



كلية العلوم والعلوم التطبيقية
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

République Algérienne Démocratique et Populaire
Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologie



UNIVERSITÉ
Abdelhamid Ibn Badis
MOSTAGANEM

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOTECHNOLOGIE

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Par

BELKAIIOUS Soria

&

DJEMAI Insaf

Thème :

Screening phytochimique et l'évaluation de quelques activités biologiques des extraits d'Ortie (*Urtica dioica*), collectée de la région de Mostaganem, en vue de valorisations cosmétiques.

Soutenu le 23/06/2024 devant le jury composé de :

Président	HAMMADI Kheira	Pr	Université de Mostaganem
Encadreur	BELARBI Amaria	MCA	Université de Mostaganem
Examinateur	SAIAH Farida	MCB	Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2023/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Avant tout, nous remercions ALLAH le tout puissant, le Miséricordieux, de nous avoir données le courage, la force, la santé et la persistance et de nous avoir permis de finaliser cette étude dans de meilleurs conditions.

La première personne à qui nous voudrions exprimer notre gratitude et notre appréciation et nos sincères remerciements c'est **Dr BELARBI A**, Maître de Conférences à l'Université de Mostaganem pour sa confiance et ses conseils, pour sa patience, sa compréhension et ses encouragements. Car elle nous a aidé à accomplir notre mémoire dans les circonstances les plus favorables et pour l'attention toute particulière qu'elle a porté à cet humble travail, qu'il soit le témoignage de notre plus profonde gratitude et de notre respect.

Nous la remercions également pour le traitement aimable que nous avons reçu d'elle. Qu'Allah la récompense avec la meilleure des récompenses, et nous lui souhaitons une bonne santé.

On tient également à exprimer nos vifs remerciements aux membres du jury, « **Pr HAMMADI K.** » et « **Dr SAIAH F.** », pour leur générosité et l'honneur d'accepter la discussion et l'enrichissement de ce travail par leurs connaissances et leurs propositions. Nous vous adressons nos plus chaleureux remerciements.

Nous remercions aussi nos honorables enseignants qui ont supervisé notre enseignement et notre formation durant toutes ces années universitaires.

Nos remerciements s'adressent également aux ingénieurs de laboratoire de Biochimie :

Mme **BEDDIAF Mokhtaria**, Mme **Rachida** et Mme **Ammouria**, et aussi Mr **Djilali**, Ingénieur du laboratoire de Microbiologie 03. Nous vous remercions pour votre immense aide et votre accueil chaleureux.

A la fin, un grand merci à tous ceux qui ont contribué d'une façon ou d'autres, de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire de fin d'étude.

Dédicace

Mon cher Papa et ma chère Maman pour leurs sacrifices et soutiens tout au long de mes études.

A mes chers frère Moncef et Mohamed

A mes grands-mères, maternelles et paternelles

Et Papy

A Khadija qui m'a accueillie chaleureusement dans sa maison durant la préparation de ce travail.

A mes amies que j'aime et,

A ma chère binôme, ma copine Soria.

A tous ceux qui me sont chers, à tous ceux qui m'aiment, à tous que j'aime, je dédie ce travail.

INSAF

Dédicace

Au nom d'Allah, Le Clément, Le Miséricordieux

« Gloire à Toi ! Nous n'avons de savoir que ce que tu nous as appris. Certes c'est Toi L'Omniscient, le Sage » : Sourate 2, Verset 32 (Saint Corant).

Louange et Gloire à Dieu, le Tout Puissant, qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail.

Prière et bénédictions d'Allah sur le prophète Mohamed, Paix et Salut sur lui, le sceau des prophètes, ainsi que ses compagnons, pour nous avoir apporté une religion comme l'Islam.

**Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, je dédie le fruit de ce
Modeste travail :**

À la chose la plus précieuse, qui m'a donné la vie, l'homme de ma vie, Mon très cher père au monde.

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estimation, le développement et le respect que j'ai toujours en pour lui. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuits pour mon éducation et mon bien être.

À la plus belle créature que Dieu a créé sur terre, À la fleur qui rehausse et aromatise mes jours et la lumière de mes yeux, Ma très chère mère au monde.

Que je ne cesserai jamais de remercier pour son soutien et son encouragement durant mes années d'étude, et aussi pour son sacrifice, sa patience sans limite et l'éducation qu'il m'a donnée. Je leur dit merci mille fois, qu'ALLAH me les garde.

À ma très chère sœurs que je les adore. Que Dieu, le tout puissant, les protège et les garde.

À tous les membres de ma famille qui m'ont aidé chacun, de son côté. Mes tantes et mes oncles, mes cousines et cousins.

À ma chère binôme, ma copine Insaf.

À tous ceux qui me sont chers, à tous ceux qui m'aiment, à tous que j'aime, je dédie ce travail.

SORJA

Résumé

L'Ortie est une plante communément répandue. Tout le monde la connaît pour son contact urticant. En fait, c'est une plante médicinale utilisée depuis l'Antiquité pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques.

Dans le but de connaître les activités biologiques des plantes médicinales utilisées traditionnellement par la population, notre travail a porté sur l'étude des extraits méthanoliques des feuilles d'*Urtica dioica* L. par la méthode de Soxhlet et de macération méthanolique.

Le criblage phytochimique a mis en évidence une richesse de substances bioactives. La caractérisation des alcaloïdes et des flavonoïdes sur plaques de CCM a révélé un nombre important de spots, ce qui indique une richesse importante de composés de ces métabolites secondaires.

Nous avons tenté sur l'analyse de ces extraits qui ont révélé la richesse l'extrait MET-01 et MET-02 en composés phénoliques ce qui confirme les résultats du dosage des polyphénols par la méthode de Folin Ciocalteu, où les teneurs sont respectivement : 107.07 et 44.86 mg EAG/mg et en flavonoïdes avec des teneurs de 12.28 et 8.51 mg/mg. De même, le piégeage du radical (DPPH) a montré que l'extraits méthanoliques d'*Urtica dioica* sont dotés d'une activité antioxydante importante (IC₅₀ = 43.78 mg/ml) pour l'extrait MET-02 et (IC₅₀ = 45.76 mg/ml). L'extraction par macération s'est avérée plus avantageuse en termes d'activité antioxydante mesurée par le test DPPH.

L'effet antimicrobien a été déterminé par la méthode de diffusion à partir des disques imprégnés avec différentes concentrations de l'extraits sur cinq souches à Gram- et Gram+ (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa*). Les deux extraits méthanoliques par macération et Soxhlet ont présenté une activité modérée vis-à-vis de tous les microorganismes testés, particulièrement : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *In Vitro* par la méthode d'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine et le test de protection de la membrane du globule rouge vis-à-vis du stress osmotique et thermique. Cette étude a montré que l'extrait méthanoliques d'*Urtica dioica* possède une excellente capacité de protéger la BSA contre la dénaturation thermique. De même, l'analyse de la protection de la membrane du globule rouge vis-à-vis du stress osmotique et thermique a montré que l'efficacité de l'extrait méthanolique par macération MET-02 d'*Urtica dioica* est supérieure à celle des de l'extrait Soxhlet MET-01

Les résultats de ces travaux nous ont permis d'affirmer que cette plante présente de très bonnes propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes qui peut être utilisé dans plusieurs domaines et plus particulièrement thérapeutiques et nutritionnel. Toutefois, de nouvelles études sont nécessaires afin d'identifier les molécules biologiquement actives pour préciser les mécanismes moléculaires responsables de ces effets.

Mots Clés : *Urtica dioica* L. ; Extraits méthanoliques ; Composés phénoliques ; Activité antioxydante ; Activité antibactérienne ; Activité anti-inflammatoire.

Abstract

Nettle is a commonly widespread plant. Everyone knows it for its stinging contact. In fact, it is a medicinal plant used since antiquity for its numerous therapeutic properties.

In order to understand the biological activities of medicinal plants traditionally used by the population, our work focused on the study of methanolic extracts of *Urtica dioica* L. leaves using the Soxhlet method and methanolic maceration.

Phytochemical screening highlighted a richness of bioactive substances. The characterization of alkaloids and flavonoids on TLC plates "Thin-Layer Chromatography" revealed a significant number of spots, indicating a substantial abundance of these secondary metabolites.

We attempted to analyze these extracts, which revealed the richness of extracts MET-01 and MET-02 in phenolic compounds, confirming the results of polyphenol quantification by the Folin-Ciocalteu method, where the contents are respectively: 107.07 and 44.86 mg GAE/g and in flavonoids with contents of 12.28 and 8.51 mg/g. Similarly, DPPH radical scavenging showed that the methanolic extracts of *Urtica dioica* possess significant antioxidant activity (IC₅₀ = 43.78 mg/ml for extract MET-02 and IC₅₀ = 45.76 mg/ml). Extraction by maceration proved more advantageous in terms of antioxidant activity measured by the DPPH test.

The antimicrobial effect was determined by the disk diffusion method with different concentrations of the extracts on five Gram-negative and Gram-positive strains (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, and *Pseudomonas aeruginosa*). Both methanolic extracts by maceration and Soxhlet showed moderate activity against all tested microorganisms, particularly: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, and *Pseudomonas aeruginosa*.

The evaluation of anti-inflammatory activity in vitro by the albumin thermal denaturation inhibition method and the red blood cell membrane protection test against osmotic and thermal stress showed that the methanolic extract of *Urtica dioica* has an excellent ability to protect BSA from thermal denaturation. Similarly, the analysis of red blood cell membrane protection against osmotic and thermal stress showed that the efficacy of the methanolic extract by maceration MET-02 of *Urtica dioica* is superior to that of the Soxhlet extract MET-01.

The results of this work allowed us to affirm that this plant exhibits very good antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial properties that can be used in various fields, particularly therapeutic and nutritional. However, further studies are needed to identify the biologically active molecules to specify the molecular mechanisms responsible for these effects.

Keywords: *Urtica dioica* L.; Methanolic extracts; Phenolic compounds; Antioxidant activity; Antibacterial activity; Anti-inflammatory activity.

الملخص

القراص هو نبات منتشر بشكل شائع. الجميع يعرفه بلمسه المزعج. في الواقع، هو نبات طبي يُستخدم منذ العصور القديمة لخصائصه العلاجية العديدة.

بهدف معرفة الأنشطة البيولوجية للنباتات الطبية التي يستخدمها السكان تقليدياً، ركز عملنا على دراسة المستخلصات الميثانولية لأوراق القراص *Urtica dioica* L. باستخدام طريقة سوكليت والنقع الميثانولي.

أظهرت عملية الفحص الكيميائي النباتي ثراءً في المواد النشطة بيولوجياً. كشفت عملية تحديد القلويات والفلافونويدات على صفائح الكروماتوغرافيا ذات الطبقة الرقيقة (TLC) عن عدد كبير من البقع، مما يشير إلى ثراء كبير في مركبات هذه الأيضات الثانوية.

حاولنا تحليل هذه المستخلصات التي كشفت عن ثراء المستخلصين MET-01 و MET-02 بالمركبات الفينولية، مما يؤكد نتائج قياس متعددات الفينول بطريقة Folin-Ciocalteu، حيث كانت المحتويات على التوالي: 107.07 و 44.86 ملغ/GAE وفي الفلافونويدات مع محتويات 12.28 و 8.51 ملغ/غم. وبالمثل، أظهر اصطياد الجذور الحرة (DPPH) أن المستخلصات الميثانولية لـ *Urtica dioica* تتمتع بنشاط مضاد للأكسدة مهم ($IC_{50} = 43.78$ ملغ/مل) للمستخلص MET-02 و ($IC_{50} = 45.76$ ملغ/مل). ثبت أن الاستخلاص بالنقع أكثر فائدة من حيث النشاط المضاد للأكسدة المقاس بواسطة اختبار DPPH.

تم تحديد التأثير المضاد للميكروبات بواسطة طريقة الانتشار باستخدام أقراص مشبعة بتركيزات مختلفة من المستخلصات على خمس سلالات سالبة الجرام وإيجابية الجرام (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*). أظهرت كلا المستخلصين الميثانولين بالنقع وسوكليت نشاطاً معتدلاً تجاه جميع الكائنات الحية الدقيقة المختبرة، خصوصاً: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus* و *Pseudomonas aeruginosa*.

تم تقييم النشاط المضاد للالتهابات في المختبر باستخدام طريقة تثبيط التحلل الحراري للألبومين واختبار حماية غشاء كريات الدم الحمراء من الإجهاد التناضحي والحراري. أظهرت هذه الدراسة أن المستخلص الميثانولي لـ *Urtica dioica* يمتلك قدرة ممتازة على حماية الألبومين من التحلل الحراري. وبالمثل، أظهر تحليل حماية غشاء كريات الدم الحمراء من الإجهاد التناضحي والحراري أن فعالية المستخلص الميثانولي بالنقع MET-02 لـ *Urtica dioica* تتفوق على فعالية مستخلص سوكليت MET-01.

سمحت لنا نتائج هذا العمل بأن نؤكد أن هذا النبات يمتلك خصائص مضادة للأكسدة، مضادة للالتهابات، ومضادة للبكتيريا جيدة جداً يمكن استخدامها في عدة مجالات وخاصة في العلاجات والتغذية. ومع ذلك، هناك حاجة إلى دراسات جديدة لتحديد الجزيئات النشطة بيولوجياً لتوضيح الآليات الجزيئية المسؤولة عن هذه التأثيرات.

الكلمات المفتاحية: *Urtica dioica* L. ؛ مستخلصات ميثانولية ؛ مركبات فينولية ؛ نشاط مضاد للأكسدة ؛ نشاط مضاد للبكتيريا ؛ نشاط مضاد للالتهابات.

Table des matières

Remerciement	
Dédicace	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Résumé	
Abstract	
الملخص	

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction générale.....	01
Chapitre I. Généralités sur <i>Urtica dioica</i>	
1. Historique d' <i>Urtica dioica</i>	03
2. Description botanique.....	03
2.1 Feuille.....	04
2.2. Tige.....	04
2.3. Fleurs.....	05
2.4.. Racines.....	06
2.5. Poils Urticantes.....	06
3. Systématique	07
4. Noms vernaculaires	07
5. Culture de l'Ortie	08
6. Répartition géographique.....	08
7. Composition chimique de l'Ortie.....	08
8. Activités biologiques et propriétés pharmacologiques d' <i>Urtica dioica</i>	09
8.1. Action antioxydante.....	09
8.2. Action bactéricide.....	09
8.3. Activité anti-inflammatoire.....	10
8.4. Activité antidibétique.....	10
8.5. Activité antiallergique.....	10
8.6. Actions analgésiques.....	10
8.7. Effet détoxifiant	11
8.8. Effet hypertensif	11
8.9 Action sur l'hyper lipidémique	13
9. Domaines d'utilisation de l'Ortie.....	13
9.1. Utilisation médical de l'Ortie.....	14
9.2. En pharmacie	13
9.3. Utilisation de l'Ortie dans l'industrie cosmétique.....	13
9.4. En alimentation.....	14
9.5. En agriculture	15
9.6. En textile.....	14
9.7. Divers usages	14
10. Toxicité d' <i>Urtica dioica</i>	16

Chapitre II. Activités biologiques

1. Activité antioxydante	17
1.1. Stress oxydant.....	17
1.2. Radicaux libres.....	17
1.2.1. Origine des radicaux libre.....	18
1.2.2. Production des radicaux libre.....	18
1.2.2.1. Production endogène	19
1.2.2.2. Production exogène.....	21
1.3. Espèces réactives de l'oxygène.....	21
1.3.1. Radical superoxyde	22
1.3.2. Peroxyde d'hydrogène	23
1.3.3. Radical hydrogène	23
1.3.4. Oxygène singlet.....	23
1.4. Conséquences biochimiques et biologiques du stress oxydant.....	23
1.4.1.1. Peroxydation lipidique	23
1.4.1.2. Oxydation des protéines	24
1.4.1.3. Oxydation de l'ADN	24
1.4.2. Conséquences biologiques	25
1.5. Type des antioxydants.....	25
1.5.1. Antioxydant enzymatique.....	27
1.5.1.1. Superoxydedis mutase.....	27
1.5.1.2. Catalase.....	27
1.5.1.3. Glutathion peroxydase	27
1.5.2. Antioxydant non-enzymatique.....	27
1.5.2.1. Thioredoxine	27
1.5.2.2. Gluthayion.....	27
1.5.2.3. Acide urique.....	27
1.5.2.4. Vitamine C.....	27
1.5.2.5. Vitamine E	28
1.5.2.6. Les oligoéléments.....	28
1.5.2.7. Les polyphénols.....	28
1.5.2.8. les flavonides.....	28
1.5.2.9. les tanins.....	29
1.5.2.9.1. Les tanins hydrolysables.....	29
1.5.2.9.2. Les tanins condensés.....	29
1.5.2.10. Les coumarines	30
1.5.3. Antioxydants synthétiques	31
1.6. Amplification pathologique d'ERO	32
1.7. Mécanisme d'action des antioxydants.....	33
2.1. Définition de l'Activité antibactérienne.....	34
2.2. Technique d'évaluation de l'activité antibactérienne.....	34
2.2.1. Méthode des puits de diffusion	34
2.2.2. Méthode des disques	35
3. Activité anti-inflammatoire.....	35
3.1. Définition de l'inflammation.....	35
3.2. Médiateurs d'inflammation.....	36
3.3. Mise en place d'une réponse inflammatoire contre un pathogène.....	37
3.4. Traitement et pistes thérapeutiques d'inflammation.....	37
3.5. Anti inflammatoires.....	38
3.5.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens.....	38
3.5.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	39
2.1.1. Anti-inflammatoires d'origine végétale.....	40

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériels et Méthodes

1. Objectif	41
2. Matériel végétal.....	41
3. Matériels et produits de laboratoire.....	41
4. Préparation des extraits Méthanoliques à partir des feuilles d' <i>Urtica dioica</i>	42
4.1. Broyage et tamisage.....	42
4.2. Extraction méthanolique	43
4.2.1. extraction méthanolique par soxhlet	43
4.2.2. Extraction par macération.....	43
5. Analyse des extraits MET des feuilles d' <i>Urtica dioica</i>	44
5.1. Analyse qualitative des extraits MET	44
5.1.1. Test des composés phénoliques.....	44
5.1.2. Caractérisation des Flavonoïde.....	44
5.1.3. Caractérisation des Tannins.....	45
5.1.4. Caractérisation des coumarines	45
5.1.5. Les alcaloïdes	45
5.1.6. Les terpènes	45
5.1.2. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	45
5.1.2.1. Caractérisation des alcaloïdes et flavonoïdes sur plaque CCM.....	45
5.2. Analyse quantitative des extraits méthanoliques	47
5.2.1. Dosage des composés phénoliques.....	47
5.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	48
6. Activités biologiques	48
6.1. Activité antioxydante.....	48
6.1.1. Effet scavenger du radical DPPH.....	48
6.2. Détermination de l'activité anti-inflammatoire.....	49
6.2.1. Effet stabilisateur de la membrane des érythrocytes.....	49
6.2.1.1. Inhibition de l'hémolyse.....	49
6.2.1.2. Test d'inhibition de la dénaturation des protéines	52
6.3. Activité antibactérienne	54
6.3.1. Préparation des choix des milieux de culture	54
6.3.2. Etude de l'activité d'un principe actif sur une souche bactérienne.....	56
7. Essai de fabrication des produits biocosmétiques.....	58
7.1. Réalisation d'un savon bioglysériné.....	58
7.1.1. Etude des propriétés du savon	59
7.2. Réalisation d'une crème dermique	60
8. Traitement des données	60

Chapitre II : Résultats et Discussions

1. Détermination du rendement d'extrait aqueux et méthanoliques d' <i>U. dioica</i>	61
2. Analyse des extraits méthanoliques des feuilles d' <i>Urtica dioica</i>	63
2.1. Analyse qualitative des extraits méthanoliques.....	63
2.1.1. Screening phytochimiques	63
2.1.2. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	65
2.2. Analyse quantitative de l'extrait MET01 et MET02.....	66
2.2.1. Dosage des polyphénols.....	66
2.2.2. Dosage des Flavonoïdes	70
3. Activités biologiques des extraits méthanoliques.....	71
3.1. Activités antioxydantes.....	71
3.1.1. Effet scavenger du radical DPPH	71
3.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>In vitro</i> des extraits	74
3.2.1. effet stabilisateur de la membrane érythrocyte.....	74

3.2.1.1. Hémolysé par chaleur	74
3.2.1.2. Hémolysé par solution hypotonique.....	76
3.2.2. Dénaturation des protéines	78
3.2.2.1. dénaturation de l'albumine d'œuf	78
3.3.2.2. Dénaturation de l'albumine sérique bovine BSA	81
3.3. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques	83
4. Essai de fabrication des produits biocosmétiques.....	89
4.1. Préparation d'un savon.....	89
4.2. Préparation d'une crème dermique	91
Conclusion Générale.....	93
Références Bibliographiques.....	96
ANNEXES	

Liste des tableaux

Tableau N°01 :	Composants chimiques des différentes parties de l'ortie dioïque.	09
Tableau N°02 :	Propriété thérapeutique de l' <i>urtica dioiqua.L</i>	12
Tableau N°03 :	exemple de médicament a base d' <i>urtica dioiqua.L</i>	14
Tableau N°04 :	Principaux radicaux libres et leurs formules chimiques	17
Tableau N°05 :	Principales ERO radicalaires et non-radicalaires	22
Tableau N°06 :	Principales maladies liées à la production des radicaux libres	33
Tableau N°07:	Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire	36
Tableau N°08 :	Quelques exemples d'anti-inflammatoires naturel et métabolites secondaire et leur effet	40
Tableau N°09 :	Différentes concentrations utilisées pour préparation des dilutions.	54
Tableau N°10 :	Références des souches bactériennes utilisées dans notre étude	10
Tableau N°11 :	Quelques avantages et inconvénients des techniques Soxhlet et macération.	62
Tableau N°12 :	Résultats des tests préliminaires de quelques métabolites secondaires de l'extrait MET-01 par Soxhlet	63
Tableau N°13 :	Résultats des tests préliminaires de quelques métabolites secondaires de l'extrait MET-01 (par macération).	64
Tableau N°14:	: Résultats obtenus de la CCM pour l'extrait méthanolique 01	67
Tableau N°15:	Résultats obtenus de la CCM pour l'extrait méthanolique 02	67
Tableau N°16 :	Teneur en polyphénols totaux dans les extrais des feuilles d' <i>Urtica dioica L</i>	68
Tableau N°17 :	Teneur en flavonoïdes dans les extrais des feuilles d' <i>Urtica Dioica L</i>	70
Tableau N°18 :	Activité anti-radicalaire des extraits des feuilles d' <i>Urtica Dioica L</i>	72
Tableau N°19 :	Taux moyen d'inhibition de la dénaturation des protéines (blanc d'œuf) par les deux extraits méthanoliques (MET-01 et MET-02) des feuilles d' <i>Urtica dioica L</i> . et le contrôle positif (Diclofénac) à différentes concentrations	78
Tableau N°20 :	Observation des zones d'inhibition de l'extrait MET-01 et MET-02 d' <i>Urtica dioida L</i> .	84
Tableau N°21:	Mesure de pH du savon	89
Tableau N°22 :	Mesure de pH de la crème	91
Tableau N°23 :	Propriétés organoleptiques des produits finis	92
Tableau N°24 :	Avis de volontaires testés	92

Liste des figures

Figure N°01 :	<i>Urtica dioica</i> L.	03
Figure N°02 :	Feuille d' <i>Urtica dioica</i> L.	04
Figure N°03 :	Fleur femelle d' <i>Urtica dioica</i> L	04
Figure N°04 :	tige d' <i>Urtica dioica</i> L	05
Figure N°05 :	Fleur male d' <i>Urtica dioica</i> L	05
Figure N°06 :	fruit d' <i>Urtica dioica</i> L	06
Figure N°07 :	Poil urticant d' <i>Urtica dioica</i> L	06
Figure N°08 :	Racine d'ortie séchée	07
Figure N°09 :	Fil brut 100%d'ortie non teinte pelote	15
Figure N°10 :	Origine des différents radicaux libres ROS impliqués en biologie	18
Figure N°11 :	Le transport électronique à travers la chaîne respiratoire mitochondriale et la production des ROS. Complexe I : NADH déshydrogénase, Complexe II : succinate déshydrogénase, Complexe III: Coenzyme Q-cytochrome C réductase, Complexe IV : Cytochrome C oxydase, CoQ10 : Coenzyme Q10	19
Figure N°12:	Production de l'anion radicalaire superoxyde ($O_2^{\circ-}$) par respiration	19
Figure N°13 :	Sites de production intracellulaire des ERO	20
Figure N°14 :	Principales voies de formation des espèces réactives de l'oxygène	21
Figure N°15 :	Produit de l'oxydation de la base de l'ADN, la guanine	24
Figure N°16 :	Conséquences des ROS sur les molécules biologiques	25
Figure N°17 :	Schéma de défenses anti oxydantes enzymatiques.	26
Figure N°18 :	Structure chimique de la vitamine C	27
Figure N°19 :	Structure chimique de l' α -tocophérol	28
Figure N°20 :	Structure de base des flavonoïdes	29
Figure N°21 :	Structures chimiques des tannins ; (A) Tannins hydrolysables, (B) Tannins condensés	30
Figure N°22 :	Structures chimiques de quelques coumarines	31
Figure N°23 :	Structure chimique d'un polyphénol de synthèse (Dendrimère de syringaldehyde)	32
Figure N°24:	Mécanisme d'action d'un antioxydant donneur d'hydrogène comme le tocophérol	33
Figure N°25:	Réaction inflammatoire	35
Figure N°26 :	Phases de l'inflammation aigue	37
Figure N°27 :	Feuilles d' <i>Urtica dioica</i> L	41
Figure N°28 :	Séchage des Feuilles d' <i>Urtica dioica</i> L	42
Figure N°29 :	Poudre des Feuilles d' <i>Urtica dioica</i> L	43
Figure N°30 :	Extraction méthanolique par Soxhlet	44

Figure N°31 :	Filtration de l'extrait méthanolique macérée	44
Figure N°32 :	Extrait méthanolique par macération dans l'appareil rotavapeur.	44
Figure N°33 :	Développement du chromatogramme	46
Figure N°34 :	Caractérisation des flavonoïdes et alcaloïdes sur CCM pour les deux extraits méthanoliques	47
Figure N°35 :	Ext 1 et 2 apres la solution dpph	50
Figure N°36 :	Test d'hémolyse induite par chaleur	51
Figure N°37 :	Test d'hymolyse induite par solution hypotonique	52
Figure N°38 :	Test de dénaturation d'albumine sérique bovine (BSA) des deux extraits	52
Figure N°39 :	Test BSA diclofénac sodique.	53
Figure N°40 :	Test de dénaturation d'albumine d'œuf.	54
Figure N°41 :	souches bactériennes utilisées dans notre étude	56
Figure N°42:	Ensemencement et dépôt des disques	57
Figure N°43 :	Savon glycérimé a l'Ortie.	58
Figure N°44 :	Test de ph sur le savon	59
Figure N°45 :	Test de moussage du savon	60
Figure N°46 :	Crème dermique	60
Figure N°47 :	Rendement d'extraits méthanoliques des feuilles d' <i>Urtica dioica</i> L.	61
Figure N°48 :	Colorations obtenues par le criblage sur l'extrait MET-01.	63
Figure N°49 :	Colorations obtenues par le criblage sur l'extrait MET-02.	64
Figure N°50 :	Plaque CCM après séchage.	65
Figure N°51 :	Etude de séparation. A : des alcaloïdes ; B : des flavonoïdes.	66
Figure N°52 :	Teneurs en polyphénols totaux des extraits méthanoliques des feuilles d' <i>Urtica dioica</i> L. en mg EAG/gMS.	69
FigureN°53 :	Teneurs en Flavonoïdes de l'extrait méthanolique des feuilles d' <i>Urtica dioica</i> .l en mg EAG/gMS.	70
FigureN°54 :	Pourcentage d'inhibition du radical libre de l'extrait méthanolique 02 d; <i>Urtica dioica</i> L.	72
Figure N°55 :	Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse induite par la chaleur par les extraits MET-01 et MET-02 d' <i>Urtica dioica</i> et le diclofénac de sodium à différentes concentrations.	74
Figure N°56 :	Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse induite par la chaleur par les extraits MET-01 et MET-02 d' <i>Urtica dioica</i> et le diclofénac de sodium à différentes concentrations	76
Figure N°57 :	Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse induite par solution hypotonique par les extraits méthanolique MET-01 et MET-02 d' <i>Urtica dioica</i> et le diclofénac de sodium à différentes concentrations	77
FigureN°58 :	Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines (blanc d'œuf) en fonction de la concentration des extraits méthanoliques des feuilles d' <i>Urtica dioica</i> et du diclofénac.	79
FigureN°59 :	Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA en fonction de la concentration des extraits méthanolique des feuilles d ' <i>Urtica dioica</i> et du diclofénac.	81

FigureN°60 :	Diamètre des zones d'inhibition des cinq souches bactériennes chez l'extrait MET-01 d' <i>Urtica dioica</i> L.	86
FigureN°61 :	Diamètre des zones d'inhibition des cinq souches bactériennes chez l'extrait MET-02 d' <i>Urtica dioica</i> L.	86
FigureN°62 :	Savon glyceriné a base d'ortie	89
FigureN°63 :	Test de ph du savon	89
FigureN°64 :	Test de mousse	90
FigureN°65 :	Crème de base et la crème cicatrisante.	90
FigureN°66 :	Application de la crème sur une main saine (Test de sensibilité).	91

Liste des Abréviation

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

µg : Microgramme

µg EAG/g MS : Microgramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche

µg EC/g MS : Microgramme d'équivalent de Catéchine par gramme de matière sèche

µg EQ/g MS : Microgramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche

Abs : Absorbance

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

APR : Pouvoir antiradicalaire

AQ : Aqueux

BMH : Bouillon Mueller Hinton

CAT : Catalase

CCl₄ : Tétrachlorométhane

ClO^{•-} : Hypochlorite

CMI : La Concentration minimale inhibitrice

COX : Cyclooxygénase

DL50 : Dose létale artériel

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DO : Densité Optique

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EAG/mg : Equivalent Acide Gallique/miligramme d'extrait.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

Fe²⁺: Ions Ferreux

Fe³⁺: Ions Ferriques

FeCl₂ : Chlorure de fer

FeCl₃ : Trichlorure de fer

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power

g : Grammes

GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse spectrométrie de masse

GPx : Glutathion peroxydase

GR : Glutathion réductase

h : Heure

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HCL : Acide Chlorhydrique

HCL : Chlorure d'hydrogène

HO• : Hydroxyle

HTA : L'hypertension artérielle

IC₅₀: Concentration inhibitrice a 50%

IFN-γ: Interféron gamma

Ig-E : Immunoglobuline E

LOX : Lipoxygenase

MET : Méthanolique

METI : Extrait méthanolique par soxhlet

METII : Extrait méthanolique par macération

Mg : Magnésium

Min : Minute

ml : Millilitres

Mm : Millimètre

MS : Matière Sèche

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

NH₄OH : Ammoniac

NK : Naturel killer

O₂•- : Anion superoxyde

OH : Hydroxyle

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PBS : Phosphate-Buffered Saline

SOD : Superoxyde dismutase

µg EAG/mg: Equivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait

µg EQ/mg: Microgramme Equivalent Quercétine/ milligramme d'extrait

µL : Microlitre

µm : Micromètre

Les plantes ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines grâce à leurs richesses en composants des valeurs thérapeutiques. Le pouvoir de guérison des plantes provient des effets de leurs métabolites secondaires. On distingue plusieurs groupes de métabolites notamment les phénols (simples phénols, acides phénoliques, flavonoïdes, tannins et coumarines) (**Khadhri, 2013**).

Les éventuels avantages de la consommation des polyphénols pour la santé ont été suggérés de dériver de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (**Queen et Tollefsbol, 2010**). Ils ont également des activités anti-ulcéreuse (**Saito et al., 1998**), anti-cancérigène (**Liu et Castonguay, 1991**) et anti-mutagène (**Liviero et al., 1994**). La raison de ces activités est le fort caractère antioxydant des polyphénols, qui est basée sur leur capacité à absorber les radicaux libres (**Nawaz et al., 2006**).

De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires. Leurs propriétés sont actuellement pour un bon nombre reconnue et répertorié, et donc mises à profit, dans le cadre des médecines traditionnelles et également dans la médecine allopathique moderne (**Bourgaud et al., 2001 ; Kar, 2007**).

En effet, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime en 2002 que, pour se soigner, 80% de la population recourt toujours à la médecine traditionnelle pour laquelle la majeure partie des thérapies implique l'exploitation des principes actifs des plantes. Ces espèces végétales de grande utilité pour la santé des populations méritent d'être étudiées afin de justifier et valider scientifiquement leur usage pour une meilleure utilisation (**Ennadir et al., 2014**).

La valorisation des plantes médicinales en vue d'exploiter leurs extraits ou leurs principes actifs représente donc un potentiel économique énorme. Dans ce contexte, l'objectif de la présente étude est de quantifier les composés phénoliques et d'évaluer *In Vitro* quelques activités biologiques des extraits d'une plantes médicinale (Ortie) spontanée des régions septentrionales en Algérie.

En effet, L'ortie (*Urtica dioica* L.) est une plante herbacée de la famille des urticacées. Elle est employée depuis plus de 2000 ans, comme un remède naturel. Cependant, la mise en valeur de son importance médicinale n'a pris de l'ampleur qu'au début du XXe siècle. Grâce aux études qui sont réalisées, la plupart de ses indications revendiquées en médecine traditionnelle ont été confirmées, et de nouvelles caractéristiques ont été rajoutées. Par ailleurs, eu égard à sa richesse en minéraux et vitamines, et sa composition protéique équilibrée, cette plante a marqué une grand importance, aussi bien sur le plan thérapeutique que nutritionnel (**Ait Haj said et al., 2016**). Elle possède des propriétés anti anémique, anti diabétique et anti-inflammatoire (inflammation des articulations osseuses et

prostate) (**Brown, 1995**).

Notre travail s'articule autour de deux parties : La première partie consiste en une revue bibliographique qui a pour objet de donner des informations sur la plante étudiée, les métabolites secondaires ainsi que sur les activités biologiques.

Le deuxième volet, concerne la partie expérimentale qui renferme en un premier chapitre le matériel et méthodes utilisés et en un deuxième chapitre les résultats et discussions de l'étude des activités biologiques de la plante étudiée.

Le présent travail consistait à évaluer:

- Réaliser deux extraits de feuilles d'*Urtica dioica* L.: Extraction à froid (Macération) et Extraction à chaud (Soxhlet), afin de pouvoir en faire des comparaisons.
- Faire un screening phytochimique des métabolites secondaires existant dans les deux extraits méthanoliques des feuilles d'*Urtica dioica* L. ;
- Evaluation de l'activité anti-oxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne deux extraits méthanoliques des feuilles d'*Urtica dioica* L. ;
- Formulation d'une crème dermique et d'un savon solide antiseptique à base d'une poudre végétale des feuilles d'ortie.

A la fin, une conclusion générale viendra achever le présent travail dans laquelle différents perspectives de recherches sont évoqués.

1. Historique d'*Urtica dioica* L.

L'ortie, compagne des premiers campements préhistoriques, fut l'un des premiers légumes utilisés par l'homme, et même cultivé dès l'âge de pierre. Les bandelettes entourant les momies de l'Égypte ancienne étaient constituées de fibres d'ortie, la Ramie (**Bertrand, 2001**).

Dans la Grèce antique, au 1^{er} siècle après Jésus-Christ, Diocorides et Galien en soulignaient les propriétés diurétiques et laxatives et ont rapporté l'utilisation de l'ortie pour traiter l'asthme et certaines maladies de la rate. Le médecin grec Dioscoride décrivait déjà plusieurs utilisations possibles : ses feuilles fraîches pour les blessures infectées, son jus contre les saignements de nez, ses feuilles cuites mélangées à de la myrrhe pour provoquer les règles (**Marie-Jo et Gervais, 2005**).

Le peintre Albrecht Dürer (1471-1528) a peint un ange volant vers les cieux une ortie à la main (**Marie-Jo, 2005**).

Une herboriste autrichienne du XX^{ème} siècle ''Maria Treben'' a dit que : « L'ortie remplace à elle seule toute une valise de médicaments » (**Bernard, 2005**). En ce XXI^{ème} siècle, la tendance est le retour au « naturel » plutôt que de produire des substances de synthèse (**Bernard, 2010**). On redécouvre actuellement ses qualités ainsi que ses nombreuses applications dans des domaines aussi variés que thérapeutiques, textiles, culinaires ou agricoles. Toutes raisons suffisantes pour l'étudier afin de découvrir ou redécouvrir ce que cette plante sauvage peut nous apporter (**Valerie, 2010**). Aujourd'hui, l'ortie est prescrite en cas de fièvre, d'arthrite, d'anémie et d'urticaire (**M.Gervais, 2005**). L'Ortie est une plante connue presque dans toute l'Algérie sous le nom de « Horaïg », ou « azekdouf » dans la région kabyle (**Beloued, 2001**).

2. Description botanique

L'ortie est une plante herbacée vivace, de la famille des Urticacées vigoureuse et à longue durée de vie par un rhizome jaune rampant, nitrophile, couverte de poils crochus irritants elle peut atteindre 1,50 mètre de haut (**Beloued, 2001**) (**Fig.01**).



Figure 01: *Urtica dioica* L. (Originale, 2024).

2.1. Feuille

Urtica dioica est constituée de feuilles simples charnues, tombantes dentelées, grossièrement en forme de cœur, et la tige sont recouverts de poils urticants blancs (Alternative medicine review, 2007).

Les feuilles simples à long pétiole sont opposées deux à deux, de couleur vert foncé en raison de leur richesse en chlorophylle (schaffner, 1992 ; moutsie, 2008), pétiolées, stipulées, caractérisées par une faible odeur herbacée, velues sur les deux faces et munies de poils que sur le dessus. Prendre une ortie par le dessous est une technique évitant la sensation piquante (Collectif, 1981) (Fig.02).



Figure 02 : Feuille d'*Urtica dioica* L. (Originale, 2024).

2.2. Tige

Elle est dressée, velue, non ramifiée et quadrangulaire portant des poils urticantes et des poils courts, très fibreuse porte des feuilles opposées ovales, acuminées fortement dentées sur les bords, à grosse dents ovales- triangulaires (Schaffner, 1992) (Fig.03).



Figure 03 : Tige d'*Urtica dioica* L. (Originale, 2024).

2.3 Fleur

Elles sont déposées en grappes ramifiées, allongées et pendantes, les grappes se situent à l'aisselle des feuilles comme déjà dit, la grande ortie est dioïque car elle porte les fleurs femelles et male sur des plants différents (boullard, 2001 ; fleurentin, 2008).

- Fleurs femelles : Elles ont 4 sépales et un ovaire velu de couler verdâtre, les grappes qui les portent pendent, en particulier lorsque les graines se forment, elles sont dépourvues de nectar (Moutsie, 2008) (Fig.04) ;



Figure 04 : Fleur femelle d'*Urtica dioica* L. (Moutsie, 2008).

- Fleurs males: Elles sont 4 sépales et 4 étamines, elles sont portées par longues grappes serrées très rameuses, développées par paires, à l'aisselle des feuilles. Chaque étamine libère environ 15000 grains de pollen jaune, à la réputation allergisante (Moutsie, 2008) (Fig.05). La floraison est estivale, soit du printemps jusqu'au début d'automne (Fletcher, 2007).



Figure 05: Fleur male d'*Urtica dioica* L. (Moutsie, 2008).

2.4 Fruits et graines

Le fruit d'*Urtica dioica* L est constitué d'un akène, formé dans un calice persistant, contient une graine provenant des panicules à maturité, leur couleur sable à jaune – brun, de forme aplatie, ovoïde et pointue, mesure 1.0 à 1.5 mm de long sur 0.7 à 1.0 mm de large.

Son extrémité pointue porte des restes de stigmates pénicillés. Ces fruits sont très souvent entourés de deux petites feuilles extérieurs, étroites, et de deux feuilles intérieures plus grandes, larges et de couleurs vertes ou de leurs restes (Wichtl et Anton, 2003) (Fig.06).

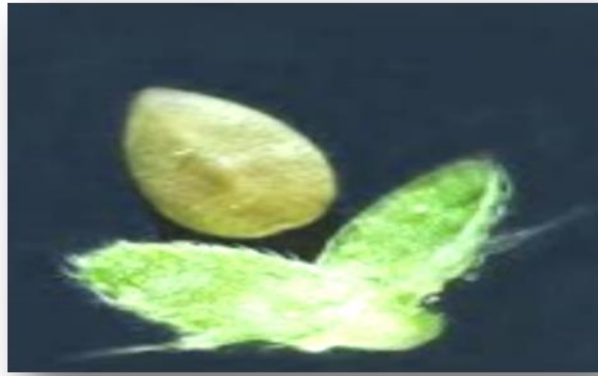


Figure 06 : Fruit d'*Urtica dioica* L. (Reaume, 2010).

2.5. Racines

Ce sont des rhizomes–tiges souterraines, jaunâtres, traçants et abondamment ramifiés qui développent chaque année de nouvelles pousses, d'où le caractère par fois envahissant de l'ortie ils fixent l'azote de l'aire grâce à l'action de microorganismes (*Rhizobium frankia*) qui vivent en symbiose avec l'ortie (Moutsie, 2008) (Fig.07).



Figure 07 : Racines d'orties sèches (Originale, 2024).

2.6. Les poils urticants

Les poils urticants monocellulaires en forme de pointe aigüe, sur un bulbe basilaire renflé pluricellulaire, fragiles. Ces poils se brisent aisément et se vident de leur contenu très irritant. On peut distinguer deux parties :

- La base ressemblant à une ampoule qui renferme les substances urticantes (Acétylcholine, sérotonine, histamine, acide formique, formiate de sodium) ;
- Une pointe effilée à l'aspect d'aiguille, coiffée d'une petite boule qui se brise facilement lors d'un contact. Elle laisse ainsi s'échapper le contenu de l'ampoule qui pénètre dans la peau, ce qui provoque une irritation locale (Wichtl et Anton, 2003) (Fig.08).



Figure 08: Poil urticant d'*Urtica dioica* L. (Original 2024).

3. Systématique

- Règne** —————→ Plantae (plantes).
Sous-règne —————→ Tracheobionta (plantes vasculaire).
Embranchement —————→ Magnoliophyta (phanérogames).
Sous-embranchement —————→ Magnoliophytina (angiospermes).
Classe —————→ Magnoliopsida (dicotyledones).
Sous-classe —————→ Rosidaea (plantes vasculaire).
Ordre —————→ Urticales (Valérie, 2010).
Famille —————→ Urticacées, Urticaceae (Luc Fontaine et Valérie, 2010).
Genre —————→ *Urtica* L.
Espèces —————→ *Urtica dioica* L (Valérie, 2010).

4. Noms vernaculaires

D'après Wichtl et Anton (1999), *Urtica dioica* L. est appelée :

- **Nom latin:** *Urtica dioica* L. Syn., *Urtica major*, Kanitz.
- **Noms français :** Ortie dioïque, Grande ortie, Ortie piquante, Ortie élevée, Ortie, Ortie commune et Ortie vivace (Luc Fontaine et Valérie, 2010).
- **Noms anglais :** Nettle, Common Nettle, Stinging Nettle, Tall Nettle, Slender Nettle, Greater Nettle et Nettle leaf (Smith, 1997; Luc Fontaine et Valérie, 2010).
- **Nom italien :** Ortica comune (Valérie, 2010).
- **Nom espagnol :** Ortiga gran, Ortiga grossa, Ortiga major et Ortiga mayor.
- **Nom néerlandais :** Grote brandnetel.
- **Nom Allemand :** Brennesselwurzel, Nesselwurzel, Haarnesselwurzel et Hanfnesselwurzel.
- **Nom portugais :** Urtiga.
- **Nom arabe :** Hurrayq, حرايق, القراص

5. Culture de l'Ortie

C'est une plante qui préfère le plein soleil mais qui supporte la mi-ombre. Grâce à son appareil photosynthétique, elle est en mesure de subsister dans des conditions de luminosité très variables.

Urtica dioica L. est un indicateur fidèle des lieux riches en fumure avec un pH de 6 à 7, voire plus acides. Elle apprécie les sols plutôt humides, bien drainés, à tendance argileuse, mais peut s'accommoder de tout type de sol pas trop sec (calcaire, sablonneux, etc.). Elle a surtout besoin d'eau au début de sa croissance. Une fois son système racinaire développé, elle résiste bien à la sécheresse (**Moustie, 2003 ; Fleurentin, 2008**), on la trouve aussi bien en plein soleil à l'abri d'une façade qu'au fond d'un vallon ombragé. Symbole de milieux riches et fertiles, l'Ortie ne pousse jamais seule, mais en grands massifs compacts (**Draghi, 2005**).

Sa valeur nutritive en découle donc et dépend de l'ensoleillement, du stade de coupe et du terrain sur lequel elle se trouve. La culture de l'ortie ne nécessite aucun entretien particulier et la plante est très peu sensible aux maladies. L'ortie dioïque est retrouvée à travers le monde dans les zones tempérées, notamment dans toute l'Europe ainsi qu'en Asie, Amérique et Afrique. Elle est même présente jusqu'à 2500 mètres d'altitude (**Bertrand, 2010**).

6. Répartition géographique

Parmi les espèces du genre *Urtica*, *Urtica dioica* L. est la plus grande et la plus répandue. D'un vert sombre, elle est très commune en France, bien que plus rare en région méditerranéenne. Elle est présente dans presque toutes les régions du monde de l'Europe et l'Afrique du Nord à l'Asie, ainsi qu'Amérique du Nord et du Sud et en Afrique du sud. Elle est présente jusqu'à 2400 mètres d'altitude. Elle peut atteindre les sommets du Jura et du Massif Central, on la rencontre encore dans les Alpes et les Pyrénées (**Francine Draghi, 2005**).

En Algérie, elle parcourt les ravins frais des montagnes de l'Atlas de Blida et Djurdjura. Elle est croisée près des habitations, jardins, fossés, ruines ou encore à la lisière des bois (**Bertrand, 2002**).

7. Composition chimique de l'Ortie

La composition chimique des différents organes de l'Ortie dioïque, à savoir les feuilles, les fruits, les racines et les poils, a été le sujet de nombreuses études depuis la seconde moitié du 19^{ème} siècle. La reconnaissance de l'importance médicinale des Orties a commencé au début du 20^{ème} siècle. Depuis, des progrès considérables ont été réalisés dans la découverte de la structure des composés, grâce aux améliorations des techniques de séparation et des méthodes spectroscopique (**Cox et al., 1994**).

Les constituants d'ortie dioïque sont d'un intérêt, car les extraits des racines et des feuilles sont largement utilisés en médecine traditionnelle dans de nombreuses régions du monde. La partie chimique active d'ortie dioïque comprend près de cinquante composés de la fraction lipophile et dont la structure chimique est connue. On trouve des stérols, des acides triterpéniques, des coumarines, des phénols, des lignines, des céramides, des acides gras, etc., tous ces constituants trouvent leur répartition dans les divers organes de la plante (Toldy *et al.*, 2005) (Tab.01).

Tableau 01 : Composants chimiques des différentes parties de l'ortie dioïque (Pinelli *et al.*, 2008 ; Ghedira *et al.*, 2009).

Feuilles	Poils urticants	Racines	Fleurs	Tige	graines
-Chlorophylle. -Xanthophylle. -Flavonoïdes. -Enzymes. -Tanins. -Vitamines : vit. A, B, C, E, K. -Acides-alcool. -Glycoprotéines. -Sel minéraux : Fer, Magnésium, Soufre, Phosphore, Calcium, silice, Zinc, Potassium, sélénium, Manganèse et Cuivre	-Catécholamines (Responsables des réactions urticantes) -Des Acides : formique, acétique. - Neuromédiateur, Choline, Acétylcholine 1 %, Sérotonine et L'histamine.	-Lectine. -Terpènes. -Phytostérols et stéroïdes. -Lignanes. -Composés Phénoliques : C6-C3, C6-C2. - Sels minéraux. - Acides gras. - Céramides. - Polysaccharides : glycanes, glycolacturoniue, arabinogalactane	-Protéines mucilage. -Caroténoïdes. -Vitamine E.	Acides phénoliques : Acide 2-O-caféyl-malique Flavonoïdes : Quercétine 3-O-rutinoside Glucoside p-cumaryl Kaempferol 3-O-glucoside Isorhamnetine 3-O-rutinoside	Acides gras Acides gras saturés -Minéraux Fer, zinc, cuivre, calcium, phosphore, magnésium, manganèse, sodium, potassium, et sélénium - Vitamines Vitamines C, E, B1, B2, B3, B6 Pigments Autres : Polysaccharides, δ -tocophéro

8. Activités biologiques et propriétés pharmacologiques d'*Urtica dioica*

8.1. Action antioxydante

Les composés phénoliques existant dans les extraits d'ortie apparaissent comme responsables de l'activité antioxydant. Les divers mécanismes antioxydants de ces extraits peuvent être attribués à leur forte capacité à donner de l'hydrogène, à leur capacité à chélater les métaux lourds et à leur forte efficacité à piéger le peroxyde d'hydrogène et les radicaux libres (Gülçin *et al.*, 2003 et Toldy, 2005).

8.2. Action bactéricide

Plusieurs études montrent que les constituants chimiques des feuilles d'*Urtica dioica* L. tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes et les terpènes sont actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons (Dar *et al.*, 2012).

D'après **Gülçin et al. (2003)**, l'extrait aqueux des feuilles d'*Urtica dioica* L. est actif contre *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* et *Escherichia coli*.

8.3. Activité anti-inflammatoire

Les orties sont bénéfiques pour différentes affections inflammatoires telles que l'arthrite et la myalgie chronique. Des recherches ont prouvé l'efficacité de la tisane à l'ortie ou des compléments à base de plantes pour traiter la goutte, soulager les douleurs musculaires et atténuer les symptômes de l'arthrite. Les études scientifiques ont démontré que l'ortie possède la capacité de réduire les réactions inflammatoires en agissant sur plusieurs voies qui conduisent à une diminution de la production de médiateurs lipidiques et de cytokines inflammatoires. (**Roschek et al., 2009**).

8.4. Activité antidiabétique.

L'utilisation d'exercices physique simultanés, ainsi que l'extrait d'*Urtica dioica*, peuvent minimiser les marqueurs diabétiques, la glycémie et la prise de poids, et peuvent augmenter la sensibilité à l'insuline, la prolifération des cellules bêta pancréatiques, la stimulation de l'absorption de glucose et la sécrétion d'insuline *in vitro*. Bien que les données *in vivo* suggèrent que l'extrait d'*Urtica dioica* et l'exercice physique pourraient guérir les rats diabétiques (**Ranjbari et al., 2016**).

8.5. Activité anti-allergique

Les propriétés antiallergiques de l'ortie sont principalement dues à deux mécanismes. En plus de son inhibition des récepteurs H1 de l'histamine, l'ortie inhibe la tryptase, réduisant ainsi la dégranulation des mastocytes et la libération de cytokines pro-inflammatoires. Dans une étude menée sur des patients allergiques souffrant de rhinite allergique, une disparition de quelques symptômes a été observée après une semaine de traitement (**Ait Haj Said et al., 2016**).

8.6. Effet analgésique

Une étude a montré que l'extrait aqueux des feuilles d'*Urtica dioica* était capable d'inhiber la sensation de douleur, et qu'il est donc possible de trouver des analgésiques dans son extrait qui agissent par inhibition des voies inflammatoires responsables de la douleur. L'effet analgésique le plus élevé de l'extrait a été observé à la dose de 150 mg/kg pour la douleur aiguë et à la dose de 100 et 150 mg/kg de poids corporel pour la douleur chronique. Cet effet analgésique pourrait être lié à la présence de composés bioactifs présents dans *Urtica dioica* (**Safari et al., 2016**).

8.7. Effet détoxifiant

Il est souvent affirmé que les toxines, qui sont généralement des acides présents dans le corps, peuvent causer des inflammations chroniques, telles que des problèmes dermatologiques et arthritiques. L'ortie, qui est alcaline, est considérée comme ayant la capacité de neutraliser les acides et d'éliminer les toxines par l'urine. Elle est réputée pour ses propriétés assainissantes et astringentes sur les maladies de la peau et du sang. L'ortie piquante est également considérée comme un diurétique qui peut favoriser l'élimination rapide des toxines neutralisées dans le corps. Elle est classée comme une alternative, car elle peut augmenter l'efficacité de l'absorption des nutriments dans l'estomac, favorisant ainsi, une digestion saine et empêchant l'accumulation de toxines. Elle stimule également le système lymphatique, qui contribue à l'élimination des toxines par les reins (**bhusal et al., 2022**).

8.8. Effet antihypertensive

La consommation régulière de thé d'ortie peut contribuer à la diminution de la pression artérielle systolique et au soulagement de la tension et du stress dans le système cardiovasculaire. Une étude a démontré que l'administration d'un extrait aqueux de feuilles d'ortie à des concentrations de 4 et 24 mg/kg/h a entraîné une réduction respective de 15 % et 38 % de la pression artérielle (**Bhusal et al., 2022**).

8.9. Action sur l'hyperlipidémie

L'administration quotidienne pendant 30 jours d'un extrait aqueux d'*Urtica dioica* à une dose de 150 mg/kg, que ce soit dans le cadre d'un régime normal ou riche en matières grasses, a entraîné une diminution des lipides et des lipoprotéines sériques. Des diminutions significatives du cholestérol et du rapport LDL/HDL (lipoprotéines de basse densité/haute densité) ont été observées (**Ait Haj Said et al., 2016**) (**Tab.02**).

Tableau 02 : Propriétés Thérapeutiques d'*Urtica dioica* L.

Propriétés Thérapeutiques	Actions	Références
Traitement de cancer prostatique et d'hypertrophie bénigne de la prostate.	Les effets de la racine d'ortie le traitement de l'HBP. (Un effet comparable à celui de la tamsulosine).	- Konrad <i>et al.</i> , 2000 - Durak <i>et al.</i> , 2004 - Schneider et Rubben, 2004 - Safarinejad, 2005 - Hoffman, 2006
Hypotenseur	Les racines d'Ortie peuvent produire des réponses hypotensives à travers des effets vasodilatateurs. Par la libération de l'oxyde d'azote endothélial et par l'ouverture des canaux potassiques. Et à travers une action inotrope négative.	- Broncano, 1983 - Newal <i>et al.</i> , 1996 - Blumenthal, 2000 - Tahri <i>et al.</i> , 2000 - Testai <i>et al.</i> , 2002 - Legssyer <i>et al.</i> , 2002
Diurétique	Augmente le débit urinaire.	- Blumenthal, 2000 - Yener <i>et al.</i> , 2008
Hépatoprotectrice, Dépurative	Elimination des toxines accumulées dans l'organisme (urée- ions de chlorure). La feuille aide à assainir autant la lymphe que le sang en diminuant l'acidité tout en régulant les facteurs inflammatoires.	- Turkdogan <i>et al.</i> , 2003 - Yener <i>et al.</i> , 2008
Anti-anémique, Anti-agrégation plaquettaire	Antifatigue grâce à la forte teneur en fer contenu dans la chlorophylle des feuilles.	- El houri <i>et al.</i> , 2006
Anti-allergique, Antioxydante	Utile dans le traitement de l'allergie au pollen, traitement de longue durée. Effets sur les récepteurs clés et les enzymes associés à la rhinite allergique (feuilles).	- Mittman, 1990 - Gulcin <i>et al.</i> , 2004 - Ilhami <i>et al.</i> , 2009 - Roschek <i>et al.</i> , 2009
Anti-inflammatoire, Immuno-stimulateur	Activité inhibitrice sur un œdème de patte de rat des polysaccharidiques de l'extrait aqueux des racines. Une activité immunostimulatrice des flavonoïdes glycosides des feuilles sur les neutrophiles.	- Glusker et Rossi, 1986 - Wagner, 1994 - Akbay <i>et al.</i> , 2003 - Capasso <i>et al.</i> , 2003
Traitement de rhumatisme et Arthrose	Effet sur la maturation des cellules dendritiques myéloïdes humaines, avec	- Wang et Wei, 2001 - Broer et Behnke, 2002

	diminution de l'induction la réponse des cellules T primaires du rhumatisme articulaire. Consolidation des cartilages grâce à sa richesse en Silice (surtout les racines).	
Effet sur la fonction cérébrale et la mémoire	La feuille d'ortie est capable de diminuer la transcription des facteurs de l'inflammation, et de stimuler la performance cérébrale.	- Wichtl et Anton, 2003
Alopécie (chute des cheveux)	Stoppe la chute des cheveux. (Surtout les racines)	- Davis, 1982

9. Domaines d'utilisation de l'Ortie

L'ortie représente une source inépuisable de composés chimiques et grâce à ces derniers, son utilisation est multiples et ne se limite pas qu'au domaine médical mais aussi dans autres (**Boyrie, 2016**), dont on cite :




9.1. Utilisation médical de l'Ortie

Les propriétés médicinales de l'ortie sont nombreuses (**Coupin, 1920**). Elle a été utilisée pour traiter plusieurs pathologies telles que l'eczéma (**Chrubasik et al., 2007**). Utilisée également pour ses propriétés antioxydant (**Gülcin et al., 2004 ; Kanter et al., 2005**), anti-inflammatoire (**Gülcin et al., 2004**) et antimicrobienne (**Ramtin et al., 2014**).

9.2. En pharmacie

Selon la partie utilisée de la plante (partie aérienne et racine), Il existe plusieurs formes pharmaceutiques qui ont été fabriquées dans différents laboratoires (**Tab.03**).

Tableau 03 : Exemples de médicaments à base d'*Urtica dioica* L. (Boyrie, 2016).

Forme	Médicaments	Indication
GELULES <i>Ar</i>	<i>Kog élules racine d'ortie</i> 	Pour lutter contre les troubles urinaires notamment liés à des problèmes prostatiques chez l'homme.
TISANE	<i>Ortie piquante</i> 	Feuilles d'orties séchées et découpées en vrac pour faire des infusions.
EPS	<i>EPS de racine d'Ortie</i> 	Extrait fluide de Plante fraîche Standardisé et glycéринé indiqué pour son inhibition sur la croissance prostatique et pour son activité anti-inflammatoire.

9.3. Utilisation de l'Ortie dans l'industrie cosmétique

L'Ortie est également utilisée en cosmétique sous forme de shampooing, car on lui attribue la capacité de stimuler la croissance des cheveux (les feuilles et les racines sont d'excellents toniques capillaires) et dans certains produits pour traiter les maladies de la peau comme l'*eczéma* et l'*acné* (Binns., 2006).

9.3. Usages alimentaires

« Il y en a des plus riches que moi qui ont mangé des orties ! » Dictionnaire populaire français. L'ortie dioïque fait sans doute partie de ces légumes primitifs. Consommés depuis la nuit des temps.

Les feuilles de cette plante sont comestibles, et peuvent être mangées crues (hachées en salade) ou en légumes, dans des gratins, en soupe, des quiches ou dans la potée aux orties. Le plus souvent elles sont consommées cuites à l'instar des épinards (Couplan et Styner, 2002).

9.4. En agriculture

L'ortie nous plonge au tout début de l'agriculture. Car cette plante fut rapidement apprivoisée et devint une alliée précieuse du jardinier, qui peut, grâce à quelques applications simples, rendre son jardin plus productif (Tabardel, 2003).

Il appréciera ses vertus fertilisantes et insecticides, et renforcera la vitalité de ses légumes. Mais c'est surtout pour le jardinier biologique qu'elle est un outil indispensable. C'est, entre autres, grâce à elle et à ses multiples utilisations que l'on peut sans difficulté se passer des traitements qui empoisonnent le jardin et notre santé. On note aussi que sa seule présence stimule la croissance des végétaux voisins, de plus elle protège le sol des accidents climatiques (Bertrand, 2007).

Le purin *d'ortie* s'utilise soit comme fertilisant, soit en traitement préventif de certaines maladies ou invasions de parasites. Sa réputation est ancienne. On l'utilisait en agrobiologie sans même connaître les raisons scientifiques. Ce n'est que récemment que des chercheurs, intrigués par ces résultats, ont décidé de le soumettre à de rigoureuses expérimentations. Les travaux effectués en 1981, sont l'œuvre de **Roif Peterson**, chercheur suédois. Ils confirment en tous points les travaux de terrain et donnent des arguments de poids aux fervents défenseurs de l'agriculture biologique (**Peterson, 1986**). Sans oublier que c'est aussi un excellent accélérateur de compost (**Bertrand, 2007**).

9.5. En textile

L'industrie de l'ortie a essayé de s'imposer en Allemagne et en France plus particulièrement à Angers entre le XV^{ème} et le XVII^{ème} siècle car les fibres d'ortie (figure 06) étaient qualifiées de soie végétale. Grâce à sa couleur verte, elle a servi aux militaires allemands comme (tentes, sac à dos, filet de camouflage, pulls et chaussettes, etc.) les hommes et les enfants des villages du Nord et de l'Est devaient récolter des orties pour approvisionner les usines textiles allemandes (**Petiot et al., 2010**).

Aujourd'hui, les matières végétales reviennent au goût du jour. On les retrouve donc de plus en plus dans la composition des vêtements (**Fig.09**).



Figure 09 : Fil brut 100% Ortie non teinté pelote (**Anonyme, 2024a**).

9.6. Usages divers

L'Ortie est aussi utilisée pour certains colorants car elle a une haute teneur en chlorophylle. Ses teintures vont du jaune (racines) au vert (feuilles). On a extrait de la chlorophylle des colorants alimentaires (E140), des arômes utilisés pour des dentifrices et chewing-gums (**Sylvie et Ghislain, 2005**). On retrouve également cette plante dans la fabrication du papier et dans la composition de billets de banque (**Petiot et al., 2010**).

On cite aussi qu'en Normandie, l'ortie était utilisée pour enlever les taches de graisse récalcitrantes. En montagne, les bergers récuraient leur chaudron à fromage avec une poignée *d'orties* fraîches. Cette propriété bien réelle de l'ortie est due à la forte concentration de la plante en silice (dans les poils) et en cristaux de calcium (dans l'épiderme) (**Bertrand, 2002**).

10. Toxicité d'*Urtica dioica* L.

Urtica dioica est une plante bénéfique qui est utilisée largement dans différentes domaines, et plus particulièrement thérapeutique mais ce n'est pas là le seul caractère de l'ortie. En effet, l'ortie a une toxicité qui est due d'une part aux ses poils urticants en contact de la peau résultant à son irritation, cette réaction est due au complexe chimique contenue dans les poils ; l'acide formique, de l'histamine, de l'acétyl choline et de la sérotonine.

Le résultat de cette irritation est la formation d'une papule dite « ortiée », avec au centre une rougeur entourée d'une auréole érythémateuse de 1 cm de diamètre, et tout autour une papule œdémateuse irrégulière, avec chaleur locale et prurit. L'ensemble de ces symptômes est appelé l'urticaire, ainsi nommée parce qu'elle évoque l'effet de la pique d'ortie (**Botineau, 2010**).

D'autre part, la toxicité de l'ortie est due à son extrait, et son effet n'est pas le même chez les hommes et les animaux, ou elle est négligeable chez l'homme par apport aux animaux (**Wichtl et Anton, 2003**).

1. Activité antioxydante

Ces dernières années, un intérêt croissant s'est manifesté pour les propriétés antioxydantes des plantes médicinales. Ceci est principalement dû à leur rôle potentiel dans la prévention de maladies chroniques. En effet, ces plantes, grâce à leurs propriétés antioxydantes, pourraient contribuer à combattre le stress oxydatif, un facteur majeur dans le développement de maladies comme les troubles cardiaques, le cancer, le diabète, l'hypertension et la maladie d'Alzheimer (**Meddour et al., 2013**).

1.1. Stress oxydant

Le stress oxydant se traduit par un déséquilibre profond de la balance entre la formation des espèces réactives de l'oxygène à caractère pro-oxydant et les antioxydants qui régulent leur production, en faveur des premières (**Telaidji, 2018**). Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants, ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (**Kirschvink et al., 2008**). L'équilibre ou homéostasie redox est perturbé et les cellules deviennent vulnérables aux attaques par les ERO (**Mac Laren, 2007**).

1.2. Radicaux libres

Un radical libre (RL) est une espèce chimique avec un ou plusieurs électrons isolés dans sa couche externe, ce qui lui confère une instabilité et une réactivité élevée (demi-vie courte) (**Ortiz et al., 2009**). Les espèces radicalaires tentent de coupler leurs électrons libres en attaquant d'autres molécules. Aux concentrations physiologiques, RL joue un rôle dans la signalisation cellulaire, la migration et la différenciation (**Ziech et al., 2010**). Cependant, à des concentrations plus élevées, il induit la mort cellulaire et l'apoptose (**Salido et Rosado, 2009**).

La présence d'un électron célibataire leur confère une grande réactivité (**Halliwell et Whiteman, 2004**). D'après **Dacosta (2003)**, les principaux radicaux libres qu'on rencontre dans le corps humain sont : l'anion superoxyde ($O^{\cdot -}$) ; le radical hydroxyle OH^{\cdot} ; Le radical alcoxyle (RO^{\cdot}) ; l'oxyde nitrique (NO^{\cdot}) et le radical hydroperoxyde HOO^{\cdot} (**Tab.04**).

Tableau 04: Principaux radicaux libres et leurs formules chimiques (**Haton, 2005**).

Radicaux libres	Structures chimique
Radical hydroxyle	OH^{\cdot}
Radical hydroperoxyde	HOO^{\cdot}
Radical peroxyde	ROO^{\cdot}
Radical alcoxyle	RO^{\cdot}
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Peroxynitrite	$ONOO^{\cdot}$
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot -}$

1.2.1. Origine des radicaux libres

Des radicaux libres sont produits en permanence dans l'organisme, dans les mitochondries ou lors de phagocytose. Ils peuvent également se former au cours de mécanismes de détoxification après exposition à certaines espèces chimiques ou sous l'effet de radiations. Mais l'essentiel de leur production est associé au métabolisme cellulaire de l'oxygène et aux réactions d'oxydoréduction (Tison et al., 1989 ; Dobet, 1991).

Des sources importantes de radicaux libres sont les mécanismes de cycles redox que produit dans l'organisme l'oxydation de molécules comme les quinones. Ce cycle redox a lieu soit spontanément, soit surtout lors de l'oxydation de ces composés au niveau du cytochrome capables de générer des radicaux libres et les particules inhalées (amiante, silice) sont aussi des sources de radicaux libres (Gauthuret, 2004) (Fig.10).

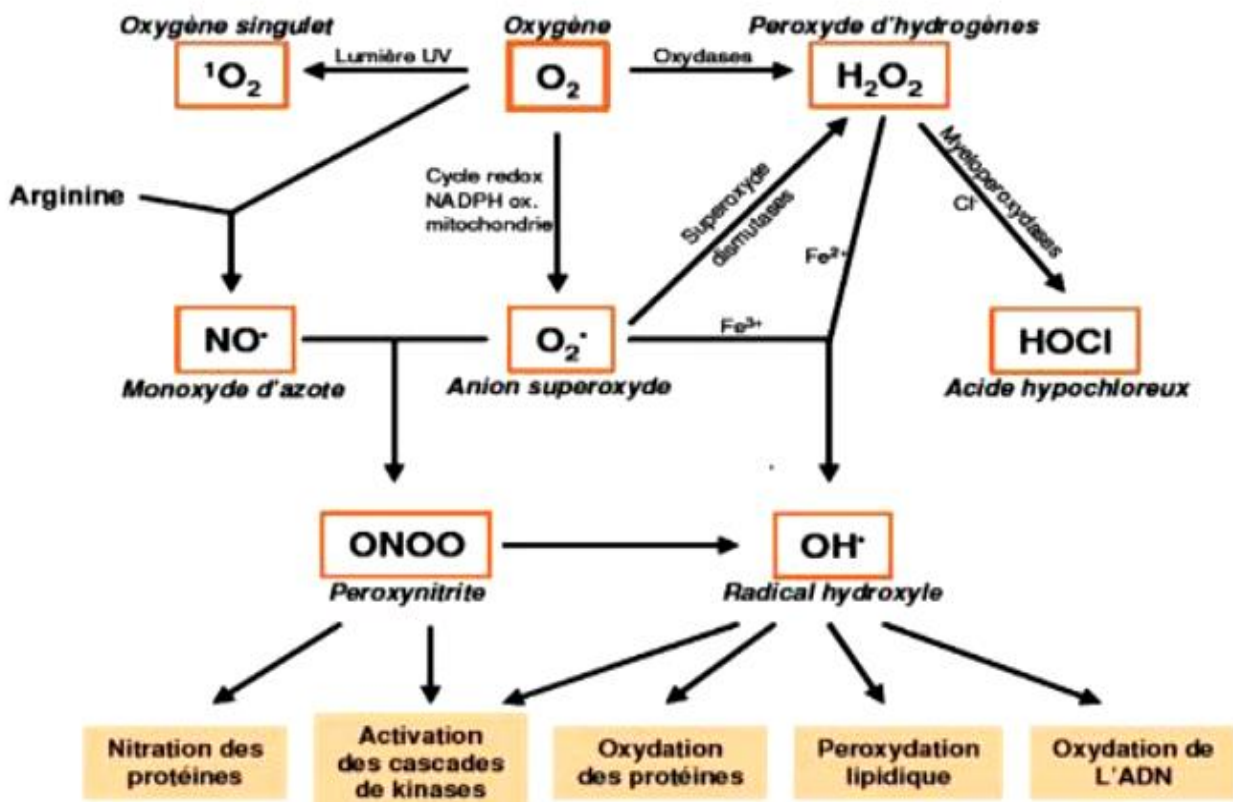


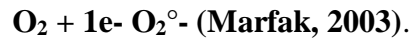
Figure 10: Origine des différents radicaux libres (ROS) impliqués en biologie (Favier, 2003).

1.2.2. Productions des radicaux libres

Les radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les résidus des réactions énergétiques, de défense ou les médiateurs tissulaires, cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense (Favier, 2003). Ils sont des espèces réactives de l'azote (RNS) ainsi que espèces réactives de l'oxygène (ROS). Lorsqu'ils sont en surcharge, ils ne peuvent pas être détruit, leur accumulation alors dans le corps provoque le stress oxydatif (Lien Al Pham-Huy et al., 2008). On distingue deux types de production des radicaux libres :

1.2.1.2. Production endogène

L'une des sources majeures des ROS est la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette production résulte de l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire. Une telle réaction est catalysée par le cytochrome oxydase mitochondrial.



La formation endogène de radicaux libres s'effectue au niveau de divers organites cellulaires.

- **Les mitochondries** : sont considérées comme une source majeure des ROS. (Mohammed *et al.*, 2015), Elles produiraient en effet 90% des ROS cellulaires (Balaban *et al.*, 2005).

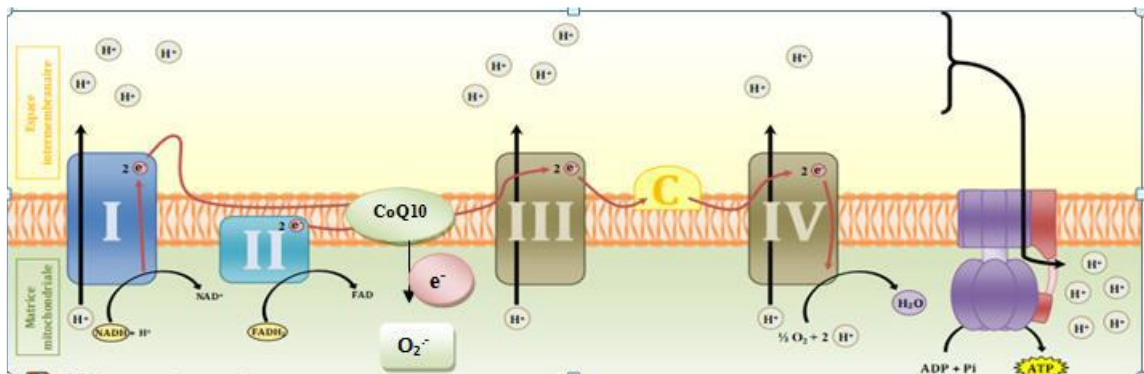


Figure 11 : Le transport électronique à travers la chaîne respiratoire mitochondriale et la production des ROS. Complexe I : NADH déshydrogénase, Complexe II : succinate déshydrogénase, Complexe III: Coenzyme Q-cytochrome C réductase, Complexe IV : Cytochrome C oxydase, CoQ10 : Coenzyme Q10. (Li *et al.*, 2017).

La membrane interne mitochondriale est le siège de la respiration qui correspond à un transfert d'électrons à travers la chaîne respiratoire jusqu'à un accepteur final qui est l'oxygène. Ces électrons proviennent des équivalents réduits NADH, H⁺ et FADH₂ issus du catabolisme des nutriments (lipides, glucides). A ce flux d'électrons est associé un transfert actif de protons de la matrice vers l'espace intermembranaire générant une force protonmotrice (Mitchell, 2000) (Fig.11).

La mitochondrie est un organe utilisant de l'oxygène pour produire de l'ATP. Au cours de la respiration cellulaire, 95 à 99 % de l'oxygène consommé est réduit en eau. La réduction de l'oxygène moléculaire par les cytochromes respiratoires cellulaires s'accompagne d'une formation parallèle d'environ 2% d'ions superoxyde, d'eau oxygénée et éventuellement de radicaux (OH) (Sturtz *et al.*, 2001).

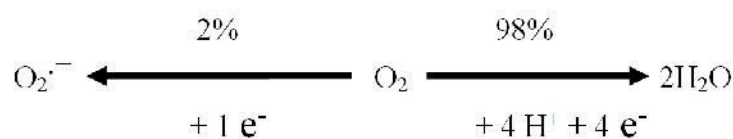


Figure 12 : Production de l'anion radicalaire superoxyde (O₂^{•-}) par respiration (Sturtz *et al.*, 2001).

- **Les microsomes** : La production des radicaux libres ensuivre parallèlement une activation de l'oxygène par le cytochrome P-450 pour assurer les biotransformations.
- **Le cytosol**: C'est localisation des différentes réactions enzymatiques responsables à la production du ($O_2^{\circ-}$). La réduction de l'oxygène par un électron pour devenir un anion superoxyde nécessite d'un cofacteur c'est le NADPH et des différentes enzymes. Parmi ces enzymes qui ont permettant cette réaction les plus important sont (**Fig.13**): La xanthine oxydase (responsable de la transformation de l'hypoxanthine en xanthine), la NADPH oxydase (présente dans les neutrophiles où elle intervient dans leur propriété bactéricide) et aussi les enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450) et celles de la chaîne respiratoire mitochondriale (**Cia et Harrison, 2000**).

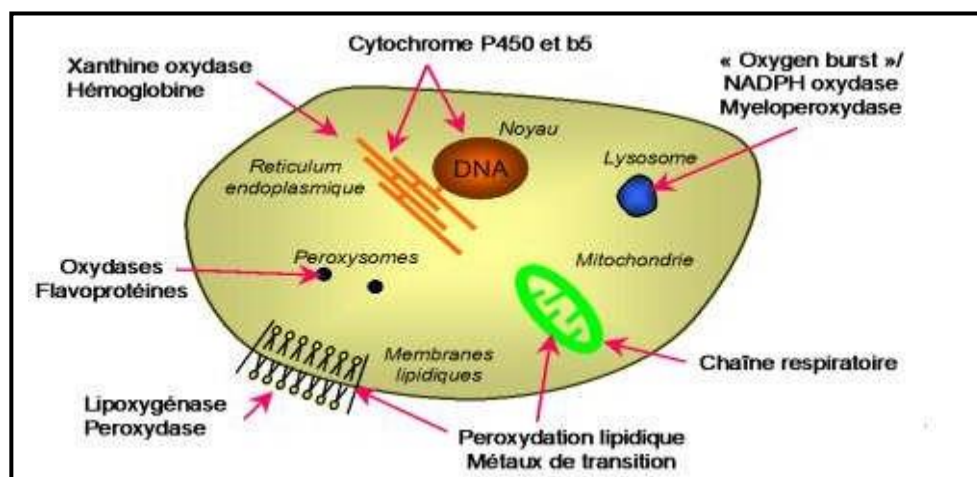


Figure 13 : Sites de production intracellulaire des ERO (**Machlin et al., 1987**).

D'autres sources peuvent également jouer un rôle dans la production de radicaux comme :

- La xanthine oxydase qui réduit l'oxygène moléculaire en ion super oxyde ;
- Les peroxysomes qui possèdent plusieurs enzymes sources de peroxyde d'hydrogène et les lipoxygénases, qui permettent la synthèse des prostaglandines, oxydent les acides gras pour donner des hydro peroxydes d'acide gras insaturés (**Delattre et al., 2005b**) ;
- Les cellules phagocytaires activées par une réaction inflammatoire produisent un grand nombre d'ERO lors de la défense antibactérienne ;
- Les NO synthases, à l'origine du radical NO^{\bullet} , peuvent, sous certaines conditions, produire également des anions superoxydes ;
- Lors de la flambée respiratoire ; il y a production massive d'anion superoxyde par le mécanisme leucocytaire (**Delattre et al., 2005c ; Valko et al., 2006**).

1.2.2.2. Production exogène

Les agents exogènes générateurs des ROS continue d'attaquer toujours l'organisme humain est obéissante à leur agression (**Favier, 2003**).

- **Les rayonnements UV:** les radiations UV provoquent particulièrement des démâtements au niveau de l'ADN. Les radiations ionisantes induisent la synthèse de radicaux libres dérivés de l'oxygène tels que : ($O_2^{\circ-}$), (OH^{\cdot}), (O_2) et les molécules génératrices des radicaux libres par l'intermédiaire d'agents photo sensibilisants.
- **Le monoxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO_2):** Sont formés par les Nitric Oxyde synthases (NOS). Ils sont des toxiques présents dans notre environnement comme par exemple: suie, goudron, tabac, polluants industriels. En plus, sont également responsables de la synthèse des radicaux libres.
- **L'alimentation:** comme l'alcool, café, les aliments riches en protéines et en lipides pouvant être à l'origine de la production des radicaux libres, donc ils ont une faible consommation des antioxydants (**Hu Yet al. 2006**).
- **Certains médicaments:** les médicaments qui sont utilisés comme un traitement contre le cancer (anticancéreux comme les anthracyclines) peuvent provoquer aussi la production des radicaux libres (**Moller et al., 1996**).

1.3. Espèces Réactives de l'Oxygène

Notre organisme a besoin d'énergie pour fonctionner correctement. Les cellules transforment les nutriments apportés par l'alimentation en énergie et en eau. Cette transformation génère environ 2% de molécules d'oxygène (**Edeas, 2005**). L'oxygène (**Fig.14**) peut s'avérer délétère en raison de son caractère oxydant, il est à l'origine de la formation de dérivés plus réactifs appelés espèces réactives de l'oxygène (**Ichai et al., 2011**).

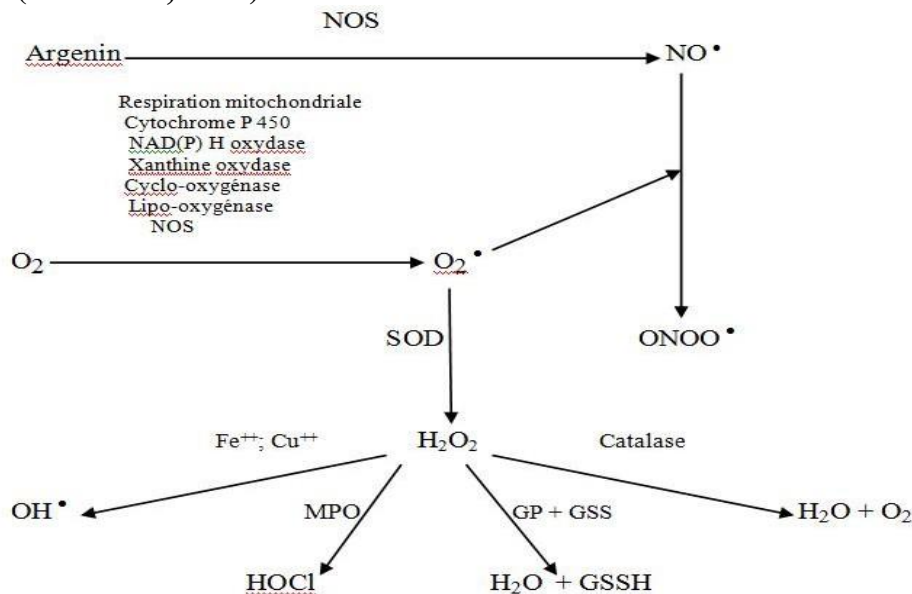


Figure 14 : Principales voies de formation des espèces réactives de l'oxygène (**Ichai et al., 2011**).

Ces espèces toxiques sont appelées radicaux libres et font partie de la classe des espèces oxygénées réactives (EOR) ou reactive oxygen species (ROS) selon les anglo-saxons. Cette classe comprend en plus des radicaux libre, certains dérivés réactives non radicalaires dont la toxicité est plus importante tels que le peroxyde d'hydrogène et le peroxydinitrite (**Bartosz, 2003 ; Halliwell et Whiteman, 2004**) (**Tab.05**).

La toxicité des EOR n'est pas nécessairement corrélée avec leur réactivité. Dans plusieurs cas, des espèces peu réactives peuvent être à l'origine d'une grande toxicité en raison de leur longue demi-vie qui leur permet de se diffuser et gagner des sites sensibles ou elles peuvent interagir et causer des dommages à longue distance de leurs sites de production (**Kohen et nyska, 2002**).

Tableau 05 : Principales ERO radicalaires et non-radicalaires (**Dwassy, 2014**).

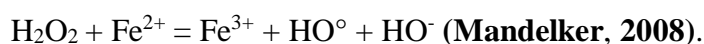
Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	
Radicalaire	Non radicalaire
Radical superoxyde: $O_2^{\bullet-}$	Peroxyde d'hydrogène: H_2O_2
Radical hydroxyle: OH^{\bullet}	Ion hypochlorite: ClO^-
Peroxyde: RO_2^{\bullet}	Ozone: O_3
Alkoxyde: RO^{\bullet}	Oxygène singulet: 1O_2
Hydroperoxyde: HO_2^{\bullet}	Peroxydinitrite: $ONOO^-$

1.3.1. Radical superoxyde

Dans l'organisme une partie de l'oxygène moléculaire peut capter de manière univalente et séquentielle un électron conduisant alors la formation du chef de file des espèces oxygénées réactives l'anion superoxyde ($O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$) (**Koechlin-Ramonatxo, 2006 ; Al-Mamun et al., 2007**).

1.3.2. Peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Il est relativement stable, possède une demi-vie longue, et les membranes biologiques lui sont perméables. Il est peu dangereux en soi pour la cellule, mais il constitue la source du radical hydroxyle HO^{\bullet} par la réaction de Fenton :



Certains auteurs préfèrent alors considérer la réaction de l'anion superoxyde avec le peroxyde d'hydrogène, catalysée par un ion métallique tel que le fer ; cette réaction est appelée réaction d'Haber-Weiss :



L'importance *In Vivo* de cette réaction est encore largement débattue, dans la mesure où l'ion ferreux Fe^{2+} existe rarement à l'état libre, et souvent maintenu par le potentiel redox de la cellule en ion ferrique Fe^{3+} (**Halliwell et Gutteridge, 1990**).

1.3.3. Radical hydroxyle HO•

❖ Production de HO•

HO• est donc généré essentiellement à partir de H₂O₂ via la réaction de Fenton (**Wink et Coll, 1994**). Cependant, les rayonnements UV (rupture homolytique de H₂O₂), les ultrasons (cassures des liaisons de l'eau) et les radiations ionisantes (radiolyse de l'eau) sont également capables de générer HO• (**Von Sonntag, 2008**).

❖ Réactivité de HO•

Le couple HO•/OH⁻ possède un potentiel d'oxydoréduction de + 1.2 V/ENH et une demi-vie en milieu biologique, d'environ 10⁻⁹ s à 37 °C (**Pryor, 1986**). Le radical hydroxyle est très réactif. C'est le plus puissant oxydant qui puisse être généré au sein des cellules. Il réagit instantanément de façon non sélective, aux limites de la vitesse de diffusion, avec toutes les macromolécules biologiques, sucres, acides aminés, phospholipides, nucléotides ainsi qu'avec les acides organiques (**Valentine et Coll, 1998**). Il est donc extrêmement toxique pour la cellule. En général, il réagit par arrachement d'un atome d'hydrogène d'une liaison C-H, conduisant à la formation concomitante d'un radical organique.

1.3.4. Oxygène singlet 1O₂

Il correspond à une forme excitée de l'oxygène O₂ : il possède la même structure électronique que l'oxygène mais 'agencée' différemment, à savoir que les électrons de la couche externe initialement non appariés se sont appariés. Il n'est donc pas radicalaire. Son état 'excité' lui confère un potentiel oxydant supérieur à celui de l'oxygène (**Halliwell et Gutteridge, 2007**).

1.4. Conséquence biochimique et biologique du stress oxydant

1.4.1. Conséquences biochimiques

1.4.1.1. Peroxydation lipidique

Les lipides notamment les acides gras insaturés sont les cibles privilégiées des radicaux libres (**Baudin, 2006**). En présence de dioxygène, la réaction des radicaux sur les doubles liaisons initie une réaction en chaîne menant à des peroxydes ou à des hydroperoxydes (**Houée-Levin et al., 2005**). Les hydroperoxydes ainsi formés peuvent subir plusieurs transformations: être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhyde et en alcane qui, par leur volatilité, sont éliminés par voie pulmonaire (**Favier, 2003; Guichardant et al., 2006**).

L'attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires, les conséquences seront différentes:

*L'attaque des lipides circulants aboutissent à la formation de LDL (lipoprotéines de légèreté oxydées, qui seront captées par des macrophages formeront ainsi des dépôts lipidiques de la plaque d'athérome responsables des maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**) ;

*L'attaque des phospholipides membranaires a une action sur la fluidité des membranes et donc sur le fonctionnement de nombreux récepteurs, les aldéhydes ainsi libérés dans le cytosol réagissent avec les protéines (Favier, 2003; Houée-Levin *et al.*, 2005).

1.4.1.2. Oxydation des protéines

La toxicité des ERO s'exerce également sur les protéines. Les ERO sont en effet capables de réagir avec les différents acides aminés des protéines. Les plus sensibles aux actions des ERO sont :

- Les acides aminés aromatiques comme le tryptophane et la tyrosine sur lesquels le radical OH• s'additionne en modifiant la conformation de la protéine (Baudin, 2006; Koehler-Ramonatxo, 2006) ;
- Les acides aminés contenant un atome de soufre tels que la cystéine et la méthionine; leur oxydation par les radicaux libres conduit à la formation de ponts disulfures, donc à l'agrégation de plusieurs molécules de protéines (Koehler-Ramonatxo, 2006);
- Les acides aminés basiques : l'histidine, la lysine et l'arginine, sont également sensibles au radical hydroxyle et forment ainsi des dérivés carbonyles ou hydroxyles semi-aldéhydes (Baudin, 2006).

1.4.1.3. Oxydation de l'ADN

L'ADN qu'il soit nucléaire ou mitochondrial est également la cible majeur des ERO (Koehler-Ramonatxo, 2006). Les radicaux hydroxyles sont les plus actifs, ils ont la capacité d'oxyder rapidement les bases azotées. La guanine est la base la plus exposée à l'oxydation et le principal produit formé est la 8-hydroxyguanine (Houée-Levin *et al.*, 2005) (Fig.15)

Ces radicaux peuvent aussi attaquer la fraction glucidique de l'ADN. L'oxydation du désoxyribose est moins probable que celle des bases, elle mène soit à une perte de base adjacente et donc à la formation des sites abasiques ou bien à une rupture de la liaison phosphodiester créant une coupure du simple brin d'ADN (Favier, 2003 ; Houée-Levin *et al.*, 2005).

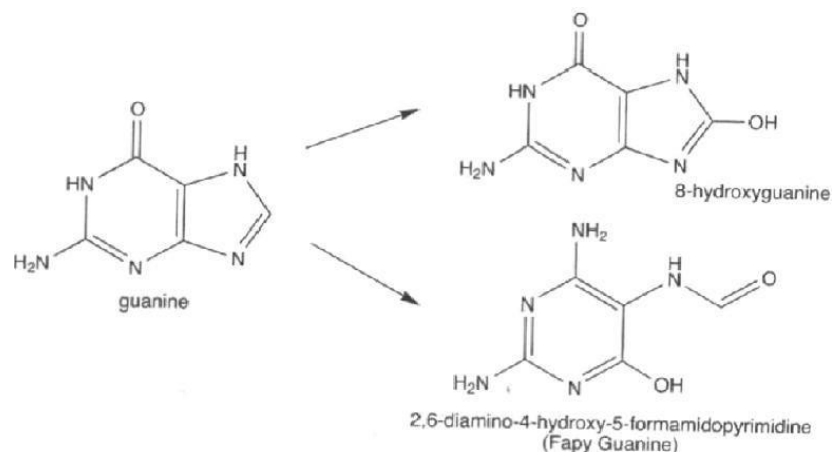


Figure 15 : Produit de l'oxydation de la base de l'ADN, la guanine (Houée-Levin *et al.*, 2005).

1.4.2. Conséquences biologiques

Elles sont extrêmement variables selon la concentration des ERO :

- Des légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines;
- Des stress moyens faciliteront l'apoptose;
- Des forts stress provoqueront une nécrose;
- Les stress violents désorganiseront la membrane cellulaire et entraîneront des lyses immédiates

(Favier, 2003).

De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant tels que les mutations, la carcinogénèse, les malformations du fœtus, les dépôts de protéines anormales, les fibroses, la formation d'auto-anticorps, les dépôts de lipides oxydés, et les immunosuppressions (Favier, 2003).

Les différents dommages engendrés par ces radicaux libres sur les macromolécules biologiques sont résumés dans la figure suivante :

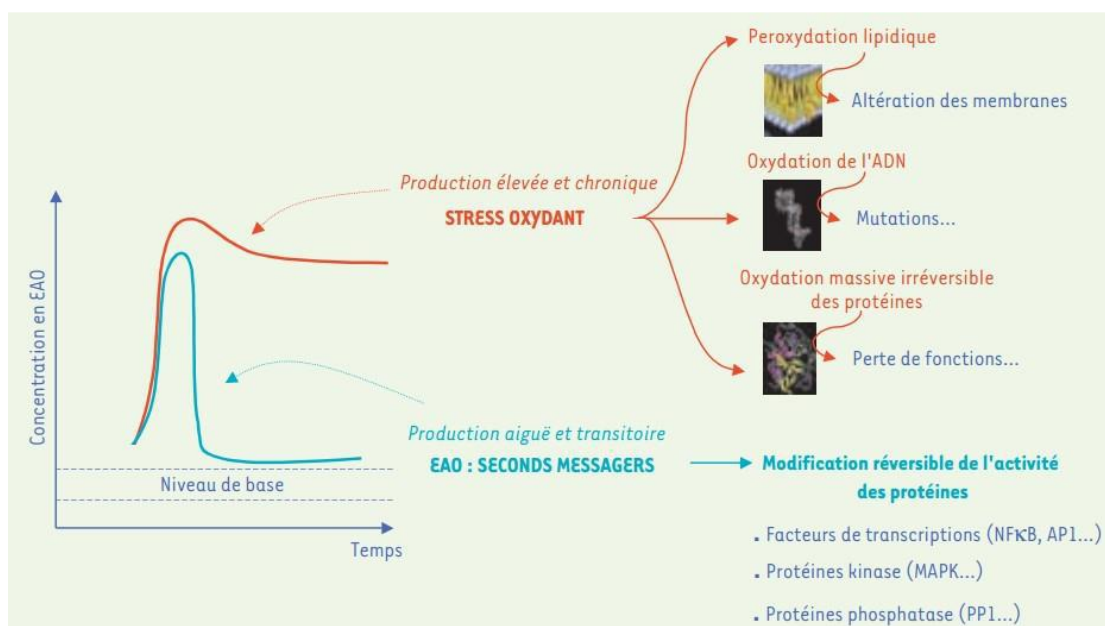


Figure 16 : Conséquences des ROS sur les molécules biologiques (Carriere *et al.*, 2017).

1.5 Type des antioxydants

1.5.1 Antioxydants enzymatique

Ces systèmes sont composés d'enzymes telles que le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPX), capables d'éliminer les radicaux libres et d'autres espèces réactives.

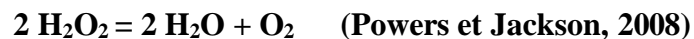
- **Superoxyde Dismutase (SOD)**

Le SOD est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation du superoxyde en oxygène et peroxyde d'hydrogène. Pour cette raison, cette enzyme représente une partie importante du système de défense contre les radicaux libres (**Halliwell et Gutteridge, 1999**). Cette métalloprotéine est classée en trois catégories, la SOD cytosolique (Cu⁻ et Zn⁻ dépendante), la SOD mitochondrial

(Mn-dépendante), et la SOD extracellulaire. La structure de SOD est bien conservée lors de l'évolution et présente un puits hydrophobe au centre de la protéine dans lequel se glisse l'anion superoxyde et puis l'élimination de ce dernier (**Zelko et al., 2002**).

- **Catalase (CAT)**

La catalase se trouve dans les peroxysomes essentiellement. Elle assure la transformation en eau et dioxygène du peroxyde d'hydrogène H₂O₂, pour lequel elle a une moins forte affinité que la GPX. Elle fonctionne avec un cofacteur : le fer (**Tessier et Marconnet, 1995**). Là encore des concentrations plus élevées en CAT ont été retrouvées dans les fibres musculaires oxydatives (i.e. type I) (**Powers, Criswell et al., 1994**).



- **Glutathion peroxydase GPX**

La glutathion peroxydase est une enzyme tétramérique permettant également la décomposition du H₂O₂. Elle agit plus lentement que la catalase mais elle a une meilleure affinité pour le H₂O₂ que cette dernière. La GPX est donc essentielle à la décomposition du H₂O₂ produit de manière continue et à des niveaux physiologiques dans la cellule. Les GPX sont des enzymes sélénium-dépendantes ou sélénium-indépendantes et sont soit cytosolique, comme c'est le cas de la première GPX identifiée (**Mills, 1957**), soit extracellulaire (**Fig.17**).

$\text{H}_2\text{O}_2 + 2 \text{GSH} = 2 \text{H}_2\text{O} + \text{GSSG}$ $\text{ROOH} + 2 \text{GSH} = \text{ROH} + \text{H}_2\text{O} + \text{GSSG}$ (**Powers et Jackson, 2008**).

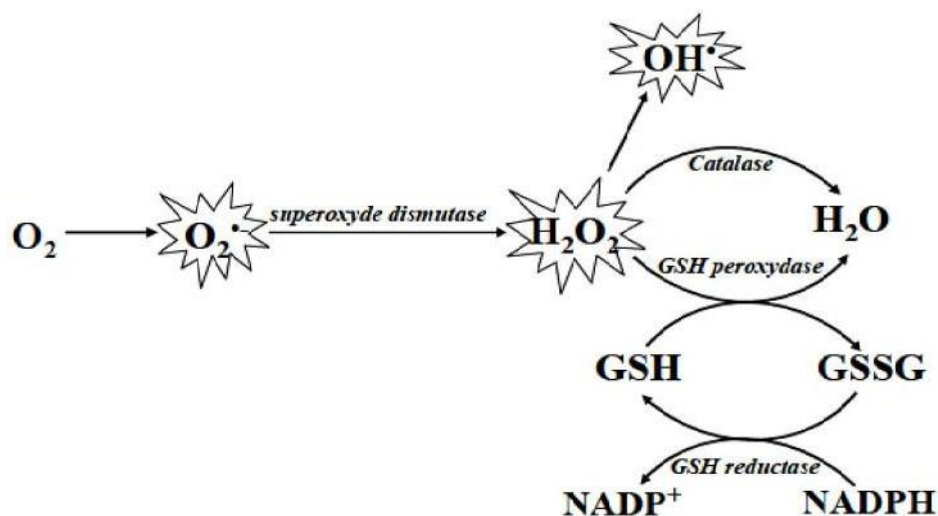


Figure 17 : Schéma de défenses anti oxydantes enzymatiques. D'après **Favier (2006)**.

1.5.2. Antioxydants non enzymatiques

Cette classe regroupe des composés endogènes de faible poids moléculaire qui peuvent être soit des produits de synthèse (glutathion, histidine dipeptide) ou issus du métabolisme cellulaire (acide urique) (Kohen et Nyska, 2002). Des protéines telles que la ferritine, la ceruloplasmine et l'albumine contribuent à leur tour dans la défense antioxydante secondaire en chélatant les métaux de transition permettant ainsi de prévenir la formation du radical hydroxyle via la réaction de Fenton (Martínez-Cayuela, 1995).

- **La Thioredoxine** : C'est une protéine à deux fonctions thiols. La thioredoxine réduite (TRX- (SH)₂) est générée à partir de la thioredoxine oxydée (Trx-SS) par la thioredoxine réductase (Houée-Levin *et al.*, 2005); elle intervient dans la réduction des ponts disulfures des protéines oxydées en thiols (Houée-Levin *et al.*, 2005).
- **Le Glutathion** : C'est le thiol le plus abondant dans les organismes et les systèmes vivants (Baudin *et al.*, 2006).
- **L'Acide urique** : C'est un piègeur de l'O₂, des radicaux peroxy et hydroxyles (RO₂^{*} et HO^{*}), de l'ozone et de HClO (Delattre *et al.*, 2005).
- **La Vitamine C** : La vitamine C ou acide ascorbique n'est pas synthétisée par l'organisme. C'est un excellent piègeur des ERO qui peut protéger divers substrats biologiques (protéines, acides gras, ADN) de l'oxydation. Cette molécule contient trois formes moléculaires les plus connues de Vitamine C sont : l'acide D-ascorbique, l'acide L-ascorbique et sa forme oxydée dite acide déshydroascorbique (DHA) dont ces deux dernières possèdent une activité biologique (Bourgeois, 2003).

La vitamine C a également un pouvoir antioxydant indirect en recyclant les caroténoïdes et la vitamine E. D'un autre côté, la vitamine C permet le recyclage de Fe³⁺ en Fe²⁺ favorisant ainsi la réaction de Fenton et donc de manière indirecte une action pro-oxydante. L'acide urique est issu du métabolisme des purines et peut réagir avec HO^{*} (Ames *et al.*, 1981) et être régénéré par la vitamine C.

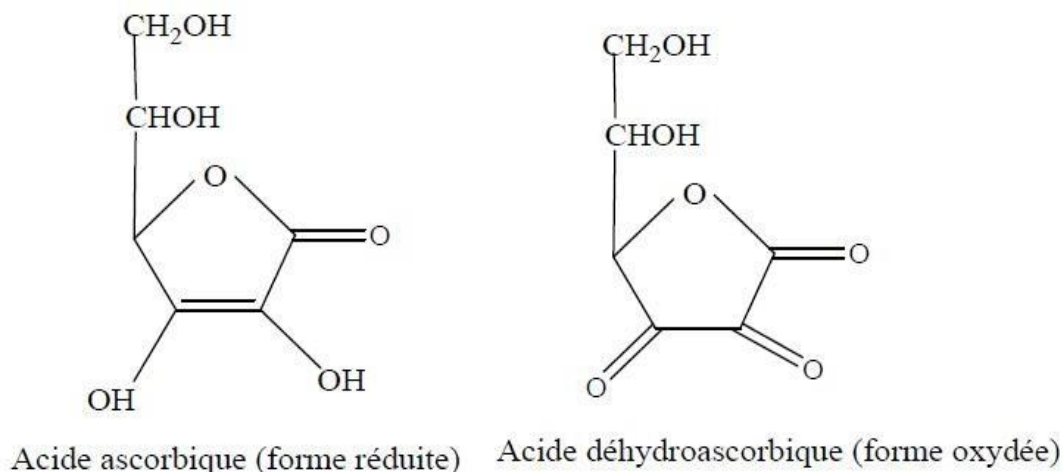


Figure 18 : Structure chimique de la vitamine C (Grusse, 2003).

- **La Vitamine E** : Le terme « vitamine E » désigne en fait de nombreux isomères de tocophérols et de tocotriénols. L'isomère qui possède l'activité *in vivo* la plus importante chez l'animal est le **RRR- α -tocophérol**. Les teneurs plasmatiques importantes en RRR- α -tocophérol par rapport aux autres isomères sont dues à une plus grande affinité d'une protéine hépatique (la protéine de transfert de l' α -tocophérol ou α -PTT) pour la forme RRR- α -tocophérol (**Fig.19**) ; cette protéine assure l'incorporation de ce dernier dans les VLDL, alors que les autres formes subissent un *turn-over* rapide (**Halliwell et Gutteridge, 2007**).

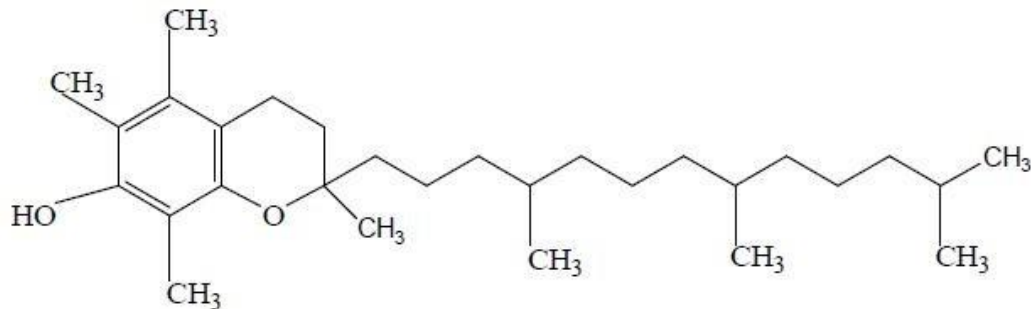


Figure 19 : Structure chimique de l' α -tocophérol (**Berset, 2006**).

- **Les Oligo-éléments** : Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre les radicaux libres dont ces oligo-éléments interviennent comme cofacteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres (**Médale, 2008**). Les organismes aquatiques puisent ces oligo-éléments à la fois dans leur nourriture et dans l'eau, tel que les poissons qui sont une source majeure des minéraux environ 65% stocké chez les vertèbres (**Lall, 1995**).
- **Les Polyphénols** : L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules d'une extrême diversité (**Edeas, 2007**), allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire, tels les acides phénoliques, à des composées hautement polymérisés comme les tannins (**Lugasi *et al.*, 2003 ; Cheynier, 2005**) ; ces molécules présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (**Hennebelle *et al.*, 2004 ; Lotito et Frei, 2006**).
- **Les Flavonoïdes** : Les flavonoïdes sont des composés phénoliques généralement produit par cyclisation d'un intermédiaire dérivé de l'acide cinnamique et de trois molécules de malonyl-CoA (**Judd *et al.*, 1999**), ils possèdent un squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (**Heller et Forkmann, 1993**).

Leur fonction principale semble être la coloration des plantes, ils sont beaucoup utilisés en leur systématique probablement parce que leur extraction et leur identification sont assez faciles. Ils sont parfois utiles pour estimer les relations phylogénétiques au niveau supérieur (Judd *et al.*, 1999). Les flavonoïdes sont connus principalement pour leur activité antioxydante (Fig.20). Ils sont présentés dans des organismes très divers. Ils ont tous une origine biosynthétique commune, ce qui explique qu'ils partagent la même structure de base (Bruneton, 2008).

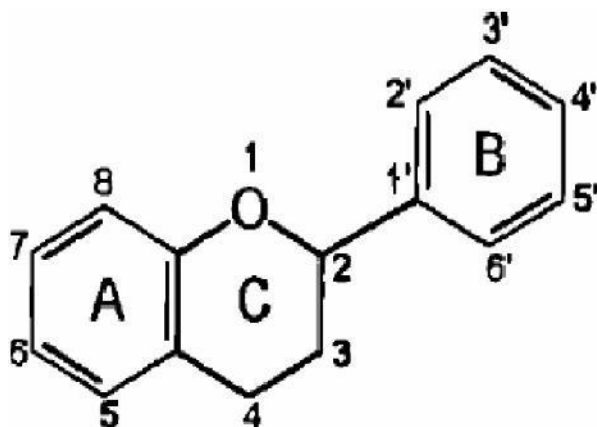


Figure 20 : Structure de base des flavonoïdes (Richter, 1993).

- **Les Tannins** : Les tannins sont des polyphénols polaires du poids moléculaires compris entre 500 et 3000 Da. Ils sont caractérisés par leur capacité antioxydante et leur propriété thérapeutique (Cowan, 1999). Ils peuvent avoir plusieurs activités biologiques dont l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antifongique, antitumorale, antivirale et anti diarrhéique (Bruneton, 1999). Les tannins sont subdivisés en deux classes différentes (Fig.21), largement distribuées chez les végétaux supérieurs:

🌈 **Tannins hydrolysables** : qui sont des esters d'un sucre (généralement le glucose) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénolique (acide gallique, dans le cas des tanins galliques, ou acide hétéroxydiphénique (HHDP), dans le cas des tannins ellagiques) ;

🌈 **Tannins condensés** : qui sont formés par la condensation des unités flavan-3-ols et flavan-3-4-diols (Vermerris et Nicholson, 2006).

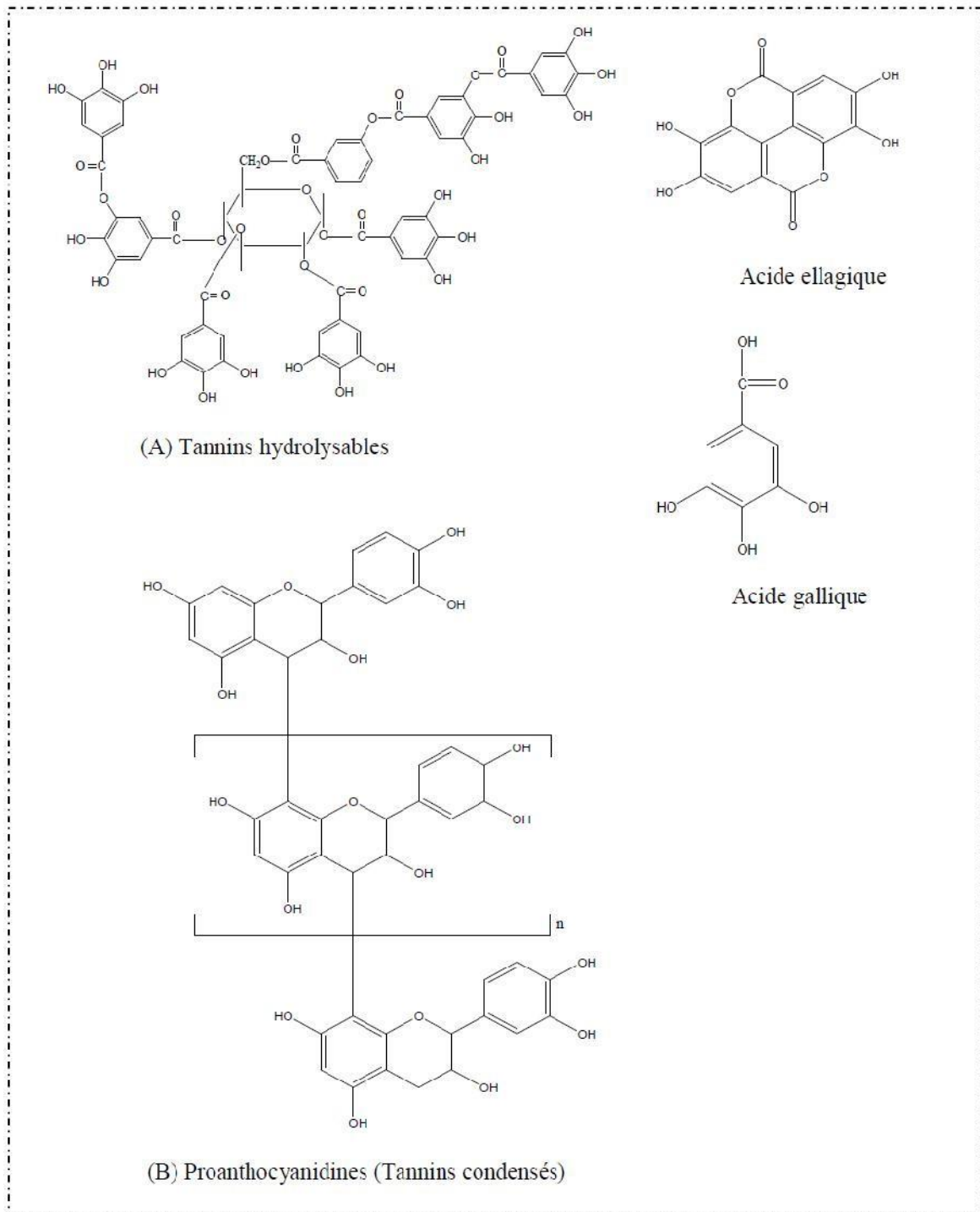


Figure 21 : Structures chimiques des tannins ; (A) Tannins hydrolysables, (B) Tannins condensés (Nacz et Shahidi, 2004).

- **Les Coumarines** : Coumarines sont des substances phénoliques hétérocycliques oxygénées de la structure C6- C3. Elles sont isolées pour la première fois par Vogel en 1820 dans le coumarona odorat (Echevin, 1964).

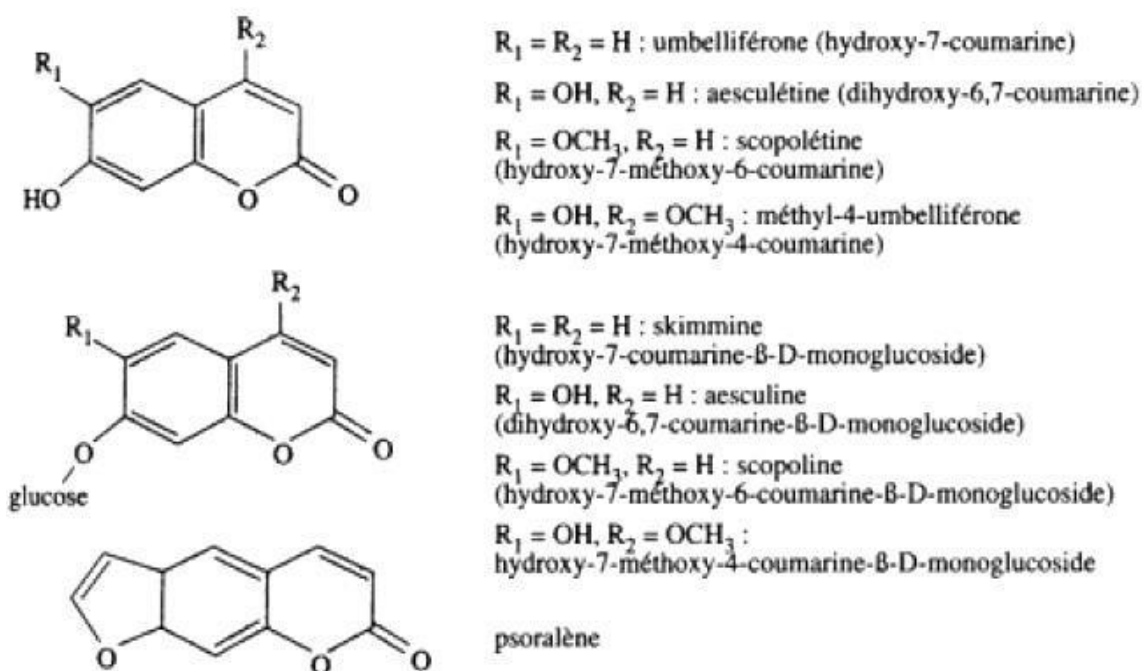


Figure 22 : Structures chimiques de quelques coumarines (Vivas de Gaulejac, 2001).

1.5.3. Antioxydants synthétique

Il existe de nombreux antioxydants synthétiques dont les squelettes sont souvent dérivés des antioxydants naturels (Lee *et al.*, 2009). Pour une utilisation pratique, les antioxydants doivent remplir les conditions suivantes : Ils ne doivent pas être toxiques, ils doivent être hautement actifs à des faibles concentrations (0.01-0.02%) et doivent être présents à la surface ou dans la phase grasse de l'aliment (Bauer *et al.*, 2010).

Cependant, il reste à les considérer comme des corps étrangers au système biologique. Parmi les polyphénols de synthèse, on peut citer à titre d'exemple : la 3,3', 5,5'- Tétra-t-butyl-biphenyl-4,4'-diol qui a montré un effet protecteur des cellules neuronales (Duong *et al.*, 2008). Et le polyphénol dendrimère de synthèse syringaldehyde (Fig.23), qui a montré une activité antioxydant puissante selon le test du DPPH qui a été respectivement deux fois et 10 fois plus fort que la quercétine et trolox. Ce polyphénol de synthèse a montré aussi un effet protecteur des LDL humain contre les attaques des radicaux libres (Lee *et al.*, 2009).

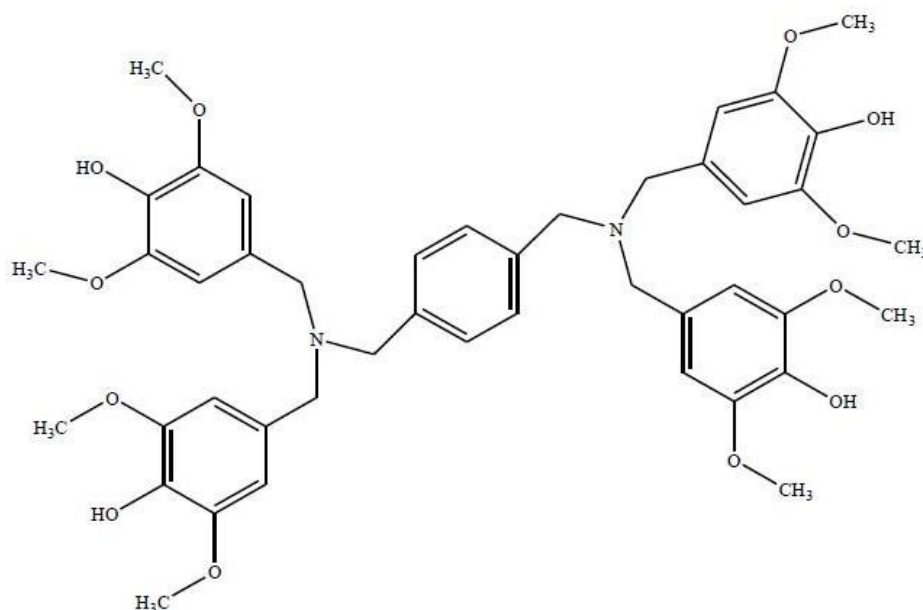


Figure 23 : Structure chimique d'un polyphénol de synthèse (Dendrimère de syringaldehyde) (**Lee et al., 2009**).

1.6. Amplification pathologique ERO

En raison de leur réactivité élevée, les radicaux libres interagissent avec toute une série de substrats biologiques conduisant à l'altération de l'homéostasie cellulaire de l'organisme. Le dysfonctionnement des systèmes de régulation de l'oxygène et de ses métabolites est à l'origine de phénomènes du stress oxydant dont l'importance dans de nombreuses pathologies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution est maintenant largement démontré (**Favier, 2003**). En fait, de nombreuses études, tant épidémiologiques que cliniques, indiquent que le stress oxydant est potentiellement impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines différentes (**Pincemail et al., 2002**), allant de l'athérosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neurodégénératives et le diabète (**Tab.06**). Le rôle du stress oxydant a été également évoqué même dans des processus physiologiques tel que le vieillissement (**Sorg, 2004 ; Valko et al., 2007**).

La multiplicité des conséquences médicales de ce stress n'a rien de surprenant car, selon les maladies, celui-ci se localisera à un tissu et à des types cellulaires particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et sera associé à d'autres facteurs variables et à des anomalies génétiques spécifiques à chaque individu. De plus, La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux avec une diminution de l'efficacité des systèmes de réparations et de dégradations des constituants oxydés (**Valko et al., 2007**).

Tableau 06 : Principales maladies liées à la production des radicaux libres (Pincemail *et al.*, 2002).

<i>Pathologie</i>	<i>Référence</i>
Arthrite rhumatoïde	(Ahsan <i>et al.</i> , 2003)
Athérosclérose	(Harrison <i>et al.</i> , 2003)
Cancer	(Hussain <i>et al.</i> , 2003)
Diabète	(Faure and Bonnefont-Rousselot, 2005)
Hypertension	(Touyz, 2004)
Inflammation	(Yoshikawa and Naito, 2000)
Lésions de reperfusion post-ischémique	(Zweier and Talukder, 2006)
Maladies auto-immunes	(Halliwell and Gutteridge, 1999)
Maladies d'Alzheimer, de parkinson	(Sorg, 2004)
Vieillessement	(Ferrari, 2001)

1.7. Mécanisme d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont variables, incluant le captage de l'oxygène, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la complexation d'ions et de métaux de transition. Cet intérêt à plusieurs origines; en tant que constituants alimentaires, ces antioxydants d'origine naturelle semblent contribuer de manière significative à la prévention des maladies telles que le cancer ou encore des maladies cardiovasculaires (Antwerpen, 2006) (Fig.24).

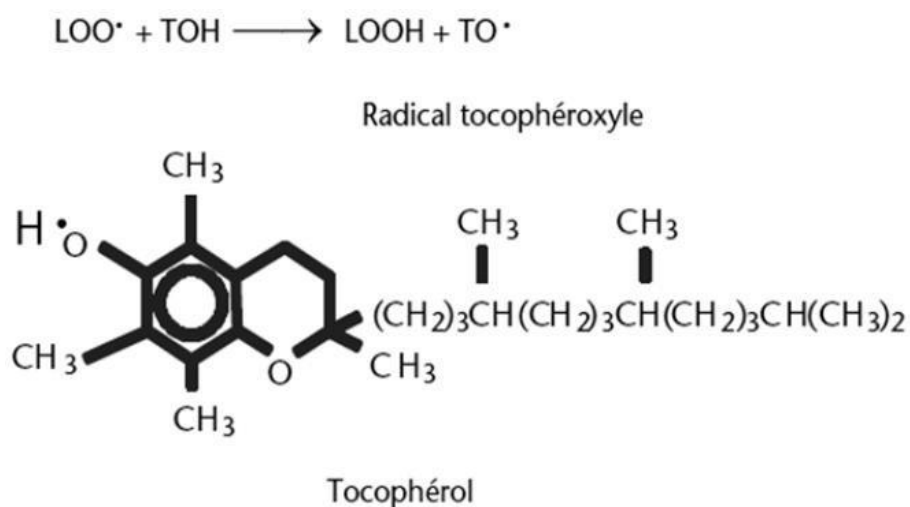


Figure 24 : Mécanisme d'action d'un antioxydant donneur d'hydrogène comme le tocophérol (Cillard et Cillard, 2006).

2. Activité antimicrobienne

2.1. Définition de l'activité antimicrobienne

Les antimicrobiens consistent à l'ensemble des substances appelés : les antibiotique. Ces derniers sont synthétisés par des microorganismes (le plus souvent des champignons). Ils ont la capacité soit de détruire (microbicide) ou d'inhiber (microbiostatique) la croissance des microbes tels que les bactéries (activité antibactérienne), les champignons (antifongique), les virus (antiviral). En raison de l'utilisation généralisée des antibiotiques et de leur propagation aveugle, qui conduit à une grande résistance à ces éléments ces dernières années. L'un des moyens de diminuer cette résistance consiste à utiliser des inhibiteurs de la résistance aux antibiotiques obtenus à partir des plantes dont les extraits de ces derniers génèrent de nombreux composés pour se défendre contre les agents pathogène, avec une efficacité plus importante que les drogues synthétiques d'une part et bien accepté par l'organisme d'autre part (**Boudjouref, 2011; Külçü et al., 2019**).

Plusieurs études montrent que les constituants chimiques des feuilles d'*Urtica dioïca* L. tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes et les terpènes sont actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons (**Dar et al., 2012**).

D'après **Gülçin et al. (2003)**, l'extrait aqueux des feuilles d'*Urtica dioïca* L. est actif contre *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* et *Escherichia coli*.

2.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Deux méthodes différentes ont été utilisées pour la détermination de l'activité antimicrobienne.

2.2.1. Méthode des puits de diffusion

Pour réaliser ce test on utilise le milieu Muller-Hinton agar pour la culture des différentes souches bactériennes examinée. Le milieu est coulé dans des boîtes de pétri (9 cm de diamètre) avec une épaisseur de 4 mm. Puis les boîtes sont séchées à 37 °C pendant 30 min avant l'utilisation) A partir de cultures bactériennes de 6 heures en bouillon nutritif avec agitation à 37°C, des dilutions sont faites en eau physiologique stérile (10-1,10-2), 5 ml de la dilution (10-2) de chaque souche sont versés sur le milieu solidifié et l'excès est éliminé après 2 à 3 min (méthode d'inondation) A la surface des boîtes inoculées on provoque 1 ou 3 puits de 8 mm et chacun est imprégné par 60 µl d'échantillon dissout dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) ou dans l'eau avec une concentration de 30mg /ml (1.8 m /puit).

Après un temps d'incubation (24 h) à 37°C. Les zones d'inhibition sont mesurées en millimètres et comparées avec celles du DMSO ou H₂O comme contrôle négatif et d'un Chapitre III L'activité antibactérienne. Page 29 I antibiotique comme contrôle positif (**Vardar Unlu et al., 2003**).

2.2.2. Méthode des disques de diffusion

De la même façon de la méthode des puits, à partir de cultures bactériennes de 6 heures en bouillon nutritif avec agitation à 37°C, des dilutions sont faites en eau physiologique stérile (10-1, 10-2), 5 ml de la dilution (10-2) de chaque souche sont versés sur le milieu solidifié et l'excès est éliminé après 2 à 3 min. A l'aide d'une pince stérile 1 ou 3 disques de diffusion sont placés à la surface des boîtes inoculées et chacun est injecté par 10 µl de l'huile essentielle, Après 24 heures d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition sont mesurées en millimètres et comparées avec celle d'un antibiotique (Gulluce *et al.*, 2003).

3. Activité anti-inflammatoire

3.1. Définition de l'Inflammation

L'inflammation est un moyen de défense naturelle des organismes supérieurs contre toute agression extérieure provoquée par des facteurs physicochimiques (Irradiations, brulure, traumatismes mécaniques), des infections microbiennes (Bactériennes, virales ou parasitaire) ou liée à des éléments endogènes tels que des composés issus de la réaction immunitaire (Complexes immuns, anticorps cyto toxiques, cytokines). Elle a pour but d'éliminer l'agent pathogène et réparer les lésions tissulaires (Yougbaré-Ziébrou *et al.*, 2016 ; Taïba *et al.*, 2017) (Fig.25).

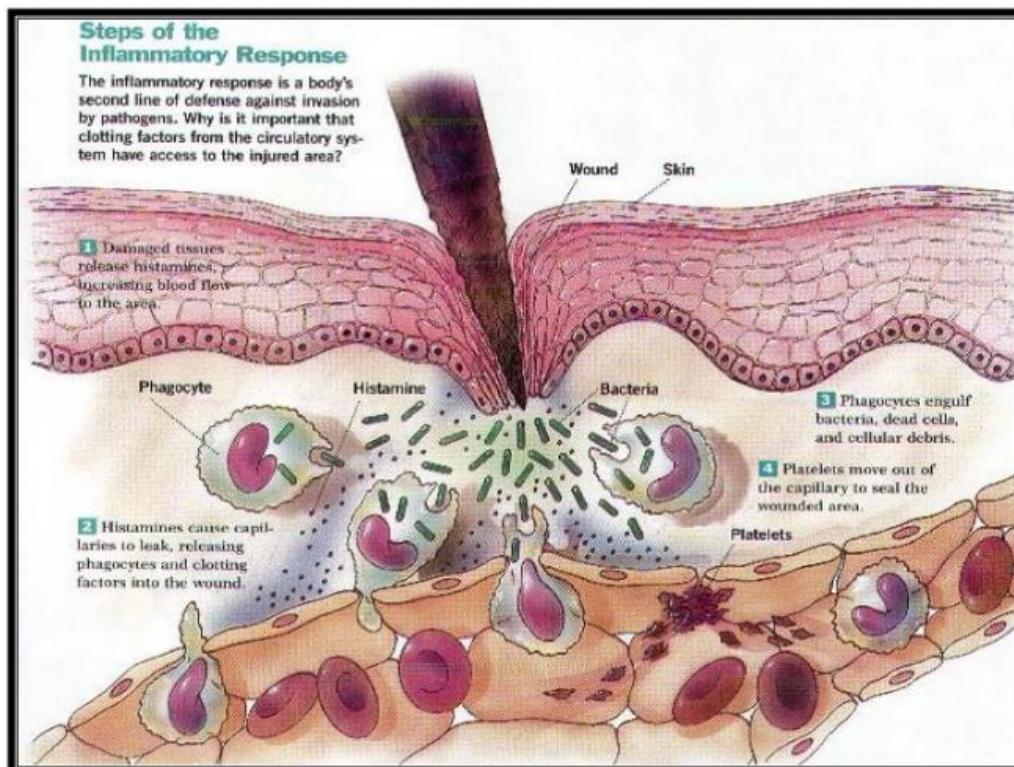


Figure 25 : Réaction inflammatoire (Busse et Fleming, 2006).

3.2. Médiateur de l'inflammation

Les changements locaux qui surviennent au niveau du site inflammatoire sont le résultat de la formation et/ou la libération séquentielle de médiateurs pro et anti-inflammatoires de nature divers ; amine (histamine et sérotonine), médiateurs lipidiques (prostaglandines et leucotriènes), et des cytokines de nature peptidique, protéique ou glycoprotéique (Botting et Botting, 2000) (Tab.07).

Tableau 07 : Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire (Rankin, 2004).

Médiateurs	Origines	Role	Auteurs
Histamine	Mastocytes, basophiles, éosinophiles et plaquettes.	Assure la vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire, induit l'expression des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire	(Mayouf,2019)
Sérotonine	Mastocytes et plaquettes.	Augmente la perméabilité vasculaire, dilate les capillaires et stimule la contraction des muscles lisses.	(Mayouf,2019)
Kinines	Médiateurs plasmatiques. Les précurseurs des kinines (les kininogènes)	Des polypeptides plasmatiques phlogogènes, dont la plus active est la bradykinine. Ils entraînent une activation de la phospholipase A2, une irritation des fibres sensorielles au niveau lésionnel. La bradykinine favorise la vasoconstriction	(Kernouf,2019 ; Adam et al,2000 ; Kada,2018)
Prostaglandine E2	Essentiellement par les leucocytes	Provoque la vasodilatation, renforce l'action de l'histamine, de la bradykinine et des leucotriènes, augmente la sensibilité des neurones et est responsable de la douleur	(Ghalem,2014)
Leucotriènes : ▪ LTC4, LTD4, LTE4 ▪ LTB4	Essentiellement par les leucocytes Essentiellement par les leucocytes	Augmentent la perméabilité des micro- vaisseaux. Augmente la perméabilité vasculaire et le flux sanguin local, induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des EOR et attire et active les cellules inflammatoires.	(Ghalem,2014)

3.3. Mise en place d'une réponse inflammatoire contre un pathogène

Les étapes permettant à notre organisme de combattre une infection lors d'une exposition à un agent pathogène. La réponse immunitaire s'organise en trois phases successives (Fig.26) :

- **La réponse immunitaire innée immédiate** Dont font partie les barrières naturelles du corps : la peau et les muqueuses) qui reconnaît l'agent infectieux par les motifs moléculaires présents sur la membranes et enclenche la réponse inflammatoire aigue ;
- **La réponse inflammatoire aigue** qui consiste en la production de molécules solubles permettant le recrutement de médiateurs cellulaires au point d'infection et la répartition du tissu lésé. La réponse immunitaire acquise ; qui survient au 4^{ème} jour de l'infection et qui est spécifique de l'agent infectieux.

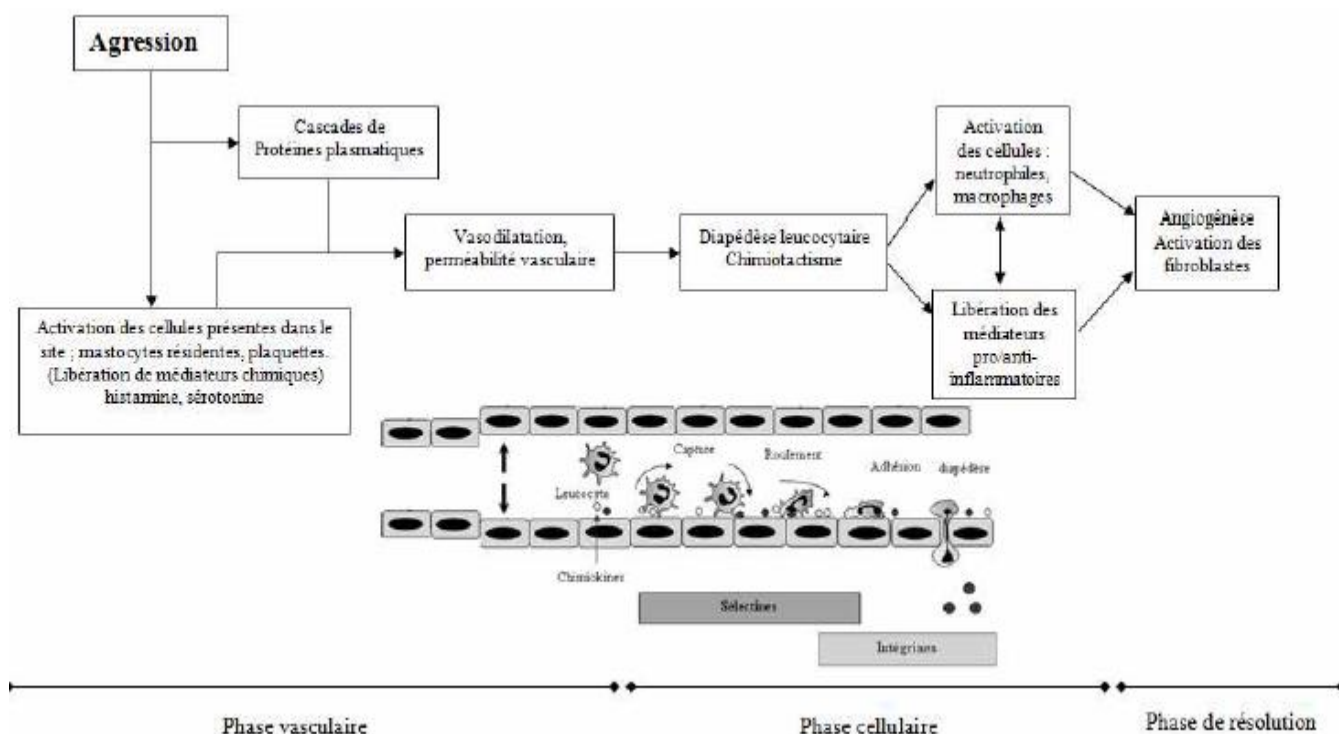


Figure 26 : Phases de l'inflammation aigue (Chevalier *et al.*, 2005).

3.4. Traitements et pistes thérapeutiques d'une inflammation

La phytothérapie est utilisée depuis des siècles pour traiter les affections. La médecine traditionnelle a su développer la connaissance et l'utilisation des plantes (Iserin *et al.*, 2001). Certaines plantes ont permis la découverte de nombreux principes actifs (Gbenou, 2011) et leur éventuelle utilisation comme alternative pour la protection des aliments contre l'oxydation, pour le traitement des maladies infectieuses, comme anti-analgésiques et anti-inflammatoires (Majinda *et al.*, 2001; Mau *et al.*, 2004).

• Réponse des cellules NK à une septicémie

Les cellules Natural Killer, ou NK, jouent un rôle unique dans l'immunité dite innée. Cette « immunité innée » est le nom donné à la réaction rapide de défense à une première rencontre avec un agent infectieux (bactérie, virus, champignon, etc.) pour éventuellement l'éliminer. L'étude des cellules NK constitue une piste de recherche intéressante en immunothérapie, une thérapie visant à mobiliser les défenses immunitaires d'un patient contre sa maladie. En utilisant un modèle animal d'inflammation systémique, les chercheurs se sont intéressés à la réponse à long terme des cellules NK à la suite d'un événement retrouvé lors d'une septicémie par exemple. Ils ont constaté que les cellules NK peuvent se souvenir de l'inflammation systémique en acquérant des réponses semblables à celles d'une mémoire immunitaire. En effet, lors d'une stimulation secondaire, les cellules NK répondent plus fortement que lors d'une stimulation primaire. De plus, ils ont montré que des cellules NK mémoires peuvent sauver les modèles animaux d'une infection à *E. coli*, par ailleurs mortelle (**Hamon et al., 2007**).

La thérapeutique anti-inflammatoire est destinée à contrôler l'excès de réaction aspécifique des tissus et à éviter la transformation de la phase aiguë de l'inflammation en phase chronique (**Muster, 2005**). Elle est généralement menée par des molécules de synthèse du type anti-inflammatoire non stéroïdien ou stéroïdien (Corticoïdes). Ce sont des médicaments largement utilisés mais dont les effets secondaires sont parfois graves, en particulier la toxicité sur le système rénal et digestif (Irritations digestives pouvant aller jusqu'à l'ulcération gastrique) (**Trabsa, 2015**).

3.5. Anti inflammatoires

3.5.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens, ou les glucocorticoïdes sont des dérivés synthétiques de la cortisone, naturellement sécrétée par les glandes surrénales. Ils sont de puissants anti-inflammatoires doués également de propriétés immunomodulatrices et antiallergiques (**Heymonet, 2013**). Ils ont tous une activité hormonale sur les régulations métaboliques (glucidique, protidique, lipidique notamment) et ils entraînent la mise au repos des surrénales par un mécanisme de freination hypothalamo-hypophysaire (**Muster, 2005**).

Contrairement aux anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), les glucocorticoïdes sont capables d'inhiber toutes les phases de la réaction inflammatoire. Par leur action directe sur les vaisseaux, ils diminuent les phénomènes vasculaires de l'inflammation. Par leur effet antiprolifératif sur les histiocytes - monocytes - macrophages de tous les types, les lymphocytes, les plasmocytes, les fibroblastes et les polynucléaires neutrophiles, ils inhibent les phénomènes cellulaires précoces et tardifs de l'inflammation (**Muster, 2005**).

➤ Effets secondaires

Lors d'une administration brève, les glucocorticoïdes même à doses élevées, ne présentent pratiquement aucun effet secondaire. Au cours d'une administration à long terme, ils entraînent une tendance à l'infection, altération des processus de cicatrisation. Selon **Lüllmann et al. (1996)**, l'activité glucocorticoïde exagérée entraîne :

- Une augmentation de la néoglucogenèse et de la libération de glucose. Sous l'action de l'insuline, le glucose est transformé en triglycérides (Dépôt adipeux : visage lunaire et épaissement du tronc), et en cas d'augmentation insuffisante de la sécrétion d'insuline, on observe un diabète stéroïdien ;
- Une dégradation accrue des protéines avec atrophie des muscles squelettiques, ostéoporose, trouble de la croissance chez l'enfant, atrophie cutanée. Les conséquences de l'activité minéralocorticoïde du cortisol sont la rétention d'eau et de sodium, l'augmentation de la pression artérielle, la formation d'œdème, et la perte de potassium avec risque d'hypokaliémie.

3.5.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens AINS

Les AINS, à la différence des glucocorticoïdes, regroupent différentes classes chimiques de synthèse de structure non stéroïdienne (**Muster, 2005**). Ce sont des médicaments symptomatiques capables de s'opposer au processus inflammatoire, quelle qu'en soit la cause (Mécanisme, chimique, infectieuse, immunologique) et ils sont très efficaces pour la douleur et l'inflammation. En raison de leurs propriétés, cette classe thérapeutique est l'une des plus utilisées dans le monde (4,5% de la consommation médicamenteuse des pays industrialisés) (**Taïba et al., 2017**). Cependant, ils sont connus pour de multiples effets indésirables, notamment des saignements gastro-intestinaux, des effets secondaires cardiovasculaires et néphrotoxiques (**Wongrakpanich et al., 2018**).

➤ Effets secondaires

Les effets secondaires des ANIS peuvent être le résultat de l'inhibition de la synthèse des prostaglandines ou bien déviation du métabolisme de l'acide arachidonique vers une voie autre que celle de la cyclo-oxygénase, notamment la voie de la lipo-oxygénase. Effets gastroduodénaux : Les prostaglandines jouent un rôle important dans la muqueuse gastrique, elles augmentent la production du mucus, la perfusion sanguine gastrique et diminuent la production des radicaux libres sauf en cas d'utilisation AINS à long terme où se produit dyspepsie et ulcères gastroduodénaux.

- **Effets sur le rein** : Complications réno-vasculaires : œdèmes par rétention hydro sodée, oligurie par Insuffisance rénale aigüe (**Annick, 2018**) ;
- **Effets cutanés** : Dermate exfoliatrice, syndromes de Stevens-Johnson et de Lyell. Les éruptions diverses, l'urticaire, la photosensibilisation (Notamment avec le kétoprofène en application cutanée) (**Sivry, 2014**) ;

- **Effets Cardiovasculaires** : Résistance au traitement antihypertenseur, poussée hypertensive, insuffisance cardiaque congestive, risque thrombotique artériel (En cas de prise prolongée ou à dose importante) (Gungomer, 2015).

3.5.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale

Les anti-inflammatoires naturelles ou végétales sont celles qui existent dans la nature qui ne subissent pas de modification de la structure chimique après les procédés de leur obtention. Plusieurs travaux ont été réalisés sur les substances naturelles d'origine végétale dotées de propriétés anti-inflammatoires grâce à la présence des molécules naturelles bioactives permettant de traiter certaines maladies inflammatoires (Mossa *et al.*, 1991 ; M'barek *et al.*, 2010) (Tab.08).

Tableau 08 : Quelques exemples de anti-inflammatoires naturel et métabolites secondaire et leur effet (Thomson *et al.*, 2002 ; Soro *et al.*, 2015).

Anti-inflammatoire naturel	Métabolite secondaire	Utilisation
<i>Zingiber officinale</i>	Terpenoïdes	Vertiges, nausées,
<i>Limoniastrum feei</i>	Alcaloïdes	Infections respiratoires et intestinales
<i>Ximenia americana</i>	Polyphénols	Fièvre, inflammation affections douloureuses

1. Objectif

Le but de notre travail est d'étudier les activités biologiques des extraits méthanoliques (MET-01 et MET-02) des feuilles d'*Urtica dioica* L. Nous avons cherché à identifier et quantifier les principaux composés bioactifs présents dans l'extrait de cette plante, et à évaluer ses activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes.

L'étude phytochimique et l'activité antioxydante et anti-inflammatoire ont été réalisées au niveau du Laboratoire de Biochimie N02, tandis que l'activité antibactérienne a été effectuée au niveau de Laboratoire de Microbiologie 03, Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Algérie.

2. Matériel végétal

L'intérêt de ce travail est la valorisation d'une plante médicinale (*Urtica dioica* L.) poussant à l'état spontané dans le bassin méditerranéen plus particulièrement dans la région de Mostaganem. La plante étudiée a été choisie essentiellement sur la base de leur intérêt et leur fréquence d'emploi grâce à l'enquête ethno-pharmacologique effectuée auprès des tradi-thérapeutes, des herboristes et des personnes utilisant ou vendant les plantes médicinales (Fig.27).



Figure 27 : Feuilles d'*Urtica dioica* L.

3. Matériel et Produit de laboratoire

1) Verrerie : Bêchers, tubes à essais, pipette pasteur, fioles, erlenmeyers, flacons, entonnoir, verre de montres et cuve.

2) Autres matériel : Papier filtre stérile, Ecouvillons, Anse à platine, Disques en papier stériles (6 mm), Bec benzène et Plaques de gel de silice.

3) Milieux de culture utilisés : Gélose Müller Hinton et Bouillon nutritif.

4) Appareil utilisés : Balance, Soxhlet, Rotavapor, Autoclave, Etuve, Plaque chauffante, Bain marie, Lyophilisateur, Spectrophotomètre et Plaque à UV.

5) **Solvant utilisés** : Eau distillée, Eau physiologique, Méthanol et Ethanol.

6) **Autres réactifs** : Chlorure ferrique (FeCl_3), Acide Chlorhydrique (HCl), Magnésium (Mg^{2+}), Réactif de Stiasny, Butanol, Acide acétique, Quercétine, Acide gallique, Catéchine, Acide sulfurique, Diphényl picryl-hydrate (DPPH), Diméthylsulfoxyde (DMSO), Folin ciocalteu, Acide phosphomolybdique, Carbonate de sodium (Na_2CO_3) et Trichlorure d'aluminium (AlCl_3).

4. Préparation des extraits Méthanolique à partir des feuilles d'*Urtica dioica*

4.1. Broyage et tamisage

Les feuilles d'ortie séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamiser pour récupérer la poudre la plus fine ; Le matériel végétal a été broyé dans un moulin électrique en une poudre très fine (**Fig.28**), pour augmenter la surface d'échange entre le solide et le solvant et faciliter l'extraction. Par la suite la poudre a été conservée dans des récipients en verre fermés hermétiquement et stockée à l'abri de la lumière pour utiliser dans notre étude.



Figure 28 : Séchage des feuilles d'*Urtica dioica* dans l'étuve.



Figure 29 : Poudre des feuilles d'*Urtica dioica*.

4.2. Extraction méthanolique

4.2.1. Extraction méthanolique par Soxhlet

1. Placée 40 g de la poudre sèche dans une cartouche en papier filtre épais pour enfin être placée dans le réservoir de l'extraction Soxhlet et récipient contenant 500 ml de méthanol, laisser sous agitation à une température ambiante 150°C (**Fig.30**);
2. Après plusieurs cycles (6 cycles) successifs d'extraction en continu, le solvant (500ml de méthanol) contenant la matière à extraire retourne dans le ballon par déversements à travers le siphon situé dans le coude latéral ;
3. L'extrait récupéré est concentré par évaporation à sec à une température de 40 à 45°C à l'aide d'un Rotavapor ;
4. Le résidu récupéré est solubilisé dans la solution de DMSO à raison de 1/10 ;
5. L'opération est répétée plusieurs fois dans le but d'avoir un volume suffisant pour effectuer les tests *In Vitro* prévus.
6. L'extrait obtenu est conservé à 4°C et à l'obscurité.

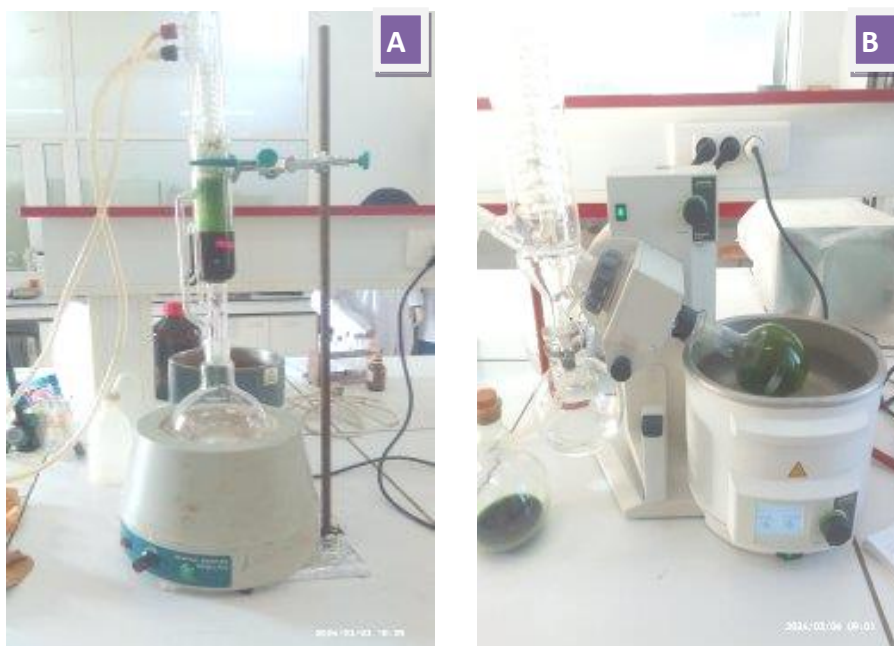


Figure 30 : Extraction méthanolique par Soxhlet.

A : Appareil Soxhlet ; **B** : Appareil Rotavapor.

4.2.2. Extraction méthanolique par macération

Une prise d'essais de 37,5 g de poudre d'*Urtica dioica* a été mise à macérer dans 500 ml de méthanol absolu et placés sous agitation pendant 24 h. Après filtration (**Fig.31**), l'extrait a été évaporé à sec sous pression réduite à 45°C au Rotavapor (**Fig.32**).



Figure 31 : Filtration de l'extrait méthanolique macérée.



Figure 32 : Extrait méthanolique par macération dans l'appareil rotavapeur.

5. Analyse des extraits MET de d'*Urtica dioica* L.

5.1. Analyse qualitative des extraits MET

5.1.1. Test des composés phénoliques

L'extrait brut (0,1 g) a été dissout dans 3 ml d'éthanol. 5 gouttes de FeCl_3 ont été ajoutées ; Le développement de la coloration verdâtre a indiqué la présence des phénols (**Rosine et Momo, 2009**).

5.1.2. Caractérisation des Flavonoïdes

A 3ml de l'extrait (2mg/ml), on ajoute 5ml d'HCl (acide chlorhydrique), puis quelques morceaux du magnésium. En présence de flavonoïdes, une couleur orange est apparue (**Ciulel, 1982**).

5.1.3. Caractérisation des Tanins

Huit gouttes d'une solution diluée de chlorure ferrique à 1 % sont ajoutées à 1 ml de l'extrait. Après quelques minutes d'incubation à température ambiante, le chlorure ferrique développe une coloration verdâtre qui indique la présence des tanins catéchiques ou bleu noirâtre qui révèle l'existence des tanins galliques (Hadduchi *et al.*, 2014)

5.1.4. Les coumarines

5ml d'extrait sont introduits dans un tube auxquels est ajouté 0,5ml de NH₄OH à 10%. Le mélange est observé sous UV à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines. Un deuxième test a été réalisé en ajoutant 3ml de NaOH à 10% à 2ml d'extrait. La présence des coumarines est indiquée par une coloration jaune.

5.1.5. Alcaloïdes

Les tests sont réalisés par des réactions de précipitation avec les réactifs de Mayer et Wagner. 5ml d'extrait évaporé à sec, 2ml d'HCL (2%) sont ensuite ajouté. Le mélange est chauffé dans un bain marie puis filtré. Le filtrat est divisé dans deux tubes à essais où dans l'un sont ajoutés quelques gouttes de réactifs de Mayer, et dans le deuxième quelques gouttes de réactif Wagner.

5.1.6. Terpènes

On ajoute 0,5 ml de chloroforme et 0,7 ml d'acide sulfurique concentré sont ajoutés à 1 ml de l'extrait méthanolique. La couleur verte-bleue révèle la présence des hétérosides stéroïdiens et la couleur verte-violette révèle la présence des hétérosides terpéniques. (Haddouchi *et al.*, 2016)

5.1.2. Chromatographie sur couche mince

5.1.2.1. Caractérisation des alcaloïdes et des flavonoïdes sur plaque CCM

La chromatographie sur couche mince consiste à placer sur la plaque une tache et de laisser élué en la trempant dans un solvant ou un mélange de solvant (appelé éluant), l'éluant diffuse le long du support. La tache migre sur la feuille plus ou moins vite selon la nature des interactions qu'elle subit de la part du support et de l'éluant.

- Préparation de la cuve chromatographique
 - Introduire l'éluant ou le mélange de solvants. Dans la cuve nous avons mis 4v/4v/2v (méthanol éthanol et l'eau distillé) ;
 - Ajuste le niveau à environ 1cm du fond de la cuve ;
 - Garnir l'intérieure de la cuve d'un papier filtre imprégné d'éluant et plaqué contre les parois ; une ouverture est ménagée dans le filtre pour observer le développement du chromatogramme ;

-Fermer le récipient (la cuve doit être saturée de vapeur de solvant).

- **Dépôt de l'échantillon sur la plaque**

- Nous avons activé la plaque pendant 20mn à l'étuve 35 ;

- Déposer environ 0.5ml de la solution en un point situé à 1cm de l'extrémité inférieure de la plaque, le diamètre de la tache doit être d'environ 2mm pour la disposition de plusieurs produits ;

- Sécher à l'aide d'un séchoir ; éventuellement faire de nouvelles applications.

- **Développement du chromatogramme**

-Placer la plaque dans la cuve en position verticale ;

-Refermer le récipient qui ne doit plus être déplacé ;

-Lorsque le front du solvant se trouve à environ 1cm de l'extrémité supérieure de la plaque, laretirer et marquer cette position. (le trait peut être tracé à l'avance et servir de repère pour arrêter l'élution)

(Fig.33).

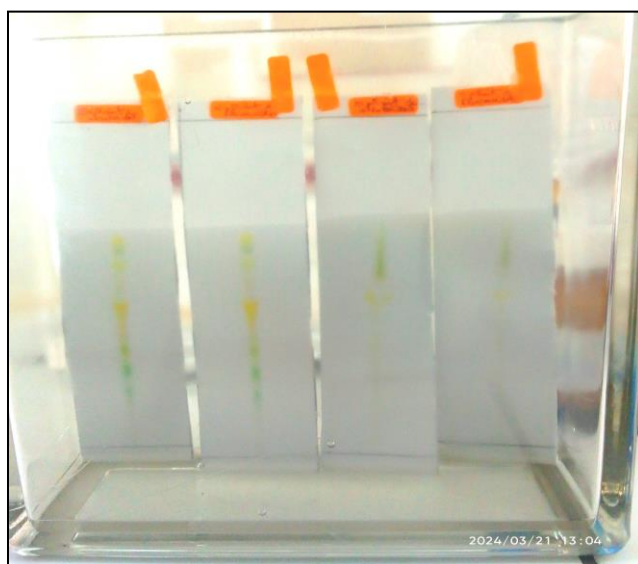


Figure 33 : Développement du chromatogramme.

- **Révélation et calcul de R_f**

-Sécher la plaque à l'aide d'un séchoir ;

-Cercler les taches et pointer leur centre ;

-Calculer les R_f.

○ $R_f = d_i/d_s$

R_f : Retarding factor ou rapport frontal ;

d_i : Distance parcourue par le composé (mesuré au centre la tache);

d_s : Distance parcourue par le front du solvant.

Les révélateurs utilisés réactif dragendrof pour la mise en évidence des alcaloïdes et FeCl_3 pour la mise en évidence des flavonoïdes.

Les plaques ont été placées dans la cuve chromatographiques préalablement saturées pour leur migration. A la fin de la migration, les plaques ont été retirées de la chambre chromatographique, puis séchées à l'aide d'un séchoir pendant 10min. Après le séchage des plaques on a fait une pulvérisation de dragendrof. La coloration orange indique la présence des alcaloïdes ; Pour d'autre plaque on a fait une pulvérisation de FeCl_3 ; La coloration bleue indique la présence des flavonoïdes.

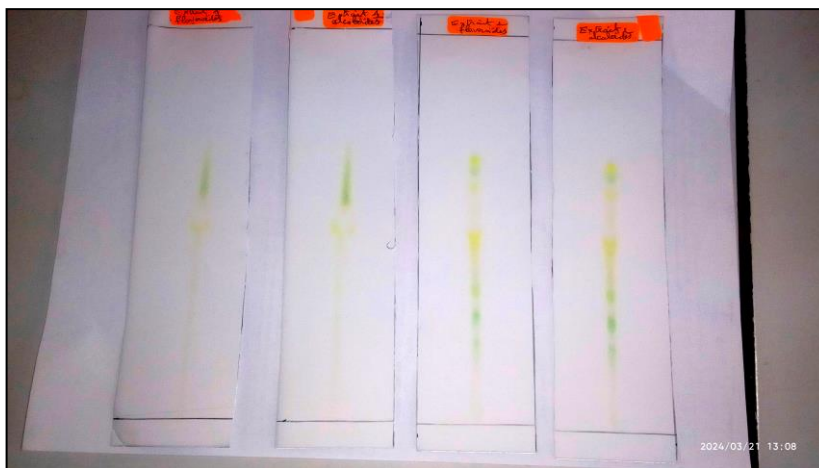


Figure 34 : Caractérisation des flavonoïdes et alcaloïdes sur CCM pour les deux extraits méthanoliques.

5.2. Analyse quantitative des extraits MET

5.2.1. Dosages des composés phénoliques

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits des feuilles est effectué selon la méthode de Folin ciocalteu (Wong *et al.*, 2006).

•Principe

Le réactif de Folin Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$), il réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Boizot et Charpentier, 2006).

Brièvement, 200 μl de l'extrait (4mg/ml) est ajouté à 1ml du réactif de Folin Ciocalteu (dilué 10 fois par l'eau distillée). Après 4 min, 800 μl de Na_2CO_3 (75g/l) sont ajoutés, après agitation, l'ensemble est incubés à l'ombre pendant 2 heures. L'absorbance est lue à 765nm par un spectrophotomètre. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200 μg /ml). Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par un milligramme de l'extrait (μg Eq AG/mg d'extrait).

5.2.2. Dosage des Flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les deux extraits (MET-01 et MET-02) (**Bahorun et al., 1996**).

•Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (**Ribéreau- Gayon et al., 1972**). 1ml l'échantillon et du standard (préparé dans le méthanol pour l'extrait MET) est ajouté à 1ml de la solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol). Après 10 min, les concentrations des flavonoïdes sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-35 $\mu\text{g/ml}$) et sont exprimées en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait)

6. Activités biologiques

6.1. Activité antioxydant

6.1.1. Effet Scavenger du radical DPPH

De point de vue méthodologique, le test du radical libre DPPH est recommandé pour des composés contenant SH, NH et OH groupes (**Salah et al., 1995**).

Il s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles. Le test est largement utilisé au niveau de l'évolution des extraits hydrophiles très riches en composés phénoliques (**Yi-Zhong et al., 2006 ; Hatzidimitriou et al., 2007**).

L'activité antiradicalaire des différents extraits à tester a été déterminée selon la méthode de **Sanchez-Moreno (2002)**, qui utilise le DPPH comme un radical libre relativement stable qui absorbe dans le visible à la longueur d'onde λ de 517 nm. La technique consiste à mettre le radical libre DPPH (de couleur violette), en présence de l'antioxydant (extraits polyphénoliques) va être réduit et vire vers le jaune. Ce changement se traduit par une diminution de l'absorbance.

La solution du DPPH est préparée à l'avance par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100ml de méthanol absolu. 25 μl de l'extrait à différentes concentrations sont ajoutés à 975 μl de DPPH. Des solutions d'antioxydants de référence (acide ascorbique-BHT) sont également préparées dans les mêmes conditions pour servir de témoin positif.

Le témoin négatif est constitué uniquement de DPPH et du méthanol. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min jusqu'à décoloration. Le dosage est réalisé par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 517 nm. Le pourcentage de l'activité anti radicalaire est estimé selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ l'activité Anti radicalaire} = [(A1-A2)/A1] \times 100$$

A1 : Absorbance du témoin négatif sans extrait ; **A2** : Absorbance en présence de l'extrait.



Figure 35 : Les extraits MET I et II après la solution du DPPH

6.2. Détermination de l'activité anti-inflammatoire *In Vitro*

L'effet anti-inflammatoire des plantes médicinales est considéré comme un caractère très important à évaluer dans les préparations pharmaceutiques. L'activité anti-inflammatoire de notre échantillon a été évaluée par deux tests, le test de stabilisation de la membrane des érythrocytes via l'induction d'hémolyse par la chaleur et par une solution hypotonique, et le test de protection de l'albumine dans une température élevée. Ces tests pourraient avoir une large application pour la détection des agents anti-inflammatoires sans l'utilisation des animaux.

6.2.1. Effet stabilisateur de la membrane des érythrocytes

6.2.1.1. Test d'inhibition de l'hémolyse

a) Principe

L'hémolyse est un facteur important à évaluer dans les études pharmacologiques car même si une plante médicinale possède une propriété antioxydante puissante, son utilisation est impossible en présence de son effet hémolytique qui est considéré comme un indicateur de toxicité cellulaire. Ce test est basé sur la capacité de l'extrait à stabiliser et protéger la membrane des globules rouges dans un milieu tamponné à une température élevée (Haddouchi *et al.*, 2016).

b) Préparation de la suspension érythrocytaire

Du sang total frais (3 ml) a été prélevé par voie intraveineuse à partir d'un volontaire sain qui n'avait pas pris d'AINS pendant deux semaines avant l'expérience. L'échantillon de sang a été recueilli dans un tube héparine pour empêcher la coagulation. Après centrifugation à 3000 tours/minute pendant 10 mn à 4°C, le culot globulaire (érythrocytes) obtenu a été lavé trois fois par centrifugation dans 10 volumes de solution saline tamponnée au phosphate 10mM (PBS, pH=7.4).

Le surnageant et la couche leucocytaire des globules blancs ont été soigneusement éliminés à chaque lavage. Les érythrocytes lavés ont été conservés à 4 °C. Une solution mère de suspension à 10 % v/v de sang rouge humain (HRBCs=human red blood cells) a été préparée dans un tampon phosphate de sodium 10 mM (pH 7,4).

c) Modes opératoires**▪ Hémolysé induite par la chaleur**

La méthode précédemment décrite par **Shinde et al. (1999)** est légèrement modifié par **Henneh et al. (2018)** a été suivie. Le mélange réactionnel (2 ml) consistait en 1,0 ml de HRBCs à 10 % et 1,0 ml de diverses concentrations de l'extrait des feuilles d'*Urtica dioica* (10, 30, 100 µg/ml) a été ajouté à chaque tube et mélangé doucement. Le contrôle positif consistait en 1,0 ml de HRBCs et 1,0 ml de diverses concentrations de diclofénac sodique (10, 30, 100 µg/ml). Le contrôle négatif consistait en 1,0 ml de la suspension d'érythrocytes à 10% et 1,0 ml de solution saline normale seule.

L'expérience a été réalisée en triple essais. Les solutions obtenues ont été chauffées à 56°C pendant 30 min et refroidie à température ambiante puis centrifugée à 2500 rpm pendant 10 min (**Fig.35**). Le surnageant a été recueilli et l'absorbance de chaque solution a été mesurée sur un spectrophotomètre à 560 nm (UVmini 1240, Shimadzu) comme indicateur du degré d'hémolyse. Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition de l'hémolyse} = 100 \times (1 - A0/A1)$$

Où **A0** = Absorbance du contrôle négatif (100 % d'hémolyse) et **A1** = Absorbance des échantillons.

Le résultat obtenu est exprimé en concentration d'extrait pour inhiber 50% d'hémolyse érythrocytaire (IC50).

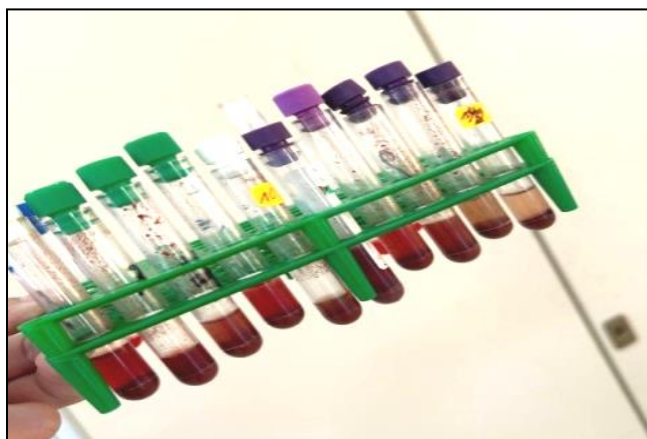


Figure 36 : Test d'hémolyse induite par chaleur.

▪ **Hémolyse induite par une solution hypotonique.**

Dans cet essai, la méthode décrite par **Chandra *et al.*** (2012) a été suivie avec de légères modifications. Les échantillons d'essai consistaient en 0,5 ml de la solution stock de HRBCs à 10% mélangé avec 4,5 ml de solution hypotonique (0,36% NaCl) contenant des concentrations variables de l'extrait (10, 30 et 100 $\mu\text{g/ml}$). Le contrôle positif consistait en 0,5 ml de HRBCs et 4,5 ml de solution hypotonique dans divers concentrations (10, 30 et 100 $\mu\text{g/ml}$) de diclofénac sodique (médicament standard).

Le contrôle négatif était composé de 0,5 ml de suspension HRBC mélangée à 4,5 ml de solution hypotonique seule. L'expérience a été réalisée in triplicate. Le mélange est incubé 10 min à température ambiante puis centrifugé 10 min à 3000 rpm. La teneur en hémoglobine du surnageant a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (UVmini-1240, SHIMADZU) à 540 nm. Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \left[\frac{\text{Absorbance (témoin)} - \text{Absorbance (test)}}{\text{Absorbance (témoin)}} \right] \times 100$$

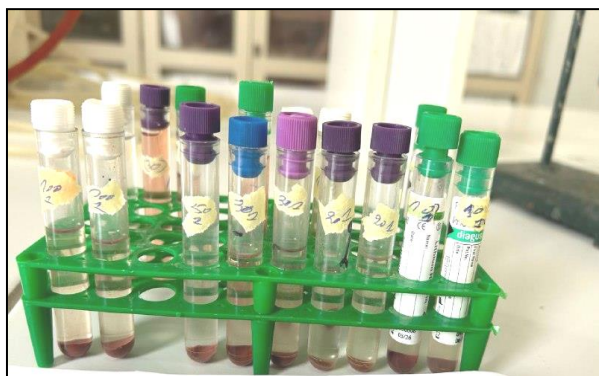


Figure 37 : Test d'hémolyse par solution hypotonique.

6.2.1.2. Test d'inhibition de la dénaturation des protéines

1) Test de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA)

d) Principe

La stabilisation thermique de l'albumine sérique bovine (BSA) par les produits naturels est une caractéristique de sélection des molécules anti-inflammatoires thérapeutiquement intéressantes. **Williams et al. (2008)** ont développé un test de protection de la BSA lorsqu'elle est exposée à une température élevée. La stabilisation thermique de la BSA implique que la protéine est incapable de perdre sa structure et donc sa fonction, et sera aussi incapable d'exprimer les antigènes pathogènes (**Williams, 2009**).

b) Mode opératoire

La méthode précédemment décrite par **Leelaprakash et Dass (2011)** a été utilisée pour le test. Le mélange réactionnel était constitué de 0,2 ml de BSA à 1% et 2,8 ml de PBS (pH 6,4) ajoutés à 2,0 ml de sérum physiologique (témoin négatif), en faisant varier la concentration de l'extrait ou du diclofénac sodique 50, 100 et 150 µg/ml), respectivement. Le mélange a été incubé à 37°C pendant 20 min et chauffé à 51°C pendant 20 min. Les échantillons ont été refroidis (**Fig.37 et 38**), et l'absorbance a été lue à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (UVmini 1240, Shimadzu). L'expérience a été réalisée in triplicate, et le pourcentage d'inhibition a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition de la dénaturation} = 100 \times (1 - A2/A1)$$

Où **A1** = Absorbance du contrôle négatif (100 % de dénaturation des protéines) et **A2** = Absorbance de l'échantillon. Le résultat obtenu est exprimé en concentration d'extrait pour inhiber 50% de dénaturation de la BSA (IC50).



Figure 38 : Test de dénaturation d'albumine sérique bovine (BSA) des deux extraits (MET-01 et MET-02).



Figure 39 : Test BSA diclofénac sodique.

2) Test de dénaturation de l'albumine d'œuf

La méthode de **Mizushima et Kobayashi (1968)** a été suivie avec des modifications apportées par **Obese et al. (2018)**. Le mélange réactionnel (5 ml) consistait en 0,2 ml d'albumine d'œuf fraîche, 2,8 ml de tampon phosphate salin (PBS, pH 6,4) et 2,0 ml de solution de l'extrait à concentrations variables (10, 100, 150, 1000 et 1500 $\mu\text{g/ml}$) (**Fig.39**). Le témoin positif consistait en 0,2 ml d'albumine d'œuf frais, 2,8 ml de PBS (pH 6,4) et 2,0 ml de diclofénac sodique à concentrations variables (10, 100 et 150 $\mu\text{g/ml}$). Le contrôle négatif contenait la même quantité d'albumine d'œuf et du PBS avec 2,0 ml d'eau distillée. Le mélange était incubé à $37 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 15 min puis chauffé à 70°C pendant 5 min pour induire la dénaturation. Après refroidissement, l'absorbance a été lue à 660 nm (UVmini 1240, Shimadzu) en utilisant le véhicule comme le blanc. L'expérience a été menée en trois fois. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition de la dénaturation} = 100 \times (1 - A2/A1)$$

Où **A1** = Absorbance du contrôle négatif (100 % de dénaturation des protéines) et **A2** = Absorbance de l'échantillon. Le résultat obtenu est exprimé en concentration d'extrait pour inhiber 50% de dénaturation de l'albumine fraîche d'œuf (IC₅₀).



Figure 40: Test de dénaturation d'albumine d'œuf.

N.B : Il est à noter que dans le témoin positif, on remplace l'extrait par le standard (diclofénac) et dans le témoin négatif on remplace l'extrait par l'eau distillée.

6.3. Détermination de l'activité antibactérienne

6.3.1. Préparation et choix de milieux de culture

Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton préparé comme suit: Dissoudre 38 g de la gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis autoclaver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri.

. Stérilisation du matériel

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

. Préparation des dilutions d'extraits l'ortie dioïque

Les extraits des feuilles d'*ortie dioïque* (préparé dans DMSO pour les extraits MET I et II, pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives au demi, sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 10 mg/ml (**Tab.09**).

Tableau09 : Différentes concentrations utilisées pour préparation des dilutions.

Concentrations	Extraits MET (mg /ml de DMSO)
1	100
2	50
3	25
4	12,5
5	6 ,25

Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes sont ensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 24h, pour optimiser leur croissance. On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester (**Tab.10 et Fig.41**). Décharger l'anse dans 10 ml d'eau distillée stérile, La suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farlandou à une DO de 0.8 à 0.1 à 600 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

Tableau 10 : Références des souches bactériennes utilisées dans notre étude.

Souche bactérienne	Forme	Gram	Famille	Code
<i>Escherichia coli</i>	Bacille	Négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>	ATCC25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci	Positif	<i>Micrococcaceae</i>	ATCC43300
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bacille	Négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>	ATCC700603
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacille	Négatif	<i>Pseudomonadaceae</i>	ATCC27853
<i>Bacillus subtilis</i>	Bacille	Positif	<i>Bacilaceae</i>	ATCC14579

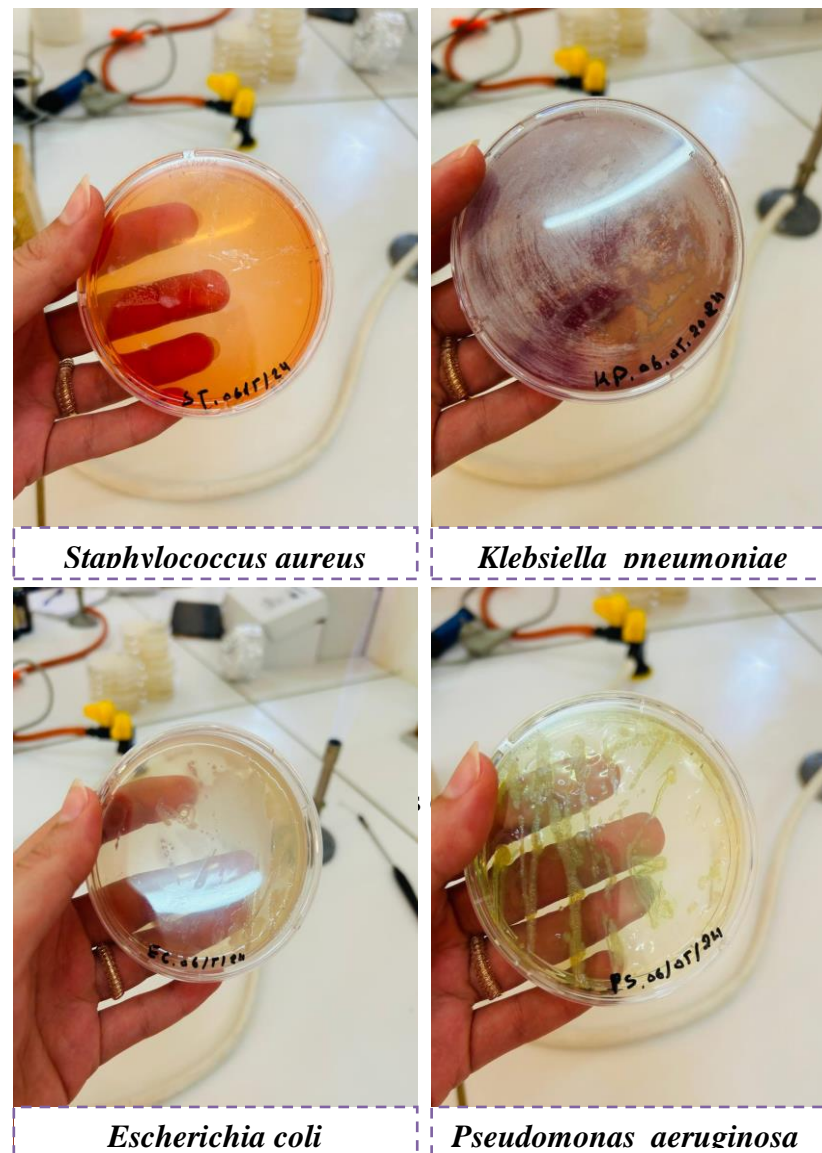


Figure 41 : souches bactériennes utilisées dans notre étude

6.3.2. Etude de l'activité d'un principe actif sur une souche bactérienne

La méthode des disques consiste à poser sur la surface d'un milieu gélosé ensemencé de micro-organismes, des disques de papier filtre desséchés et imprégnés des substances à tester. Les disques sont déposés à égale distance l'un de l'autre. Les substances contenues dans les disques diffusent dans le milieu et peuvent influencer la croissance des micro-organismes. Au bout de 24 heures d'incubation selon **Rotsart et Courtejoie (1984)** ou de 36 heures d'après **Bourret (1978)**, un cercle d'activité (zone d'inhibition) de chaque disque est observé dans le milieu qui entoure ce disque.

Suivant l'efficacité de la substance sur le germe en question, une surface plus ou moins étendue peut être vue, où les colonies microbiennes ont disparu. Il peut être choisi avec quasi-certitude le traitement le plus efficace (**Rotsart et Courtejoie, 1984**).

. Préparation des disques

Les disques ont été préparés à partir d'un papier Wattman (6mm de diamètre) par l'emporte-pièce. Ces disques ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

. Ensemencement et dépôt des disques

15 ml de la gélose MH est coulé dans des boîtes de Pétri. Après le refroidissement et solidification du milieu de culture sur la paille, on a trempé un écouvillon dans la suspension et on a étalé la surface entière de la gélose Mueller Hinton à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application dont le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum, puis on laisse sur la paille pendant 30 minutes.

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, les disques imprégnés d'extraits de l'ortie doique (5 disques/boîte) et les disques témoins (1disques/boîte), sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.

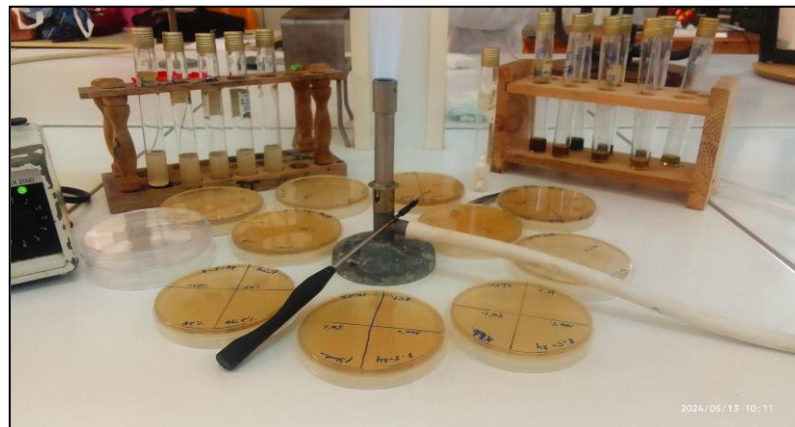


Figure 42 : Ensemencement et dépôt des disques

. Lecture des résultats

Après incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition circulaire transparente autour de disque correspondant à l'absence de la croissance bactérienne. L'activité antibactérienne a été déterminée à l'aide d'une règle mesurant le diamètre de la zone d'inhibition, plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (**Choi et al., 2006**).

La zone d'inhibition des souches vis à- vis de l'extrait et interprétée selon **Celikel et Kavas (2008)** :

- **Résistante** : Diamètre inférieur à 8 mm.
- **Sensible** : Diamètre compris entre 9 et 14 mm.
- **Très sensible** : Diamètre compris entre 15 et 19 mm.
- **Extrêmement sensible** : Diamètre supérieur à 20 mm.

7. Essai de fabrication des produits bio-cosmétiques

7.1. Réalisation d'un Savon glycéринée

• Melange 01

La lessive : Nous avons pesé 12g de pastille d'hydroxyde de sodium NaOH pour les mettre dans un récipient en verre. Ces masses ont été calculées pour obtenir un savon glycéринée, ensuite, nous avons dissous la totalité des pastilles dans exactement 24 g d'eau, tout en agitant avec une spatule.

• Melange 02

La deuxième phase : Dans un autre récipient nous avons pesé : 25g d'acide stéarique, 67g de mono propolyn glycole, 12g d'huile de ricin, 12g de glycéрine et 37g d'huile de coco. par la suite, nous avons mis le mélange 02 sur un feu doux pour que tout soit homogène, puis on a ajouté le mélange 1 (la lessive), ensuite on a ajouté : 200g de sorbitol, 50g de coco betaine et 30g de triethenolamine. Finalement, on ajoute 10g de la poudre d'Ortie séchée et on met notre savon dans des moules en silicone. Après 2h dans le réfrigérateur, on démoule notre savon et il est prêt pour l'utilisation.



Figure 43 : Savon glycéринé a l'Ortie.

7.1.1. Étude des propriétés du savon

. Détermination du Potentiel Hydrogéné (pH)

Pour mesurer le pH, une solution aqueuse est préparée en dissolvant 0,5 g de savon ou de crème synthétisés dans 150 ml d'eau distillée neutre à pH 7. Le mélange est agité de manière constante pendant 2 minutes, puis le pH est mesuré à l'aide d'un pH-mètre.



Figure 44 : Test du pH.

Test de mousse

Un petit morceau de savon est placé dans 10 ml d'eau distillée et soigneusement mélangé jusqu'à ce qu'une mousse se forme.



Figure 45 : Test de mousse du savon.

8.2. Réalisation d'une crème dermique

Nous avons pesé les ingrédients suivants :

- **Phase aqueuse** (eau distillée 76% glycérine végétale 2%) ;
 - **Phase huileuse** (Huile de sésame 5% beurre de coco 5%) ;
 - **Emulsifiants** (lanette N 4% et acide stéarique 4%).
- Mélangez la phase huileuse avec les émulsifiants dans un récipient 01 et mettez les dans un bain marie ;
 - Mélangez l'eau distillée avec la glycérine végétale dans un récipient 2 et mettez le deuxième mélange dans un bain marie ;
 - Quand ont confirme que les ingrédients se fondent, on les retire du bain marie (Sachant qu'il faut que les deux mélanges sont à peu près dans la même température 60°C) ;
 - Ensuite on mélange les deux préparations (récipient 1 et 2) ;
 - On met la phase aqueuse sur la phase huileuse et on mélange avec un mixeur électrique jusqu'à l'homogénéité de la crème ;
 - On obtient une crème bien lisse sans grumeaux, légère et sans effet gras (**Fig.46**) ;
 - On la laisse refroidir après on ajoute 0.6% du conservateur Cosgard ;
 - Finalement on ajoute 5% de la poudre d'ortie séchée.

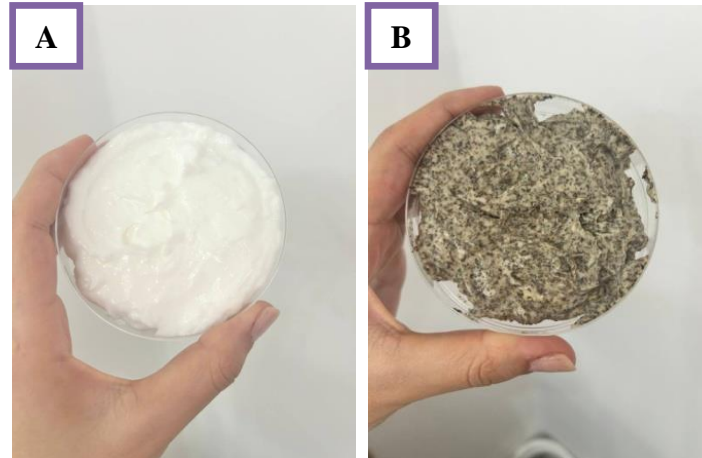


Figure 46 : Crème dermique. **A** : Crème de base ; **B** : Crème à poudre des feuilles d'Ortie.

8. Traitement des données

Les données ont été saisies, traitées et représentées sur des tableaux et des graphes par le logiciel « Microsoft Office Excel 2007 ».

1. Détermination du rendement d'extraits Méthanoliques des feuilles d'*Urtica dioica* L.

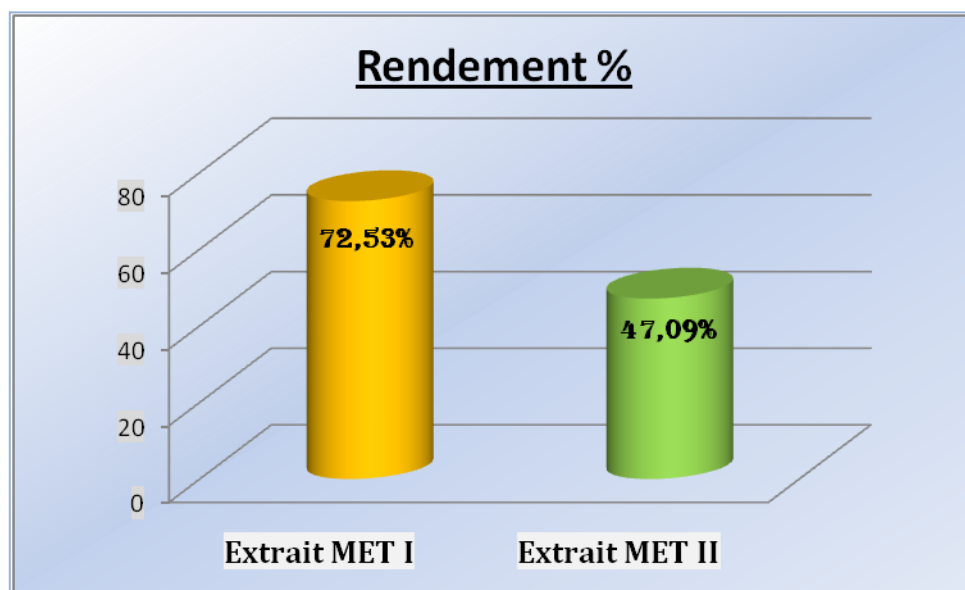


Figure 46 : Rendement d'extraits méthanoliques des feuilles d'*Urtica dioica* L.

Le rendement d'extraction est exprimé en pourcentage de masse des feuilles analysées, le rendement le plus élevé a été observé dans l'extrait méthanolique par Soxhlet (72.53%), par rapport à l'extrait méthanolique par macération qui est moins élevé avec un taux de 47.09 %.

Les essais réalisés avec ces deux techniques nous ont permis de conclure l'influence des paramètres de la méthode d'extraction, et la polarité du solvant sur le rendement en extractibles. Donc, l'éthanol et Soxhlet sont le solvant et la méthode qui permet l'obtention du meilleur rendement.

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que les rendements varient d'une méthode d'extraction à une autre. Cette différence est expliquée aussi par la différence de diffusion du solvant dans la poudre des plantes dans l'étape de macération et probablement à la nature des solvants utilisés pour l'extraction (Nacz et Shahidi, 2004).

Tableau 11 : Quelques avantages et inconvénients des techniques Soxhlet et macération.

	Avantages	Inconvénients
Soxhlet	<ul style="list-style-type: none"> • Utilisation de faibles quantités de solvants, sans phénomène de saturation. • Aucune nécessité de filtration après l'extraction. En outre, la méthode de Soxhlet est très simple et bon marché (Hamsi, 2013). • Le déplacement de l'équilibre de transfert en mettant à plusieurs reprises le solvant frais en contact avec la matrice solide. 	<ul style="list-style-type: none"> • Souvent plusieurs heures d'extraction. • Nécessite des particules de petite taille. • Toxicité des solvants en fonction des molécules à extraire. • Perte des composés thermolabiles/volatiles.
Macération	<ul style="list-style-type: none"> • Le solvant n'est pas nécessairement chauffé conservation les molécules thermosensibles. • Une agitation peut être appliquée pour faciliter l'extraction et assurer une bonne distribution de la biomasse dans le solvant. 	<ul style="list-style-type: none"> • Souvent plusieurs heures d'extraction. • Nécessite des particules de petite taille. • Toxicité des solvants en fonction des molécules à extraire. • Nécessité de filtration après l'extraction. • Phénomène de saturation : grandes quantités de solvants nécessaires.

2. Analyse des extraits méthanoliques d'*Urtica dioica* L.

2.1. Analyses qualitatives

2.1.1. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions, sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques. Les résultats de ce criblage phytochimique révèlent la présence ou l'absence d'un groupe de métabolites secondaires (Fig.00).

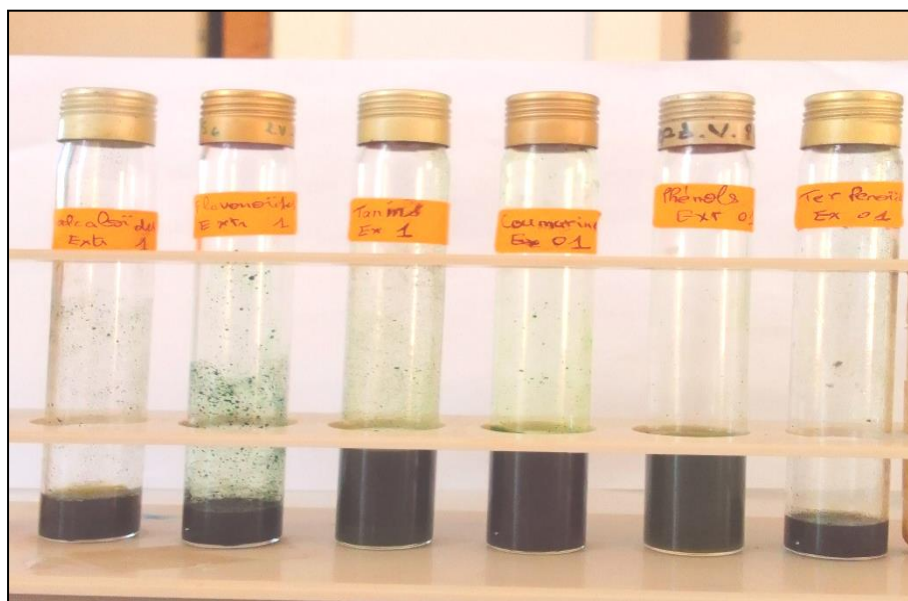


Figure 47: Colorations obtenues par le criblage sur l'extrait MET-01.

Tableau 12: Résultats des tests préliminaires de quelques métabolites secondaires de l'extrait MET-01 par Soxhlet.

Métabolite testé	Réactif	Résultat
Composés phénoliques	Ethanol, FeCl ₃	+++
Flavonoïdes	HCl, Mg	+
Tanins	FeCl ₃	+++
Terpénoides	Acide sulfurique, Chloroforme	++
Alcaloïdes	HCl, dragendroff	+
Coumarines	NaOH	-

+++ : Fortement positif ; + : Faiblement positif ; - : Négatif.

D'après les résultats illustrés dans le **tableau 00**, nous avons observé un fort changement de couleur pour les composés phénoliques et les tanins dans l'extrait méthanolique par Soxhlet (MET-01) des feuilles d'*Urtica dioica*, et un faible changement de couleur pour les flavonoïdes et les alcaloïdes.

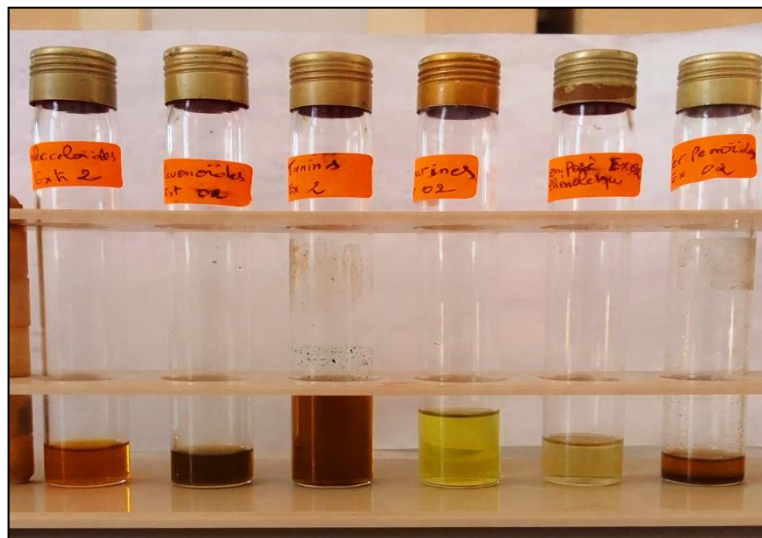


Figure 48: Colorations obtenues par le criblage sur l'extrait MET-02.

Tableau 13: Résultats des tests préliminaires de quelques métabolites secondaires de l'extrait MET-01 (par macération).

Métabolite testé	Réactif	Résultat
Composés phénoliques	Ethanol, FeCl ₃	+
Flavonoïdes	HCl, Mg	+++
Tanins	FeCl ₃	++
Terpénoïdes	Acide sulfurique, Chloroforme	++
Alcaloïdes	HCl, dragendroff	+++
Coumarines	NaOH	+++

+++ : Fortement positif ; + : Faiblement positif ; - : Négatif

D'après les résultats dans le **tableau 14**, nous avons observé un changement de couleur pour l'extrait méthanolique par macération (MET-02) des feuilles d'*Urtica dioica*, ce qui indique la présence et la richesse de cet extrait en : alcaloïdes, flavonoïdes, coumarines, terpènes et en tanins. On comparant les résultats des tests phytochimiques effectués sur les deux extraits des feuilles d'*Urtica dioica*, on constate qu'il existe une différence basée sur la présence ou l'absence de la couleur identifiant le composé en question.

Nos résultats s'accordent avec ceux enregistrés par **Aff- Chaouche (2015)**, pour quelques paramètres phytochimiques trouvés, sauf que cet auteur a noté la présence des saponines au niveau des échantillons testés, ce qui inverse notre cas. Cela est probablement en relation avec le site biogéographique de l'espèce car l'échantillonnage entre la région de Mostaganem et de Tizi-Ouzou est différent.

Pour l'extrait méthanolique par macération (MET-02), le test a révélé une forte réaction vis-à-vis des alcaloïdes, flavonoïdes, terpènes, coumarines et des tanins par contre l'extrait méthanolique par Soxhlet (MET-01) a réagi moyennement avec les réactifs vis-à-vis ces métabolites, sauf pour les composés phénoliques et les tanins. Des travaux effectués par **Basaran (2001)** ; **Chaurasia et Wichtl (1987)** et **Tita (1993)** sur *Urtica dioica* L. nous ont confirmé la présence des flavonoïdes, des stérols et aussi des tannins.

Le test phytochimique qui a été réalisé sur les deux extraits des feuilles de l'espèce étudiée, montre qu'ils ne sont pas identiques. Cependant, de point de vue qualitatif, l'extrait méthanolique (MET-02) des feuilles d'*Urtica dioica* est plus riche en métabolites secondaires que l'extrait méthanolique (MET-01), ce qu'est exprimer par l'intensité de la différence de la coloration (le plus foncé c'est le plus riche), cela est dû aux conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée (à chaud ou à froid), affectent tout le contenu total en métabolites secondaires.

D'autres travaux ont trouvé que les principaux composants chimiques des feuilles d'*Urtica dioica* sont les flavonoïdes, les tanins, les anthocyanes, les saponosides, les alcaloïdes, les coumarines, les glucosides et les mucilages (**Toubal, 2018**).

2.1.2. Caractérisation des alcaloïdes et des flavonoïdes sur plaque CCM

Par ses faibles contraintes techniques, son emploi simple et son coût modeste, la CCM est un outil de choix pour l'analyse phytochimique de routine d'extraits bruts, de fractions, ainsi que de produits purs isolés. Lorsque la plaque CCM est séchée, les spots apparaîtront sous forme des taches de couleurs jaune (**Fig.49**).

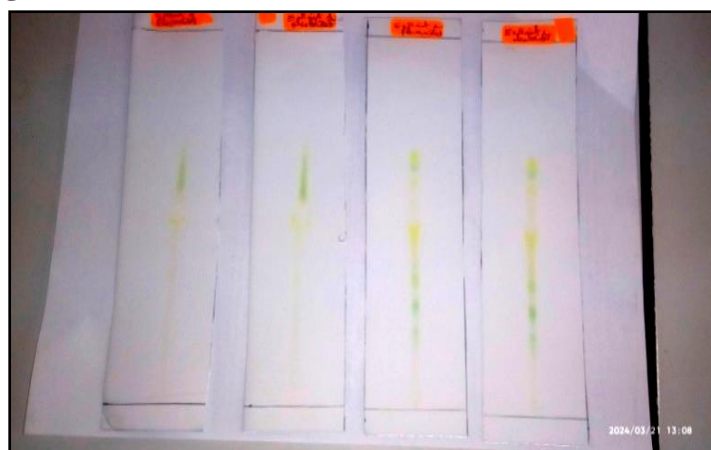


Figure 49: Plaque CCM après séchage.

Les plaques CCM sont pulvérisées avec le réactif de FeCl_3 après la migration des extraits, nous avons observé des taches bleu noir qui indiquent la présence des flavonoïdes dans ces extraits. La pulvérisation par le réactif dragendorff provoque une coloration orange, qui indique la présence des alcaloïdes.

Les résultats de chromatographie sur couche mince sont mentionnés sur les **figures** suivantes:

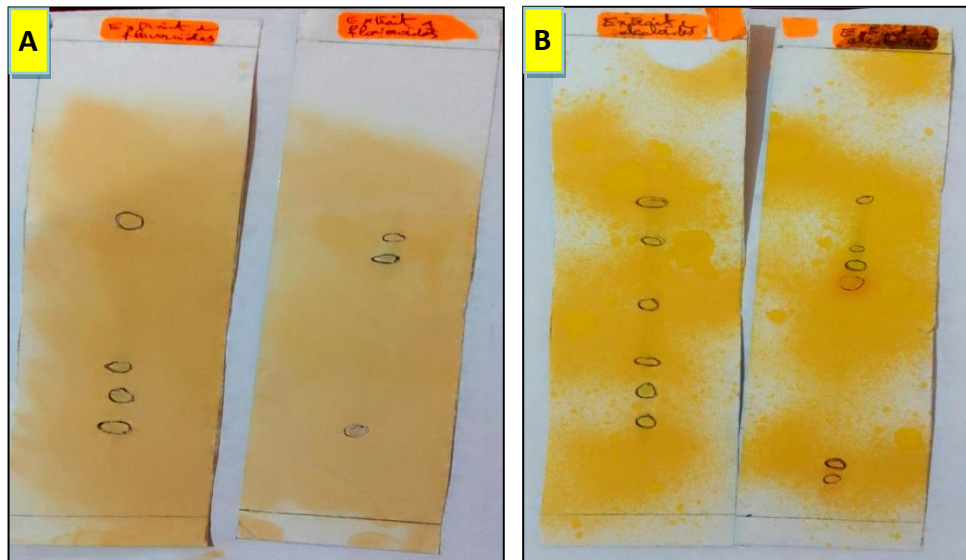


Figure50: Etude de séparation. **A** : des alcaloïdes ; **B** : des flavonoïdes.

- **Calcul de Rf** : Les résultats sont généralement exprimé sous la formation d'un facteur de rétention (Rf) est définie comme suit: $Rf = di/ds$
Rf: Retarding factor ou rapport frontal ;
di: Distance parcourue par le composé ;
ds: Distance parcourue par le front du solvant.

Tableau 14: Résultats obtenus de la CCM pour l'extrait méthanolique 01.

		Ortie dioïque (Extrait méthanolique 01)			
		ds (cm)	di (cm)	Couleur	Rf
Après révélateur FeCl₃	13.4	d1 =1.5	Orange clair	0.11	
		d 2=2	Vert	0.14	
		d3=8.1	Vert jaune	0.60	
		d4=9.4	Trace vert	0.70	
		d5= 10.2	Orange clair	0.76	
		d6=10.9	Orange	0.81	
		d7=12	Vert	0.89	
Après révélateur Dragendroff	13	d1 =3.2	Marron clair	0.24	
		d 2=9.8	Vert foncé	0.75	
		d3=10.2	Vert clair	0.81	
		d4=11.5	Bleu violacé	0.88	

Tableau 15: Résultats obtenus de la CCM pour l'extrait méthanolique 02.

		Ortie dioïque (Extrait méthanolique 02)			
		ds (cm)	di (cm)	Couleur	Rf
Après révélateur FeCl₃	13.4	d1 =3.2	Orange clair	0.23	
		d 2=4.4	Vert	0.32	
		d3=5.5	Vert jaune	0.41	
		d4=6.4	Trace vert	0.47	
		d5= 7.7	Fonce	0.57	
		d6=10.2	Orange	0.76	
		d7=11	Jaune	0.82	
		d8=11.5	Jaune foncé	0.85	
Après révélateur Dragendroff	13	d1 =3.2	Marron clair	0.25	
		d 2=4.4	Vert foncé	0.34	
		d3=5.5	Vert clair	0.42	
		d4=7.5	Bleu très clair	0.58	
		d5= 11	Vert clair	0.85	

Portant de leurs fluorescences et leurs Rf, nos échantillons sont riches en flavones qui correspondent aux taches violettes, brunes et bleues (**Tab.14 et 15**). Nos résultats sont confirmés à ceux obtenus par **Markham (1982)**.

La migration des substances dépend essentiellement de leur polarité : les flavonones, les flavonols, méthoxy-flavane sont les valeurs les plus élevées de Rf (0.5-0.75) (**Bandyukova et shinkarenko, 1973; zeghad, 2009; Allal, 2013**).

Selon les des **tableaux** ci-dessus des deux extrait méthanoliques, on remarque que les fractions du chromatogramme obtenu présentent des diminutions et augmentations de valeur du Rf. En outre, le Rf de la phase aqueuse très élevé (5 spots), il est riche en flavonoïdes (0.5 et 0.75) approximation sont flavonone, flavonol et méthoxyflavane, et donne un résultat optimale (majoritaire) par rapport les autres fractions, selon **Bandyukova et Shinkarenko (1973)**, la plante étudiée possède une richesse en flavonoïdes. Une étude sur l'extrait méthanolique de l'ortie est en accord avec nos résultats pour quelques composants chimiques. Cette étude, réalisée en Chine, a montré la présence de huit constituants chimiques identifiés (**Ramzan, 2014**).

2.2. Analyses quantitatives

2.2.1. Dosage des polyphénols

La teneur en phénols totaux estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu pour chaque extrait à partir d'une gamme étalon établie avec différentes concentrations d'acide gallique (l'équation standard de courbe : $Y = 0.005x + 0.014$; $R^2 = 0.988$) (**Annexe.05**). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de l'extrait (mg EAG/g MS). En plus de sa sensibilité, cette méthode de dosage représente une productibilité puisque l'absorbance est étroitement corrélée à la concentration de l'acide gallique utilisé dans la gamme étalon, $R^2 = 0,983$.

La teneur en polyphénols totaux dans les extraits des feuilles d'*Urtica dioica* montre que l'extrait MET-01 contient une teneur élevée avec 106.76 mg EAG/g MS, suivi par l'extrait MET-02 avec 44.73 mg EAG/g MS (**Tab.16**).

Tableaux 16 : Teneur en polyphénols totaux dans les extrais des feuilles d'*Urtica dioica* L.

Extrait	Teneur en polyphénols totaux
MET-01	107,07 ± 0.54
MET-02	44,86 ± 1.74

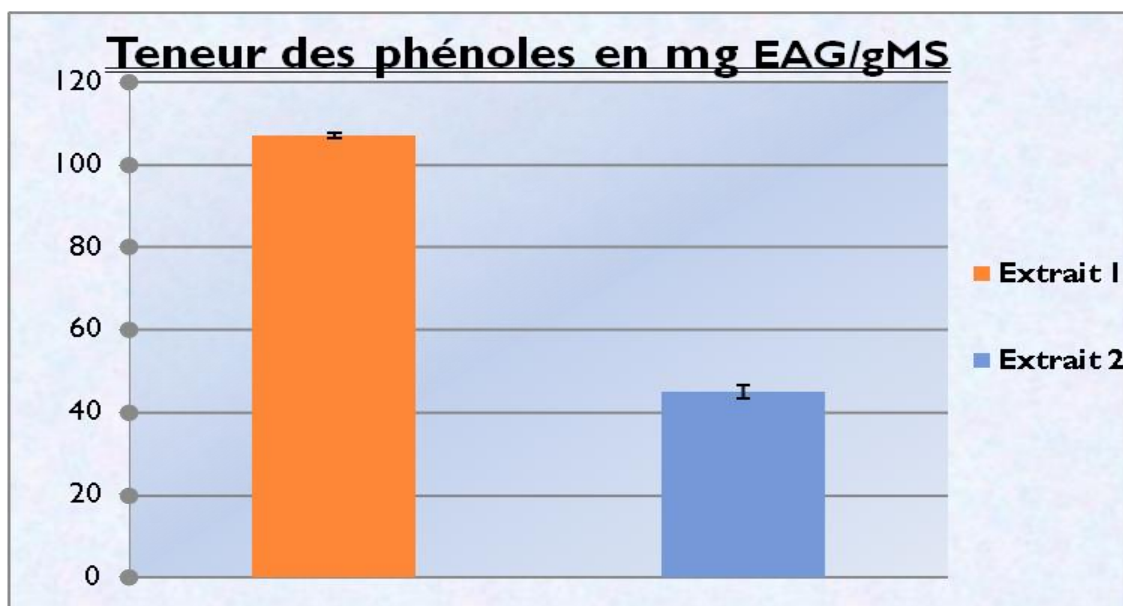


Figure 51 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits méthanoliques des feuilles d'*Urtica dioica* L. en mg EAG/gMS.

D'autres travaux menés par **Josef Hudec et al. (2007)**, en utilisant l'extraction à l'éthanol de feuilles d'ortie ont rapporté une valeur similaire (7,62 mg GAE.g⁻¹). Cependant, les valeurs étaient inférieures à celles trouvées dans l'extrait méthanolique d'ortie (24,1 mg GAE.g⁻¹) (**Pourmorad et al., 2006**).

Les différences constatées entre les résultats obtenus et ceux rapportés par la littérature pourraient être dues à : la région géographique, la période de la récolte, la partie de la plante testée, le protocole d'extraction, la méthode utilisée pour le dosage et le solvant d'extraction. Cependant, **Nencu et al. (2013)**, ont trouvé que la teneur en composés phénoliques est liée aux phases de maturation de la plante ; plus la plante est jeune, plus le taux de polyphénols qui y sont présents est élevé. Cela pourrait expliquer la haute teneur en composés phénoliques trouvée dans *Urtica dioica* L. dans la présente étude, car la plante a été récoltée jeune au début du printemps.

Si la méthode de Folin-Ciocalteu est simple à mettre en œuvre et très sensible, elle n'est cependant pas spécifique des polyphénols car certains acides aminés tels que la tyrosine et tryptophane des protéines peuvent interférer dans ce dosage. Cependant cette interférence peut être négligée car ces acides aminés aromatiques sont en proportions trop faibles par rapport aux composés phénoliques non protéiques dans les extraits (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Plusieurs études ont montré que les composés phénoliques sont associés à l'activité antioxydante, et jouaient un rôle important dans la stabilisation de la peroxydation lipidique (**Gülçin et al., 2004**).

2.2.2. Dosage des Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes estimée par la méthode de chlorure d'aluminium pour chaque extrait à partir d'une gamme étalon établie avec différentes concentrations de quercétine (l'équation standard de courbe : $y = 0.053x + 0,020$; $R^2 = 0,983$). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de quercétine par g de l'extrait (mg EQ/gMS). L'absorbance est étroitement corrélée à la concentration de quercétine utilisé dans la gamme étalon, $R^2 = 0,983$ (Annexe.06).

La teneur des flavonoïdes dans les extraits des feuilles d'*Urtica Dioica* montre que l'extrait MET-01 contient une teneur élevée avec 12.33 mg EQ/g MS suivi par l'extrait MET-02 avec 8.55 mg EQ/g MS (Tab17).

Tableaux 17 : Teneur en flavonoïdes dans les extrais des feuilles d'*Urtica Dioica* L.

Extrait	Teneur des Flavonoïdes
MET-01	12,280 ± 0,18
MET-02	8.51 ± 0,11

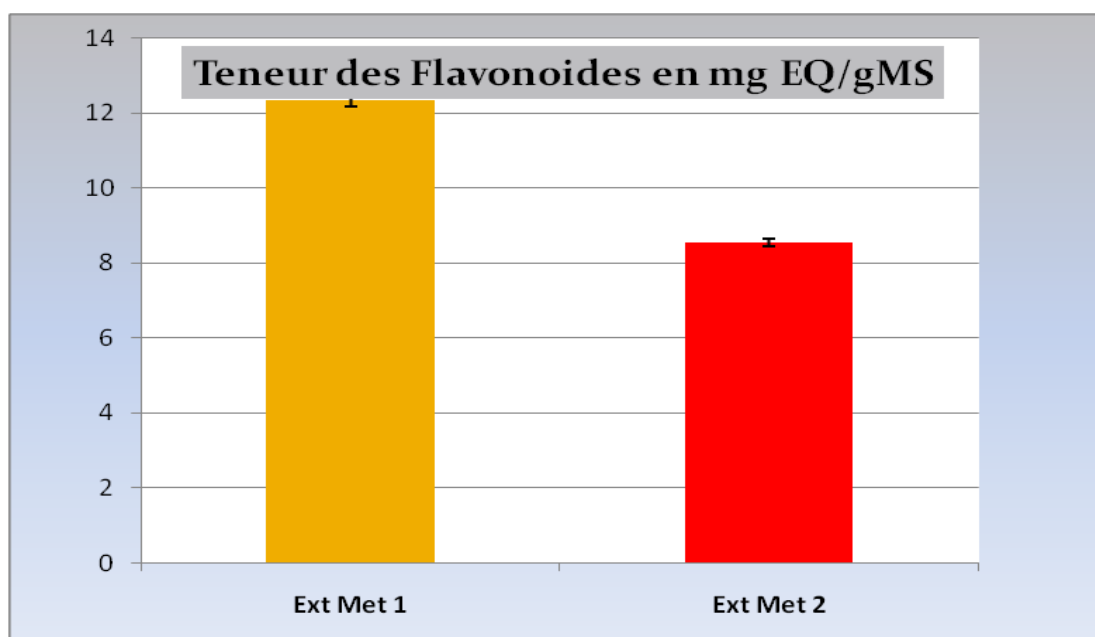


Figure 52 : Teneurs en Flavonoïdes de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Urtica dioica* L. en mg EAG/gMS.

L'étude de **Mekhibi et Boudria (2013)**, montre que la teneur en flavonoïdes dans la phase butanoliques de la plante *Urtica dioica* L. de la région de Jijel (4,31mg EQ/gMS) est la plus riche que l'extrait d'acétate d'éthyle (0,278mg EQ/gMS) et de chloroforme (0,24mg EQ/gMS).

Cette différence peut être expliquée par le fait que la méthode d'extraction ainsi que la région et la période de la récolte sont différentes. Un second paramètre pourrait être à l'origine de la différence de la teneur en flavonoïdes, c'est leur solubilité.

Selon **Bruneton (2008)**, la solubilisation des flavonoïdes dépend de leur glycosylation, les hétérosides sont solubles dans l'eau et l'alcool ou le mélange, et d'autres ont des propriétés hydrosolubles extrêmement faibles. Les flavonoïdes lipophiles tel que les aglycones sont directement extraits par des solvants apolaires (**Laurance lachat, 2011**).

En outre, les travaux de **Pourmorad et al. (2006)**, ont montré que la teneur en flavonoïdes dans les feuilles d'*Urtica dioica* représente une différence qui peut être expliquée par le fait que la méthode d'extraction.

Les feuilles d'*urtica dioica* sont riches en flavonoïdes, ainsi qu'en composés phénoliques, en acides organiques, en vitamines C et en sels minéraux. Les principaux flavonoïdes de l'ortie sont la quercétine, le kaempférol et la rutine (**Ait Haj Said et al., 2016**).

3. Activités biologiques des extraits méthanoliques d'*Urtica dioica* L.

3.1. Activité antioxydante

3.1.1. Effet Scavenger du radical DPPH

La mesure de l'absorbance a été effectuée par spectrophotométrie à 517 nm, à partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée auparavant. Les valeurs obtenues nous ont permis de tracer la courbe qui représente les variations de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'extrait méthanolique, la détermination graphique de IC₅₀ se fait à partir de la courbe, qui constitue l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioica* L. (**Tab.18**).

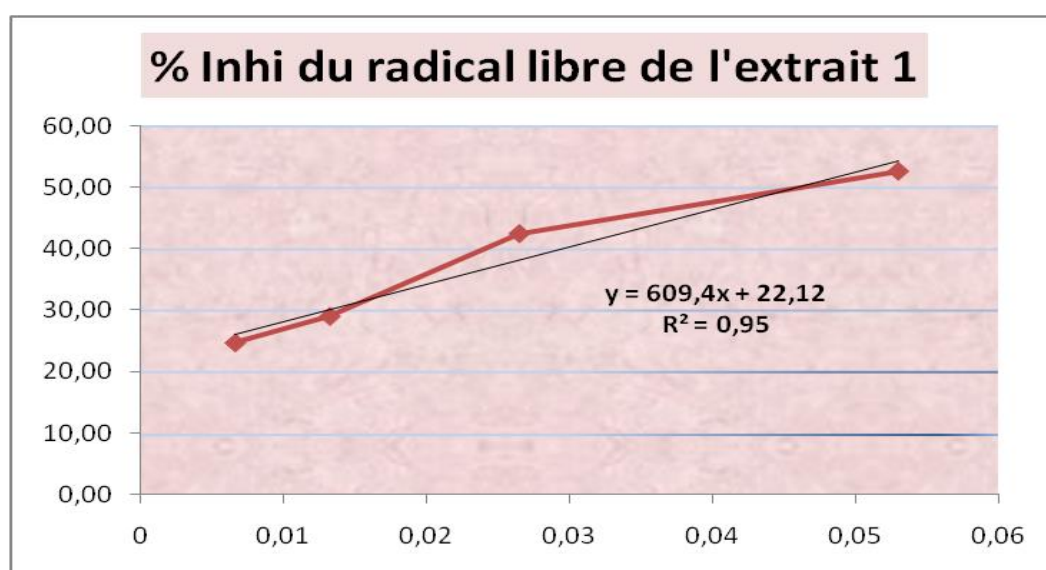
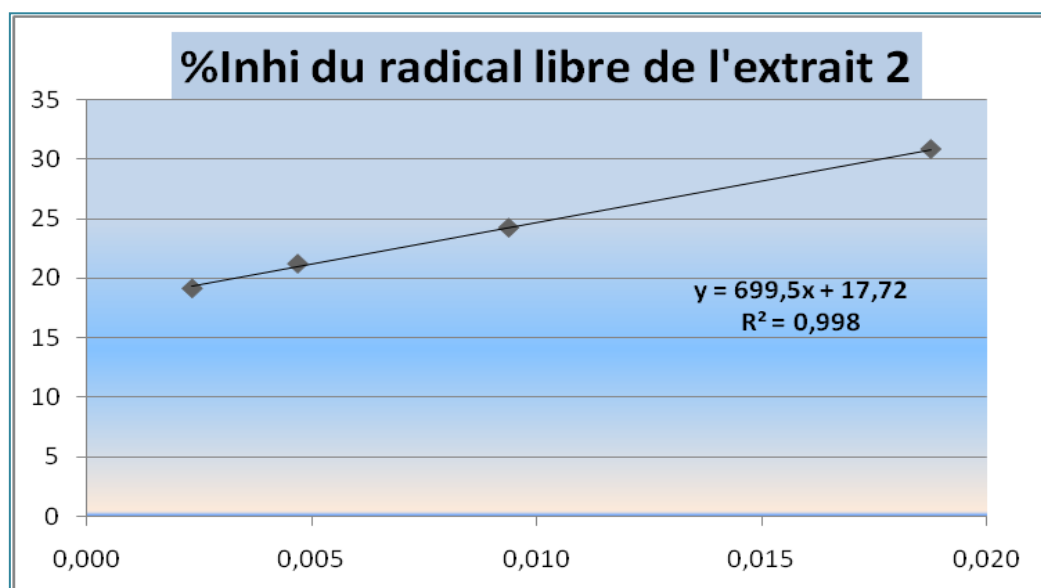
Le calcul de l'EC₅₀ qui prend en considération la concentration de DPPH dans le milieu réactionnel [concentration effective à 50%, EC₅₀ = (IC₅₀/mg de DPPH/ml)].

L'IC₅₀ est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé. Parce qu'il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration de radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est petite, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. Donc notre résultat montre que l'extrait MET-02 a une grande activité antioxydante par rapport à l'extrait MET-01.

Tableau 18 : Activité anti-radicalaire des extraits des feuilles d'*Urtica Dioica* L.

	IC 50(mg /ml)	% Maximum	% Minimum
Vitamine C	0.72 ± 0.008	72.077 ± 1.666	9.544 ± 0.425
Extrait MET-01	45.76 ± 0.69	52.17 ± 0.48	24.70 ± 0.21
Extrait MET-02	43,78 ± 2.95	30.81 ± 0.41	19.17 ± 1.85

À des fins comparatives des deux extraits (MET-01 et MET-02). Ils ont montré une activité anti-radicalaire puissante avec des IC₅₀ de l'ordre de 45.76 mg/ml et 43.78 mg /ml pour le MET-01 et MET-02, respectivement (Figures 53 et 54).

Figure 53 : Pourcentage d'inhibition du radical libre de l'extrait méthanolique 01 d'*Urtica dioica* L.Figure 54 : Pourcentage d'inhibition du radical libre de l'extrait méthanolique 02 d'*Urtica dioica* L.

Parmi les deux extraits d'*Urtica dioica*, l'extrait MET-02 représente l'extrait le plus actif avec une IC₅₀ de l'ordre 43.78 ± 2.95 mg /ml suivi par l'extrait MET-01, ayant une IC₅₀ de l'ordre de 45.76 ± 0.69 mg/ml.

Dans une étude réalisée par **Zeipina et al. (2015)** sur l'efficacité d'*Urtica dioica* à piéger le radical DPPH, des pourcentages d'inhibitions compris entre 75,5 et 78,5%. Ces résultats sont plus ou moins similaires à ceux obtenus dans la présente étude.

L'étude de **Joshi et al. (2015)**, portée sur l'efficacité des différents extraits d'*U. dioica* de l'Inde a révélé une bonne efficacité de l'extrait d'acétate d'éthyle vis-à-vis du radical DPPH en enregistrant une IC₅₀ de $78,99 \pm 0,171$ µg/ml comparé aux autres extraits qui ont données des IC₅₀ de l'ordre de $168,2 \pm 0,364$, $215,96 \pm 0,066$ et $302,90 \pm 0,141$ µg/ml, respectivement pour les extraits de n-butanol, Pet-éther et en dernier lieu l'extrait éthanolique, ce qui en témoigne de l'effet du solvant d'extraction sur l'efficacité inhibitrice de l'extrait.

De nombreuses études ont montré que les extraits (méthanolique et éthanolique) des feuilles présentent un effet antioxydant remarquable vis-à-vis du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (**Kataki, 2012**).

Une étude a été menée par **Deliorman-Orhan et al. (2012)** car la décoction de l'ortie d'origine de Turquie s'est révélée inefficace vis-à-vis du radical DPPH avec un pourcentage maximal de $21,4 \pm 0,2\%$.

L'analyse des résultats a permis de démontrer que les solvants utilisés et les concentrations considérées exercent une influence sur les activités antioxydantes d'*Urtica dioica* comme par **Kataki et al.(2012)**, la différence de l'activité antioxydante des extraits de la même plante est peut être due à la différence de protocole de dosage suivie ainsi qu'à la méthode d'extraction utilisé et la polarité du solvant utilisé.

Selon **Monfared et al. (2011)**, la différence d'efficacité d'*U. dioica* dépend essentiellement de la région de cueillette et du stade physiologique de la plante.

3.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *In Vitro* des extraits d'*Urtica dioica* L.

3.2.1. Effet stabilisateur de la membrane des érythrocytes

3.2.1.1. Test de l'hémolyse induite par la chaleur

Ce test de la stabilisation de la membrane des globules rouges est basé sur l'incubation de la suspension des globules rouges, avec le diclofénac de sodium, et les extraits d'*Urtica Dioica* à différentes concentrations (10, 30 et 100 $\mu\text{g/ml}$). Les résultats sont illustrés dans **la figure 55** ci-dessous.

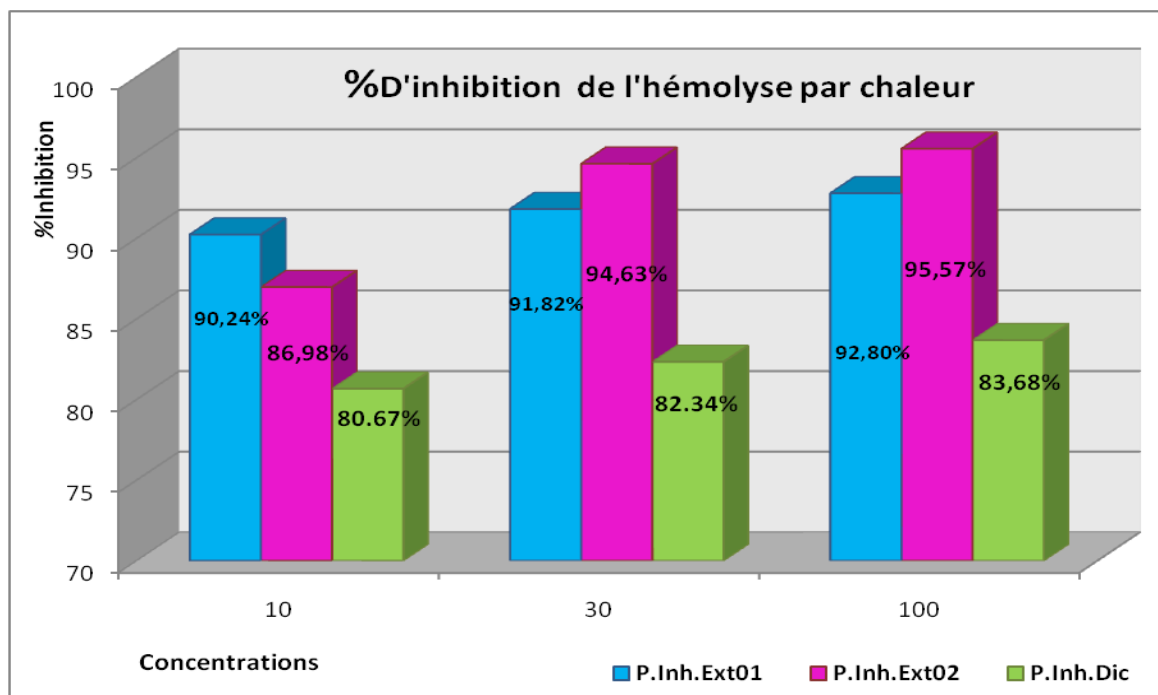


Figure 55 : Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse induite par la chaleur par les extraits MET-01 et MET-02 d'*Urtica dioica* et le diclofénac de sodium à différentes concentrations.

L'effet stabilisateur de la membrane des érythrocytes est souvent utilisé comme indicateur de l'activité anti-inflammatoire d'un extrait ou d'un médicament. Dans cette étude, les extraits bruts d'*Urtica dioica* L. (extrait méthanolique 01 de Soxhlet et l'extrait méthanolique 02 de macération) ont été comparés au diclofénac : un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien bien connu, à différentes concentrations (10 $\mu\text{g/ml}$, 30 $\mu\text{g/ml}$ et 100 $\mu\text{g/ml}$).

Les résultats obtenus montrent que les extraits méthanoliques d'*Urtica dioica* et le diclofénac ont tous un effet stabilisateur sur la membrane des érythrocytes, comme en témoigne la réduction de l'hémolyse induite par la chaleur. L'effet semble être dose-dépendant pour les deux substances, avec une augmentation de l'effet stabilisateur à mesure que la concentration augmente.

À 10 µg/ml: L'extrait méthanolique MET-01 a montré une stabilisation de 90.24 %, supérieur à l'extrait méthanolique MET-02 qui présentait 86.98 %, tandis que le diclofénac a montré une stabilisation légèrement inférieure de 80.67 %. Cela suggère que les extraits MET-01 et MET-02 peut avoir une activité anti-inflammatoire plus forte à cette concentration particulière.

À 30 µg/ml: L'extrait MET-02 a montré une forte augmentation de l'effet stabilisateur que l'extrait MET-01 et le diclofénac, ou on a enregistré 94.63% pour l'extrait MET-02 et 90.24% et 80.67%, pour l'extrait MET-01 et le diclofénac, respectivement. Cela indique que l'extrait MET-02 peut être plus efficace à cette concentration que l'extrait MET-01 et le diclofénac.

À 100 µg/ml : l'effet stabilisateur est proportionnelle concentration appliquées (**Fig.60**). Le diclofénac montre une stabilisation de 83.68%, tandis que les deux extraits MET-01 (92.80%) et MET-02 (95.57 %) ont un effet stabilisateur plus important à celui enregistré par le diclofénac. Cela suggère que les extraits méthanoliques peuvent avoir une activité anti-inflammatoire plus forte à cette concentration élevée.

L'effet anti-inflammatoire des extraits méthanolique des feuilles d'*Urtica dioica* est dose-dépendant, plus la dose augmente plus l'impact anti-inflammatoire est important. Il est important d'augmenter la dose pour atteindre la dose optimale susceptible de donner un effet anti-inflammatoire important.

À des concentrations plus élevées (30 µg/ml et 100 µg/ml), l'extrait MET-01 a surpassé l'extrait MET-02, avec des stabilisations de 94.63% ; 95.57% et 91.82% ; 92.80%, respectivement. Le diclofénac est toujours inférieur aux deux extraits méthanoliques d'*Urtica dioica* avec 82.34%; 83.68%. Cela signifie que l'extrait de MET-01 présente une activité anti-inflammatoire plus forte.

Ces résultats sont cohérents avec d'autres études qui ont montré une activité anti-inflammatoire significative dans divers extraits de plantes, comme les extraits de feuilles de *Shorea robusta* (**Kumar et Van Staden, 2012**) et les nanoparticules de l'oxyde de zinc biosynthétisées à partir de l'extrait de feuilles de *Pelargonium odoratissimum* (**Njoroge et al., 2021**). Une étude menée par **Khan et al, (2020)**, qui a évalué l'activité protectrice de l'extrait d'*Aloe vera* contre l'hémolyse induite par la chaleur.

De plus, un effet inhibiteur a été démontré sur le système NF-κB impliqué dans les réponses immune, anti-apoptotique et inflammatoire (**Riehemann et al., 1999**) et sur le facteur d'activation plaquettaire des neutrophiles (PAF : Platelet Activating Factor) (**Roschek et al., 2009**).

Selon **Mekahli et ses collaborateurs (2021)**, les polyphénols sont capables de protéger les érythrocytes au stress actif ou d'accroître leur résistance aux dommages causés par les oxydants.

En conclusion, les résultats du test de stabilisation de la membrane des érythrocytes face à l'hémolyse induite par la chaleur suggèrent que les extraits méthanolique des feuilles d'*Urtica dioica* présente une activité significative de protection contre ce phénomène. Cela peut être attribué à la

capacité de l'extrait à stabiliser les membranes des globules rouges et à prévenir leur éclatement en réponse à la chaleur.

3.2.1.2. Hémolysé induite par une solution hypotonique

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire des extraits méthanolique d'*Urtica dioica*. Le test de stabilisation de la membrane des globules rouges a été utilisé. Il s'agit d'incuber une suspension de globules rouges obtenus à partir d'un donneur sain avec les extraits méthanolique d'*Urtica dioica*, ainsi que le diclofénac de sodium comme molécule de référence à des concentrations suivantes : 10, 30 et 100 µg/ml. Les valeurs des absorbances obtenues ont été converties en pourcentage d'inhibition de l'hémolyse (stabilisation de la membrane) en appliquant la formule décrite dans la méthodologie. Plus le pourcentage de stabilisation de la membrane est élevé, plus le surnageant est rouge clair et plus l'activité anti-inflammatoire de l'extrait est importante. Les résultats obtenus sont représentés dans la **figure 56** ci-dessous :

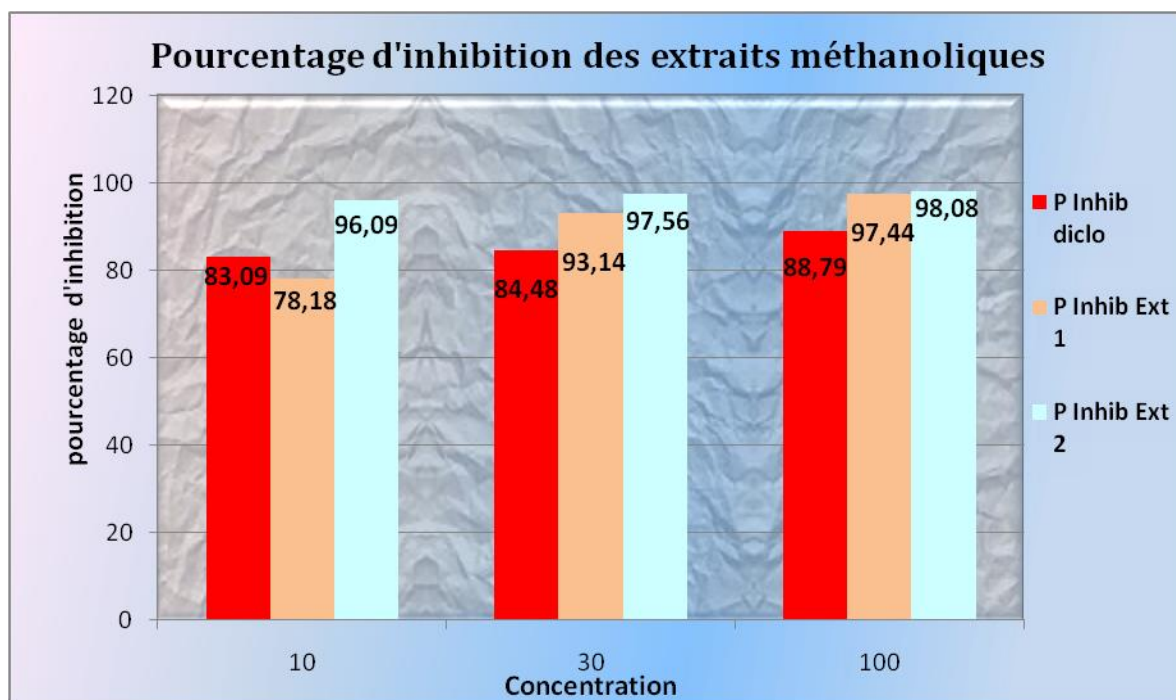


Figure 56 : Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse induite par solution hypotonique par les extraits méthanolique MET-01 et MET-02 d'*Urtica dioica* et le diclofénac de sodium à différentes concentrations.

Dans cet essai, nous avons utilisé le test de stabilisation de la membrane des globules rouges pour évaluer l'effet anti-inflammatoire des extraits méthanolique d'*Urtica dioica*. L'objectif était de déterminer si ces extraits avaient la capacité de protéger les membranes des globules rouges contre l'hémolyse induite par une solution hypotonique.

Le test implique l'incubation d'une suspension de globules rouges en présence des extraits des feuilles d'*Urtica dioica* à différentes concentrations (10, 30 et 100 µg/ml), ainsi que du diclofénac de sodium en tant qu'une molécule de référence. Après l'incubation, les absorbances obtenues ont été converties en pourcentage d'inhibition de l'hémolyse, ce qui indique la capacité de l'extrait à stabiliser la membrane des globules rouges et à prévenir leur éclatement en réponse à la solution hypotonique.

Les résultats obtenus ont montré que les extraits méthanolique d'*Urtica dioica* présentent une augmentation significative du pourcentage de stabilisation de la membrane des globules rouges à mesure que la concentration de l'extrait augmente.

À une concentration de 10 µg/ml, les extraits MET-01 et MET-02 ont induit une inhibition de l'hémolyse de 96.09% et 78.18%, tandis qu'à 30 µg/ml et 100 µg/ml, les pourcentages d'inhibition étaient de 97.56% ; 93.14% et 98.08% ; 97.44%, respectivement. Ces résultats suggèrent une activité anti-inflammatoire dose-dépendante potentielle des deux extraits.

Comparativement, le diclofénac de sodium, utilisé comme contrôle positif, a également montré des effets similaires d'inhibition de l'hémolyse, avec des valeurs de 83,09%, 84,48%, 29% et 88,79% à des mêmes concentrations.

À une concentration plus élevée (100 µg/ml), il présente des stabilisations similaires des extraits méthanoliques MET-01 et MET-02 et le diclofénac de 97,44% ; 98,08% et 88,79%, respectivement.

En interprétant ces résultats, nous pouvons conclure que les deux extraits méthanoliques des feuilles d'*Urtica dioica* présentent une activité anti-inflammatoire en stabilisant les membranes des globules rouges et en les protégeant de l'hémolyse induite par une solution hypotonique. Ces résultats renforcent l'idée que l'*Urtica dioica* pourrait contenir des composés bioactifs ayant le potentiel de moduler les processus inflammatoires.

Les résultats obtenus dans ce test indiquent clairement que l'extrait méthanolique d'*Urtica dioica* présente une capacité significative à inhiber l'hémolyse des globules rouges. En effet, l'augmentation progressive du pourcentage d'inhibition de l'hémolyse à mesure que la concentration de l'extrait augmente suggère une activité anti-inflammatoire potentielle de cet extrait. Cela se manifeste par la capacité de l'extrait à stabiliser les membranes des globules rouges et à prévenir leur éclatement en réponse à la solution hypotonique.

Il s'avère également que ces résultats sont proches à ceux obtenus par **Mekhahli et ses collaborateurs (2021)**, qui ont constaté que l'extrait aqueux d'*U. urens* a présenté un effet anti-hémolytique considérable ($47,36 \pm 0,081\%$) à la concentration 1000 µg/ml.

En comparant ces résultats avec la littérature scientifique, nous constatons que plusieurs études ont évalué l'activité anti-inflammatoire de différentes plantes médicinales en utilisant des tests similaires de stabilisation de la membrane des globules rouges. Les résultats de l'activité cytotoxique de l'extrait éthanolique des racines de *W. somnifera* suggèrent que cette plante médicinale possède un potentiel significatif ($P < 0,05$) de stabilisation membranaire (antihémolytique) ainsi qu'un potentiel thrombolytique et protecteur de l'ADN (Munir *et al.*, 2022). Des valeurs aussi importantes ont été obtenues par Chirumamilla et Taduri (2023) dans l'extrait méthanolique des feuilles, fruits et racines de *Solanum khasianum*, une *solanaceae* du genre *Solanum* les valeurs sont, dans l'extrait des racines de $83,97 \pm 0,36$ % d'inhibition de l'hémolyse à 1 mg/mL, par rapport aux extraits de fruits ($81,68 \pm 0,82$ %) et de feuilles ($70,93 \pm 0,38$ %) qui évoluent de manière dose-dépendante. Le diclofénac, a montré un effet anti-inflammatoire comparativement maximum activité ($85,49 \pm 0,51$ %) à une concentration de 1 mg/ml.

Cependant, il est important de noter que chaque plante médicinale possède des compositions chimiques différentes, ce qui peut conduire à des mécanismes d'action distincts. Par conséquent, bien que les résultats soient comparables, il est essentiel de comprendre les composés spécifiques présents dans l'*Urtica dioica* L. et leur rôle dans l'activité anti-inflammatoire.

3.2.2. Dénaturation des protéines

3.2.2.1. Test de dénaturation de l'albumine d'œuf

Dans notre étude, l'activité anti-inflammatoire de l'extrait a été évaluée *In Vitro* par le test d'inhibition de la dénaturation des protéines (albumine d'œuf) induite par un traitement thermique. Le **tableau 19** et la **figure 57** représentent les pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines (blanc d'œuf) en fonction des différentes concentrations des deux extraits méthanoliques (10, 50, 100, et 150 µg/ml). Ces résultats sont comparés à ceux enregistrés pour le contrôle positif (diclofénac sodique).

Tableau 19 : Taux moyen d'inhibition de la dénaturation des protéines (blanc d'œuf) par les deux extraits méthanoliques (MET-01 et MET-02) des feuilles d'*Urtica dioica* L. et le contrôle positif (Diclofénac) à différentes concentrations.

	10 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	150 µg/ml
Extrait MET-01	84,049±3,035	70,886±3,513	82,152±2,951	70,086±2,752
Extrait MET-02	93,921 ± 1,295	82,668 ± 7,596	92,115 ± 2,907	88,360 ± 2,508
Diclofénac	88,192 ± 6,404	75,416 ± 5.120	84.494 ± 4.697	77,951 ± 1,0.38

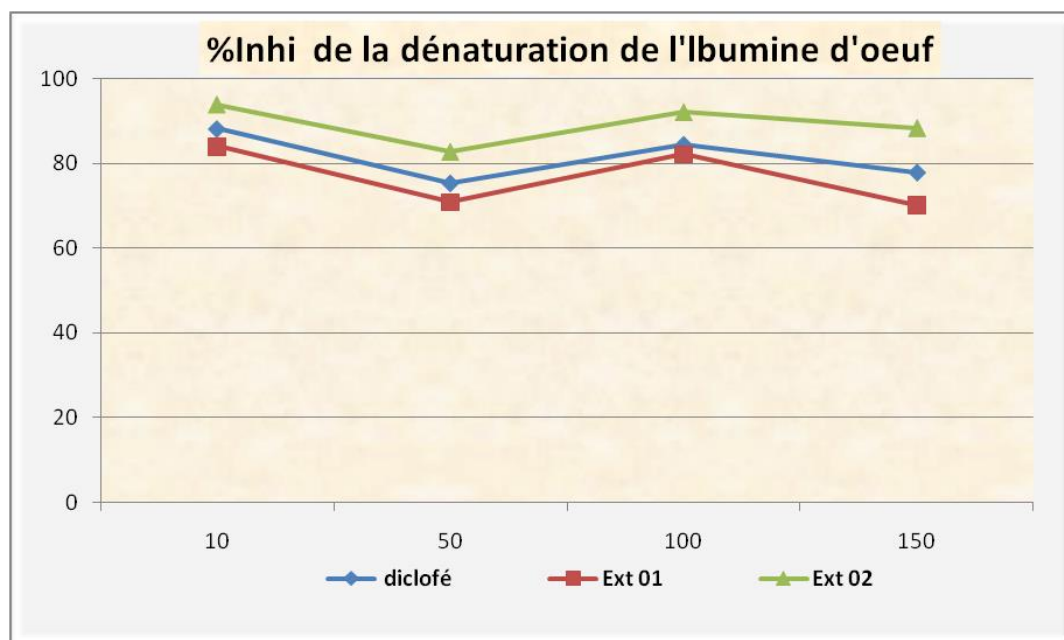


Figure 57 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines (blanc d'œuf) en fonction de la concentration des extraits méthanoliques des feuilles d'*Urtica dioica* et du diclofénac.

L'expérience de dénaturation des protéines, en particulier l'albumine d'œuf, en présence des extraits méthanoliques d'*Urtica dioica* et du diclofénac, révèle des résultats notables. Le **tableau 00** présente le taux d'inhibition de la dénaturation à différentes concentrations.

Le taux d'inhibition de la dénaturation par l'extrait de MET-01 et MET-02 d'*Urtica dioica* est élevé, même à de faibles concentrations. Il montre une diminution progressive avec l'augmentation de la concentration, indiquant une relation dose-dépendante. À 10 µg/mL, l'inhibition est la plus élevée à 93,92 % ; 84,07 % et diminue à 82,66 % ; 70,88 % à 50 µg/mL, respectivement.

En comparaison, le diclofénac montre un taux d'inhibition moins élevé que l'extrait MET-02 et plus élevé que l'extrait MET-01 à toutes les concentrations testées. Le taux d'inhibition le plus élevé à une concentration de 10 µg/mL et 100 µg/mL présente un taux de 88.19% ; 84.94% et faible inhibition à des concentrations 50 µg/mL et 150 µg/mL de 75.41% ; 57.95%, respectivement.

Cela signifie que l'extrait MET-02 représente une forte activité anti-inflammatoire que le diclofénac et l'extrait MET-01.

A des concentrations de 10 et 100 µg/mL, on révèle des fortes inhibitions pour les deux extraits méthanoliques et le diclofénac, et des faibles inhibitions à concentrations 50 et 150 µg/mL. En comparant ces résultats avec la littérature scientifique, nous pouvons constater que d'autres études ont également utilisé le test d'inhibition de la dénaturation protéique pour évaluer l'activité anti-inflammatoire d'extraits de plantes. Par exemple, une étude menée par **Khan et al. (2020)**, qui a évalué l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de *Salvia miltiorrhiza* en utilisant un test similaire. Les résultats ont montré une inhibition de la dénaturation de la protéine comparable à celle observée dans notre étude.

De même, une autre étude réalisée par **Li et al. (2019)** a évalué l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de *Camellia sinensis* en utilisant un test de dénaturation de l'albumine d'œuf. Les résultats ont montré que l'extrait de *Camellia sinensis* avait la capacité d'inhiber la dénaturation de l'albumine d'œuf induite par la chaleur, ce qui a été attribué à ses propriétés anti-inflammatoires. D'autres plantes médicinales ont également été étudiées pour leur capacité à inhiber la dénaturation des protéines (**Siddiqui et al., 2006**). La comparaison avec ces études révèle que *Withania frutescens* se positionne parmi les plantes présentant une forte capacité d'inhibition.

L'inhibition de la dénaturation des protéines peut avoir des applications dans le traitement des maladies inflammatoires et auto-immunes (**Chandra et al., 2017**). L'inhibition marquée observée avec l'*Urtica dioica* suggère un potentiel thérapeutique dans ces domaines. Cependant, il est important de noter que chaque plante a des compositions chimiques uniques, ce qui peut influencer les mécanismes sous-jacents à son activité anti-inflammatoire. Par conséquent, bien que les résultats soient comparables entre différentes études, il est essentiel de poursuivre les recherches pour comprendre les mécanismes spécifiques par lesquels l'*Urtica dioica* exerce son effet anti-inflammatoire.

La dénaturation est un processus dans lequel les protéines perdent leur structure tertiaire et leur structure secondaire par application d'un stress externe ou d'un composé chimique comme un acide ou une base forte, un sel inorganique concentré, un solvant organique ou de la chaleur. La plupart des protéines perdent leur fonction biologique lorsqu'elles sont dénaturées. La dénaturation des protéines tissulaires est l'une des causes des maladies inflammatoires. Le mécanisme de dénaturation implique probablement une altération électrostatique d'hydrogène et du pont disulfure (**Mishra et al., 2011**). Le diclofénac sodique (médicament anti-inflammatoire) et les extraits méthanolique ont montré une capacité dépendant de la dose pour inhiber la dénaturation protéique induite thermiquement.

En conséquence, l'extrait brut méthanolique des feuilles l'*Urtica dioica* présente une capacité significative à inhiber la dénaturation des protéines, un mécanisme potentiellement lié à ses propriétés anti-inflammatoires. La comparaison avec le diclofénac et la littérature existante met en évidence l'importance de ces résultats et ouvre la voie à des recherches plus approfondies sur les applications thérapeutiques de l'*Urtica dioica*.

3.2.2.2. Essai de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA)

Le présent travail a pour but d'évaluer l'activité anti-inflammatoire par une méthode basée sur la dénaturation thermique des protéines (BSA). Le test d'inhibition de la dénaturation protéique est le plus convenable pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *In Vitro* d'*Urtica dioica*. Les résultats sont portés sur la **figure 58** ci-dessous.

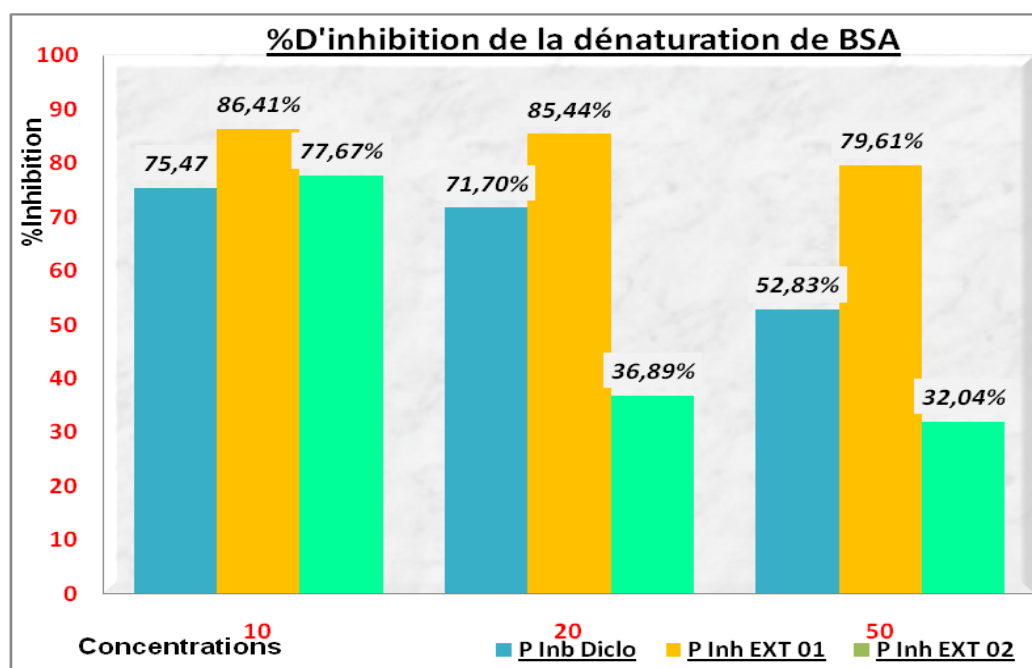


Figure 58 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA en fonction de la concentration des extraits méthanolique des feuilles d'*Urtica dioica* et du diclofénac.

L'essai de l'inhibition de la dénaturation de la BSA en présence des extraits méthanoliques de l'*Urtica dioica* et du diclofénac révèle des résultats intéressants concernant leur capacité à influencer la structure des protéines.

À 10 $\mu\text{g/ml}$, l'extrait MET-01 et MET-02 inhibent la dénaturation de la BSA à hauteurs de 86.41% et 77.67%, ce qui est un taux d'inhibition élevé. À mesure que la concentration augmente, le taux d'inhibition diminue, passant à 85.44% et 36 89 % à 20 $\mu\text{g/ml}$ et à 79.61% et 32.04 % à 50 $\mu\text{g/ml}$. Cette tendance à la baisse suggère une relation complexe dose-dépendante où l'efficacité de l'inhibition diminue avec l'augmentation de la concentration. En plus, l'extrait MET-01 représente une grande efficacité par rapport à l'extrait MET-02.

Le diclofénac montre également une capacité à inhiber la dénaturation de la BSA, bien que moins efficace que l'extrait MET-01 et plus que l'extrait MET-02 d'*Urtica dioica* à toutes les concentrations testées (75.47% à 10 µg/ml et de 52.83% à 50 µg/ml). Comme avec l'extrait MET-01 d'*Urtica dioica* et l'extrait MET-02 moins que les deux dernier.

La capacité d'une substance à inhiber la dénaturation des protéines signifie un potentiel apparent d'activité anti-inflammatoire (**Habibur et al., 2015 ; Osman et al., 2016**). Les extraits méthanoliques d'*Urtica dioica* montre une capacité supérieure à inhiber la dénaturation de la BSA par rapport au diclofénac. Cela pourrait indiquer une présence de composés actifs dans l'extrait qui interagissent avec le BSA de manière à préserver sa structure contre le choc thermique. La relation dose-dépendante induit une investigation plus approfondie pour comprendre le mécanisme sous-jacent.

Ces résultats indiquent que les extraits MET-01 et MET-02 d'*Urtica dioica* ont la capacité de stabiliser la structure de l'albumine sérique bovine et de prévenir sa dénaturation, ce qui suggère une activité anti-inflammatoire potentielle. La dénaturation des protéines est souvent associée à des processus inflammatoires, et la capacité de l'extrait à inhiber cette dénaturation peut être liée à sa capacité à moduler les réponses inflammatoires.

En comparant ces résultats avec la littérature scientifique, nous pouvons trouver des similitudes avec d'autres études qui ont évalué l'activité anti-inflammatoire d'extraits de plantes à l'aide du test d'inhibition de la dénaturation protéique. En revanche, une étude menée par **Joshi et al. (2018)** a évalué l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de *Phyllanthus amarus* en utilisant le même test. Les résultats ont montré une inhibition de la dénaturation de la protéine similaire à celle observée dans notre étude.

La relation dose-dépendante complexe constatée dans cette étude, où l'efficacité de l'inhibition diminue avec l'augmentation de la concentration, est un phénomène qui nécessite une exploration plus approfondie. Des études similaires ont également observé des relations dose dépendantes non linéaires avec d'autres extraits de plantes (**Chandra et al., 2017**).

La comparaison avec d'autres plantes médicinales, telles que *Glycyrrhiza glabra*, qui a montré une inhibition similaire de la dénaturation de la BSA. **Siddiqui et al. (2006)**, souligne l'importance de ces résultats. Cela suggère un potentiel thérapeutique pour d'*Urtica dioica* dans des contextes où l'inhibition de la dénaturation des protéines est préférable.

Un certain nombre de travaux ont rapporté que la dénaturation des protéines, *In Vivo*, est l'une des causes de la polyarthrite rhumatoïde par la production d'auto-antigènes. Les agents possédant des propriétés protectives contre la dénaturation protéique, seraient de bons candidats pour le développement de nouvelles molécules anti-inflammatoires (**Habibur et al., 2015**). **Duganath et ses collaborateurs (2010)** ont rapportés que les composants des plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle, exercent leurs effets pharmaceutiques grâce à leur capacité de se lier aux protéines plasmatiques.

Cette étude a démontré une capacité significative des deux extraits méthanoliques d'*Urtica dioica* à inhiber la dénaturation de l'albumine sérique bovine. La comparaison avec le diclofénac et la littérature existante souligne l'importance de ces résultats et suggère des recherches supplémentaires pour explorer le mécanisme sous-jacent et les applications potentielles d'*Urtica dioica* dans le traitement des maladies inflammatoires et autres conditions médicales.

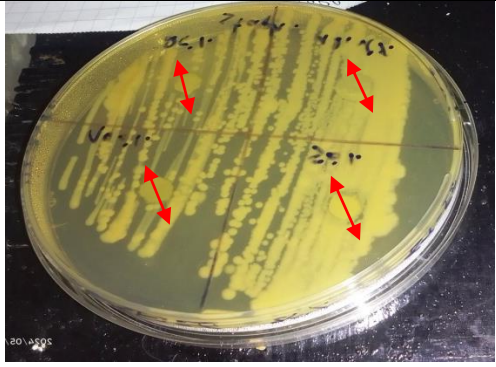
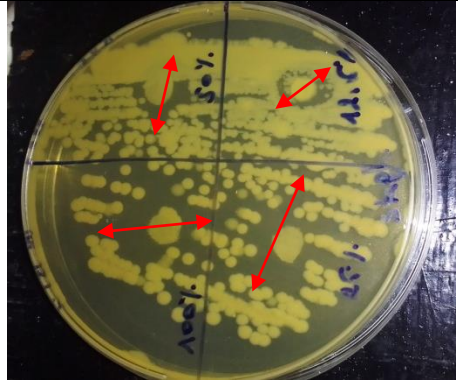
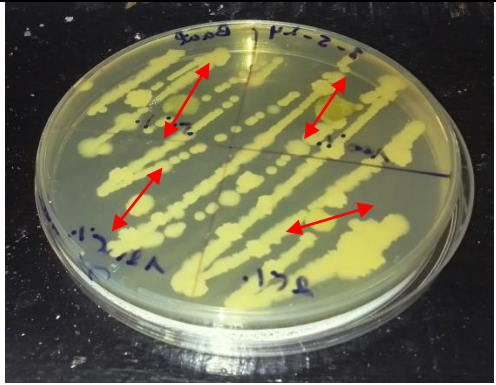
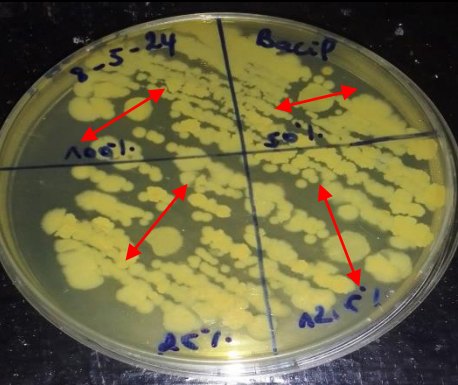
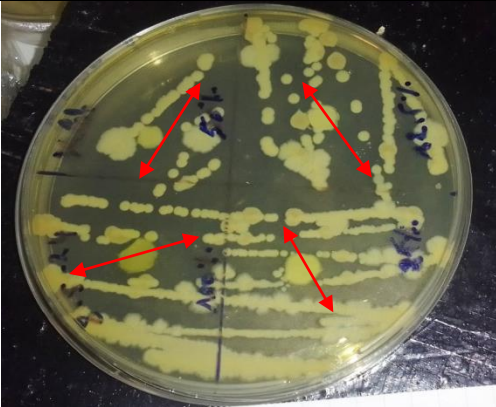
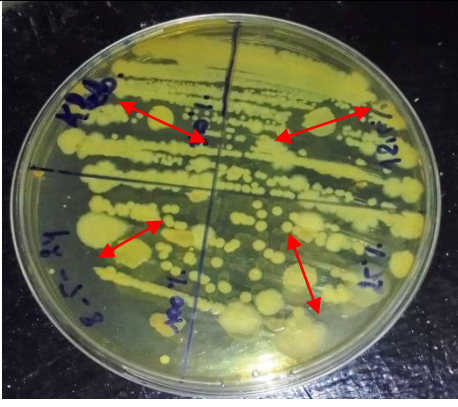
3.3. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques d'*Urtica dioica* L.

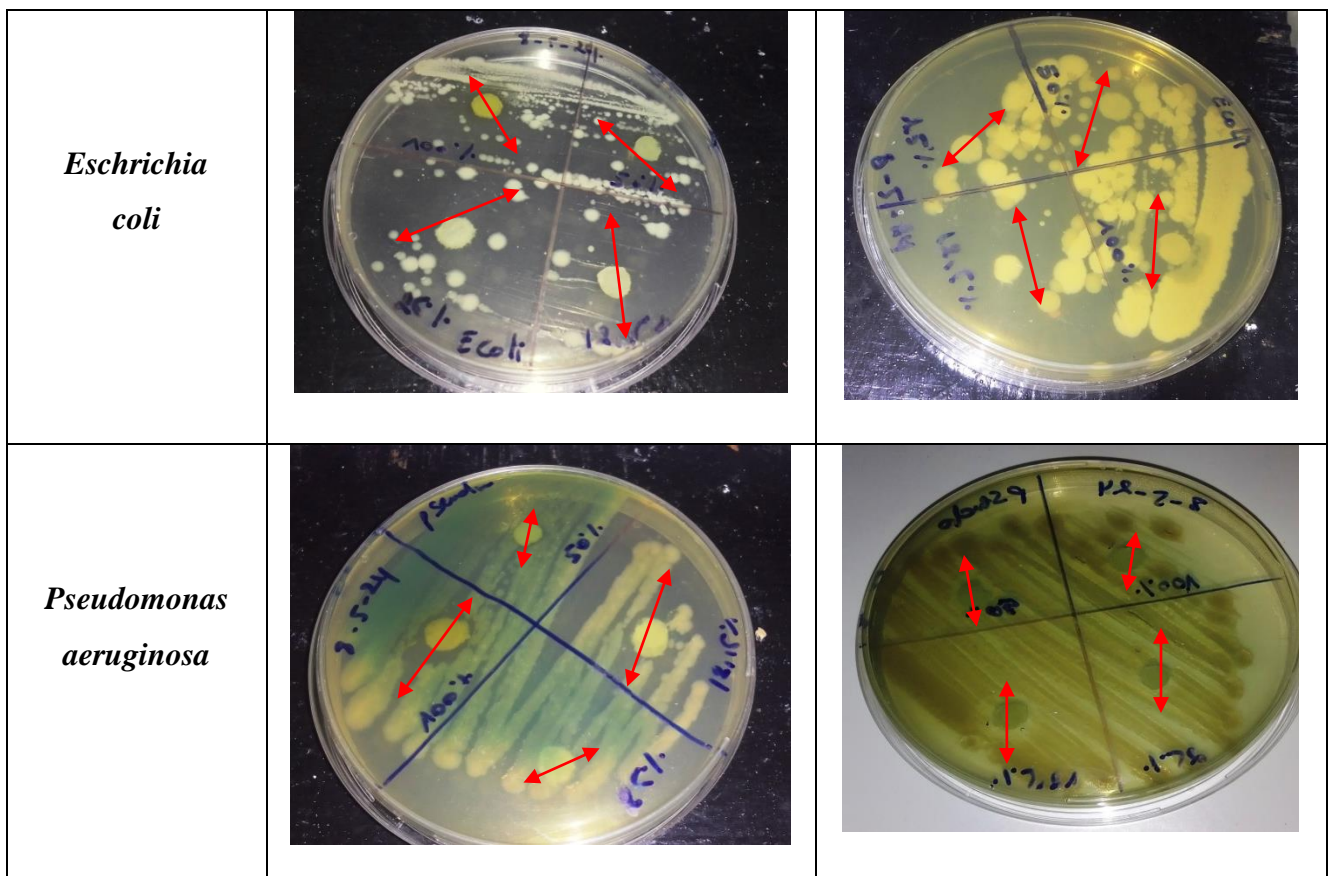
Pour surmonter le problème de résistance des microorganismes vis-à-vis des antibiotiques, la plupart des travaux sont orientés actuellement vers d'autres agents antimicrobiens possédant un mode d'action tout à fait spécifique.

Dans la présente étude nous avons étudié *In Vitro* le pouvoir antibactérien des extraits isolés d'*Urtica dioica* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé vis-à-vis de cinq souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* et *Klebsiella pneumoniae*), fréquentes en pathologie humaine, appartenant à deux différentes catégories (Gram positif et Gram négatif). La lecture des résultats est effectuée en fonction de l'existence ou non des zones d'inhibition.

Les tests de sensibilités de nos extraits nous ont permis de déterminer les diamètres d'inhibition autour des disques imprégnée de différentes concentrations de chaque extrait (MET-01 et MET-02). (**Figures 59 et 60**) et (**Tableau 20**).

Tableau 20 : Observation des zones d'inhibition de l'extrait MET-01 et MET-02 d'*Urtica dioida* L.

Bactéries	Extrait MET-01	Extrait MET-02
<i>Staphylococcus aureus</i>		
<i>Bacillus subtilis</i>		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		



Les deux extraits ont réagi positivement au moins sur deux des souches microbiennes testées ce qui confirme que l'*U. dioica* est douée de propriétés antibactériennes. Les souches de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa aureus* et *Bacillus subtilis* se révèle la très sensible pour les deux extraits. Les deux souches microbiennes (*Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*) sont très résistantes pour les deux extraits des feuilles d'*Urtica dioica*

Les interprétations de nos résultats sont faites en se référant à l'échelle de l'estimation de l'activité antibactérienne donnée par (Celikel et Kavas, 2008) :

- **Résistante** : diamètre inférieur à 8 mm.
- **Sensible** : diamètre compris entre 9 et 14 mm.
- **Très sensible** : diamètre compris entre 15 et 19 mm.
- **Extrêmement sensible** : diamètre supérieur à 20 mm.

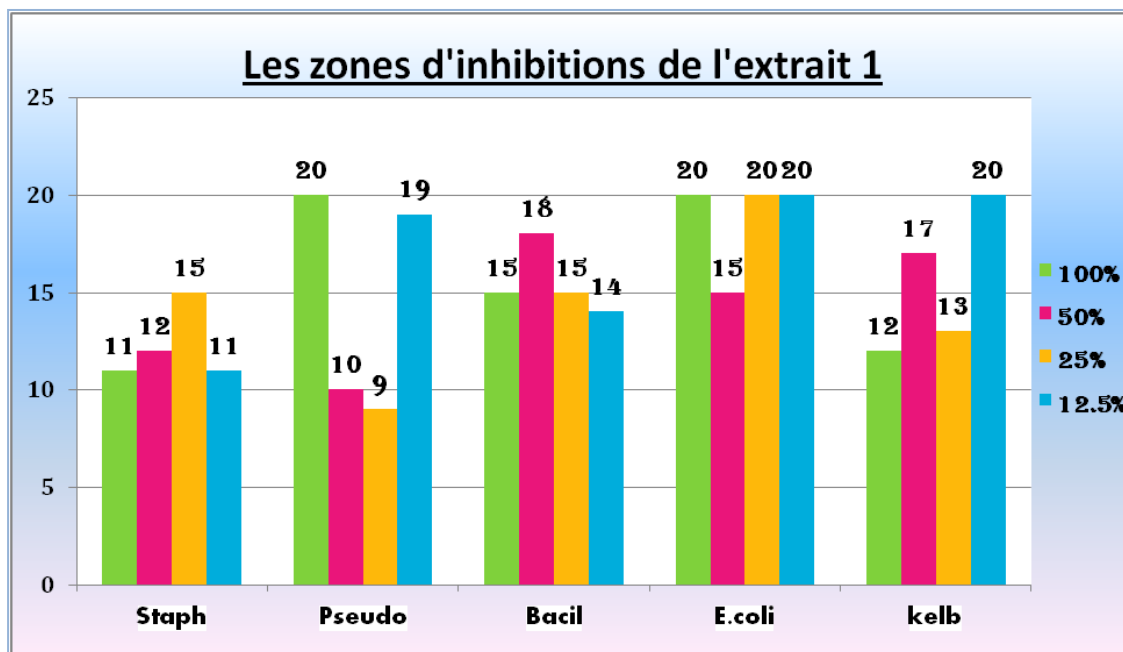


Figure 59 : Diamètre des zones d’inhibition des cinq souches bactériennes chez l’extrait MET-01 d’*Urtica dioica* L.

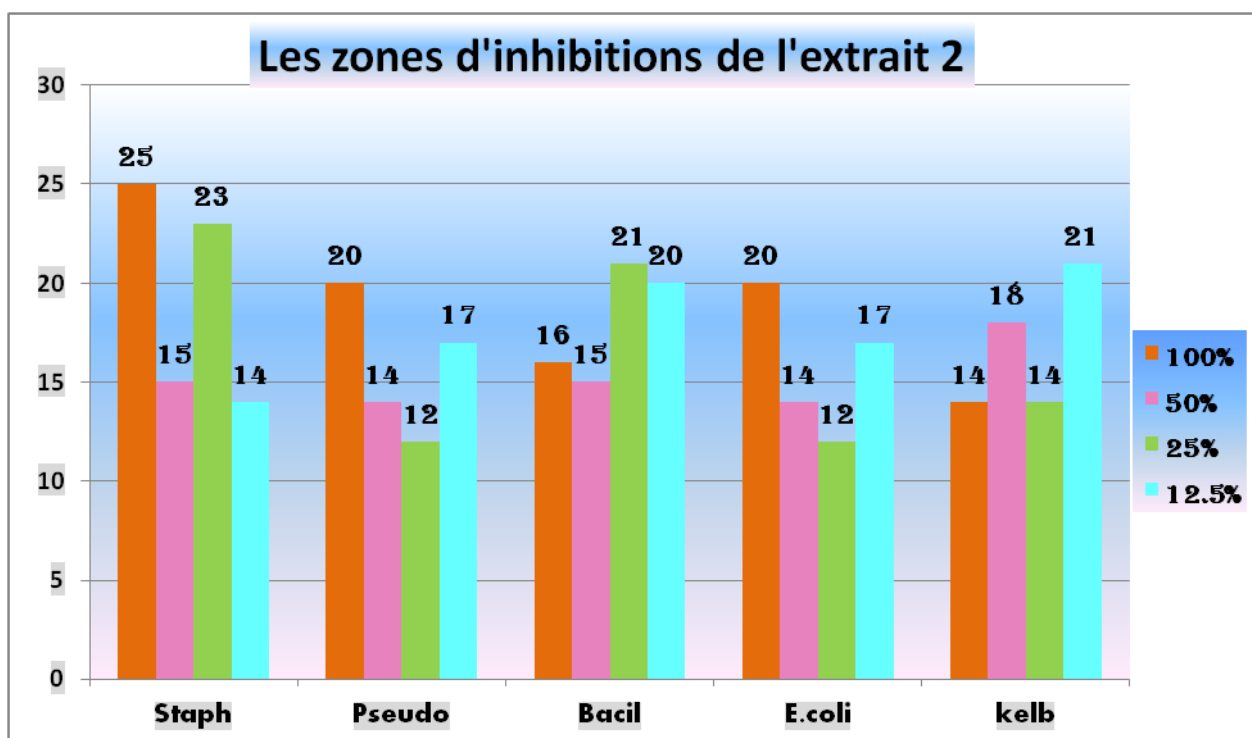


Figure 60 : Diamètre des zones d’inhibition des cinq souches bactériennes chez l’extrait MET-02 d’*Urtica dioica* L.

A partir de cette échelle, nos résultats démontrent une sensibilité remarquable de *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* pour la concentration 12.5% et 100% des deux extraits MET-01 et MET-02 des diamètres de 17 à 21 mm. Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Modarresi-chahardehi et al. (2012)**, qui ont mis en évidence un effet antimicrobien modéré pour les extraits d'*urtica dioica* notamment pour les bactéries gram +.

On démontre une sensibilité extrême de *Staphylococcus aureus* pour l'extrait MET-02 des diamètres 23 et 25 mm pour les concentrations 25% et 100%, respectivement. Par contre pour l'extrait MET-01 sur la même souche mais par une forte résistance à des diamètres 11 à 15 mm pour toutes les concentrations.

Modarresi et al. (2012) qui ont montré que l'extrait d'*Urtica dioica*, notamment avec l'extrait brut, qui par exemple à 100 mg/ml était actif contre plusieurs souches bactériennes : *E. coli 2*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli ATCC 25922*, *E. coli 1* et *Staphylococcus aureus*.

Une autre étude menée par **Gülcin et al. (2004)** a également montré une résistance de *P. aeruginosa* ATCC 9027 vis-à-vis de l'extrait aqueux des feuilles d'*Urtica dioica* par contre *E. coli* a été sensible à cet extrait.

L'extrait MET-02 a montré une sensibilité plus élevée à *Bacillus subtilis* avec des diamètres de 20 à 21 mm pour des concentrations de 12,5% et 25% par rapport à l'extrait MET-01 avec une résistance de 15 à 18 mm pour des concentrations de 25% à 100%.

Ces résultats, s'accordent aussi avec ceux de **Raho et benali (2008)** sur la sensibilité de *S. aureus* et la résistance de *P. aeruginosa* vis à vis de l'extrait des feuilles d'*E.globulus*. Ces auteurs ont expliqué la résistance de *P. aeruginosa* par sa forte capacité de métaboliser un large spectre de composés organiques, *P. aeruginosa* est connu pour sa forte résistance intrinsèque contre de nombreux antibiotiques due à la restriction de sa membrane extérieure même pour les produits synthétiques (**Elaissi et al., 2011**).

De nombreuses études ont évoqué le pouvoir antimicrobien d'*Urtica dioica*. Les résultats d'une étude réalisée en Turquie par **Kalu et al. (2019)**, pour évaluer l'activité antimicrobienne à travers divers extraits des feuilles d'ortie (Extrait Ethanolique d'Ortie EEO, Extrait Chloroformique d'Ortie ECO, Extrait d'Hexane d'Ortie EHO) ont révélés que tous les extraits sont de puissants antimicrobiens contre tous les microorganismes à testés (*S. Typhimirium*, *E. Aerogene*, *S. Aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *L. Monocytogenes*, *P. Vulgaris*, *G. rubripertinca* et *E. Faecalis*).

Les extraits MET-01 a exprimé d'une part, une forte résistance des deux souches bactériennes *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* et d'autre part, une sensibilité extrême des trois bactéries *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*. Cependant, l'extrait MET-02 présente une forte résistance des deux bactéries *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* et une sensibilité extrême des trois autres souches *Klebsiella pneumoniae*,

Staphylococcus aureus et *Bacillus subtilis*.

De même, **Ghaima et al. (2013)** ont constaté que l'extrait d'acétate d'éthyle d'*Urtica dioica* s'est révélé efficace vis-à-vis des bactéries Gram positif (avec des diamètres d'inhibition compris entre 20 et 24 mm) comparée aux Gram négatif (avec des diamètres d'inhibition compris entre 10 et 14 mm).

En conséquence, on peut résumer que l'effet antibactérien d'*Urtica dioica* selon le diamètre de la zone d'inhibition comme suit :

- ▶ L'extrait MET-01 : *E. Coli* > *P. aeruginos* > *B. subtilis* > *S. aureus* > *K. pneumoniae*
- ▶ L'extrait MET-02 : *S. aureus* > *B. subtilis* > *K. pneumoniae* > *E. Coli* > *P. aeruginos*

Kalemba et Kunicka (2003), ont établi la corrélation entre la composition chimique et l'activité antimicrobienne, et ont classé les molécules chimiques selon leur importance du point de vue activités biologiques comme suit : phénols, alcools, aldéhydes, cétones, éther et hydrocarbures.

Les principales composantes de ces extraits végétaux sont le reflet de leur activité antibactérienne. Ainsi, les fonctions synergiques des différentes molécules contenues dans les extraits par rapport à l'action d'un ou deux composants principaux de l'extrait semblent discutables.

Toutefois, il est possible que l'activité des composants majeurs soit modulée par d'autres molécules mineures. En fait, les effets synergiques des divers constituants majeurs et mineurs présents dans les extraits végétaux bruts doivent être pris en considération pour rendre compte de leur activité biologique. Selon des études concernant les mécanismes d'action antimicrobienne de ces molécules, il semblerait que suite à une désintégration de la membrane cellulaire bactérienne provoquée par ces substances, la fuite des métabolites intracellulaires provoque la mort de la cellule (**Cristani et al., 2007**). Les résultats obtenus dans cette étude sont en accord avec ceux obtenus par **Ghedadba et al. (2015)**, indiquant que l'extrait méthanolique des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé s'est révélé très efficace contre les souches bactériennes étudiées, ils ont constaté aussi que cet extrait a donné la plus grande valeur en composés phénoliques et en flavonoïdes comparativement avec les autres extraits utilisés (l'extrait aqueux, éther de pétrole, dichlorométhane et butanol).

4. Fabrication des produits biocosmétiques

4.1. Préparation du Savon

L'objectif de ce travail est la formulation d'un savon glycéринé anti-inflammatoire et antibactérien pour une application cutanée. Après avoir suivi les méthodes expérimentales décrites dans le chapitre précédent pour la préparation du savon, nous pouvons maintenant discerner leur performance et caractéristique différenciée.



Figure 61: Savon glycéринé à base d'ortie.

4.1.1. Propriétés de savon

A/ Détermination du pH



Figure 62 : Test du pH.

Pour garantir la qualité de notre savon, on a surveillé le pH, les résultats sont comme suit dans le tableau ci-dessous :

Tableau20 : Mesure de pH du savon.

Durée	Après 2h	Après 48h	Après une semaine	Après deux semaines	Après 30 jours
Valeur	6.5	6.5	6.5	7	7

Au fil de temps, le pH du savon varie entre 6.5 et 7 proches à celles d'une peau normale (saine).

B/ Test de mousse

Pour garantir la saponification de ce savon on a fait un test de mousse comme il est décrit dans le chapitre précédent.



Figure 63 : Test de mousse.

4.2. Préparation de la crème

L'objectif de ce travail est la formulation d'une crème anti-inflammatoire et anti bactérienne pour une application cutanée. Après avoir suivi les méthodes expérimentales décrites dans le chapitre précédent pour la préparation de la crème, nous pouvons maintenant discerner leur performance et caractéristique différenciée.



Figure 64: Crème de base et la crème cicatrisante.

4.1.1. Propriétés de la crème

a/ Détermination du pH

Pour garantir la qualité de notre crème on a surveillé le ph, les résultats sont comme suit dans le tableau ci-dessous :

Tableau21 : Mesure de pH de la crème

Durée	Après 2h	Après 48h	Après une semaine	Après deux semaines	Après 30 jours
Valeur	5	5	5	5	5

Au fil de temps, le pH de la crème est stable (pH=5), proches à celles d'une peau normale qui se situe entre 5 et 6.

Les valeurs du pH de crème obtenu, sont proches aux résultats des études faites par **Toé (2004)**, sur les valeurs du pH d'une formulation de crème à base du beurre de karité. On peut dire que ce pH acide leur confère une action bactériostatique en inhibant le développement des agents pathogènes qui peuvent nuire aux tissus, donc accélérer la cicatrisation en empêchant le déclenchement d'une infection concomitante (**Amouroux, 2017**).

b/ Test de sensibilité

Les résultats des tests de sensibilité effectués sur la main, comme illustré dans la **figure** ci dessous, ont été validés et confirmés.



Figure 65 : Application de la crème sur une main saine (Test de sensibilité).

Les tests de sensibilité réalisés sur la main ont montré des résultats normaux. Aucune réaction notable telle que des rougeurs, des démangeaisons ou des irritations n'a été observée après l'application de la crème. Ces résultats suggèrent une bonne tolérance cutanée et sont conformes aux attentes pour ce type de produit cosmétique/pharmaceutique.

c/ Caractéristiques organoleptiques

Les critères organoleptiques d'une crème, sont les caractéristiques en termes d'aspect, de couleur, d'odeur et de consistance. Nous avons regroupés les résultats de l'analyse organoleptique dans le **tableau** suivant:

Tableau 23 : Propriétés organoleptiques des produits finis.

	Consistance	Aspect	Couleur	Odeur
Echantillon	Crémeuse	Opaque matte	Vert maronné	Sans odeur

L'étude de la qualité de crème consiste à appliquer la crème sur 10 volontaires saines, leurs avis est comme suit (**Tab 24**) :

Tableau 24 : Avis de volontaires testés.

Volontaires	Avis
1	Hydratante - Sans odeur.
2	Gommante - Sans odeur.
3	Peu grasse - Sans odeur - Gommante
4	Un peu éclaircissante - Matte.
5	Hydratante - Moyennement grasse.
6	Hydratante - Faible odeur.
7	Facile à étalé - Moyennement grasse - Sans odeur.
8	Brillante – Absorbante - Peu grasse.
9	Lisse- Douce – Hydratante - Sans odeur.
10	Absorbante – Hydratante - Faible odeur - Gommante

Les résultats de l'étude indiquent que la majorité des volontaires ont trouvé la texture de la crème agréable et facile à appliquer. Le produit a été généralement bien toléré, sans signes de réactions cutanées adverses immédiates observées chez les participants. Ces observations suggèrent que la crème possède des qualités sensorielles positives, ce qui est favorable pour son acceptabilité par les utilisateurs potentiels.

Les plantes médicinales resteront toujours une source essentielle de substance naturelles bioactives d'intérêt thérapeutique. Ces molécules suscitent actuellement l'intérêt de plusieurs chercheurs en raison des bénéfices sur la santé humaine.

L'*Urtica dioïca* L. (Ortie) reste parmi les moins utilisées dans la médecine alternative par les populations dans les pays Arabe, plus particulièrement en Algérie, malgré les propriétés thérapeutiques de celle-ci contre de nombreuses pathologies telles que l'hypertension, le diabète, la fièvre, la migraine, l'inflammation, les problèmes gastro-intestinales, etc.

Et pour cela ce présent travail avait un double objectif, à savoir : confirmer par l'expérience certaines propriétés connues de l'Ortie et essayer d'expliquer expérimentalement certaines autres propriétés que l'on attribue traditionnellement à cette plante. Toutes ces expériences ont été menées moyennant l'utilisation d'outils d'analyses biologiques (anti-inflammatoires, antioxydantes et microbiologiques).

L'étude des activités biologiques *In Vitro* des deux extraits méthanoliques des feuilles d'*Urtica dioïca* L., nous a permis d'extraire des résultats curieux.

Le criblage phytochimique de l'extrait MET-01 par Soxhlet et l'extrait MET-02 par macération révèle que les feuilles d'*U. dioïca* sont riches en divers métabolites secondaires telle que les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les terpènes, les coumarines et les alcaloïdes, ou nous avons enregistré une forte présence des alcaloïdes, coumarines et flavonoïdes dans l'extrait méthanolique par macération par rapport à l'extrait méthanolique par Soxhlet.

Les alcaloïdes et les flavonoïdes ont été caractérisés respectivement par les réactifs, Gragendrof et FeCl₃ sur plaque CCM. L'analyse du chromatogramme a révélé une richesse de composés en alcaloïdes et en flavonoïdes correspondant à un nombre important de spots après révélation, qui confèrent diverses propriétés biologique et vertus thérapeutiques.

Quant à l'analyse quantitative des extraits MET-01 et MET-02 des feuilles d'*Urtica dioïca*, est représentées par l'évaluation du contenu des phénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu, révèle que nos deux extraits contiennent principalement des polyphénols à des concentrations dominantes. De même, nous avons dosé les flavonoïdes se qui nous mène à remarquer leur présence dans les deux extraits en proportions différentes, où l'extrait MET-01 apparait le plus riche en polyphénols et en flavonoïdes avec des teneurs de 107,07 mg EAG/g et 12,280 mg EAG/g que l'extrait MET-02 avec des teneurs de 44,86 mg EAG/g et 8.51 mg EAG/g.

D'après les résultats, on peut conclure que l'étude phytochimique (qualitative et quantitative) a démontré une richesse des feuilles d'*Urtica dioica*, en composés bioactifs que ce soit dans l'extrait MET-01 ou même dans l'extrait MET-02, ce qui reste prometteur pour la valorisation de cette plante à large spectre dans le domaine de la phytothérapie.

Concernant l'activité antioxydante des différents extraits des feuilles d'*U. dioica*, la technique utilisée est la révélation chimique par le DPPH, qui a démontré que les deux extraits ont une activité antioxydante différentes, sachant que l'extrait méthanolique par macération est le plus actif (IC50 = 43,78 mg/ml).

D'une manière générale les deux extraits des feuilles d'Ortie possèdent des propriétés antioxydantes remarquables. Cette étude confirme scientifiquement l'usage traditionnel des feuilles d'*Urtica dioica*, et révèle leur intérêt dans le cadre d'une exploitation industrielle pharmaceutique.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des deux extraits a été déterminée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé vis-à-vis cinq souches bactériennes. Les résultats microbiologiques ont montré que l'extrait MET-01 a une activité avec une forte sensibilité vis-à-vis les deux souches bactériennes (*Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*). Cependant, l'extrait MET-02 ont une activité antimicrobienne avec une sensibilité extrême sur les trois souches (*Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*).

Bien sur, ces résultats obtenus *In Vitro* ne constituent qu'une première étape de recherche de nouveaux produits antimicrobiens et naturels. Des études complémentaires devant pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

Notre étude a également démontré que les extraits méthanoliques MET-01 et MET-02 des feuilles d'*Urtica dioica* possèdent une activité anti-inflammatoire significative, comme en témoignent les tests de dénaturation des protéines (l'albumine d'œuf et le BSA) de la stabilisation de la membrane érythrocytaire. En effet, l'extrait a montré une capacité à protéger les érythrocytes contre l'hémolyse induite par le stress thermique et osmotique, ce qui pourrait avoir des implications importantes pour le traitement de diverses maladies liées à l'inflammation et au stress oxydatif.

Ce travail de recherche a contribué à enrichir la connaissance scientifique sur l'*Urtica dioica* L., une plante qui pourrait avoir un impact significatif dans les domaines de la phytothérapie, de la pharmacologie et de la nutrition. Les résultats obtenus soulignent l'importance de poursuivre les recherches dans ce domaine, avec un potentiel pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques et nutritionnelles basées sur cette plante. La recherche menée

dans ce travail sert de fondement solide pour de futures explorations et innovations dans ces domaines.

En conclusion, notre travail a contribué à enrichir les connaissances sur l'*Urtica dioica* et à mis en évidence son potentiel en tant que source de nouveaux médicaments naturels. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour isoler et caractériser les composés bioactifs spécifiques responsables de ces activités, et pour évaluer leur efficacité et leur sécurité dans des modèles précliniques et cliniques et *In Vivo* sur des modèles animaux. Nous espérons que notre travail servira de base pour de futures études et contribuera à la valorisation de la médecine traditionnelle pour le bien-être de l'humanité.

Références bibliographiques

- 📖 **Afif-Chaouche T. (2015).** Etude ethno-pharmacologique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de quelques plantes médicinales de la région de Tizi Ouzou – Algérie. Thèse de Doctorat 189 p Tlemcen.
- 📖 **Ait Haj Said A., Sbai El Otmani, I., Derfoufi, S., & Benmoussa, A. (2016).** Mise en valeur du potentiel nutritionnel et thérapeutique de l'ortie dioïque (*Urtica dioïca* L.). *Hegel*, 3, 280-292.
- 📖 **Ames, B.N., Cathcart, R., Schwiers, E. et Hochstein, P. (1981).** Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78: 6858-6862.
- 📖 **Annick, A.A. (2018).** Evaluation des activités anti - inflammatoire et anti - oxydante de l'extrait hydro - éthanolique de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* L. Wight et Arn. (Fabaceae). Thèse de Doctorat. UFR sciences pharmaceutiques et biologiques. Cote d'Ivoire.
- 📖 **Anonymes (2024a).** <https://www.deco.fr/jardin-jardinage/plante-potagere/ortie>
- 📖 **Anonymes (2024b).** Etum.fpe.uy/orties-Belgium-k.ht.ml
- 📖 **Antwerpen, P.V. (2006).** Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système myclopéroxydase / Peroxyole d'hydrogène /Chlorure. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Science Pharmaceutiques Bruxelles.
- 📖 **Bahorun T., Gressier B., Trotin F., BruneteC., Dine T., Vasseur J., Gazin J.C., Pinkas M., Luycky M., Gazin M, (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*. 46: 1086-1089.
- 📖 **Baudin, B., (2006).** Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *MT Cardio*.2(1):43-52.
- 📖 **Bauer, W. J., Badoud, R., Lölliger, J. & Etournaud, A. (2010).** Science et technologie des aliments: Principes de chimie des constituants et de technologie des procédés. *Edition PPUR Presses polytechniques*, p 212.
- 📖 **Bernard B. (2005),** Les secrets de l'ortie. Le compagnon végétal (9^e édition), 2005.
- 📖 **Berset C, (2006).** Antioxydants phénoliques-Structures, propriétés, sources végétales. In «*Les polyphénols en agroalimentaire* ». Ed.: Lavoisier, ISBN 2-7430-0805-9, pp : 1-27.
- 📖 **Bertrand B. (2001).** Légumes de demain - Saveurs d'ortie, Editions de Terran, 2001.
- 📖 **Bertrand B. (2002).** Les secrets de l'Ortie. - 7^{ème} édition. Editions de Terran (Collection Le compagnon Végétal ; N : 01) : 128.
- 📖 **Bertrand B. (2010).** *Les secrets de l'Ortie*. de Terran. Vol. 1. Le compagnon végétal.

Références bibliographiques

- 📖 **Bertrand B., Jeanne A. (2000).** « Saveurs d'ortie », légume de demain, 2^{ème} Ed. Editions de Terran : 61-97.
- 📖 **Bertrand B., Jeanne A. (2008)** : “Les secrets de l’Ortie”, 10^{ème} Ed. Du Terran : 45- 95.
- 📖 **Bhusal K. K., Magar, S. K., Thapa, R., Lamsal, A., Bhandari, S., Maharjan, R., Shrestha, J. (2022).** Nutritional and pharmacological importance of stinging nettle (*Urtica dioica* L.): A review. Elsevier BV.
- 📖 **Blumenthal M., Goldberg A., Brinkman J. (2000).** Editors herbal Medicine expanded.
- 📖 **Boizot N., Charpentier J.P, (2006).**Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier .Le Cahier des Techniques de l'Inra. **pp: 79-82.**
- 📖 **Boizot N., Charpentier J.P, (2006).**Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier .Le Cahier des Techniques de l'Inra. **pp: 79-82.**
- 📖 **Bourgeois, C. (2003).** Les vitamines dans les industries agroalimentaires. collection. Sciences et techniques agroalimentaires. Paris: Multon J.L. 708 p.
- 📖 **Bourret. I., (1979),** le défi de la médecine par les plantes, *Paris, France-Empire*, **pp : 335.**
- 📖 **Boyrie J. (2016).** *urtica dioica*: une plante aux usages multiples. n°109. Thèse du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de bordeaux.
- 📖 **Broncano F. J., Rebuella, M., & Vivas, J. M. (1983).** Étude de l'effet sur le centre cardiovasculaire de quelques préparations de l'*Urtica dioica* L. *Plantes medicinales et phytotherapie.*
- 📖 **Bruneton, J. (1993).** Composés phénoliques: Shikimate-acétate. In Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. Technique et documentation Lavoisier (Paris) ; Partie **P**: 310-345.
- 📖 **Busse R et Fleming I. (2006).** Vascular endothelium and blood flow. Handbook of Experimental Pharmacology. No 176. pp 43–78
- 📖 **Cai H, Harrison DG.** Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxydant stress.Circ Res. 2000; 87(10):840-4
- 📖 **Cai H, Harrison DG.** Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxydant stress.Circ Res. 2000; 87(10):840-4.
- 📖 **Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P. et Bhattacharya, S. (2017).** Evaluation de l'effet antiinflammatoire de l'ashwagandha : une étude préliminaire in vitro. Journal de pharmacognosie, 9(1), 53-56.
- 📖 **Chaurasia N, Wichtl M.** Phenylpropane und lignane aus der wurzel von *Urtica dioica* L. Dtsch Apothek Zeitung 1986;126:1559-63

Références bibliographiques

- 📖 **Chevalier X., Flipo R., Goupille P., Schaefferbeke T. (2005).** Rhumatologie. Eds, Elsevier Masson (France), pp : 340.
- 📖 **Chevalier, X.; Flipo, R. ; Goupille, P. and Schaefferbeke, T. (2005).** Précis de rhumatologie. COFER, Elsevier Masson, p: 340 -345.
- 📖 **Chirumamilla, P., Taduri, S. 2023.** Assessment of in vitro anti-inflammatory, antioxidant and antidiabetic activities of *Solanum khasianum* Clarke. *Vegetos* 36, 575–582 (2023).
- 📖 **Chrubasik J.E., Bou.togalis, B.O., Hanger, H., et Chrubasik, S.A. (2007).** Comprehensive review on the stinging nettle, effect and efficacy profile. *Phytomedicine*, 14(7), 568 – 579.
- 📖 **Cillard J.et Cillard P. (2006).**Mécanismes de la peroxydation lipidique et des antioxydations.Oilseeds and fats, Crops and Lipids, 13: 24-29.
- 📖 **Ciulel I. (1982).** Methodology for analysis of vegetable drugs. *Ed I.P.A.C.Romania*.67p.
- 📖 **Coupin H. (1920).** Les plantes médicinales. 69..Ed. Costas, Paris.
- 📖 **Cox P.A et Balick, M-J. (1994).** "The Ethnobotanical Approach to drug Discovery". *Scientific American*, 82-87.
- 📖 **Dacosta Y (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. *Paris*.
- 📖 **Dar S.A., Ganai, F. A., Yousuf, A. R., Balkhi, M.-H., Bhat, T. M., & Sharma, P. (2012).** Pharmacological and toxicological evaluation of *Urtica dioica*. *Pharmaceutical Biology*, 51(2), 170–180.
- 📖 **Delattre J., Therond P. & Bonnefont-Rousselot D, (2005).** Espèces réactives l'oxygène, antioxydants et vieillissement. In : Radicaux libres et stress oxydants.Aspects biologiques et pathologiques.chap, 10: 281-309.
- 📖 **Draghi F. (2005).** L'Ortie dioïque (*Urtica dioica* L.) : étude bibliographique. Thèse de doctorat en Pharmacie, Université Henri Poincaré, Nancy, 89.
- 📖 **Duganath, N., Rubesh Kumar, S., Kumanan, R et Jayaveera, K.N. (2010).** Evaluation Of AntiDenaturation Property And Anti-Oxidant Activity Of Traditionally Used Medicinal Plants. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(2), 1-7.
- 📖 **Duong, H.A, Nagaraj, R., Wang, C.W., Ratnaparkhi, G., Sun, Y.H., Courey, A.J.2008.** Non-cell-autonomous inhibition of photoreceptor development by D
- 📖 **Durak I., Biri H., Devrim E., Sözen S., Avci A (2004).** Aqueous extract of *Urtica dioica* makes significant inhibition on adenosine deaminase activity in prostate tissue from patients with prostate cancer. *Cancer Biol. Ther.* 3: 855–8.
- 📖 **Echevin R.** Angiospermes tome I : Apétales et dialypétales – Doin, 1964.

Références bibliographiques

- 📖 **Edeas, M. (2005).** Les secrets de santé du thé : c'est naturel, c'est ma santé. *Alpen Editions s.a.m.*, p 18.
- 📖 **El Houari M., Braitian M., Aziz M., Ziyat A., Legssyer A., Mekh F.H. (2006).** Inhibition of rat platelet aggregation by *Urtica dioica* leaves extracts phytotherapy research Doi. 11: 1906.
- 📖 **Elaissi, A., Hadj Salah, K., Mabrouk, S., Larbi, M., Chemli, R., Harzallah-Skhiri, F., (2011).** Antibacterial activity and chemical composition of 20 Eucalyptus species essential oils. *Food Chemistry*, 129:1427–1434p.
- 📖 **Farahpour M R, Khoshgozaran L.** Antinociceptive and anti-inflammatory activities of hydroethanolic extract of *Urtica dioica*. *Int J Biol Pharm Allied Sci* 2015; 1:160-70.
- 📖 **Favier A, (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, **108-115**.
- 📖 **Favier A, (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, **108-115**.
- 📖 **Francine Draghi (2005).** L'Ortie Dioïque (*Urtica dioica* L.) : Etude bibliographique, Thèse de doctorat en Pharmacie, Université Henri Poincaré Nancy 1- France, 2005.
- 📖 **Gervais Poirier M. (2005).** Les Produits Gervol : Ortie (*Urtica dioica*), Caplan (Québec) GOC 1EO (418) 388 - 2005.
- 📖 **Ghaima, K. K., Hashim, N. M., et Ali, S. A. (2013).** Antibacterial and antioxidant activities of ethyl acetate extract of nettle (*Urtica dioica*) and dandelion (*Taraxacum officinale*). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(5), 96-99.
- 📖 **Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. C., Bousselsela, H., & Oueld-Mokhtar, S.M. (2015).** Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13(2), 118-129.
- 📖 **Ghedira K., Goetz, P., et Le Jeune, R. (2009).** *Urtica dioica* L., *Urtica urens* et/ou hybrides (*Urticaceae*). *Phytothérapie*, 7(5), 279
- 📖 **Glusker J.P., Rossi M. (1986).** Molecular aspects of chemical carcinogens and bioflavonoids. *Progress in Clinical and Biological Research* 21: 95-410.
- 📖 **Grusse J. L. (2003).** Structure chimique et propriétés physicochimiques-vitamine C-. In « *Les Guérir par la graine noire (Al-habba As-Sawdâ')*. Paris: Synthèse de la médecine moderne et ancienne. Orientica; 2015.
- 📖 **Gülçin I., Küfrevioğlu, Ö. İ. Oktay, M., et Büyükokuroğlu, M. E. (2004).** Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of ethnopharmacology*, 90(2-3), 205-215.

Références bibliographiques

- 📖 **Gungormez, E. (2015).** Évaluation de la prescription de l'anti - inflammatoires non stéroïdien chez le sujet âgé. Thèse de doctorat en médecine. Université paris Diderot. 26
- 📖 **Habibur, R., Eswaraiah, M. C., et Dutta, A. M. (2015).** In-vitro Anti-inflammatory and Antiarthritic Activity of *Oryza sativa* Var. Joha Rice (An Aromatic Indigenous Rice of Assam). American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. 15. 115-121.
- 📖 **Halliwell, B. and J. M. Gutteridge (1990).** "The antioxidants of human extracellular fluids." Arch Biochem Biophys **280**: 1-8.
- 📖 **Hamon, M.A., Batsché, E., Régnault, B., Tham, T.N., Seveau, S., Muchardt, C., and Cossart, P. (2007).** Histone modifications induced by a family of bacterial toxins. Proc Natl Acad Sci U S A 104: 13467–13472 [Http://files/283/Proc Natl Acad Sci USA2007Hamon10.1073pnas.0702729104.pdf](http://files/283/Proc_Natl_Acad_Sci_USA2007Hamon10.1073pnas.0702729104.pdf).
- 📖 **Hannebelle, T.; Sahpaz, S. et Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. **1**: 3-6.
- 📖 **Heller, W. and Forkmann, G. (1993).** The Flavonoids, Advances in research. **P**: 499-535. hepatotoxicity in mice via an antioxidant mechanism. *Int J Biochem Mol Biol* , 47, 153-159.
- 📖 **Hoffman D. (2006).** Medical Herbalism. Rochester (VT): Healing Arts Press.
- 📖 **Houée-Levin C.; Sicard-Roselli C. et Bergès J, (2005).** Introduction à la biochimie radicalaire. In « *Chimie et biochimie radicalaires* », Ed.: Échelles, ISBN 2-7011-3717- 9, **pp: 86-102**
- 📖 **Hu Y., Block G., Norkus E. P., Morrow J. D., Dietrich M., Hudes M.** Relations of glycemic index and glycemic load with plasma oxidative stress markers. *Am J Clin Nutr*. 2006; **84**: 70-76., quiz 266-267.
- 📖 **Ichai, C., Quintard, H. & Orban, J.-C. (2011).** Désordres métaboliques et réanimation : de la physiopathologie au traitement, *Edition Springer*, p 427.
- 📖 **Janke Wicki (2004).** La culture des plantes aromatiques et médicinales en bio, Éditions de Fraysse, France.
- 📖 **Kalemba, D and Kunika, A. (2003) :** antibacterial and antifungal properties of essential oils, *Current Medicinal Chemistry*.10 :813-829.
- 📖 **Kanter M., Coskun, O. et Budancamasnak, M. (2005).** Hepatoprotective effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and liver enzymes in carbon tetrachloride–treated rats. *World Journal of Gastroenterology*, 11(42),6684.

Références bibliographiques

- 📖 **Kataki MS, Murugamani V, Rajkumari A, Mehra PS, Awasthi D, Yadav RS.** Antioxidant, Hepatoprotective, and Anthelmintic Activities of Methanol Extract of *Urtica dioica* L. Leaves. *Pharm Crops* 2012;3:38-46.
- 📖 **Khare V, Kushwaha P, Verma S, Gupta A, Srivastava S, Rawat AKS.** Pharmacognostic Evaluation and Antioxidant Activity of *Urtica dioica* L. *Chin Med* 2012;3:128-35. doi.org/10.4236/cm.2012.33021.
- 📖 **Kirschvink, N., Moffarts, B., Lekeux, P., 2008.** The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *Journal of Veterinary* 177, 178–191.
- 📖 **Koehler-Ramonatxo, C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme* 20, 165–177.
- 📖 **Kumar, V., Van Staden, J. (2012).** Inhibition of NO₂, PGE₂, TNF- α , and iNOS Expression by *Shorea robusta* L.: An Ethnomedicine Used for Anti-Inflammatory and Analgesic Activity. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2012, Article ID 254849
- 📖 **Lall, S. (1995).** Macro and trace elements in fish and shellfish. In :Ruiter, A. Fish and Fishery
- 📖 **Lee, C. Y., Sharma, A., Cheong, J. E. & Nelson, J. L. (2009).** Synthesis and antioxidant properties of dendritic polyphenols. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19, 6326-6330.
- 📖 **Legssyer A., Ziyat A., Mekhfi H., Bnouham M., Tahri A., Serhrouchni M. (2002).** Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. in isolated rat heart and aorta. *Phytother. Res.* 16 : 503-507.
- 📖 **Lien Ai Pham-Huy , Hua He , Chuong Pham-Huy. (2008).** Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Biomedical science*.2, p 89-96.
- 📖 **Lien Ai Pham-Huy , Hua He , Chuong Pham-Huy. (2008).** Free Radicals, Antioxidants in liver damage in experimentally induced diabetic rabbits. *J Vet Med A Physiol Pathol* Loss of Oxidatively Stressed Human Erythrocytes. *Phytother Res* , 18, 280-284
- 📖 **Luc Fontaine (2010).** *Urtica dioica*, Guide de production sous régime biologique, Bibliothèque et Manon Desgagnés, L'Ortie dioïque, Guide de production sous régime biologique, Bibliothèque nationale du Québec, Octobre 2005. Archives nationales du Québec, février 2010.
- 📖 **Lugasi , A .; Hovari, J .; Sagi, K. V. and Biro, L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*.47 (1-4), 119-125.
- 📖 **Lüllmann, H., Mohr, K., & Hein, L. (1996).** Atlas de poche de pharmacologie. 2^{ème} édition Lavoisier - Médecine sciences. 70 - 77.

Références bibliographiques

- 📖 **M'barek, B. Mohamed, H. Julien, P. Jean, C. Abdallah, F. (2010).** Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *tetraclinis articulata* (vahl) masters du maroc, Bull. Société R. Sci. Liège. 79.
- 📖 **Mandelker, L. (2008).** Introduction to oxidative and mitochondrial dysfunction. Vet Clin : Small Anim Practice. f. r. Oxidative stress: the role of mitochondria, and antioxidants, Elsevier Inc. **38:** 1-30.
- 📖 **Marie-Jo Vanstippen (2005).** La grande ortie (*Urtica Dioica*), Cercles des Naturalistes de Belgique (CNB) – Section Les Sources, 2005.
- 📖 **Meddour A., Yahia M., Benkiki1 N., Ayachi A. 2011.** Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du capparispinosa L. Lebanese Science Journal 14(1):49-60.
- 📖 **Médele, F., Leblanc, J.C. et Gros, P. (2008).** Le poisson : quels enjeux pour sa consommation ? *La lettre scientifique de l'IFN (institut français pour la nutrition)*, (130) :1-20
- 📖 **Mekhahli, I., Djedouani, Z., et Bennasam, M. (2021).** Analyse phyto-chimique et évaluation in vitro des activités biologiques des extraits hydro-éthanolique et aqueux d'*Urtica urens*. Mémoire de master en Biologie Moléculaire et Cellulaire. Université de Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel.43.
- 📖 **Mills, G.C. (1957).** Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *The Journal of Biological Chemistry*,229: 189-197.
- 📖 **Mishra, LC, Singh, BB et Dagenais, S. (2000).** Base scientifique de l'utilisation thérapeutique de *Withania somnifera* (ashwagandha): une revue. *Revue de médecine alternative*, 5(4), 334-346.
- 📖 **Modarresi-chahardehi, A.,Ibrahim ,D.,Fariza-Sulaiman ,S., &Mousavi, L.(2012).**Dépistage de l'activité antimicrobienne de divers extraits d'*Urtica dioica* revue de biologie tropicale ,60 (4),1567-1576.
- 📖 **Mohammedi Z. (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles
- 📖 **Moller P., Wallin H., Knudsen L. E.** Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. *Chem BiolInteract.* 1996; **102:** 17-36.
- 📖 **Mossa, J.S. Tariq, M. Mohsin, A. Ageel, A.M. Al-Yahya, M.A. Al-Said, M.S. Rafatullah, S. (1991).** Pharmacological Studies on Aerial Parts of *Calotropis Procera*, *Am. J. Chin. Med.* 19 223–231.

Références bibliographiques

- 📖 **Munir N, Mahmood Z, Shahid M, Afzal MN, Jahangir M, Ali Shah SM, Tahir IM, Riaz M, Hussain S, Akram M, Yousaf F. 2022.** *Withania somnifera* Chemical Constituents' In Vitro Antioxidant Potential and Their Response on Spermatozoa Parameters. Dose Response. 20(1):15593258221074936. doi: 10.1177/15593258221074936.
- 📖 **Muster, D. (2005).** Médicaments de l'inflammation. Edition Elsevier Paris . 21 – 29.
- 📖 **Nacz, M.; and Shahidi, F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of*
- 📖 **Newall C.A., Anderson, L.A., Phillipson, J.D., (1996).** Herbal Medicines: A Guide for. of *Urtica dioica* and *Nigella sativa* in the prevention of carbon tetrachloride induced.
- 📖 **Njoroge, J., Njuguna, A., Muriithi, G., & Njagi, E. (2021).** Green Synthesis and Characterization of ZnO Nanoparticles Using *Pelargonium odoratissimum* (L.) Aqueous Leaf Extract and Their Antioxidant, Antibacterial and Anti-inflammatory Activities. *Antioxidants*, 11(8), 1444.
- 📖 **Obese E, Ameyaw E.O, Biney R.P, Henneh I.T, Edzeamey F.J, Woode E. 2018.** Phytochemical Screening and Anti-Inflammatory Properties of the Hydroethanolic Leaf Extract of *Calotropis procera* (Ait). R. Br. (Apocynaceae). *Journal of Pharmaceutical Research International*, 23(1): 1-11, 2018; Article no.JPRI.42529.
- 📖 **Ortiz G.G., Pacheco-Moisés F.P., Bitzer-Quintero O.K., Ramírez-Anguiano A.C., Flores-Alvarado L.J., Ramírez-Ramírez V., Macias-Islas M.A., Torres-Sánchez E.D. (2009).** Immunology and oxidative stress in multiple sclerosis: clinical and basic approach, *Clin. Dev. Immunol.* (2013).
- 📖 **Peterson R. (1986).** Le purin d'ortie face à la science. *Les 4 saisons du jardinage* : Pincemail J, Meurisse M, Limet R et Defraigne J O (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*, 4(5).
- 📖 **Petite. Mazières V., Bertrand B., Jeannot D., Raymonde G., Lemoine P., Fougère M et Marche C. (2010).** « L'ortie a-t-elle un avenir dans l'agriculture écologique intensive ». *Terminales S*, Briacé.
- 📖 **Pincemail, J. ; Bonjean, K. ; Cayeux, K. and Defraigne, J.O. (2002).** Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. **16**: 233-239. Possible mechanism(s) for relaxant effect of aqueous and macerated extracts from ip3. *Dev.Biol.* 323(1) :105-113.
- 📖 **Pinelli P., Ieri, F., Vignolini, P., Bacci, L., Baronti, S., Romani, A. (2008).** Extraction and HPLC analysis of phenolic compounds in leaves, stalks, and textile fibers Of *Urtica dioica* L. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56 (19).

Références bibliographiques

- 📖 **Pourmorad F., Hosseinimehr S. J., and Shahabimajd N. (2006).** Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 5 (11) : 1142-1145.
- 📖 **Powers, S. and M. Jackson (2008),** "Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production." *Physiol Rev* 88: **1243-1276**.
- 📖 **Powers, S. and M. Jackson (2008),** "Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production." *Physiol Rev* 88: **1243-1276**.
- 📖 **Pryor W. A. (1986).** Oxy-radicals and related species: their formation, lifetimes, and reactions, *Annual review of physiology* **48, 657-667**.
- 📖 **Raho, B., Ghalem, M., Benali, M., (2008).** Antibacterial activity of leaf essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus camaldulensis*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(10) : 211-215p. ISSN 1996-0816
- 📖 **Ramtin M., Massiha, A., Khoshkholgh-Pahlaviani, M. R. M., Issazadeh, K., Assmar, M., et Zarrabi, S. (2014).** *In Vitro* Antimicrobial activity of *Iris pseudacorus* and *Urtica dioica*. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 16(3), 35-39.
- 📖 **Ramzan.** *Rubus fruticosus* (Blackberry) use as an herbal medicine. *Pharmacognosy Review*. 2014. 8 (16), 101-104
- 📖 **Ranjbari A., Azarbayjani, M. A., Yusof, A., Halim Mokhtar, A., Akbarzadeh, S. Ibrahim, M. Y., Dehghan, F. (2016).** In vivo and in vitro evaluation of the effects of *Urtica dioica* and swimming activity on diabetic factors and pancreatic beta cells.
- 📖 **Reaume T. (2010).** Stinging nettle *Urtica dioica* urticaceae-nettle family. *Nature manitoba*.
- 📖 **Ribereau-Gayon P.(1972).** Propriétés chimiques des phénols. In "les composés phénoliques des végétaux". Edition Dunod Paris, **P 29-57**
- 📖 **Riehemann K, Behnke B, Schulze-Osthoff K.** Plant extracts from stinging nettle (*Urtica dioica*), an antirheumatic remedy, inhibit the proinflammatory transcription factor NF-kappa B. *FEBS Lett* 1999;442:89-94.
- 📖 **Roschek BJ, Fink RC, McMichael M, Alberte RS. Roschek BJ, Fink Ryan C, Matthew M, Randall SA.** Nettle extract (*Urtica dioica*) affects key receptors and enzymes associated with allergic rhinitis. *Phytoter Res* 2009;23:920-6. doi:10.1002/ptr.2763.
- 📖 **Roschek Jr, B., Fink, R.C., McMichael, M. & Alberte, R.S. (2009).** L'extrait d'ortie (*Urtica dioica*) affecte les principaux récepteurs et enzymes associés à la rhinite allergique *Phytoter Res. : Int. J. Consacrer. Pharmacol. Toxicol. Éval. Nat. Prod. Dériv. , 23 (7), p. 920 – 926*.

Références bibliographiques

- 📖 **Rosine C., Momo D. (2009).** Evaluation de l'activité antidermatophytique des extraits au méthanol et fractions d'*acalyphamma hirtum* (melastomataceae). Université de Dschang– Master en biochimie clinique et pharmacologie.
- 📖 **Rotsart. H, et coll, (1984).** Notions de pharmacologie pour les régions tropicales, Kangu/mayumbe (Zaire). BERPS. pp : 277.
- 📖 **Safari V.Z., Ngugi, M.P., Orinda, G. & Njagi EM. (2016).** Anti-pyretic, Antiinflammatory and Analgesic Activities of Aqueous Leaf Extract of *Urtica Dioica* L. In Albino Mice Article in Medicinal & Aromatic Plants.
- 📖 **Salido G.M., Rosado J.A. (2009).** eds., Apoptosis: Involvement of Oxidative Stress and Intracellular Ca²⁺ Homeostasis, Springer.
- 📖 **Sanchez-Moreno, C, (2002)** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. International Journal of Food Science and Technology. **8: 121-137.**
- 📖 **Schaffner W. (1992).** Les plantes médicinales et leurs propriétés. Manuel d'herboristerie. Delachaux et Niestlé. 215p.57
- 📖 **Seliya M, Kothiyal P. (2014).** *Urtica dioica* (stinging nettle): a review of its chemical, pharmacological, Toxicological and ethnomedical properties. Int J Pharm 2014;4:270-7.
- 📖 **Siddiqui, BS, Aslam, H., Ali, ST, Khan, S. et Begum, S. (2006).** Constituants chimiques de l'écorce de tige de *Buxus papillosa*. Journal des produits naturels, 69(6), 945-949.
- 📖 **Sivry, P. (2014).** Anti - Inflammatoires Non Stéroïdiens consommés en automédication : évaluation du niveau de connaissance de 334 patients de cabinets de médecine générale des Alpes - Maritimes. Thèse de doctorat en médecine. Université de Nice - Sophia Antipolis. France .16.
- 📖 **Smith N. O. Maclean, I. Miller, F A. Carruthers S. R. (1997).** Crops for industry and energy in Europe, Science Research and Development, University of Reading, 1997.
- 📖 **Sorg O. (2004)** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies.* **327**, 649-662.
- 📖 **Soro T.Y, Semi Anthelme B., Stanislas N., Zahoui, O., Yapi A.F, (2015).** Traoré Activité antiinflammatoire de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné) (Olacaceae), J. Anim. Plant Sci. 3802–3813 24.
- 📖 **Sturtz L. A., Diekert K., Jensen L. T., Lill R., Culotta V. C. (2001)** A fraction of yeast Cu,Zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, CCS, localize to the intermembrane space of mitochondria. A physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage. J Biol Chem. 2001; 276: 38084-38089.

Références bibliographiques

- 📖 **Su, H., Nguyen, K., Salazar-Mather, T., Ruzek, M., Dalod, M., & Swamy, SM. and Tan, BK. (2000).** Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds. *J Ethnopharmacol*, 70, pp. 1-7.
- 📖 **Tahri A., Yamani, S., Legssyer, A., Aziz, M., Mekhfi, H., Bnouham, M., & Ziyyat, A. (2000).** Acute diuretic, natriuretic and hypotensive effects of a continuous perfusion of aqueous extract of *Urtica dioica* in the rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 73(1-2), 95-100.
- 📖 **Taïba, I., Boumahrat, M., Boulifa, A. (2017).** Evaluation de l'activité anti inflammatoire, analgésique, antioxydante et antipyrétique de la plante médicinale Algérienne *Sa lvia Officinalis*.L. Mémoire de M aster en Biologie spécialité : Toxicologie. Université Frères Mentourie. Constantine. 2 - 14.
- 📖 **Telaidji, A. N., 2018.** Caractérisation chimique et activités biologiques (*in vitro* et *in vivo*) de l'extrait méthanolique de *Juniperus phoenicea* l. Mémoire. Biochimie/Nutrition moléculaire et santé. Université des frères Mentouri Constantine, Algérie.
- 📖 **Tessier, F. et Marconnet, P. (1995).** Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Tetrahedron Lett.*: 26 2759-62.
- 📖 **Testai L. et al. (2002).** Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) root extracts: treatment of allergie rhinitis. *Planta Med.* 56: 44-47.
- 📖 **Thomson M., Al-Qattan K.K., Al-Sawan S.M., Alnaqeeb M.A., Khan I., Ali M., (2002).** The use of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) as a potential anti-inflammatory and antithrombotic agent, *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 67 475–478.
- 📖 **Toldy A., Stadler, K., Sasvari, M., Jacus, J., Jung-Kung, J., ChungHay, Y., Berkes,I., Nyakas, C., Radak, Z. (2005).** The effect of exercise and nettle supplementation on oxidative stress markers in the rat brain *research bulletin* 65, 487-493.
- 📖 **Trabsa, H. (2015).** A ctivité antioxydantes et anti - inflammatoire des fractions des plantes :*Sedum sediforme* et *Lycium arabicum* .Thèse de doctorat en sciences Spécialité : Biochimie . Université ferhet abbas sétif 1. 19.
- 📖 **Valérie Langlade (2010).** L'Ortie dioïque, *Urtica Dioica* L., Etude bibliographique, Thèse de doctorat en Pharmacie, Université de Nante- France, 3 mai 2010.
- 📖 **Valko, M.; Leibfritz, D.; Moncol, J.; Cronin, M. T. D.; Mazur, M. and Telser, J. (2007) .** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Biology celular*. 39:44-84.
- 📖 **Vermerris W., Nicholson R. (2006)** Phenolic compound biochemistry. *Springer*. PP: 69-149

Références bibliographiques

- 📖 **Vivas de Gaulejac. (2001).** Identification of procyanidine.
- 📖 **Von Sonntag C. (2008).** The energetics of rearrangement and water elimination reactions in the radiolysis of the DNA bases in aqueous solution. DAFT calculations. *Radiat Res* 169 :355-363.
- 📖 **Wichtl M., et Anton, R. (2003).** *Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. 2ème édition. Paris: éd. TEC & DOC ; Cachan. *Médicale Internationales*, 700p.
- 📖 **Wichtl, M., & Anton, R. (2003).** Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2 e éd. *EMInter /Tec & Doc éditions, Paris*, 382-386
- 📖 **Wink, D. A., Nims, R. W., Saavedra, J. E., Utermahlen, W. E., JR. et Ford, P. C. (1994).** The Fenton oxidation mechanism: reactivities of biologically relevant substrates with two oxidizing intermediates differ from those predicted for the hydroxyl radical, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **91**, 6604-6608.
- 📖 **Wong, S.P., Leong, L.P., William Koh, J.H, (2006).** Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry*. **99**: 775-783.
- 📖 **Wongrakpanich, S., Wongrakpanich, A., Melhado, K., et Rangaswami, J. (2018).** A comprehensive review of non - steroidal anti-inflammatory drug use in the elderly. *Aging and disease*, 9:1, 143.
- 📖 **Yener Za., Celik I., Ilhan F., Bal R. (2008).** Effects of *Urtica dioica* L. seed on lipid peroxidation, antioxidants and liver pathology in aflatoxin-induced tissue injury in rats. *Food and Chemical Toxicology* 47; 418-424.
- 📖 **Yougbaré - Ziébro, M. N., Ouédraogo, N., Lompo, M., Bationo, H., Yaro, B., Gnoula, C., et Guissou, I. P. (2016).** Activités anti - inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae). *Phytothérapie*, 1 :4, 213 - 219.
- 📖 **Zelko, I. N.; Marian, T. J. and Folz, R. J. (2002).** Superoxide dismutase multigene family: a
- 📖 **Ziech D., Franco R., Georgakilas A.G., Georgakila S., Malamou-Mitsi V., Schoneveld O., Pappa A., Panayiotidis M.I. (2010).** The role of reactive oxygen species and oxidative stress in environmental carcinogenesis and biomarker development, *Chem. Biol. Interact.* 188 334–339.

ANNEXES

Annexe 01 : Composition de Milieux de culture ‘Gélose Nutritive’.

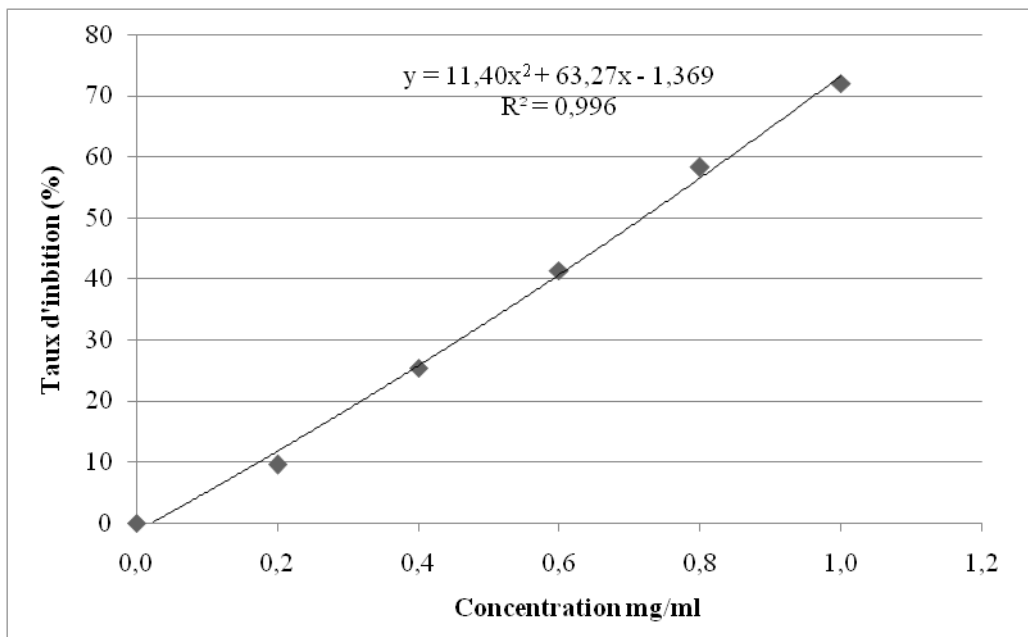
- ✓ Peptone.....10g ;
- ✓ Extrait de viande.....5g ;
- ✓ Chlorure de sodium.....5g ;
- ✓ Gélose.....15g ;
- ✓ pH=7,2 ;
- ✓ Autoclavage 20 minutes à 120°C.

Annexe 02: Composition de Milieux de culture ‘Muller Hinton (MH)’.

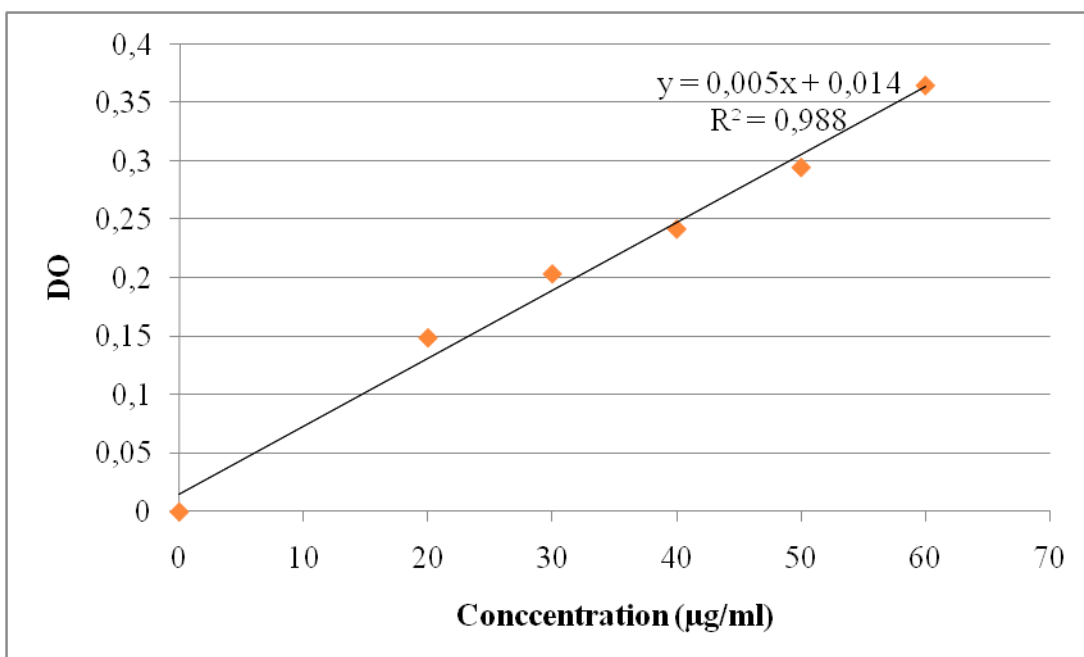
- ✓ Peptone de caséine.....17,5g
- ✓ Amidon.....1,5g
- ✓ Extrait de viande.....2g

Annexe 03: Composition de l’eau physiologie.

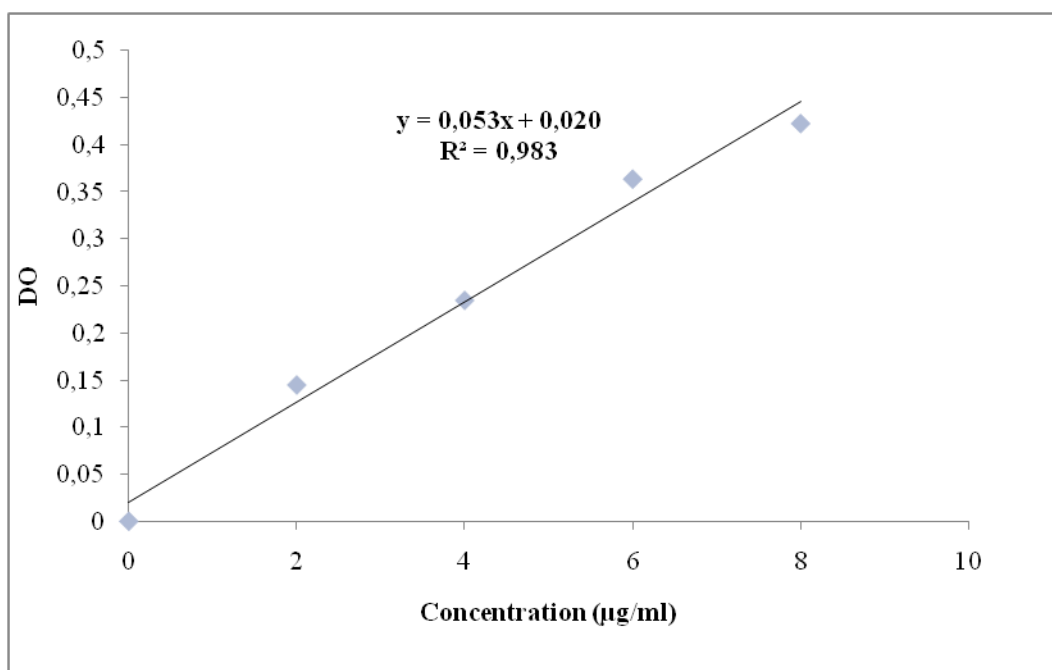
- ✓ Chlorure de sodium 17g ;
- ✓ Eau distillée.....1000ml.



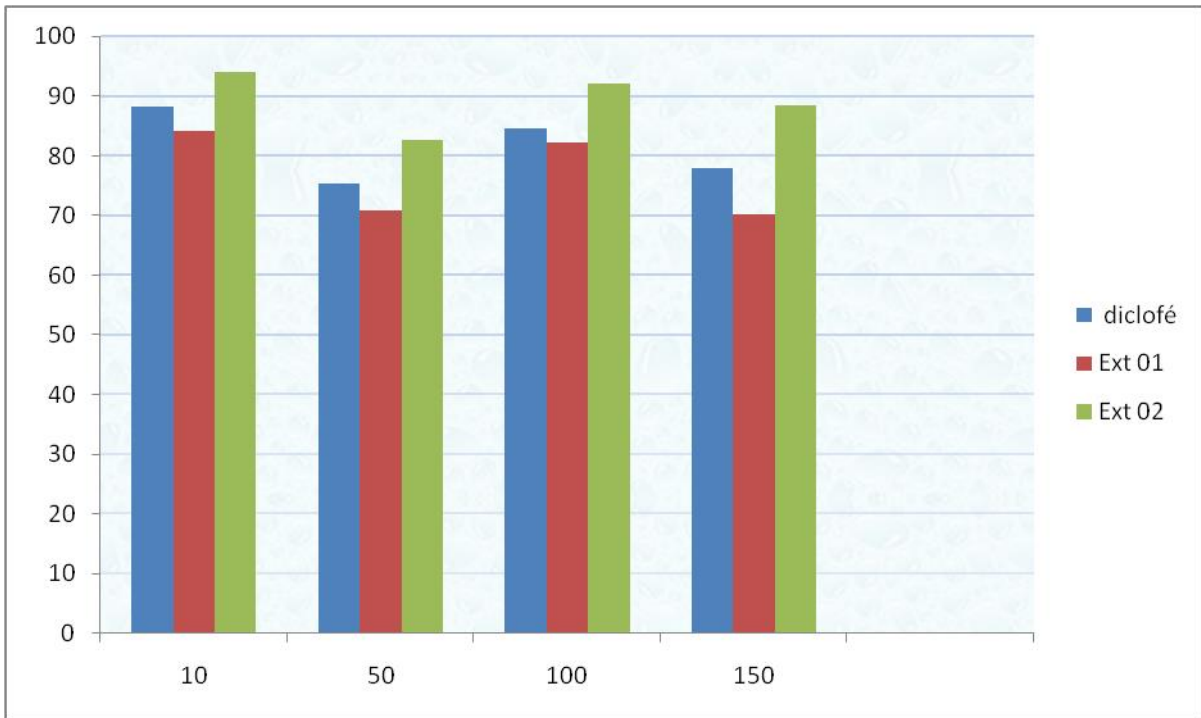
Annexe 04: Courbe de référence de la vitamine C du test de DPPH



Annexe 05: courbe d'étalonnage de l'acide gallique



Annexe 06: courbe d'étalonnage de quercétine



Annexe 07: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œuf