupe témoin et de groupes traités par l'extrait hydroalcolique d'*Ephedra alata* pendant 14 jours.

Organes	Témoins (n=3)	100 mg/kg (n=3)	150 mg/kg (n=4)
Foie	5.44 ± 0.44	7,39 ± 1.19	7,00 ± 1.41
Reins	0.99 ± 0.13	1.40 ± 0.09*	0.93 ± 0.14
Rate	0.55 ± 0.26	0.87 ± 0.24*	1.20 ± 0.27*
Poumons	1.55 ± 0.05	2.59 ± 1.56	1.23 ± 0.28
Testicules	0.43 ± 0.05	0.77 ± 0.49	1.30 ± 1.11*

Les poids relatifs des foies et des poumons ne présentaient aucune différence significative ($p > 0,05$). Cependant, nous pouvons constater l'augmentation significative par rapport aux organes des témoins des :

- Masses relatives des reins des souris traitées par 100 mg/kg (**p=0.04**) ;
- Masses relatives des rates des souris traitées par 100 mg/kg et 150 mg/kg (**p=0.03**) ;
- Masses relatives des testicules des souris traitées par 150 mg/mg (**p=0.04**).

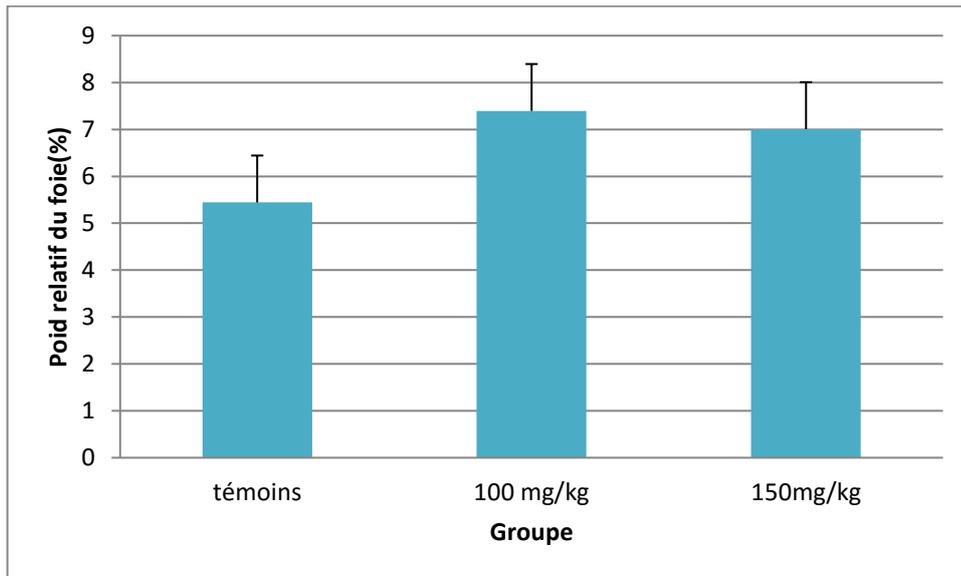


Figure 9: Valeurs de la masse relative du foie (%) des souris mâles témoins et traitées par l'extrait hydro-méthnolique de *l'ephedra alata alenda*. Les valeurs sont présentées en moyennes \pm SEM.

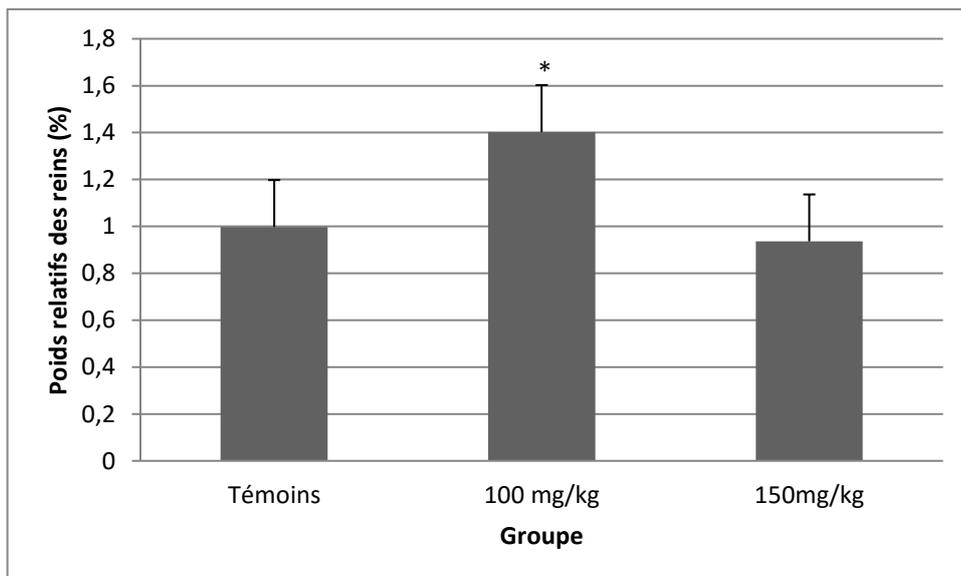


Figure 10: Valeurs des masse relatives des reins (%) des souris mâles témoins et traitées par l'extrait hydro-méthnolique de *l'ephedra alata alenda*. Les valeurs sont présentées en moyennes \pm SEM.

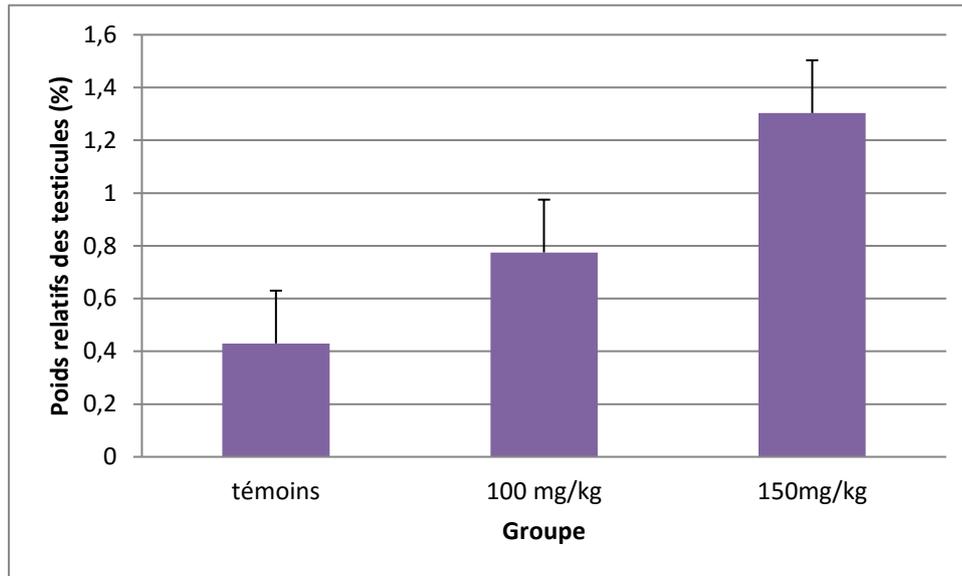


Figure 11: Valeurs des masses relatives des testicules (%) des souris mâles témoins et traitées par l'extrait hydro-méthnolique de *l'ephedra alata alenda*. Les valeurs sont présentées en moyennes \pm SEM.

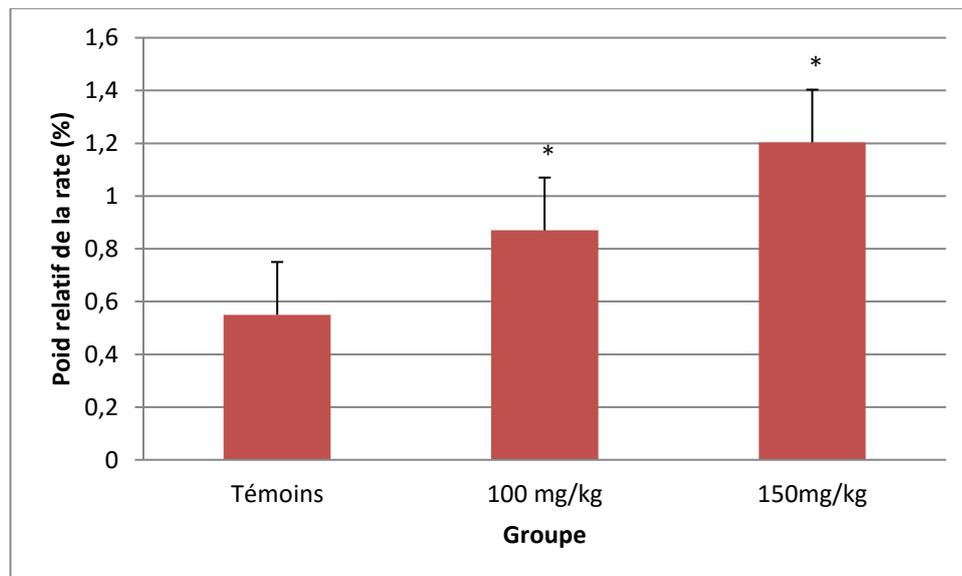


Figure 12: Valeurs des masses relatives des rates (%) des souris mâles témoins et traitées par l'extrait hydro-méthnolique de *l'ephedra alata alenda*. Les valeurs sont présentées en moyennes \pm SEM.

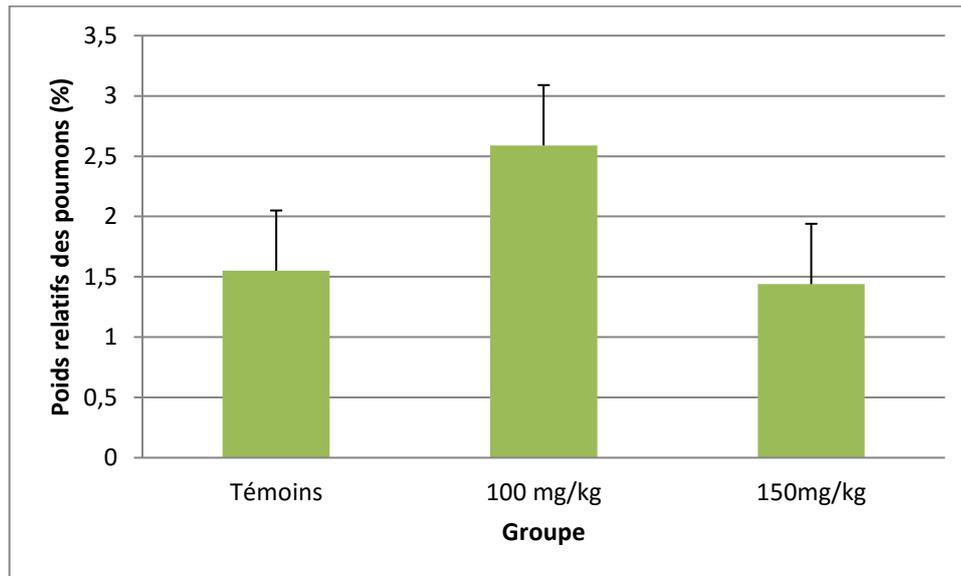


Figure 13: Valeurs des masses relatives des poumons (%) des souris mâles témoins et traitées par l'extrait hydro-méthanolique de *l'ephedra alata alenda*. Les valeurs sont présentées en moyennes \pm SEM.

I.5. Paramètres hématologiques

I.5.1. Paramètres de lignée leucocytaire

Selon les résultats des analyses hématologiques (lignée leucocytaire) présentés dans les figures (14) et (15), on observe une augmentation importante de taux des lymphocytes et des monocytes, dans les deux groupes traités par l'extrait hydro alcoolique d'*Éphédra Alata* par rapport au groupe témoin. Néanmoins, le nombre des analyses hématologiques autorisées au sein du laboratoire est limité (deux échantillons seulement pour chaque groupe) ; alors la signification de ces résultats ne peut pas être assurée et d'autres expérimentations seront indispensables.

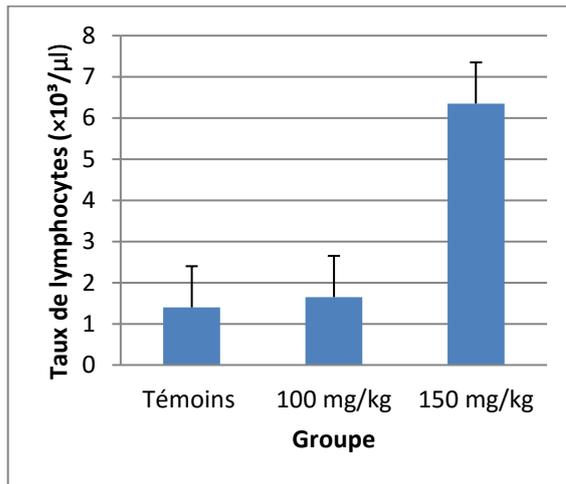


Figure 14: Taux de lymphocytes ($10^3/\mu\text{l}$) chez les souris témoins et traitées par l'*Ephédra Alata*.

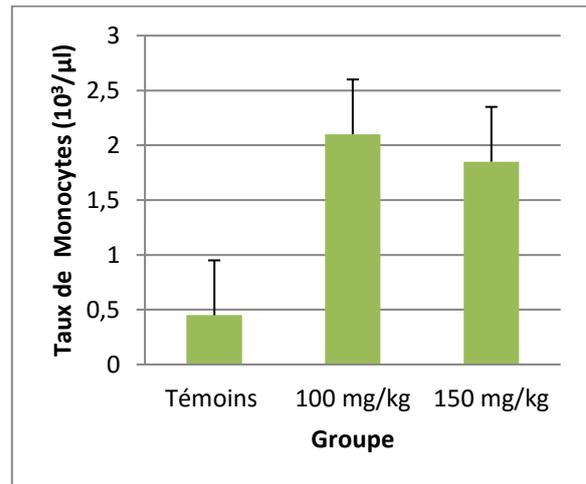


Figure 15 : Taux de Monocytes chez les souris témoins et traitées par l'*Ephédra Alata*.

I.5.2. Paramètres de lignée érythrocytaire

Selon les résultats de paramètres hématologiques (lignée érythrocytaire) présentés, il y a eu une perturbation remarquable du taux d'hémoglobine et de plaquettes dans les deux groupes traités par rapport au groupe témoin.

On observe également une diminution impressionnante du taux d'hémoglobine dans les groupes traités par l'extrait. De même, ces résultats ne sont pas significatifs due aux nombre limité d'échantillons testés.

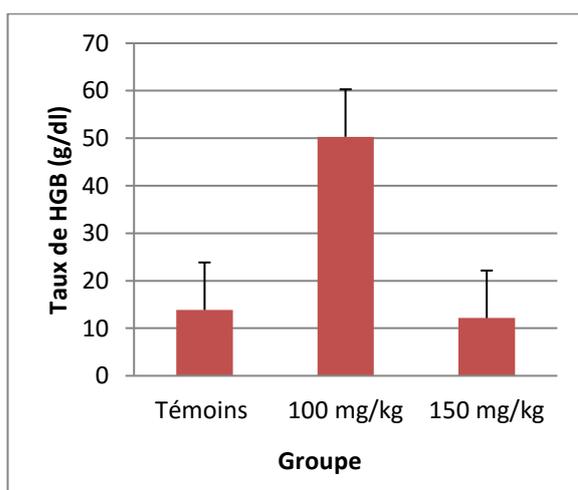


Figure 16 : Taux d'hémoglobine chez le groupe témoin et les groupes traités par l'*Ephédra Alata*.

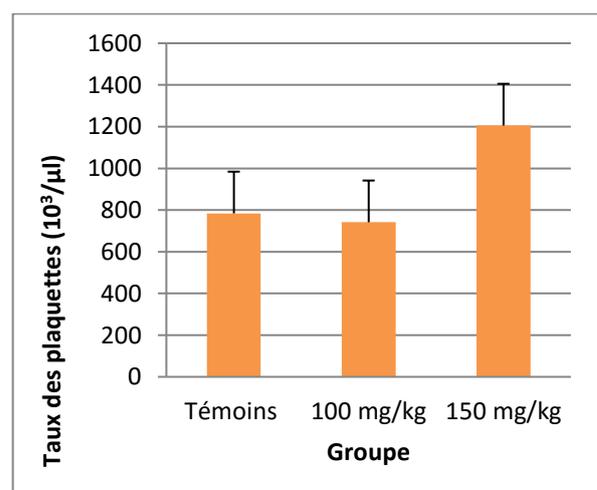


Figure 17 : Taux des Plaquettes chez le groupe témoin et les groupes traités par l'*Ephédra Alata*.

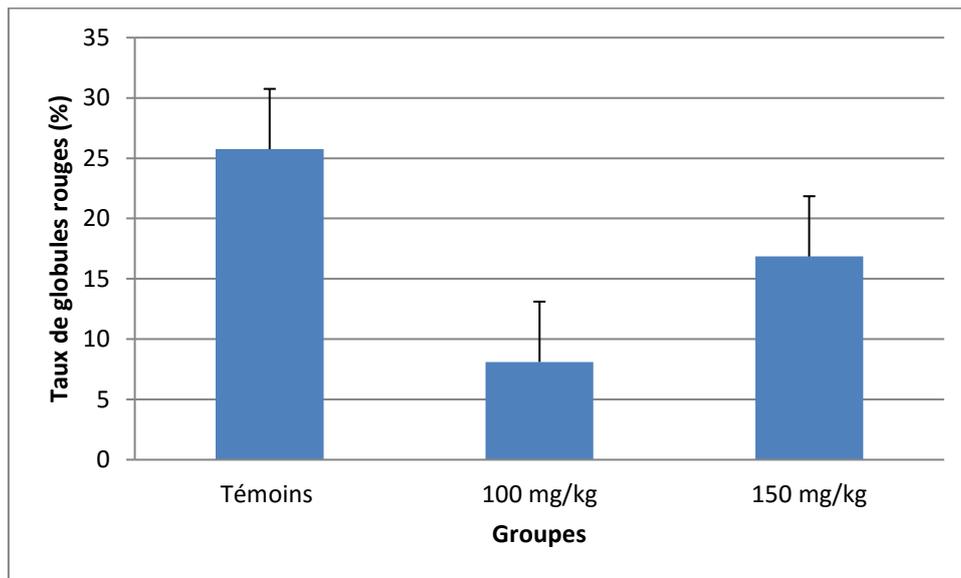


Figure 18: Taux des globules rouges (%) chez les souris témoins et traitées par 100 mg/kg et 150 mg/kg de l'extrait hydrométhanolique de l'*Ephédra Alata*.

Dans notre étude, on observe une augmentation importante dans les principales cellules immunitaires comme les lymphocytes et les monocytes bien que l'augmentation de ces dernières indique la présence d'une inflammation. Par contre **Hyoung-Yun Han et ses collaborateurs (2018)** ont trouvé qu'il n'y a eu aucun changement significatif sur le plan toxicologique dans les paramètres hématologiques résultants de l'administration de l'extrait aqueux d'*Ephedra herba* (**Domanique, 2001**).

Dans nos résultats, nous avons observé une perturbation du taux de l'hémoglobine dans les groupes traités par l'extrait d'*Ephedra Alata*. Ces résultats sont pertinents avec ceux trouvés par **Ambreen Malik Ultra (2018)** qui a injecté l'extrait aqueux d'*Ephedra gerardiana*.

I.6. Spermogrammes

Le tableau suivant représente le nombre total de spermatozoïdes et les taux de cellules vivantes et mortes chez les groupes témoins et les groupes traités.

Tableau V : Nombre total de spermatozoïdes et taux de cellules mortes et vivantes chez les souris témoins et traitées par l'extrait de l'*ephedra alata*.

	Témoins	Traités
Spermatozoïdes vivants (%)	69,70 ±13.82	53,27± 7.42*
Spermatozoïdes morts (%)	30,28 ±13.82	48,01 ±8.98*
Nombre total de Spermatozoïdes	605.00±21.21	320 ± 50.19*

Nous pouvons constater que le nombre total de spermatozoïdes a été significativement diminué (p=0.03).

Ainsi, le taux des spermatozoïdes morts a augmenté ; alors que celui de spermatozoïdes vivants a diminué. Cette perturbation est aussi significative.

I.6.1. Types d'anomalies observées

Le tableau suivant représente les types des anomalies trouvées chez les spermatozoïdes des souris du groupe traité et du groupe témoin.

Tableau VI: Anomalies morphologiques des spermatozoïdes chez les groupes traités par l'extrait hydro-méthanolique de l'*Ephedra alata* et le groupe témoin.

Type d'anomalie	Témoins (n=4)	Traités (n=5)
Spermatozoïdes normaux	64,2 ± 4.26	27,37 ±14.73*
Malformation de tête	12,08 ± 2.94	20,24 ± 9.22*
Malformation de queue	13,47 ± 0.98	39,06± 2.91*
Malformation de pièce intermédiaire	10,22 ± 0.31	13,37 ± 5.15

Nous pouvons remarquer que le taux de spermatozoïdes normaux a diminué considérablement (**27,37 ±14.73**) ce qui signifie une haute augmentation de malformations. Ces anomalies sont représentées essentiellement au niveau de la tête (**20,24 ± 9.22**) et de la queue (**39,06± 2.91**).

Les photos suivantes (7 à 12) montrent un spermatozoïde normal, ainsi que des spermatozoïdes présentant chaque type d'anomalies (tête, pièce intermédiaire, queue) avec un grossissement X40.

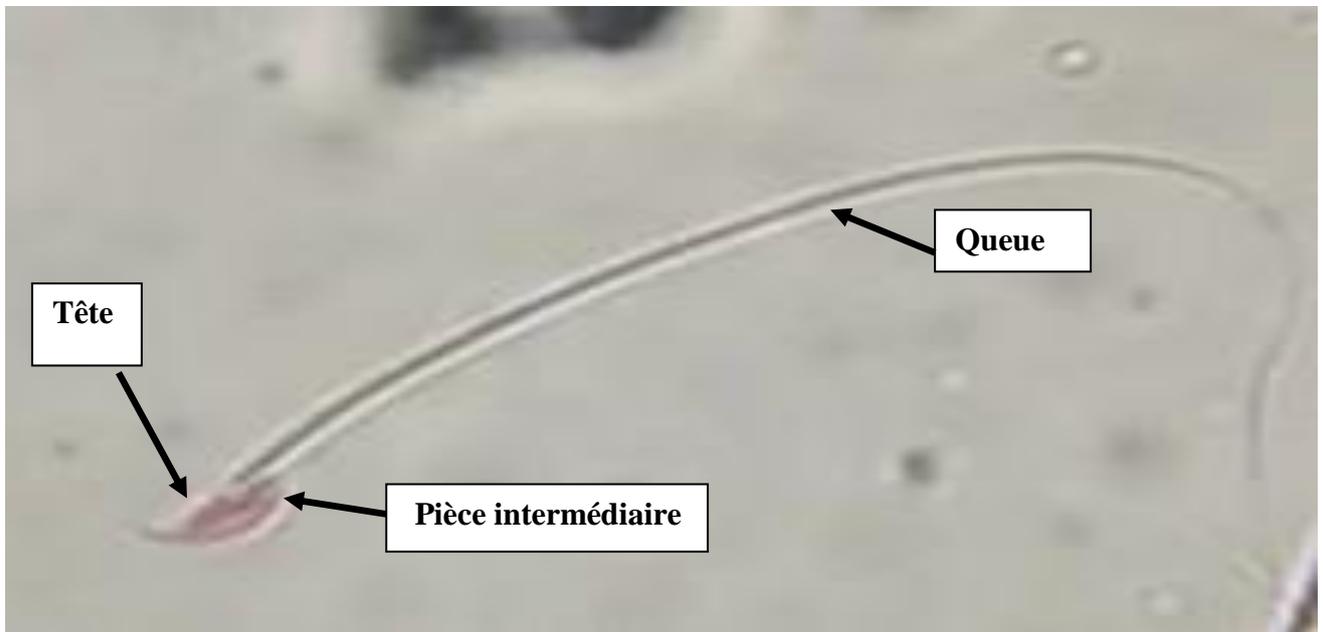


Photo 7 : Spermatozoïde normal d'une souris du groupe témoin.



Photo 8 : Spermatozoïde présentant une anomalie de la tête.



Photo 9 : Spermatozoïde présentant une anomalie de la pièce intermédiaire d'une souris du groupe traité.



Photo 10 : Spermatozoïde présentant une anomalie de la queue d'une souris du groupe traité.

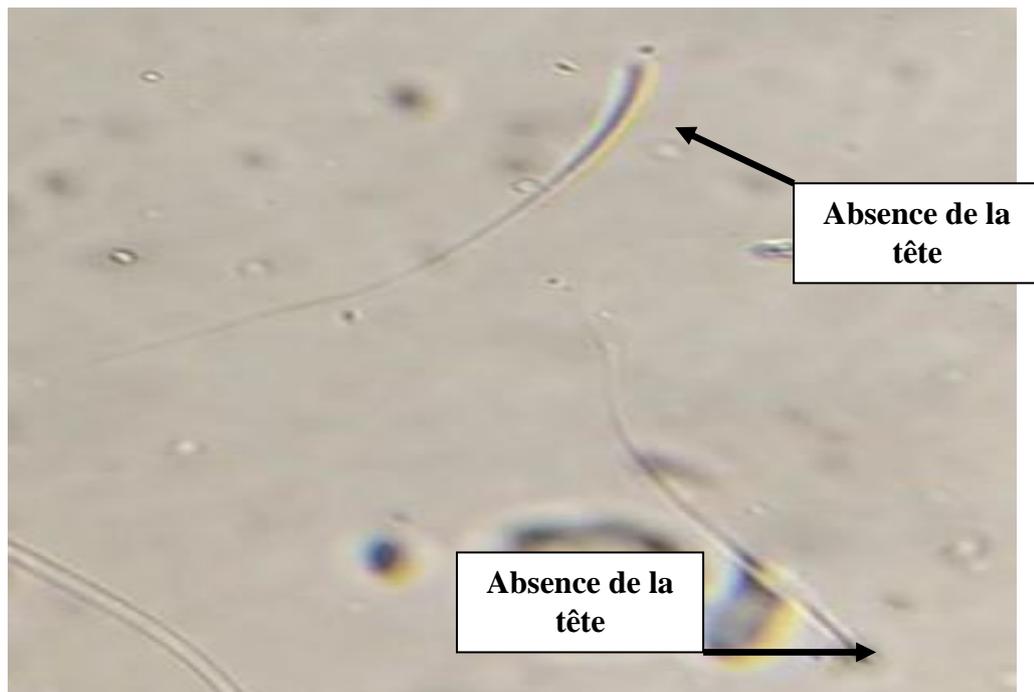


Photo 11 : Spermatozoïde présentant une anomalie de la tête d'une souris du groupe traité.



Photo 12 : Spermatozoïde décapité avec une tête détachée d'une souris témoin.

I.7. Etude histologique

I.7.1. Effet de l'extrait d'*Ephedra alata alanda* sur l'histologie du foie

L'évaluation histo-pathologique (photo 13) du foie des groupes traités par l'extrait hydrométhanolique de la plante avec une dose de (100 mg/kg) a montré un discret infiltrat inflammatoire, et une inflammation péri portale et lobulaire (nécrose) modérée à sévère, inflammation modérée péri portale lobulaire avec dilatation des vaisseaux pour la dose la plus élevée (150 mg/kg).

Contrairement aux groupes traités, l'observation microscopique n'a révélé aucun changement macroscopique ou histologique pertinent ni aucun signe de lésion dans le groupe témoin. L'évaluation histologique du foie a montré que l'*Ephedra alata alanda* a induit des modifications structurales remarquables chez les groupes traités. Ces résultats sont complètement différents à ceux de **Gouasmia (2017)** qui a trouvé que le principe actif de l'espèce végétale *Ephedra alata*, collectée dans la région d' El Oued, a réparé les lésions issues de xénobiotique (Deltaméthrine). D'après les résultats trouvés par **Khenioua (2016)**, la lectine purifiée à partir de la plante *Ephedra alata* et le diclofenac ont la capacité de diminuer la plupart des effets nocifs induits par les LPS, la menace des radicaux oxygénés ce qui mène à la réduction des changements pathologiques. Et comme l'éphédrine est le principe actif majeur de l'espèce *Ephedra alata*, il est important de savoir qu'elle a beaucoup d'effets indésirables (surtout à des concentrations élevées), parmi lesquels, provoquer une hépatotoxicité avec nécrose massive sur les tissus hépatiques (**Zheng et Navaro, 2016**).

D'après la littérature on peut déduire que la région de collecte de la plante et aussi les conditions dans lesquelles la plante est vécue (le climat, l'humidité, la région de récolte etc...) sont susceptibles d'influer sur la composition chimique de la plante.

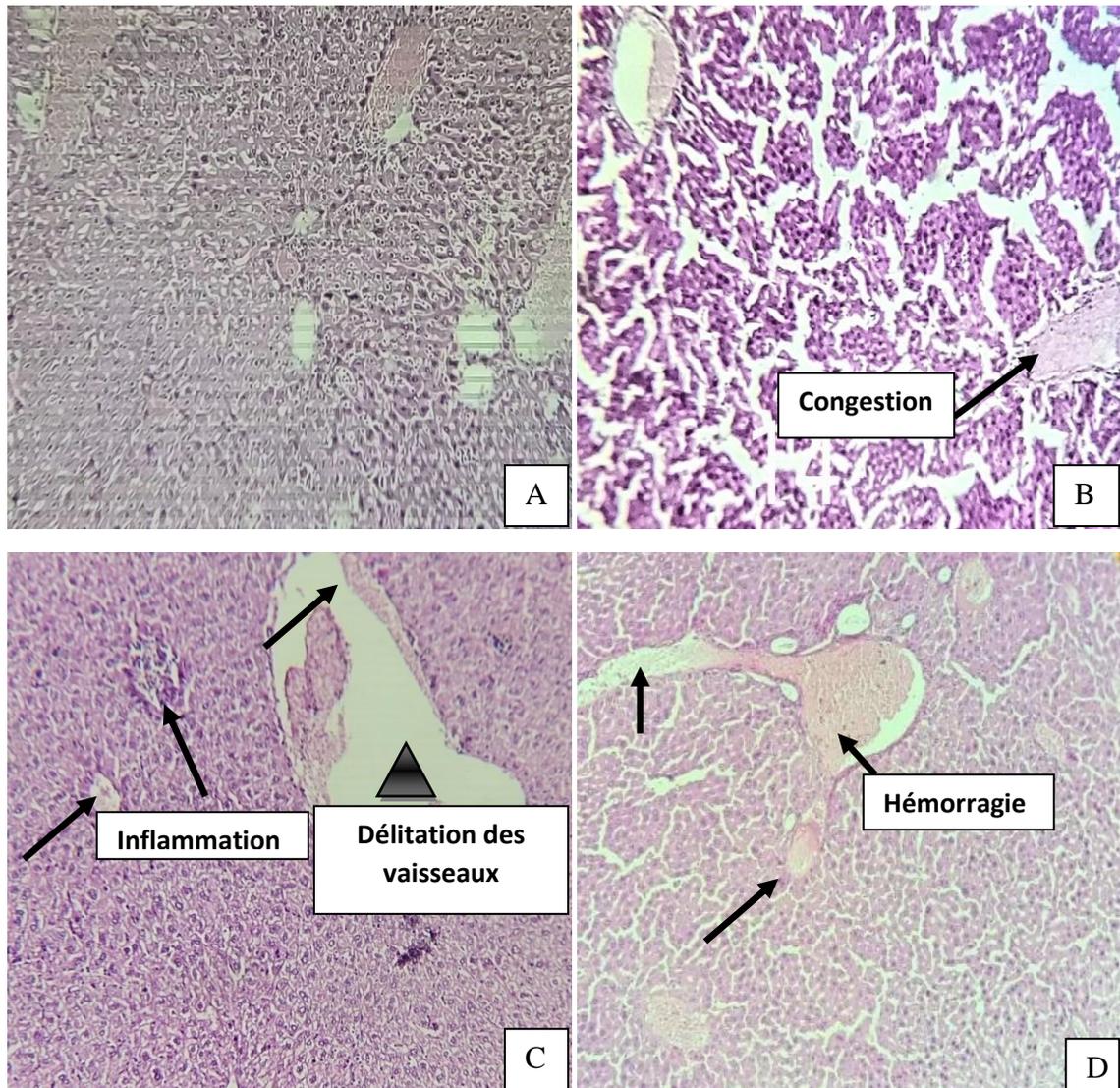


Photo 13 : Observation au microscope optique des coupes histologiques de foie du premier sacrifice chez le groupe des témoins (A), chez le groupes traités avec 100 mg/ kg (B), le groupe traité avec 150 mg/kg (C) et le foie de deuxième sacrifice pour le groupe traité avec une dose 150 mg/kg (D) (G X10).

I.7.2. Effet de l'extrait de *Ephedra alata alanda* sur l'histologie des reins

La coupe histologique des reins (photo 14) des groupes traités avec 100 mg/kg de l'extrait a montré une inflammation interstitielle légère, une nécrose tubulaire étendue, une nécrose tubulaire focale. Ainsi, une inflammation interstitielle légère à été observé chez les groupes traités avec la dose la plus élevée (150 mg/kg). Aucun changement macroscopique ou histologique pertinent chez le groupe témoin.

L'évaluation histologique des reins a montré que l'*Ephedra alata alanda* a induit des modifications structurales remarquables chez les groupes traités, mais **El- Nekeety et ses collaborateurs (2009)** ont trouvé que l'*Ephedra alata* affecte la fonction excrétrice des

néphrons, l'unité structurale et fonctionnelle des reins, qui est révélée par l'augmentation significative des niveaux de l'urée et la créatinine sanguine. Un taux élevé de ces produits dans le sang, peut être traduit par un dysfonctionnement rénal dû à la présence d'une néphropathie caractérisée par une réduction de la filtration glomérulaire. Par contre **Foughali (2021)** a trouvé que le prétraitement avec la plante *Ephedra alata* a diminué les changements morphologiques provoqués par la gentamicine (80 mg/kg) au niveau des reins et il a constaté que l'extrait de plante aidait à réduire les effets toxiques causés par la gentamicine en inhibant la formation des radicaux libres et en restaurant les systèmes de défense antioxydants.

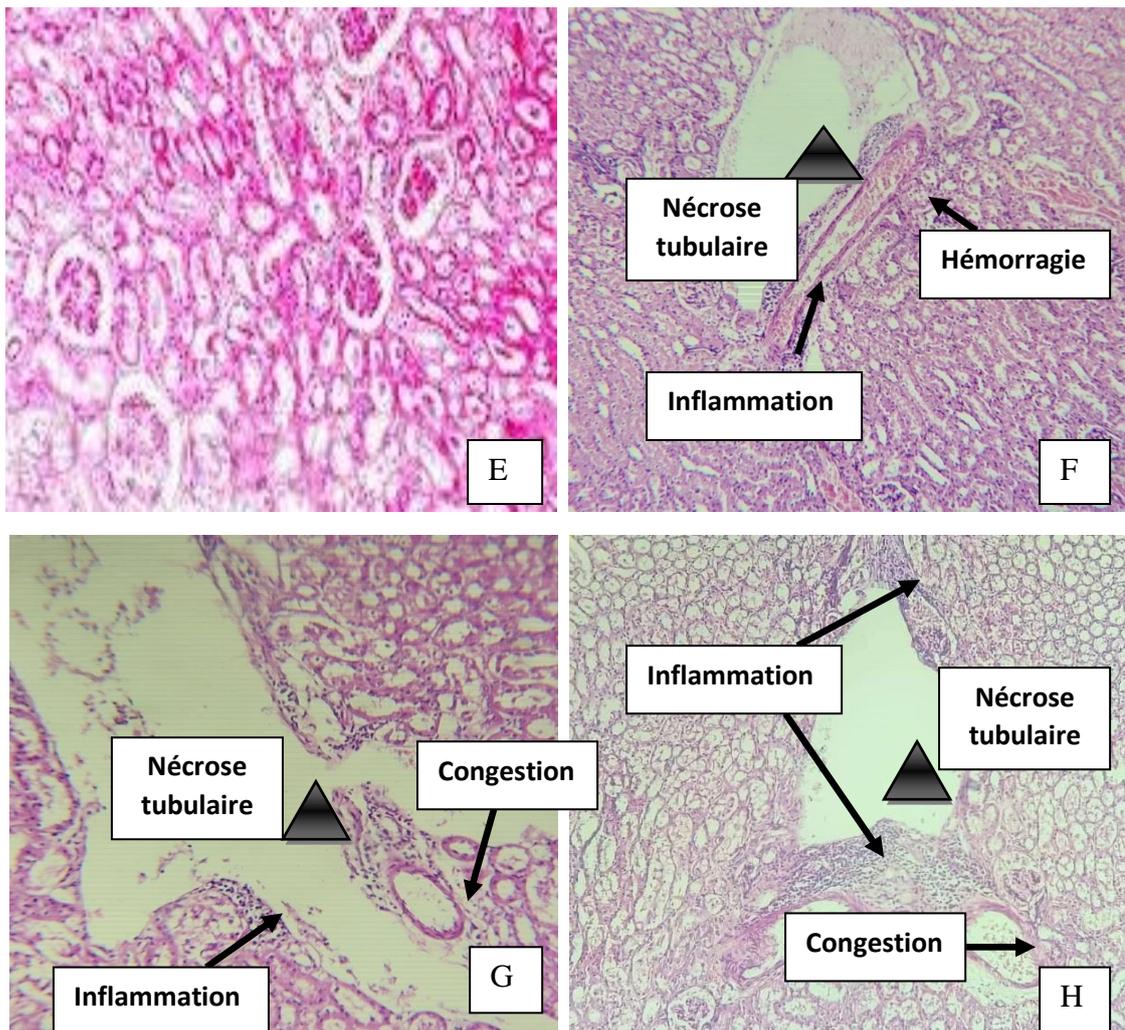


Photo 14 : Observation au microscope optique des coupes histologiques des reins pour le premier sacrifice chez le group témoin (E), chez le groupe traité avec une dose de 100 mg/kg (F), le groupe traité avec 150mg/kg (G), et de deuxième sacrifice pour le groupe traité par 150 mg/kg (H) (G X10).

I.7.3. Effet de l'extrait d'*Ephedra alata alenda* sur l'histologie des testicules

La coupe histologique des testicules (photo 15) des groupes traités avec 100 mg/kg de l'extrait a montré un début d'atrophie du tissu conjonctif car l'espace interstitiel devient visible avec un éloignement des tubes séminifères. De plus, l'évaluation des coupes histologiques des souris traités par la dose la plus élevée (150 mg/kg) montre des changements importants : une atrophie du tissu conjonctif modéré à sévère car l'espace interstitiel devient plus visible. Par contre les coupes histologiques réalisées sur les souris du groupe témoin montrent une architecture normale.

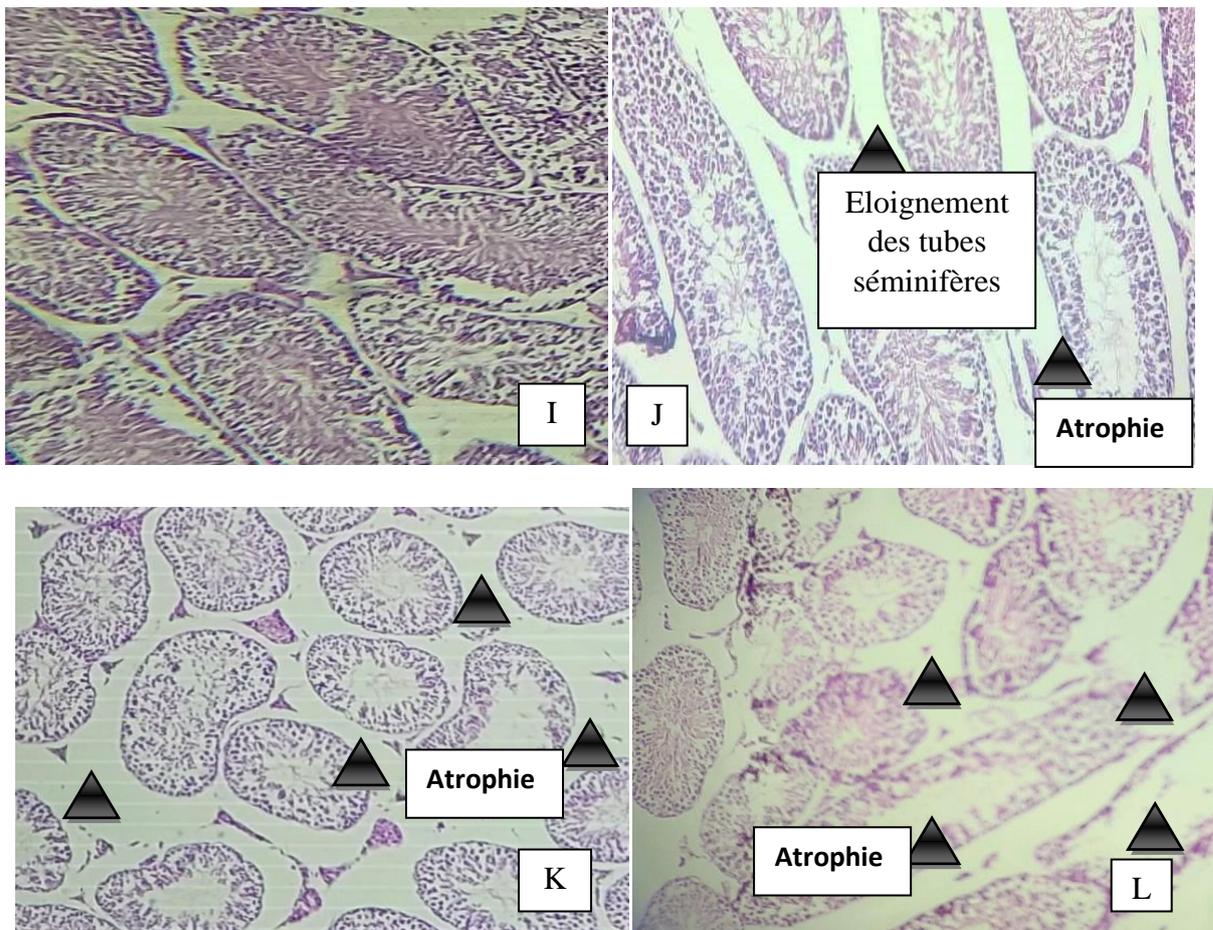


Photo 15: Observation au microscope optique des coupes histologiques des testicules pour le premier sacrifice chez le group témoin (I), chez le groupe traité avec 100 mg/ kg de l'extrait (G), le groupe traité avec 150 mg/kg (K), et de deuxième sacrifice pour le groupe traité par 150 mg/kg de l'extrait (L) (G X10).

D'après les résultats obtenus dans l'évaluation histo-pathologique des organes (foie, rein, et testicules), on observe des changements non négligeables pour le premier et surtout dans le second sacrifice et l'effet toxique de la plante apparaît plus évident avec un traitement prolongé.

CONCLUSION

Conclusion et perspectives

Comme l'indiquent les résultats, parmi les méthodes d'extraction liquide/solide utilisées l'extraction par décoction donne le meilleur rendement.

L'administration orale de l'extrait hydro-méthanolique de la partie aérienne d'*Ephedra alata alenda* chez les souris mâles NMRI a révélé une diminution non significative du poids corporel au cours d'expérimentation, aucune différence significative des poids pondérales des foies et des pommons, et une augmentation significative des poids relatifs des reins, rates et testicules. Ainsi, une perturbation des paramètres hématologiques et du spermogramme. Cette dernière est caractérisée par une diminution significative du nombre total des spermatozoïdes, du taux de mortalité et de malformations.

De plus l'étude histologique de quelques organes a montré des altération morphologiques au niveaux des foies, reins et testicules.

En outre, une augmentation non significative dans le temps de mobilité dans le test de natation forcée qui peut être dû à un effet excitateur de plante sur le système nerveux.

Enfin, après l'analyse des résultats *Ephedra alata alenda* pourrait être une plante toxique, avec des effets secondaires néfastes pour la santé des êtres humains, malgré qu'elle est utilisée pour la guérison de plusieurs maladies, mais il faut l'utiliser avec le maximum d'attention.

Les résultats obtenus dans le cadre de cette recherche peuvent être complétés par d'autres études comme :

- La détermination de la composition chimique de l'*Ephedra alata alenda*
- La détermination de la DL₅₀ de la plante *Ephedra alata alenda* et d'autres espèces d'éphédra.
- Effets de plante sur les appareils génitaux, digestif... et sur le système nerveux.
- Embryo-toxicité de plante.
- Vue à l'usage de cette plante par les malades atteint d'un cancer, l'étude de l'activité anticancéreuse de cette plante est primordiale.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- **A** -

Al-Awaida W., Al-Houran B.J., Akash M., Talib W.H., Zein S. et Falah R.R. (2018). In vitro anticancer, anti-inflammatory, and antioxidant potentials of *Ephedra aphylla*. *J. Cancer Res. Ther.***14(6):**1350-1354p.

Allouchea L., Hamadouche M., Touabtib A., (2009). Chronic effects of low lead levels on sperm quality, gonadotropins and testosterone in albino rats. *Experimental and Toxicologic Pathology* (61) 503–510.

Al-Qarawi, A.A., AbdAllah, E.F. and Hashem A. (2012). Effect of *Ephedra alata* on nucleic acids and nitrogen metabolism of seedborne *Aspergillus flavus*. Pakistan. *Journal of Botany.* **44(1):**425-428.

Al-Sanafi AE. (2017). Therapeutic importance of *Ephedra alata* and *Ephedra folita*-A review. *Indo Am. J. P.* **4(2):**399-406p.

Ambreen Malik Uttra, Alamgeer, Muhammad Shahzad, Arham Shabbir and Shah Jahan. (2018). *Ephedra gerardiana* aqueous ethanolic extract and fractions attenuate Freund Complete Adjuvant induced arthritis in Sprague Dawley rats by downregulating PGE2, COX2, IL-1 β , IL-6, TNF- α , NF-kB and upregulating IL-4 and IL-10. *Journal of Ethnopharmacology.*

Anderson J.M. (2012). Biocompatibility. *Polymer Science: A Comprehensive Reference*, Volume 9, Pages 363-383.

Ayoub Bensakhria. (2018) Chapitre II TOXICITÉ AIGUË. In: Toxicologie Générale. Pp.21-28.

Ayoub Bensakhria. (2018) Chapitre IV GENÈSE DES EFFETS TOXIQUES. In: Toxicologie Générale. Pp.39-46.

- **B** -

Bell., A and Bachman S. (2011). *Ephedra alata*. The IUCN Red List of Threatened Species. The IUCN Red List Partnership.7p.

Bouafia, M., Amamou, F., Gherib, Mohamed., Benaïssa, M., Azzi, R., Nemmiche, Saïd. (2021). Ethnobotanical and ethnomedicinal analysis of wild medicinal plants traditionally used in Naâma, southwest Algeria.

- C -

Chebouat E, Belkhir D.M., Gharabli S., Gherraf N., Allaoui M., Cheriti A., Lahham A., Zellagui A.(2014). «Assessment of antimicrobial activity of flavonoids extract from *Ephedra alata*.» *Scholars Research Library*, p 27-30.

(CDC) Centers for Disease Control and Prevention .Adverse events associated with ephedrine-containing products - Texas, December 1993-September 1995. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1996; **45(32)**: 689-693.

Chouitah O. (2019). The essential oil of Algerian *Ephedra alata* subsp. *alenda* and its antimicrobial properties. *J New Biol Rep* **8(3)**: 190-193.

- D -

Dobignard A., Chatelain C. (2010). Index synonymique, flord d'Afrique du Nord, Genève, (1), 445p.

- E -

Ebadi M. (2007). Pharmacodynamic basis of herbal medicine. 2nd ed. CRC Press, Taylor & Francis Group: 311-318.

El-Nekeety, A.A., El-Kady, A.A., Soliman, M.S., Hassan, N.S. & Abdel-Wahhab, M.A. (2009). Protective effect of *Aquilegia vulgaris* (L.) against lead acetate-induced oxidative stress in rats. *Food and Chemical Toxicology*. **47(9)**.

Ernest Hodgson, (2004) Organ toxicity. **In:** A textbook of modern toxicology. Patricia E. Levi and James C. Bonner, John Wiley, Canada, pp.261-349.

EFSA (Panel on Food Additives and Nutrient Sources). (2013). Scientific opinion on safety evaluation of *Ephedra* species in food. *EFSA J.* **11(11)**:3467.

- F -

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, **331(5)** :372-379.

Foughali D., Nemdili I., Ghoul H. (2021) L'effet protecteur de la plante *Ephedra alata* (*Alenda*) vis-à-vis de la néphrotoxicité induit par la gentamicine. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master académique en sciences biologiques. Université des Frères Mentouri Constantine, 65p.

Freitag and Maier Stolte. (1989). The ephedra species of P.Forss-Kal: identity and typification, *taxon*, **38(4)**:545-546.

- 5 -

Hadjadj K., Benaissa M., Mahammedi M., Ouragh A et RAHMOUNE Abdelkarim. (2019). Importance Des Plantes Medicinales Pour La Population Rurale Du Parc National De Djebel Aissa (Sud Ouest Algerien). *Lejeunia, Revue de Botanique*, N° 199.

Hamoudi Meriem, (2021) Etude biologique, phytochimique et toxicologique des extraits de la plante *Ephedra nebrodensis* de la région des Aurès. Doctorat physiologie animale, Université Ferhat Abbas, Sétif, 160 p.

Hegazi G.A.E. and El-Lamey T.M. (2011). In vitro Production of Some Phenolic Compounds from *Ephedra alata* Decne. *J. Appl. Environ. Biol. Sci*; **1(8)**:158-16.

Hikino H., Konno C., Takata H., Tamada M. (1980). Anti inflammatory principle of *Ephedra Herbs* . *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **28(10)**:2900-2904p.

Hyoung-Yun Han, Jung-Im Huh, So-Ri Han, Myung-Gyun Kang, Seokjoo Yoon, Ji-Seok Han, Byoung-Seok Lee, Jeong Ah Kim, Byung-Sun Min. (2018). Assessing the safety of an Ephedra Herba aqueous extract in rats: A repeat dose toxicity study. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. Pp 144-151.

- 6 -

Ghourri M., Zidane L., et Douira, A. (2013). Usage des plantes médicinales dans le traitement du diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). *Journal of Animal and Plant Sciences*. **17(1)**:2388-2411.

Gouasmia S., Zoubiri F.(2017). Etude de L'effet antioxydant de l'espèce *Ephedra alata* alenda de la region d'El Oued chez les rats exposés à la Deltaméthrine. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master académique en sciences biologiques. Université Echahid hamma lakhdar -El OUED, 93p.

- ❧ -

Khalil, M., Khalifeh, H., Saad, F., Serale, N., Salis, A., Damonte, G., Lupidi, G., Daher, A., and Vergani, L. (2020). Protective effects of extracts from *Ephedra foeminea* Forssk fruits against oxidative injury in human endothelial cells. *Journal of Ethnopharmacology*,260.

Khenioua., Nabti A. (2016) . Effet hépato-protecteur d'une lectine purifiée à partir de la plante *Ephedra alata* sur l'inflammation induite par LPS. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master académique en sciences biologiques. Université Frères Mentouri Constantine

Kittana N, Abu-Rass H, Sabra R, Manasra L, Hanany H, Jaradat N, Hussein F and Zaid AN. (2017). Topical aqueous extract of *Ephedra alata* can improve wound healing in an animal model. *Chinese Journal of Traumatology*.

Kmail A., youssi B., Zaid H., Imtara H., Saad B. (2017). In vitro evaluation of anti-inflammatory and antioxidant effects of *Asparagus aphyllus L.*, *Crataegus azarolus L.*, and *Ephedra alata* Decne.in monocultures and co-cultures of HepG2 and THP-1-derived macrophages. *Pharmacogn. Commn.* **7(1):**24-33p.

- ❧ -

Laccourreya O., Werner A., Giroud J-P, Couloigner V., Bonfils P., Emmanuelle Bondon-Guitton.(2015). Apport, dangers et limites de l'éphédrine et de la pseudoéphédrine en tant que décongestionnant nasal, Annales françaises Oto-rhino-laryngologie et de Pathologie Cervico-faciale. **1(134) :** 28-31

Lee, M.R. (2011). The history of *Ephedra* (Ma-Huang). *The journal of the RoyalCollege of Physicians of Edinburgh Edinb*, **41(1):**78-84.

- ❧ -

Messadia S, (2017). Etude du contenu polyphénolique d' *Ephedra alata* Decne. et de l'activité antioxydante par différentes méthodes d'extraction. . Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master académique en sciences biologiques. Université de Larbi Tébessi, Tébessa, 82p.

Miara M.D., Teixidor-Toneu, I., Sahnoun, T., Bendif, H., Ait Hammou, M. (2019). Herbal remedies and traditional knowledge of the Tuareg community in the region of Illizi (Algerian Sahara). *Journal of Arid Environments*. Pp: 65-73.

- *N* -

Nawwar, M.A., El-Sissi, H.I., & Barakat, H.H. (1984). Flavonoid constituents of *Ephedra alata*. *Phytochemistry*, **23(12)**:2937-2939.

- *O* -

Olawale O Obembe et Yunus Raji. (2018). Effects of aqueous extract of *Moringa oleifera* seed on cadmium-induced reproductive toxicity in male Wistar rats. *Afr Health Sci*. **18(3)**:653-663.

Ould El Hadj, M.D., Hadj-Mahammed, M., & Zabeirou, H. (2003). Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d'Ouargla (Sahara septentrional EST). *Courrier du savoir*. Pp: 47-51.

Ozenda, P. (1991). Flore et végétation du Sahara. Centre national de la recherche scientifique, p:662.

- *P* -

Pierre M., Lis M. (2007) . Secrets des plantes. Editions Artemis, Paris 1 :463.

- *R* -

Ramos Costa A, Vieira C, Lauren O. Bohner L., Silva C., Evelyn Cristina da Silva Santos., Thereza Christina Monteiro De Lima ., Cilene Lino-de-Oliveira. (2013). A proposal for refining the forced swim test in Swiss mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology Biological Psychiatry* (45) 150–155.

Rehouma S et Guemari R. (2018). Aspects phytochimiques de l'*Ephedra alata* et ses effets sanitaires. Memoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master academique en sciences biologiques. Université Echahid hamma lakhdar -El OUED, 75 p.

- S -

Salmin K. Alshalmania, Mudafara S. Bengleilb, Fatma A. Elshibani. (2020). Antimicrobial, antioxidant and anticancer activity of *Ephedra alata* growing in East of Libya 1 Libyan, *Journal of Science & Technology* **11(2)**:87–90.

Shabana MM., Mirhom YW., Genenah AA., Aboutabl EA., Amer HA. (1990). Study into wild Egyptian plants of potential medicinal activity. Ninth communication: hypoglycaemic activity of some selected plants in normal fasting and alloxanised rats. *Arch Exp Veterinarmed*, **44(3)**:389-394.

So-Ri Han, Hyoung-Yun Han , Byoung-Seok Lee , Byung-Sun Min , Moon-Koo Chung , Ja Young Jeong , Hang-sik Roh , Ji Hyeon Seok and Sang Kyum Kim. (2013). Toxicity assessment of Leonuri Herba aqueous extract orally administered to rats for 13 consecutive weeks. *Journal of Ethnopharmacology*,149, 371-376.

Sofowera A. (2007) Plantes médicinales et médecinales et traditionnelle d'Afrique.

Karthala ,Economie et Développement . Paris :384 .

- 7 -

T. D. Olaolu, O. G. Akinwande and A. P. Olaolu. (2014). Evaluation of Aqueous Leaf Extract of *Cissampelos mucronata* on Testicular Function Indices in Wistar Rats. *International Journal of Biochemistry Research & Review* **5(4)**: 233-241.

Takemoto H, Takahashi J, Hyuga S, Odaguchi H, Uchiyama N, Maruyama T, Yamashita T, Hyuga M, Oshima N, Amakura Y, Hakamatsuka T, Goda Y, Hanawa T, Kobayashi Y.(2018) Ephedrine Alkaloids-Free Ephedra Herb Extract, EFE, Has No Adverse Effects Such as Excitation, Insomnia, and Arrhythmias. *Biol Pharm Bull.* **41(2)**:247-253

- W -

Woolf AD, Watson WA, Smolinske S, et al. (2005). The severity of toxic reactions to ephedra: comparisons to other botanical products and national trends from 1993-2002. *Clinical Toxicology*. **43(5)**: 347-355.

- ۷ -

Yahaioui A, et Silat L. (2017). Contribution à l'étude des extraits de l'espèce *Ephédra alata* Alanda de la région de Sigus. Université Larbi Ben Mhidi Oum El bouaghi, 67p.

- ۸ -

Zheng, E. & Navarro, V. (2016). Liver injury due to herbal and dietary supplements: A review of individual ingredients. *Clinical liver disease*. VolA proposal for refining the forced swim test in Swiss mice