

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem**  
**Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie**  
**Département de Biologie**



**UNIVERSITÉ**  
**Abdelhamid Ibn Badis**  
**MOSTAGANEM**

# Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de  
**MASTER EN SCIENCE BIOLOGIQUE**

**Spécialité : Pharmaco-Toxicologie**

Par

**BELFADEL**

**FATIMA**

&

**SMAINE**

**FERRAGUIAICHA**

Thème :

***Phytochimie et Activité Anti-hémolytique de l'Ortie  
brûlante « Urtica urens »***

Soutenu le ..... devant le jury composé de :

<b>Président</b>	<b>BAKOURI Hichem</b>	<b>MCA</b>	<b>Université de Mostaganem</b>
<b>Encadreur</b>	<b>KRIBI Soraya</b>	<b>MCB</b>	<b>Université de Mostaganem</b>
<b>Examineur</b>	<b>MOSTARI Abassia</b>	<b>MAA</b>	<b>Université de Mostaganem</b>

**Année Universitaire : 2023/2024**

# Remerciements

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Madame KRIBI Soraya, nous la remercions pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nous remercions aussi Monsieur BAKOURI Hichem et Madame MOSTARI Abassia pour leur collaboration, et d'avoir accepté de juger notre travail.

Nos sincères remerciements vont également à tous les ingénieurs de laboratoire et spécialement à Melle Rachida pour son aide pratique et son soutien moral et ses encouragements.

Enfin nous remercions à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Fatima et Aicha

## **Dédicaces**

*A ma chère mère TAHRI Samira,*

*A mon cher père Bouzouina,*

*Aucun mot, aussi signifiant soit-il, ne saurait exprimer le degré d'affection, de gratitude, de respect et de reconnaissance que j'éprouve pour vous. Votre présence à mes côtés m'a toujours apporté confiance et réconfort. Vous n'avez cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, toujours présents à mes côtés pour me consoler quand il fallait et vos conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite.*

*Que Dieu vous procure longue vie avec bonheur et santé chers parents, dont le mérite, les sacrifices et les qualités humaines m'ont permis de vivre ce jour.*

*A mon frère Ismail,*

*A ma grande famille et à mes amis,*

*A ma chère binôme Fatima.*

**Aicha**

## Dédicaces

*Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.*

*A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect :  
mon cher père Ghali.*

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non amés exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère Touatia.*

*A mon frère Hamou qui n'est pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.*

*A mes adorables amies Ilham ; Fatima ; Nessrine ; Loubna .*

*Mon binôme Aicha pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

*Et, je n'oublie pas mon encadreur « Dr. KRIBI .S» qui m'a beaucoup aidé à réaliser ce travail.*

Fatima.

## Liste des abréviations

**%**: pourcentage

**ADN**: Acide désoxyribonucléique

**AG**: Acide gallique

**AlCl<sub>3</sub>**: trichlorure d'aluminium

**ATP**: Adénosine tri phosphate

**C°**: Degrés celsius

**CAS**: chinese academy of science

**Do**: Densité optique

**EAG**: Équivalent d'acide gallique

**EMA**: European medicines agency

**ESCOP**: coopération scientifique européenne en phytothérapie

**Fe**: fer

**FeCl<sub>3</sub>**: chlorure de fer

**G**: gramme

**GMS**: gramme de matière sèche

**GR**: Globules rouge

**GRh**: Globules rouge humains

**G6PD**: glucose 6-phosphate déshydrogénase

**H**: Heures

**Hcl**: chlorure d'hydrogène

**Hgb**: Hémoglobine

**HPLC**: chromatographie en phase liquide à haute performance.

**HPo<sub>4</sub>**: Acide phosphorique

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique

**I<sub>2</sub>**: Diode

**M:** Molaire

**Mgcl<sub>2</sub>:** chlorure de magnésium

**K:** Potassium

**Kcl:** Chlorure de potassium

**KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>** :phosphate de monopotassium

**ml:** Mililitre

**mn:** Minutes

**Na:** Sodium

**Nacl:** chlorure de Sodium

**NADp:** Nicotinamide adénine dimucléotide de phosphate

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>:** carbonate de Sodium

**NH<sub>4</sub>OH:** hydroxyde d'ammonium

**nm:** Nanomètre

**OH:** Hydroxyle

**OMS:** organisation mondiale de la santé

**PA:** principe actif

**PBS:** Tampon phosphate salé

**PPT:** polyphénole totaux

**Sipf:** Suspensions intégrale de plantes fraiches

**Ug:** Microgramme

**UgEAG:** Microgramme d'équivalent d'acide gallique

**Ul:** Microlitre

**UgEQ:** Microgramme d'équivalent de quercétine

**UV:** Ultra violet

## Liste de figures

Figures	Titres	Pages
01	Structure de base des flavonoïdes	05
02	Structure de base des poly phénols	06
03	Structure de base d'Alcaloïdes	06
04	Structure de base des tanins	07
05	<i>Urtica urens</i> L	17
06	Aspect général de <i>Urtica urens</i> L	18
07	Racine de <i>Urtica urens</i> L	18
08	Fleurs mâle et femelle de <i>Urtica urens</i>	19
09	Fruits de <i>Urtica urens</i>	19
10	L'Ortie brûlante récoltée d'un jardin au niveau de la région de Khair-Eddine	24
11	Parties de L'Ortie brûlante séchées et broyées	25
12	Protocole de préparation de la décoction aqueuse	26
13	Protocole de préparation de la solution de l'infusion	26
14	Protocole de préparation d'extrait hydro alcoolique par décoction	26
15	Protocole de préparation de l'extrait chloroformique par décoction	27
16	Induction de l'hémolyse par Na Cl sur l'hématocrite à 10%	31
17	Induction de l'hémolyse par la température sur l'hématocrite à 10%	31
18	Induction de l'hémolyse par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> sur l'hématocrite à 10%	31
19	Schéma de l'effet anti-hémolytique de l'extrait de l'Ortie ( <i>Urtica urens</i> L)	33
20	La mise en évidence des flavonoïdes aux niveaux des extraits des feuilles de <i>U. urens</i>	36
21	La mise en évidence des terpenoïdes aux niveaux des extraits des feuilles de <i>U. urens</i>	36
22	Mise en évidence des alcaloïdes aux niveaux des extraits des feuilles de <i>U. urens</i>	36
23	Mise en évidence des tanins aux niveaux des extraits des feuilles de <i>U. urens</i>	37
24	Mise en évidence des stéroïdes aux niveaux des extraits des feuilles de <i>U. urens</i>	37
25	Mise en évidence des coumarines aux niveaux des extraits des feuilles de <i>U. urens</i>	37
26	Mise en évidence des quinones aux niveaux des extraits des feuilles de <i>U. urens</i>	38
27	Mise en évidence des terpénoïdes, des alcaloïdes et des quinones au niveau des racines de <i>Urtica urens</i>	39

28	Mise en évidence des flavonoïdes et, des composés réducteurs au niveau des racines de <i>Urtica urens</i>	39
29	Mise en évidence des tanins, stérols et des coumarines au niveau des racines de <i>U.urens</i>	39
30	L'hémolyse des érythrocytes induite par l'hypotonie	43
31	L'hémolyse des érythrocytes induite par la température	43
32	L'hémolyse des érythrocytes induite par le H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	43
33	L'effet protecteur des infusés aqueux de <i>Urtica urens</i> vis-à-vis de l'hémolyse Hypotonique	45
34	L'effet protecteur des décoctés aqueux de <i>Urtica urens</i> vis-à-vis de l'hémolyse Hypotonique	45
35	L'effet protecteur des extraits hydro-alcooliques de <i>Urtica urens</i> vis-à-vis de l'hémolyse hypotonique	45
36	L'effet protecteur des extraits chloroformiques de <i>Urtica urens</i> vis-à-vis de l'hémolyse hypotonique	46
37	L'effet protecteur de l'infusé de <i>Urtica urens</i> contre la thermohémolyse	47
38	L'effet protecteur du décocté de <i>Urtica urens</i> contre la thermohémolyse	47
39	L'effet protecteur de l'extrait hydro-alcoolique de <i>Urtica urens</i> contre la thermohémolyse	48
40	L'effet protecteur de l'extrait chloroformique de l' <i>Urtica urens</i> contre la thermohémolyse	48
41	L'effet protecteur des infusés de l' <i>Urtica urens</i> contre l'hémolyse induite par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	49
42	L'effet protecteur des décoctés aqueux de <i>U.urens</i> contre l'hémolyse par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	50
43	L'effet protecteur de l'extrait hydro-alcoolique de <i>Urtica urens</i> contre l'hémolyse induite par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	50
44	L'effet protecteur de l'extrait chloroformique de <i>Urtica urens</i> vis-à-vis de l'hémolyse induite par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	50
45	Effet protecteur des décoctés aqueux des racines de <i>U. urens</i> vis-à-vis de l'hémolyse hypotonique	51
46	L'effet protecteur des racines de <i>Urtica urens</i> contre la thermohémolyse	52
47	L'effet protecteur des racines de <i>Urtica urens</i> contre l'hémolyse induite par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	52

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Pages</b>
01	Quelques exemples de plantes médicinales douées d'activité anti-hémolytique	15
02	Les principaux constituants chimiques de l'ortie.	20
03	Tests phytochimiques des extraits des parties aériennes de l'Ortie brûlante	35
04	Tests phytochimiques des extraits de la partie racinaire de l'Ortie brûlante	38
05	Teneurs moyennes en polyphénols totaux au niveau des feuilles et racines	41
06	Teneurs moyennes en flavonoïdes au niveau des feuilles et racines	41

## Résumé

Ce présent travail a pour objectif, la mise en évidence des composés phytochimiques et l'estimation in vitro de l'activité anti-hémolytique des extraits de la partie aérienne et souterraine de l'Ortie brûlante « *Urtica urens* L » contre une hémolyse induite par l'hypotonie, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et la chaleur. Les résultats de la phytochimie montrent que cette espèce présente un groupe de métabolites secondaires, à savoir, flavonoïdes, terpénoïdes, alcaloïdes, coumarines et les quinones dans les extraits aqueux d'infusion et de décoction. Les tanins et les stérols ils sont détectés dans les extraits hydro-alcooliques et chloroformiques. Pour les racines : les terpénoïdes, les alcaloïdes, les quinones, les flavonoïdes et les composés réducteurs sont majoritairement présents dans le décocté aqueux.

Les extrait de l'infusion dilué à 50% et la décoction brute ont donné une bonne protection des érythrocytes contre l'hémolyse hypotonique (induite par le Na Cl) avec un taux de protection de 51.50% et 73.39% respectivement . Les résultats de l'activité anti-hémolytique en présence des extraits de l'Ortie contre la chaleur indiquent que quelque soient les dilutions pour l'ensemble des extraits, à la température 45 C° l'activité anti-hémolytique est positive. L'activité anti-hémolytique contre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est positive pour les extrait brutes de l'infusion et la décoction avec un taux de protection maximale pour l'infusé et le décocté qui est de 83.73 et 66.46%, respectivement.

L'effet protecteur de la décoction brute des parties racinaires de *Urtica urens* est positif contre l'hypotonie ,la thermohémolyse et la toxicité chimique par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Mots clés :** *Urtica urens*; Extraction; Phytochimie; Activité anti-Hémolytique

## Abstract

The aim of this work is to identify phytochemical compounds and to estimate in vitro the anti-haemolytic activity of extracts from the aerial and underground parts of the burning nettle '*Urtica urens* L' against haemolysis induced by hypotonia, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and heat. The phytochemical results show that this species has a group of secondary metabolites, namely flavonoids, terpenoids, alkaloids, coumarins and quinones in the aqueous infusion and decoction extracts. Tannins and sterols are detected in hydroalcoholic and chloroformic extracts. For the roots: terpenoids, alkaloids, quinones, flavonoids and reducing compounds are mainly present in the aqueous decoction.

The 50% diluted infusion extract and the crude decoction gave good protection of erythrocytes against hypotonic haemolysis (induced by Na Cl) with a protection rate of 51.50% and 73.39% respectively. The results of the anti-haemolytic activity in the presence of Nettle extracts against heat indicate that whatever the dilutions for all the extracts, at a temperature of 45°C the anti-haemolytic activity is positive. The anti-haemolytic activity against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is positive for the crude extracts of the infusion and decoction with a maximum protection rate for the infused and decocted, which is 83.73 and 66.46%, respectively.

The protective effect of the crude decoction of the root parts of *Urtica urens* is positive against hypotonia, thermohaemolysis and chemical toxicity by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Key word : *Urtica urens*; Extraction; Phytochemistry; Anti-haemolytic activity

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumé

## Table des matières

Introduction.....1

### **Partie I : synthèse bibliographique**

#### *Plantes médicinales et Phytothérapie*

1. Plantes médicinales.....	4
1. 1. Généralités.....	4
1. 2. Définition.....	4
1. 3. Origine des plantes médicinales.....	4
A. Les Plantes spontanées.....	4
B. Les plantes médicinales cultivées.....	5
1. 4. Phytochimie.....	5
1. 4. 1. Métabolite secondaire.....	5
A. Flavonoïde.....	5
B. Composés phénoliques.....	6
C. Alcaloïdes.....	6
D. Les tanins.....	6
1. 5. Les extraits de plantes médicinales.....	7
A. Les extraits aqueux.....	7
B. Les extraits par solvant éthanoliques ou hydro alcooliques.....	7
C. Extraits glycinées.....	8

D. Autres formes galéniques des extraits.....	8
2. La phytothérapie.....	9
2. 1. Définition.....	9
2. 2. Différents types de phytothérapie.....	9
A. L'aromathérapie.....	9
B. La gemmothérapie.....	9
C. l'herboristerie.....	9
D. l'homéopathie.....	9
2. 3. Phytothérapie pharmaceutique.....	10
2. 4. Avantage et efficacité de la phytothérapie.....	10

## *Hémolyse et Anti-hémolyse*

1. L'hémolyse.....	11
1. 1. Hémoglobine intravasculaire.....	11
1. 2. Hémolyse extravasculaire.....	11
1. 3. Hémolyse physiologique.....	12
1. 4. Hémolyse pathologique.....	12
1. 4. 1. Hyper hémolyse et les maladies associées.....	12
1. 4. 2. Anémies hémolytiques corpusculaires.....	13
1. 4. 3. Anémies hémolytiques non corpusculaire.....	13
1. 4. 4. Anémies résultantes d'une carence nutritionnelle.....	14
2. Les Anti-hémolytiques.....	14
2. 1. Les anti-hémolytiques classiques.....	14
2. 2. Les anti-hémolytiques à base de plantes.....	15

## *Présentation de l'Ortie brulante «Urtica urens L»*

1. Généralités sur l'Ortie.....	16
2. Historique de la plante.....	16
3. Systématique.....	17
4. Description botanique.....	17
5. Répartition géographique.....	19

6. Exigences écologiques.....	20
7. Principaux constituants chimiques de l'ortie.....	20
8. Usages et propriétés de l'ortie.....	21
8. 1. Usages thérapeutiques.....	21
8. 2. Usage externe.....	22
8. 3. Usage interne.....	22

## **Partie 2 : Expérimentale**

### **Chapitre 1 : Matériels et Méthodes**

1. Matériels et Méthodes.....	24
1. 1. Généralité.....	24
1. 2. Matériels biologiques.....	24
A. Le matériel végétal.....	24
B. Le matériel humain : Le sang.....	24
C. Matériels de laboratoire.....	25
1. 3. Méthodologies.....	25
1. 3. 1. Séchage et broyage du matériel végétal.....	25
1. 3. 2. Préparation des extraits de l'Ortie brûlante.....	25
A. Préparation de la décoction en milieux aqueux.....	25
B. Préparation de tisane par infusion.....	26
C. Décoction en milieu hydro alcoolique.....	26
D. Décoction en milieu chloroformique.....	27
1. 3. 3. Les tests phytochimiques.....	27
A. Les flavonoïdes.....	27
B. Les terpénoïdes.....	27
C. Les alcaloïdes.....	27
D. Les tanins.....	28
E. Les coumarines.....	28
F. Les stérols.....	28
G. Les quinones.....	28
H. Les saponines.....	28
I. Les composés réducteurs.....	28

J. Dosage des polyphénols totaux.....	28
K. Dosage des flavonoïdes.....	29
1.3.4. Evaluation de l'activité anti-hémolytique de <i>Urtica urens</i> L.....	29
1.3.4.1. Préparation de la suspension érythrocytaire.....	30
1.3.4.2. Induction de l'hémolyse in vitro.....	30
A. Test d'hémolyse induit par l'hypotonie.....	30
B. Test de thermo-hémolyse.....	31
C. Test d'hémolyse induit par le H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	31
1.3.4.3. Test de protection des extraits de l'Ortie vis-à-vis de l'hémolyse induite par l'hypotonie, la température et le H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	32
A. Effet protecteur de l'extrait vis-à-vis d'un stress hypotonique.....	32
B. Effet protecteur de l'extrait vis-à-vis de la thermo-hémolyse.....	32
C. Effet protecteur de l'extrait végétal vis-à-vis de l'hémolyse induite par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	33

## **Chapitre 2 : Résultats et interprétations**

2. Résultats et Interprétations.....	35
2.1. Résultats des tests phytochimiques des extraits de feuilles de <i>Urtica urens</i> L.....	35
2.2. Résultats des tests phytochimiques des décoctés aqueux des racines de <i>Urtica urens</i> ....	38
2.3. Résultats du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes.....	41
2.4. Résultats de l'activité anti-hémolytique.....	42
2.4.1. Résultats de l'activité hémolytique induite par hypotonie, la chaleur et le H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	42
2.4.2. Résultats de l'effet protecteur des extraits des feuilles de <i>Urtica urens</i> .....	43
2.4.2.1. Résultats de l'effet protecteur des extraits contre l'hypotonie.....	43
2.4.2.2. Résultats de l'effet protecteur des extraits contre la thermo-hémolyse.....	46
2.4.2.3. Résultats de l'effet protecteur des extraits contre H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	48
2.4.3. Résultats de l'effet protecteur des extraits de racines de <i>Urtica urens</i> .....	51
Discussion générale.....	54
Conclusion.....	57
Références bibliographique.....	60
Annexe	

# Introduction

## Introduction

L'hémolyse anormale du sang peut avoir différentes causes. Il peut s'agir d'une pathologie qui aboutit à la destruction des globules rouges dans les vaisseaux sanguins, cas de certaines anémies, des accidents transfusionnels, du paludisme, etc... Des parasites sanguins, des infections bactériennes et virales, des agents chimiques, des plantes toxiques peuvent entraîner aussi une hémolyse pathologique

L'hyper hémolyse peut se produire par l'introduction d'agents chimiques tel que certains médicaments, capables de modifier l'intégrité cellulaire en induisant une réorganisation et des changements morphologiques qui résultent d'une cascade d'effets à partir de l'altération de la membrane lipidique conduisant finalement à la formation de sphéricités et par conséquent à la lyse des érythrocytes.

L'hémolyse est un sujet relativement complexe qui demande obligatoirement une investigation spécialisée pour déterminer des traitements appropriés, il y a autant de traitements qu'il y a de causes. Un certain nombre de substances synthétiques anti-hémolytiques qui réduisent l'hyperhémolyse, sont disponibles. Cependant ces molécules bien qu'étant efficaces sont associées à des effets iatrogènes tels des dommages digestifs et des toxicités rénales (**Yougbaré-Ziébrou et al., 2016**).

En raison des problèmes iatrogènes liés au traitement des pathologies sanguines il est impérieux d'orienter la recherche de nouveaux agents thérapeutiques anti-hémolytiques vers les plantes médicinales qui constituent une source potentielle de molécules naturelles anti-hémolyse (**Kouadio Kouakou et al., 2021**).

La phytothérapie est une thérapeutique alternative ou parallèle dans beaucoup de maladies aiguës et chroniques. Elle connaît un regain d'intérêt dans de nombreux pays à travers le monde. En effet, un grand nombre de plantes sont utilisées en médecine traditionnelle en Algérie dont certaines pour traiter l'hémolyse du sang

La valorisation des ressources naturelles est une préoccupation qui devient de plus en plus importante dans de nombreux pays. Ainsi, depuis son assemblée générale, l'OMS recommande l'évaluation de l'innocuité et de l'efficacité des médicaments à base des plantes en vue de standardiser leur usage et les intégrer dans les systèmes de soins conventionnels (**OMS, 2000**). L'existence de recettes de la médecine traditionnelle qui se sont révélées positives pour le traitement des pathologies du sang nous a amené à nous intéresser à une espèce

végétale très répandu en Algérienne qui est l'Ortie brûlante. Cette espèce, connue sous le nom commun « Harigue », est largement utilisée dans la pharmacopée Algérienne. Malgré son utilisation très vaste dans la médecine traditionnelle, l'espèce *Urtica urens* reste très peu étudiée et spécialement dans la lutte contre l'hémolyse du sang. Les différentes parties des orties sont indiquées en thérapie traditionnelle ; leur utilisation est surtout indiquée contre l'anémie, le rhumatisme, l'eczéma, la rhinite allergique et rhumatoïde et les racines, en particulier sont utilisées pour le traitement de l'hyperplasie bénigne de la prostate (Farang *et al.*, 2013). Des recettes à base d'*Urtica urens* sont prescrites contre la pyélonéphrite et contre la lithiase (Farang *et al.*, 2013, Ghourri *et al.*, 2014). En Turquie, l'ortie brûlante est utilisée pour le traitement des maladies gastro-intestinales, le diabète et les problèmes rénaux (Sargin *et al.*, 2013).

Dans cet axe de recherche globale sur les plantes douées de propriétés thérapeutiques s'insère l'objectif de notre thème de mémoire de master dont le but est l'évaluation du pouvoir anti-hémolytique in vitro des parties aérienne et souterraines de *Urtica urens* L

Ce travail présente :

- ✓ Une synthèse bibliographique permettant de définir plusieurs termes abordés dans notre sujet à savoir les plantes médicinales et phytothérapie, l'hémolyse et anti-hémolyse et présentation de la plante d'étude l'Ortie brûlante
- ✓ Une partie expérimentale qui exprime dans un premier chapitre la méthodologie et le protocole expérimental utilisé ainsi que les paramètres mesurés
- ✓ Le deuxième chapitre de la partie expérimentale traite les résultats et discussions qui permettent de discuter nos résultats en comparaison avec d'autres résultats trouvés par les autres chercheurs, finalement, une conclusion générale résume l'ensemble du travail effectué et fini par des perspectives

*Partie 1. Synthèse*

*Bibliographique*

## Plantes médicinales et Phytothérapie

### 1. Plantes médicinales

#### 1.1. Généralités

La connaissance rationnelle des plantes médicinales date de l'Antiquité. Au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques les plus modernes n'ont fait que confirmer le bien-fondé des vertus thérapeutiques de la plupart des plantes médicinales utilisées (**Carillon, 2000**). Le savoir traditionnel ancestral, transmis de génération en génération, est devenu aujourd'hui une mine d'informations extrêmement précieuses pour les chercheurs d'industrie pharmaceutique (**Fouché et al, 2000**).

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme model pour les composés pharmaceutiquement actifs (**Decaux, 2002**).

#### 1. 2. Définition

Une plante médicinale est définie par la pharmacopée française, comme une « drogue végétale au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». Une « drogue végétale » est une plante ou une partie de plante, utilisée à l'état frais ou sous la forme desséchée (**Fouché et al, 2000**). L'expression drogue végétale ou, plus couramment, drogue, désigne donc une matière première naturelle servant à la fabrication de médicaments (**Mohammedi, 2013**).

#### 1. 3. Origine des plantes médicinales

Elle porte sur deux origines à la fois. En premier lieu les plantes spontanées dites "sauvages" ou "de cueillette", puis en second les plantes cultivées

##### A. Les Plantes spontanées

Elles furent les seules utilisées autrefois et représentent encore aujourd'hui un pourcentage notable du marché. Leur répartition dépend du sol et surtout du climat. Nous pouvons répertorier les principaux facteurs influençant leur développement ci-après. Les plantules se développent efficacement et naturellement dans le sol qui leur est le plus favorable. Aussi les conditions climatiques exercent une part importante sur la répartition des plantes médicinales.

C'est en fait un ensemble de plusieurs facteurs qui constitue le climat et ceux-ci vont donc permettre un développement plus ou moins poussé de la plante jeune (**Chabrier, 2010**).

### **B. Les plantes médicinales cultivées**

Les plantes médicinales sont cultivées pour plusieurs avantages en effet évidents :

- Disponibilité des plantes sans besoin d'aller dans la forêt pour détruire les espèces.
- Apports substantiels de revenus pour les paysans qui les cultivent.
- Disponibilité prévisible des plantes médicinales au moment voulu et en quantité voulue.
- Disponibilité et protection des plantes actuellement rares ou en voie de disparition dans la nature.

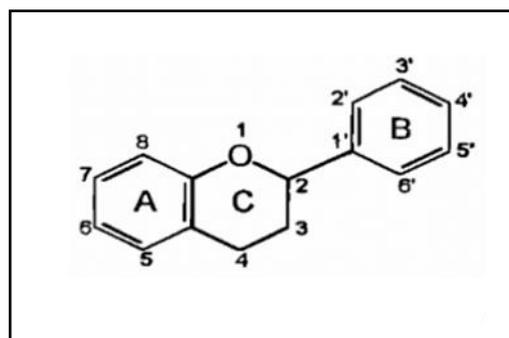
## **1. 4. Phytochimie**

### **1. 4. 1. Métabolite secondaire**

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures. Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante. Les métabolites secondaires constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour leurs propriétés anti oxydantes, anti microbiennes, anti-inflammatoires et anti carcinogènes ou mutagènes (**Epifano et al ,2007**)  
On appelle métabolite secondaire des composés bio synthétisés naturellement par les végétaux, qui ne participent pas directement à son développement. Ces métabolites sont responsables des fonctions périphériques essentielles à la survie de la plante (**SensriKh. El BAR., Z. 2017**).

### **A. Flavonoïde**

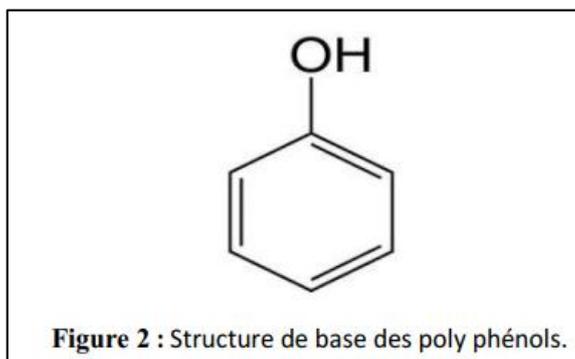
C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane ce qui est synonyme avec la structure 2-phényle chromane (**Yao et al. 2004**). Elles sont considérées comme des pigments quasi universels des végétaux. Actuellement, environ de 4000 composés flavonoïdes sont connus (**Edenharder and Grünhage, 2003**)) (Figure 1)



**Figure 1 :** Structure de base des flavonoïdes

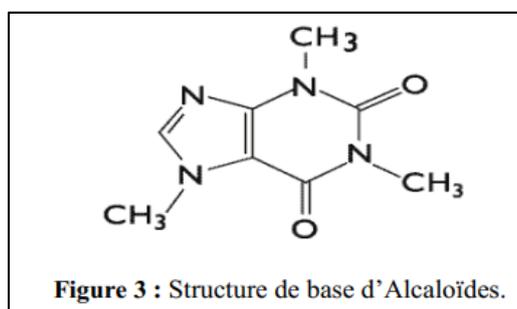
## B. Composés phénoliques

Les polyphénols ou composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement (**Bruneton, 1999**). Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des composés phénoliques naturels varie de molécules simples (acides phénoliques simples) aux molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (**Urquiaga and Leighton, 2000**)



## C. Alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé organique naturel, hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (**Sensri and El BAR, 2017**). Ils représentent le groupe de substances naturelles d'intérêt thérapeutique le plus importante, en termes de nombre, de diversité structurale et de leurs activités pharmacologiques. Ils sont au cœur des phénomènes d'adaptation et de défense face aux pressions biotique (herbivore microorganisme) (**Cherief and Messaoudene, 2020**)

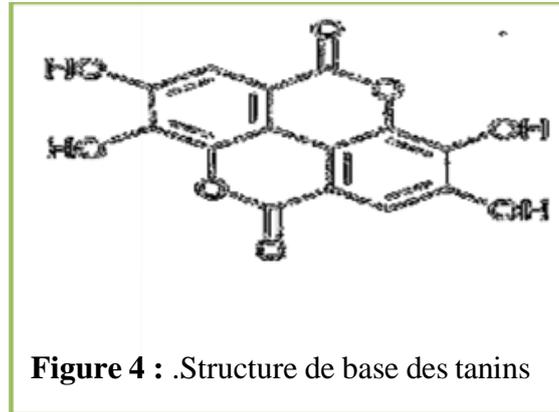


## D. Les tanins

Ces substances sont des composés chimiques responsables du goût amer de certaines plantes. Elles sont présentes en particulier dans l'écorce de certains arbres.

Leurs principaux bienfaits pour l'organisme sont l'apaisement des brûlures, le renouvellement des cellules cutanées, la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma.

(Figure 4)



## 1. 5. Les extraits de plantes médicinales

### A. Les extraits aqueux

\* **Les tisanes :** regroupent les infusions et les décoctions

- **Infusion :** C'est la méthode la plus utilisée en France. Elle consiste à recouvrir la drogue fragmentée d'eau potable bouillante et à laisser refroidir. Il existe autant de modes opératoires que d'ouvrages de phytothérapie traitant du sujet (Wichtl M., Anton R.2003). L'infusion convient aux drogues fragiles étaux drogues riches en huiles essentielles (Pharmacopée française Xème édition). Le temps d'infusion est variable selon les plantes (de quelques minutes à 1 heure) (Nogaret-Ehrhart, 2003).

- **La décoction :** convient aux parties ligneuses de la plante comme les tiges, les racines et l'écorce. Il s'agit ici de plonger les parties de plante sèche à froid dans de l'eau et de porter le tout à ébullition pendant 10 minutes à 1h en fonction des plantes (Potel, 2002).

\* **La macération :** Il s'agit d'un processus d'extraction à température ambiante (15-20C°) le liquide employé peut être l'eau, alcool, parfois le vie le temps de macération dépend des propriétés intrinsèques de la plante la macération à l'eau ne doit pas se prolonger trop long temps pour éviter tout risque de fermentation ou de moisissure (Potel, 2002)

### B. Les extraits par solvant éthanoïques ou hydro alcooliques

\* **Les teintures :** Sont des préparations alcooliques résultant d'un traitement extractif exercé par alcool éthylique sur les drogues sèches. On les prépare par macération (drogue+ solvant à

froid) ; par lixiviation (passage plus ou moins rapide du solvant froid ou chaud à travers la poudre végétale). Les teintures correspondent au 1/5e de leur poids de drogue sèche (sauf les

\* **Les teintures mères** : Actuellement, sont utilisés les teintures mères homéopathiques préparées à partir de drogues fraîches par macération 10 jours minimum (selon la pharmacopée européenne) dans de l'éthanol de titre différent selon les plantes (45 à 65° en général) . Elles correspondent au 1/10e de leur poids de plante sèche (il faut donc tenir compte du degré de déshydratation de la plante).

\* **Les alcoolatures** : Ce sont des préparations résultant de l'épuisement par l'alcool des drogues fraîches. Les proportions employées sont à parties égales en poids de plantes fraîches et d'alcool à titre élevé. Les plantes fraîches sont mises à macérer pendant huit jours avec l'alcool dans un récipient clos. Après une compression on passe à une filtration. (**Fouchet et al, 2000**)

\* **Les suspensions intégrales de plantes fraîches (SIPF)** : Sont des cryobroyats composés de drogue fraîche suspension dans une solution hydro alcoolique. Elles sont obtenues à partir de la totalité de la drogue fraîche par un procédé original qui permet le blocage des réactions enzymatiques évitant ainsi tout risque de modification, ou dégradation des principes actifs. Il est indispensable de les diluer afin de débloquent les réactions enzymatiques et de diminuer le titre alcoolique (**Fouchet et al, 2000**)

### **C. Extraits glycérinés**

La plante fraîche est cryobroyée puis les principes actifs hydrosolubles isolés par extractions successives dans l'eau et l'alcool de degré croissant. L'alcool est évaporé sous vide puis le résidu sec est mis en suspension dans le glycérol (**Bertrand, 2010**).

### **D. Autres formes galéniques des extraits**

Selon **Cazau-Beyret Nelly (2013)** plusieurs formes de préparations d'extraits peuvent être mises en œuvre pour l'obtention d'effet thérapeutique à partir d'une plante dont parmi :

\* **Les extraits secs pulvérulents** : Leur préparation se fait en trois phases : l'extraction des principes actifs (PA) par macération ou lixiviation dans l'eau ou l'alcool, La filtration et la concentration et en fin l'élimination du solvant par séchage.

\* **La poudre de plante** : Obtenue par simple broyage de la plante sèche, elle conserve le totum de la plante. Des gélules peuvent être fabriquées avec cette poudre. teintures héroïques qui sont au 1/10e). (**Odile and Daniel, 2007**)

## **2. La phytothérapie**

### **2. 1. Définition**

Le mot " phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : phuton et therapeia qui signifient respectivement " plante" et "traitement". La phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états Pathologiques au moyen de plant (**Chabrier, 2010**), de parties de plante ou de préparations à base de plante. C'est une thérapeutique inspirée de la médecine traditionnelle basée sur un savoir empirique enrichi au fil des générations. C'est ce qu'on appelle la «phytothérapie traditionnelle», qui est toujours grandement utilisée dans certains pays qui certains pays dans qui perpétuent les usages de leurs ancêtres (**Limonier, 2018**).

### **2. 2. Différents types de phytothérapie**

#### **A. L'aromathérapie**

Aromathérapie est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes (**Roberto, 1982**), ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau. On distingue deux types d'aromathérapie. Il y a l'aromathérapie de terrain grâce à laquelle l'homme est considéré dans sa globalité (traitement de fond) et l'aromathérapie symptomatique pour traiter les manifestations ou les cause d'une maladie (**Teuscher et al, 2005**)

#### **B. La gemmothérapie**

Se fonde sur l'utilisation des jeunes tissus végétaux frais tels que les bourgeons et les jeunes pousses sous forme d'extraits alcooliques et glycéринés (**Andrainne 2008**).

#### **C. l'herboristerie**

Est la spécialité ancienne qui entre dans la préparation des plantes fraîches ou sèches à des usages médicinales soit par l'utilisation de la plante entière soit d'une partie de celle-ci. La préparation se fait par des méthodes simples généralement tisane à base d'eau (décoction, macération, infusion) (**Bost 2016**).

#### **D. l'homéopathie**

L'homéopathie a été mise au point par la médecine allemande Samuel Hahnemann. Le principe de cette méthode est la règle de similitude : similia similibus curentur (les semblables sont guéris par les semblables), c'est-à-dire on administre au patient une dose infinitésimale d'une substance (animale, minérale, ou végétale) et produire expérimentalement chez une personne

saine des symptômes semblables à ceux présentés par la personne affectée (**Grunwald et Janick, 2006**).

### **2. 3. Phytothérapie pharmaceutique**

Utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, delyophilisats... (**Strang, 2006**).

### **2. 4. Avantage et efficacité de la phytothérapie**

De nombreuses études scientifiques relatent les effets bénéfiques des plantes, parfois même supérieures aux médicaments, et ce dans plus grandes médicales organismes. Aujourd'hui s'attachant à démontrer leur efficacité : L'EMA, L'ESCOP, L'OMS et la commission en Allemagne ces 4 instances répertorient les vertus médicinales des plantes, étudient les usages traditionnels et se prononcent sur leur utilité dans le traitement de certains symptômes :

- La phytothérapie couvre un très champ de maladies et l'industrie pharmaceutique utilise de nombreux principe actifs végétaux pour traiter toutes sortes de maladies.
- Les médicaments chimiques provoquent souvent des effets secondaires néfastes (responsables de 10 à 20 % des hospitalisations). Contrairement aux phythomédicaments qui ne présentent quasi pas d'effets si utilisés avec précaution
- Les plantes médicinales sont beaucoup moins chères que les médicaments de synthèse
- La phytothérapie peut être utilisée comme un traitement de prévention
- La phytothérapie est accessible pour tout le monde et ne nécessite pas d'obtenir une ordonnance
- Le corps humain est mieux adapté à un traitement à base de plantes qu'à une thérapie essentiellement chimique

## Hémolyse et Anti-hémolyse

### 1. L'hémolyse

L'hémolyse est un phénomène irréversible au cours duquel les hématies sont détruites et libèrent leur contenu cellulaire notamment l'hémoglobine (Hb). Le degré d'hémolyse peut être régulé soit par :

- \* Des facteurs intracellulaires qui peuvent être : l'état de la membrane, le métabolisme énergétique intracellulaire, la structure de l'hémoglobine.

- \* Des facteurs extracellulaires : tels que le plasma, l'état anatomique de l'appareil circulatoire et l'état fonctionnel du système mononuclé phagocytaire (macrophages, monocytes et leurs cellules souches) (**Aguilar, 2007**). On peut distinguer deux types d'hémolyses, l'une est physiologique et l'autre est pathologique (hyper hémolyse) (**Lippi et al., 2011**).

#### 1. 1. Hémolyse intravasculaire

L'hémolyse intravasculaire n'intervient que pour 5 à 10%. Elle se passe à l'intérieur des vaisseaux et libère de l'hémoglobine directement dans le plasma. La partie protéique de l'hémoglobine se fixe sur l'haptoglobine. Dès que son pouvoir de liaison est dépassé (une lyse de 1% de la masse globulaire suffit à consommer complètement l'haptoglobine du plasma), des dimères libres d'hémoglobine apparaissent dans le plasma (hémoglobinémie), sont filtrés dans les glomérules et réabsorbés par les cellules tubulaires. La capacité de réabsorption est d'environ 5g/jour. Au-dessus de ce seuil, de l'hémoglobine apparaît dans les urines (hémoglobinurie). L'hémolyse intravasculaire est normalement minime et l'haptoglobine est capable de lier les dimères d'hémoglobine dans ces conditions. Ce n'est qu'en cas d'hémolyse exagérée comme dans les anémies hémolytiques que les autres processus se mettent en route. (Bossyt et Boeynaems., 2001)

#### 1. 2. Hémolyse extravasculaire

Processus prédominant les globules sont phagocytés et digérés par les macrophages spléniques et hépatiques. Le tétrapyrrole linéaire, la biliverdine, est convertie en bilirubine et transportée par l'albumine vers le foie ou elle est conjuguée et excrétée par la bile. Dans l'intestin, elle est convertie par l'activité bactérienne en urobilinogène (stercobilinogène) dont une partie est récupérée par le cycle entéro-hépatique, filtrée par les reins et excrétée dans les urines ( **Bossyt et Boeynaems, 2001**).

### 1. 3. Hémolyse physiologique

L'hémolyse est le phénomène irréversible par lequel les GR sont détruits et libèrent leur contenu hémoglobinique. Il s'agit d'un phénomène qui touche les hématies à la fin de leur vie dont la durée moyenne est de 120 jours. Cette hémolyse physiologique est essentiellement intra-tissulaire, cependant une faible partie de l'hémolyse physiologique se déroule au sein de la circulation sanguine. Les GR âgés, sont phagocytés par Les macrophages du système des phagocytes mononuclées. Chez le sujet normal, la majorité des GR sont détruits dans les macrophages de la moelle osseuse. Le reste de l'hémolyse se répartit dans l'organisme, en particulier dans la rate et le foie. Cette phagocytose porte sur des GR dont le vieillissement s'est traduit par :

- ✓ Des modifications biochimiques : diminution du contenu enzymatique, ralentissement métabolique, perte des lipides membranaires, phénomènes oxydatifs.
- ✓ Trouble des échanges ioniques : augmentation du flux de Na<sup>+</sup> dans la cellule et diminution de la concentration de K<sup>+</sup> intracellulaire.
- ✓ Des modifications morphologiques (tendance à la sphéricité par réduction de la surface membranaire et/ou hyperhydratation).
- ✓ Des modifications de la plasticité (diminution de la déformabilité des GR entraînant une stagnation dans les capillaires). (**Beaumont et Hergaux, 2005**)

### 1. 4. Hémolyse pathologique

C'est la destruction précoce et exagérée des GR circulants sous l'effet d'un processus hémolytique qui peut être intrinsèque (Hémolyse corpusculaire) ou extrinsèque (Hémolyse extra-corpusculaire). Ce processus peut être congénital ou acquis, il affecte toujours un des constituants vitaux du GR : membrane, enzyme, Hémoglobine (Hgb) (Beaumont et Hergaux ., 2005).

#### 1. 4. 1. Hyper hémolyse et les maladies associées

L'hyper hémolyse est le dépassement du processus physiologique de lyse des GR qui devient pathologique, ce phénomène est dû à une destruction excessive des hématies ou à un raccourcissement de leur durée de vie. Il peut se dérouler dans les vaisseaux (intra vasculaire). L'hémoglobine libérée se lie alors à l'haptoglobine. Comme, il peut se manifester hors des vaisseaux (extravasculaires), notamment au niveau de la rate (**Béraud, 2014**). L'hyper hémolyse peut se produit par l'introduction d'agents chimiques tel que certains médicaments, capables de modifier l'intégrité cellulaire en induisant une réorganisation et des

changements morphologiques qui résultent d'une cascade d'effets à partir de l'altération de la membrane lipidique conduisant finalement à la formation de sphéricités et par conséquent à la lyse des érythrocytes. (Portier *et al.*, 2007 ; Manaargadoo-Catin *et al.*, 2016). Un déséquilibre dans les proportions des radicaux libres générés et le répertoire antioxydant inhérent au système explique la diminution de la durée de vie des globules rouges pendant de nombreuses pathologies hyper hémolytiques (Hebanni *et al.*, 2014)

#### 1. 4. 2. Anémies hémolytiques corpusculaires

L'hémolyse pathologique se traduit souvent par des anémies hémolytiques. Ce sont des anémies congénitales par anomalies héréditaires des hématies qui peuvent affecter :

- **La membrane des hématies** : Anomalies de structure des protéines membranaires telles que l'Ankyrine et la protéine 3, conduisant au dysfonctionnement des ATPase membranaires et à une augmentation de la perméabilité aux ions Na<sup>+</sup> (sphérocytose, stomatocytose).

- **L'Hémoglobine** : Ces anomalies qui causent les hémoglobinopathies, peuvent être soit constitutionnelles de la synthèse de globine (diminution ou absence de la synthèse des chaînes de globines CAS des  $\alpha$  ET  $\beta$  thalassémie) ou constitutionnelles de la structure de globine (CAS de la drépanocytose). Comme, elles peuvent être des anomalies acquises de la molécule d'hémoglobine, c'est le cas de la méthémoglobine qui est congénitale ou acquise, la forme acquise provient d'une exposition aux toxiques ou aux agents oxydants.

- **Les enzymes**: Il existe plusieurs formes de déficiences d'enzymes pouvant causer l'anémie hémolytique, la plus courante est la déficience en une enzyme nommée glucose 6-phosphate déshydrogénase (G6PD), .Un déficit de cet enzyme provoque un déficit en NADPH qui se répercute sur la régénération du glutathion réduit et par conséquent sur l'activité du glutathion peroxydase au niveau du globule rouge, ce déficit se traduit par un défaut des peroxydes, à l'état basale, cette anomalie est bien supportée mais la prise de facteurs déclenchant (agents chimiques ou certains médicaments anti-inflammatoires) déclenche des crises hémolytiques (Béraud, 2014).

#### 1. 4. 3. Anémies hémolytiques non corpusculaire

L'hémolyse est induite par une destruction directe des hématies après leur altération. Ces anémies correspondent à des maladies acquises, telles que les anémies hémolytiques immunologiques et toxiques qui sont la conséquence de l'action de divers produits toxiques comme certains médicaments.

#### 1. 4. 4. Anémies résultantes d'une carence nutritionnelle

- **Anémie ferriprive** : C'est la plus fréquente des anémies, l'anémie par carence martiale se développe par stades, au cours de la première étape, les besoins en fer sont supérieurs aux apports ce qui provoque l'épuisement progressif des réserves de fer dans la moelle osseuse, à mesure que les stocks diminuent, l'absorption du fer alimentaire augmente au cours des étapes ultérieures, la carence altère la synthèse des globules rouges, puis finit par provoquer une anémie. (Béraud, 2014).

- **Anémie par manque en vitamine B12 et en acide folique** : Cette anémie est particulièrement courante chez les personnes âgées (plus de 75 ans). Elle est provoquée plutôt par un trouble d'absorption de la vitamine B12 au niveau intestinal qu'à une carence alimentaire (car les réserves sont importantes). Une carence en vitamine B12 et en acide folique affecte la moelle osseuse et est responsable d'une anémie macrocytaire mégalo-blastique (les globules rouges sont plus grands que la normale) (Béraud, 2014).

## 2. Les Anti-hémolytiques

### 2. 1. Les anti-hémolytiques classiques

L'anémie hémolytique est un sujet relativement complexe qui demande obligatoirement une investigation spécialisée pour déterminer des traitements appropriés, il y a autant de traitements qu'il y a de causes. Un certain nombre de substances synthétiques anti-hémolytiques qui réduit l'hyper-hémolyse, sont disponibles. Le choix du traitement se porte notamment sur la prescription de fer, de vitamine B12 et d'acide folique. (Federici et al., 2007 ; Leporrier, 2008).

➤ **Le fer** : Le rôle physiologique du fer est la synthèse de l'hème dans la mitochondrie. Le  $Fe^{2+}$  et la protoporphyrine vont donner l'hème, qui passe alors dans le cytoplasme. L'hème ensuite s'associe aux sous unités de globine  $\alpha$  et  $\beta$  pour former l'hémoglobine. Quand l'équilibre en fer est rompu (manque d'apport ou pertes élevées), l'organisme fait appel aux stocks de ferritine et d'hémosidérine. Lorsque ces stocks sont épuisés, on observe alors une diminution du fer plasmique ; l'érythropoïèse est ralentie, les érythroblastes s'appauvrissent en granules ferrugineux et les sidérolites disparaissent progressivement, l'anémie s'installe.

➤ **La vitamine B12 et B9 (cobalamine et acide folique)** : Ces deux vitamines dites anti mégalo-blastiques sont indispensables à la physiologie de l'hématopoïèse. En cas de carence de l'une de ces deux vitamines une hématopoïèse inefficace s'installe aboutissant à un état pathologique nommé « anémie mégalo-blastique » où les taux sanguins de plaquettes, de globules blancs et des globules rouges seront diminués. La conséquence commune aux modes

d'action de la vitamine B12 et des folâtrés est d'intervenir au niveau cellulaire dans la synthèse de l'ADN, une carence de ces vitamines se traduira par un trouble cellulaire très particulier dans lequel la division cellulaire (ADN) sera affectée (**Dubost et Dupuis, 2011**).

## 2. 2. Les anti-hémolytiques à base de plantes

L'étude et la recherche de substances anti-hémolytiques d'origine végétale est en plein essor. En effet, des études entreprises ont montrés que les plantes constituent un réservoir de substances à potentiel anti-hémolytique dont les mécanismes d'action restent dans l'ensemble à déterminer. Quelques exemples sont cités dans le tableau (1)

**Tableau 1** : Quelques exemples de plantes médicinales douées d'activité anti-hémolytique

Matrice végétale	Tests utilisés	Effets	Références bibliographiques
Fleur de <i>Albutinus indicum</i>	Hémolyse induite par Na Cl	Activité Anti-hémolytique : 70,24% à 1mg/ml d'extrait	Vidhya et Shobana, 2016
Feuilles, tige, fleur de <i>Gymnemas ylvestre</i>	Hémolyse induite par le H2O2	Activité anti hémolytique : IC50=29,83 g/ml	(James et Alewo 2014)
Fleur de <i>Cassia auriculata</i>	Hémolyse induite par le Na Cl	Activité Anti hémolytique : 64% à 500µg/ml d'extrait	(Rani et al.,2014)
Extrait de <i>Annona muricata</i>	Hémolyse par TritonX100	Activité Anti hémolytique : 85,7% à 500 µg/ml d'extrait	(Muthu et Duraira, 2015)
Extraits de <i>Oryza sativa</i>	Hémolyse induite par le Na Cl	Effet Anti hémolytique : 63,77% à 500µg/ml	(Rahman, Eswaraiah et al., 2015)
Fruit de <i>Persea americana</i>	Hémolyse induite par le H2O2	Effet anti hémolytique IC50=0,0422mg/ml	( Nabavi et al.,2013)
Feuilles de <i>Piber betel</i>	Hémolyse induite par le H2O2	Activité Anti-hémolytique : 40.6% pour une concentration de 5mg/ml	(Chakraborty et Shah , 2011)

## Présentation de l'Ortie brulante « *Urtica urens* L) »

### 1. Généralités sur l'Ortie

L'ortie fait partie de la famille des Urticacées qui compte une plus de cent de genres, dont le genre *Urtica*. Celui-ci regroupe plus de 80 espèces différentes, on peut citer : *Urtica dioica* L (la grande ortie) et *Urtica urens* L (la petite ortie) qui sont les espèces les plus utilisées pour leurs multiples propriétés (**Djerroumi et Nacef, 2012**).

Le mot *Urtica* pour les botanistes, provient du latin *uraerae*(brûler). Les innombrables poils qui la recouvrent, facilement visibles à l'œil nu et fort impressionnants à la loupe, sont tout autant de minuscules seringues hypodermiques remplies d'un venin urticant (**Couplan, 2008**).

### 2. Historique de la plante

Dans le langage des fleurs, l'Ortie signifie "trahison". Certains historiens pensent que la petite ortie était un aliment des populations préhistoriques et que sa culture dans le but de la consommer remonte à l'âge de la pierre (**Mostade, 2015**).

Dans l'antiquité l'ortie était vénérée par les Grecs, qui la nomment *akalyphe*, elle sert à soulager la toux et l'arthrite, à booster le transit intestinal et l'élimination rénale, à soigner la tuberculose...etc et la consommaient comme un légume (**Poiret, 1827**).

Dans la pharmacopée, depuis le (I<sup>o</sup> siècle) de notre ère jusqu'à la première moitié du vingtième siècle qu'on retrouve l'ortie régulièrement citée. Au premier siècle, Dioscoride lui attribue des vertus diurétique, laxative et emménagogues (régulatrices des menstruations). Cent ans plus tard, Galien insiste plutôt sur ses qualités nutritives. Cinq siècles plus tard, la pharmacopée la conseille contre les hémorragies et les hémoptysies (expectorations sanglantes) (**Iserin, 2001**). Au Moyen Age, sainte Hildegarde (XII<sup>o</sup> siècle) prescrit les graines contre les maux d'estomac, les vers intestinaux, la mémoire défaillante et les rhumes. Un bon nombre de ces indications sont aujourd'hui vérifiées et expliquées scientifiquement. Au XVI<sup>o</sup> siècle, elle sert à fabriquer des papiers, des cordes, des draps, des filets de pêche, des voiles pour les bateaux. L'ortie est même inscrite au Codex de la pharmacopée française au début du XIX<sup>o</sup> siècle. Une dizaine d'années après le conflit de la première guerre mondiale, la science donnera raison à l'instinct de ces consommateurs « obligés » par les restrictions car on découvre que l'ortie contient une sécrétine comparable à celle contenue dans l'épinard (**Mostade, 2015**).

L'ortie est appréciée depuis la Grèce antique et l'Inde ancienne en médecine ayurvédique. Son utilisation thérapeutique s'étale en Europe jusqu'au Moyen Age. Elle est tombée dans l'oubli et seuls la Russie et les pays scandinaves ont continué à cultiver.

Concurrencée par les progrès de la pharmacie, par l'essor des industries textiles, par la commercialisation d'engrais et de pesticides chimiques ou par la culture de nouveaux légumes, cette plante spontanée a été reléguée au rang de mauvaise herbe. Cependant, depuis quelques décennies, alors que les remèdes naturels sont de plus en plus populaires, on redécouvre les vertus de cette plante (**Frély, 2012**).

### 3. Systématique

D'après Angiosperme Phylogeny group III (APGIII, 2009), l'ortie suit la classification suivante :

Règne	Plantae
Embranchement	Angiosperme
Classe	Rosidaeae
Ordre	Rosales
Familles	Urticaceae
Genre	<i>Urtica</i>
Espèce :	<i>Urens L.1753</i>



**Figure 5 :** *Urtica urens* L

### 4. Description botanique

*Urtica urens* L est une plante herbacée, annuelle, qui mesure entre 20 à 60 cm, elle ne dépasse pas les 70 cm, elle est également couverte de poils urticants (**Frély ,2012**).

#### \* Feuilles

Les feuilles de taille réduites, des couleurs vert sombres, opposées, ovales, arrondies ou atténuées à la base, incisées dentées, à peine plus longues que larges, régulières et plus fragiles base, portées sur de longs pétioles, leurs piqûres plus brûlantes (**Delahaye, 2015 ; Lefief-Delcourt, 2012**). (Figure 5).

#### \* Tige

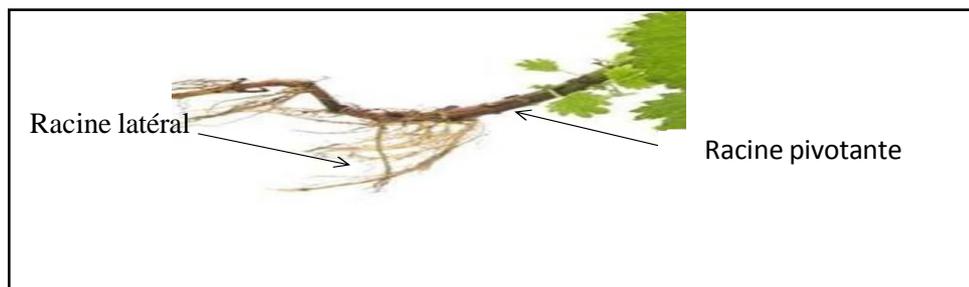
La tige dressée, anguleuse, souvent rameuse à la base, avec des poils urticants (**Daoudi et al 2015**) (Figure 6)



**Figure 6** : Aspect général de *Urtica urens* L (Daoudi et al 2015)

### Racine

La racine de la petite ortie est pivotante elle n'a pas de rhizome (Frély, 2012) (Figure 7)



**Figure 7** : Racine de *Urtica urens* L (Frély, 2012)

### La fleur

La Fleur a un goût aigre, de couleur jaune verdâtres, monoïque, forme des petits chatons verdâtres pour les mâles, se regroupent en grappes pendantes pour les femelles, disposent de quatre sépales mais pas de pétales. Les fleurs femelles sont beaucoup et plus nombreuses que les fleurs mâles. Sa floraison s'étale du mois mars jusqu'au mois d'octobre. Sa reproduction s'effectue surtout par ses graines au vent (chaque pied peut produire environ 1200 graines (Couplan, 2008 ; Mostade, 2015) (Figure 8)



**Figure 8** : Fleurs mâle et femelle de *Urtica urens* (Mostade, 2015)

### Les Fruits

Le fruit de l'ortie est un akène de forme ovoïde, il est minuscule, mesurant moins de 1mm (Frély, 2012) (Figure 9)



**Figure 9** : Fruits de *Urtica urens* (Frély, 2012)

## 5. Répartition géographique

### \* Dans le monde

On la trouve en Europe, très répandue en France, en Afrique du nord, Afrique du sud, en Asie, dans les régions tempérées et montagneuses et ce jusqu'à 2400 mètres d'altitude. On la retrouve également en Amérique du Nord (Frély, 2012).

### \* En Algérie

Espèce cosmopolite, relativement commune dans les ravins des montagnes de Kabylie et dans les régions de Skikda et Annaba, moins fréquente dans *L'Atlas blidéen* (Baba Aissa, 2000).

## 6. Exigences écologiques

L'ortie est une plante qui aime le voisinage des habitations, les décombres et lieux incultes. Elle pousse sur les terres humifères et légères ; on la rencontre dans les haies, les chemins, dans les champs et les jardins bien fumés ...etc. ( **Lefief- Delcourt, 2012 ; Verbois, 2015**).

Elle aime les sols frais et légers, l'ensoleillement lui semble indifférent puisqu'on la trouve aussi bien en plein soleil. Elle supporte tous les sols, surtout ceux contenant des matières organiques fraîches riches en azote, elle fait partie des plantes nitrophiles. Symbole de milieux riches et fertiles, l'Ortie ne pousse jamais seule, mais en grands massifs compacts à l'abri desquels s'installe de nombreux insectes (**Lefief-Delcourt, 2012 ; Mostade, 2015**).

## 7. Principaux constituants chimiques de l'ortie

Les différents constituants chimiques de l'ortie sont consignés dans le tableau suivant :

**Tableau 2 :** Les principaux constituants chimiques de l'ortie.

Groupes chimiques	Constituants
Vitamines	Provitamine A (rétinol) ,vitamine D ,acide pantothénique B <sub>5</sub> , riboflavine B <sub>2</sub> , acide ascorbique C, tocophérol E, K , et acide folique B <sub>9</sub> ( <b>Verbois , 2015</b> ).
Minéraux et oligo-éléments	Potassium (k), Calcium (Ca), Magnésium (Mg), Silice (Si), fer (Fe), Zinc (Zn), Manganèse (Mn), Sélénium (Se), Sodium (Na), Soufre (S) ( <b>Baba Aissa, 1999</b> ).
Flavonoïdes (7 familles)	-Isorhamnétol 3-O-glucoside, quercétol 3-O-glucoside et kaempférol 3-O-glucoside -Isorhamnétol 3-O-rutinoside, quercétol 3-O- rutinoside et kaempférol 3-O-rutinoside -Isorhamnétol3-O-neohespéridoside ( <b>Draghi, 2005</b> ).
Acides organique	Acides caféiques et ces esters, acide glycolique et glycérique, acide formique, acide citrique, acide malique, acide silique et acide gallique.( <b>Draghi, 2005</b> ).
Neuromédiateurs	Histamine,choline, acétylcholine, sérotonine, petite quantité de leucotriènes.( <b>Iserin, 2001</b> ).

Protéines	9% de l'ortie fraîche, en poids sec 40%, de fer à raison de 7,8mg pour 100gr et du calcium à raison de 630mg par 100gr .au niveau énergétique elle est aussi de 57 calories par 100gr soit 0,70gr de lipides et 7,10gr de glucides <b>(Mostade, 2015)</b> .
Acides aminés	Leucine, isoleucine, lysine, méthionine, phénylalanine, tryptophane, thréonine, valine <b>(Bourgeois, 2012)</b> .
Autres constituants	-Beaucoup de Chlorophylle environ 10% à 60%. -mucilages et des tanins. -huile grasse (forte proportion d'acide linoléique,) dans le fruit. -On note aussi la présence de stérols et phénols dans la racine <b>(Iserin, 2001)</b> .

## 8. Usages et propriétés de l'ortie

### 8. 1. Usages thérapeutiques

Selon plusieurs auteurs, citant **Verbois, (2015) ; Mostade, (2015) et Astier, (2017)** ont montré que l'ortie possède plusieurs propriétés thérapeutiques, de la racine à la tige, des feuilles aux fleurs, dont les plus importantes sont :

- Régénératrice du sang, antianémique et antihémorragique.
- Reminéralisante (en cure de revitalisation) et efficace contre l'arthrose, les rhumatismes et la goutte.
- Antiulcéreuse et antioxydants elle stimule les fonctions digestives et favorise la bonne régulation du transit intestinal.
- Dépurative, diurétique et astringente.
- Tonique et antiasthénique, elle constitue un bon supplément pour la femme enceinte.
- Hémostatique, anti diarrhéique.
- Galactagogue (augmentation de lactation).
- Cholagogue
- Vermifuge et révulsive.
- Souveraine dans les maladies infectieuses par ses propriétés virulicides et antibactériennes
- Fait baisser le taux de glycémie et aides les malades qui souffrent du diabète grâce aux propriétés hypoglycémiantes de ses feuilles.
- Antiénurésique

- Utilisée en cosmétiques et permet de lutter contre les ongles cassants, la chute des cheveux et favorise leur repousse
- Améliore l'attention intellectuelle et agit efficacement sur l'anxiété et la déprime.
- Le traitement de l'acné est possible grâce à l'effet anti-inflammatoire de zinc qu'elle contient.
- Les racines ont une action bénigne sur la prostate.

## 8. 2. Usage externe

La partie aérienne d'ortie est utilisée par voies orale et locale. Principalement utilisée sous forme d'infusion, de tisane, de jus frais. Il est traditionnellement utilisé dans les entorses, les elongations musculaires, la tendinite, la névralgie, la sciatique, les brûlures, les hémorroïdes, les piqûres d'insectes, l'acné, psoriasis, stimuler la poussée des cheveux, et pour soulager les douleurs arthritiques et rhumatismales (**Mostade, 2015**).

- *Feuilles fraîches* : l'application des feuilles fraîches pendant 30 secondes sur la partie douloureuse peuvent soulager les douleurs arthritiques ( Bourgeois, 2012)

Suc d'ortie : écraser des feuilles d'ortie fraîches dans une serviette pour en extraire le suc contre les hémorragies (nasales, utérines) en application locale (**Iserin, 2001 ;Bourgeois, 2012**).

- Racines d'ortie : sont indiquées pour les soins du cuir chevelu, en friction tonique ; pour soigner le muguet, les aphtes, les saignements des gencives (**Couplan, 2008; Bourgeois, 2012**).

## 8.3. Usage interne

La partie aérienne est utilisée comme décoction ou infusion contre les hémorragies, les néphrites, les lithiases, l'ictère, l'entérite, les diarrhées les rhumatismes et l'anémie ( Baba Aissa 1999)

Les racine : est employée comme diurétique, astringent et contre l'hypertrophie bénigne de prostate ( Wichtl et Anton 2003)

# Partie 2. Expérimentale

## Chapitre 1.

### Matériels et Méthodes

## 1. Matériels et Méthodes

### 1. 1. Généralité

Notre travail a été fractionné en deux parties d'études : les tests photochimiques et l'activité anti-hémolytique. Le protocole expérimental a été effectué au laboratoire de biochimie N°3 et le laboratoire N°2 pour la réalisation des étapes de la centrifugation et le N°1 pour la lecture des résultats au spectrophotomètre à l'université Abdel Hamid Ibn Badis de Mostaganem. Notre projet d'étude de fin de cycle universitaire rentre dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales dans le but de l'enrichissement des connaissances dans le domaine de la pharmacopée populaire. Il traite l'effet des extraits des parties aériennes et souterraines de l'Ortie (*Urtica urens* L) sur l'activité anti-hémolytique.

### 1. 2. Matériels biologiques

#### A. Le matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué des parties aériennes et souterraines de l'Ortie (*Urtica urens* L). Les feuilles et les racines ont été triées, lavées puis séchées à l'ombre à température ambiante pendant près d'une semaine (jusqu'à stabilisation du poids sec). Une fois sèches, ces parties ont été broyées puis stockées à l'abri de la lumière. La poudre végétale est réservée pour les tests phytochimiques et l'activité anti-hémolytique.

Règne	Plantae	
Embranchement	Angiosperme	
Classe	Rosidaeae	
Ordre	Rosales	
Familles	Urticaceae	
Genre	<i>Urtica</i>	
Espèce	<i>Urens</i> L.1753	

**Figure 10** : L'Ortie brulante récolté d'un jardin au niveau de la région de Khair-Eddine

#### B. Le matériel humain : Le sang

Le sang humain utilisé provient de volontaires sains, non-fumeurs, n'ayant pas suivi de médication (pas de traitement anti-inflammatoires). Les échantillons sont récupérés dans des tubes héparines, puis conservés à 4°C. De préférence d'utiliser le sang fais comme échantillon de test disponible le même jour du protocole expérimental

## C. Matériels de laboratoire

Les réactifs	Verreries et appareils
Méthanol- Chloroforme Réactif de Mayer-HCl- KI- NH <sub>4</sub> OH- Andhydre acétique- H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> - Liqueur de Fehling A et B - Eau distillé- KCl- Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> - KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> -NaCl- Folin Acide gacique- quersétine	Tubes à essai- éprouvettes graduée flacons- bécher- entonnoir-papier filtre- balance, bain marie centrifugeuse-UV- micropipette plaque chauffante plus agitateur. Tubes héparines Spectrophotomètre Etuve

### 1. 3. Méthodologies

#### 1. 3.1. Séchage et broyage du matériel végétal

Après un séchage à l'air libre et à l'obscurité (Figure 11, A), les parties aériennes et souterraines de *Urtica urens* ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à obtention d'une poudre fine et homogène (Figure 11, B)



**Figure 11:** Parties de l'Ortie brûlante séchées et broyées

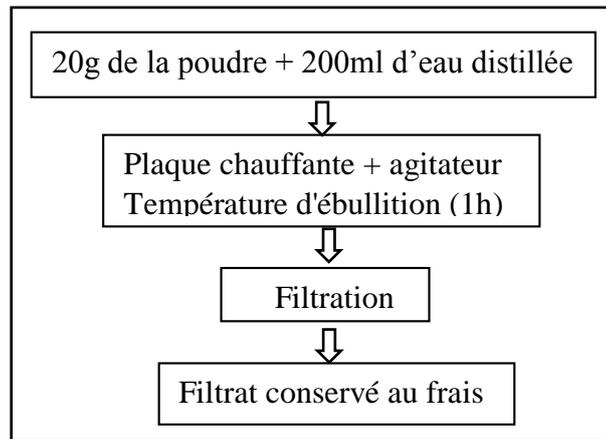
A. Feuilles et racines séchées

B. Poudre végétale des feuilles

#### 1. 3. 2. Préparation des extraits de l'Ortie brûlante

##### A. Préparation de la décoction en milieux aqueux

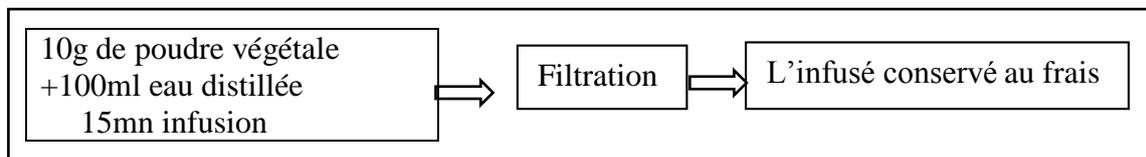
- Mélanger 20 g du matériel végétal séché et broyé avec 200 ml d'eau distillée
- Chauffer à une température d'ébullition stable, pendant 1 heure, dans une plaque chauffante avec agitateur.
- Filtrer le mélange et récupérer le filtrat



**Figure 12 :** Protocole de préparation de la décoction aqueuse

### B. Préparation de tisane par infusion

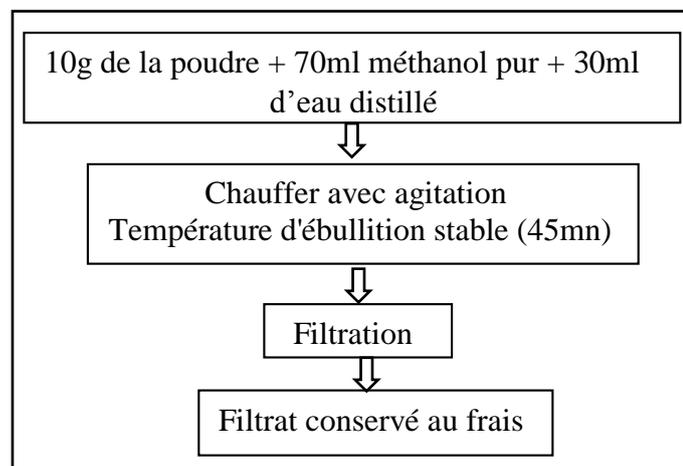
- Introduire 10 g de poudre végétale dans 100 ml de l'eau distillée bouillie
- Laisser infuser pendant 15 mn ensuite filtré la préparation et conserver dans des flacons propres au réfrigérateur



**Figure 13 :** Protocole de préparation de la solution de l'infusion

### C. Décoction en milieu hydro alcoolique (méthanol-eau 70/30)

- Mélanger 10 g du matériel végétal avec 70 ml de méthanol et 30 ml d'eau distillée
- Chauffer à une température d'ébullition stable, pendant 45 mn, dans une plaque chauffante avec agitateur.
- Filtrer le mélange et récupérer le filtrat



**Figure 14 :** Protocole de préparation d'extrait hydro alcoolique par décoction

## D. Décoction en milieu chloroformique

- Mélanger 5 g du matériel végétal avec 50 ml de chloroforme
- Chauffer à une température d'ébullition stable, pendant 45 mn, dans une plaque chauffante avec agitateur puis filtrer le mélange et récupérer le filtrat

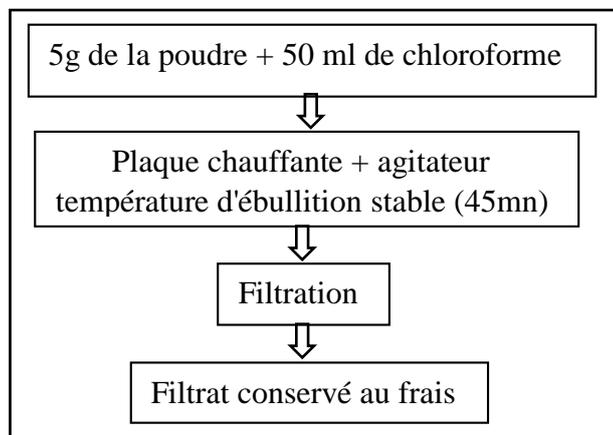


Figure 15 : Protocole de préparation de l'extrait chloroformique par décoction

### 1. 3. 3. Les tests phytochimiques

Les tests phytochimiques sont réalisés sur l'extrait hydro-alcoolique, l'infusé, le décocté et l'extrait chloroformique de la partie aérienne de L'Ortie brûlante. La mise en évidence des constituants chimiques est basée sur la coloration de l'extrait déjà traitée par des réactifs révélateurs spécifiques pour chaque groupe chimique. Le taux des composés chimiques de l'extrait testé est estimé en fonction de l'intensité de la coloration

#### A. Les flavonoïdes

Ajouter à 2ml d'extrait de plante, quelques gouttes de HCl 37% et 0,5g de MgCl<sub>2</sub>. Le test positif est marqué par l'apparition d'une couleur rouge ou orange qui caractérise les flavonoïdes. (Karumi *et al*, 2004)

#### B. Les terpénoïdes

-Mélanger 1 ml de chloroforme et 1.5 ml de H<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> avec 2.5 ml d'extrait. La présence des terpénoïdes est révélée par l'apparition de deux phases et une couleur marron en interphase.

#### C. Les alcaloïdes

2.5 ml d'HCl à 1 %, sont ajoutés à 1 ml d'extrait puis incubés au bain- marie pendant 10 min.

#### \* Réactif de Mayer

Prendre 1,4ml de H<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> dans 60 ml d'eau distillé puis ajouter à 5g de KI dans 10ml d'eau distillé. Mélanger les deux préparations et ajuster le volume total à 100ml.

**\*Réactif de Wagner**

Dans 75ml d'eau distillée, dissoudre 2g de KI et 1.27g de I<sub>2</sub>. Le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée. La solution d'extrait déjà préparée est divisée en deux parties. -Ajouter le réactif de Mayer à une partie et le réactif de Wagner à l'autre partie. L'apparition d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes.

**D. Les tanins**

15 gouttes de Fe Cl<sub>3</sub> 1% sont ajoutées à 5 ml d'extrait. Après 2mn d'incubation, un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue noirdate ou verte

**E. Les coumarines**

Préparer une solution avec 1ml de la solution d'extrait et 1 ml d'eau chaude. La solution obtenue est divisée en deux parties égales dont la première représente un témoin et le deuxième est traitée avec 0.5 ml de NH<sub>4</sub>OH à 10%. L'examen est réalisé sous la lumière ultraviolette). L'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence des coumarines. (Bruneton, 1999).

**F. Les stérols**

- Ajouter à 1 ml d'extrait 2.5 ml d'anhydride acétique et 10 gouttes d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrée. Les stérols sont révélés par une coloration violacée virant au vert.

**G. Les quinones**

- Quelques gouttes de Na OH à 1% sont ajoutées à 1ml de l'extrait. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (Oloyede, 2005).

**H. Les saponines**

- Ajouter 1 ml d'eau distillée à 2 ml de solution d'extrait - Agitation pendant 1 minute L'apparition d'une mousse qui persiste durant 15 minutes et dont l'épaisseur égale ou dépasse 1 cm. indique la présence des saponines

**I. Les composés réducteurs**

1 ml de l'extraits est mis au contact avec 0.5 ml de Liqueur de Fehling (A et B) le mélange est porté chauffé au bain marie à 100°C. Un test positif est indiqué par l'apparition d'un précipité de couleur rouge brique (Trease et Evans, 1987)

**J. Dosage des polyphénols totaux**

Dans le but d'évaluer quantitativement le contenu en composés phénoliques de l'extrait de L'Ortie (*Urtica urens* L.), un dosage des PPT par la méthode colorimétrique au Folin Ciocalteu

mise au point par Singleton et Rossi en 1965 a été réalisé. Un volume de 200 µl de l'extrait ou d'acide gallique a été préparé à une concentration de 100 µg/ml puis additionné de 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué au dixième). Après 4 minutes, 800 µl de la solution de carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75 mg/ml) sont ajoutées afin de stabiliser la réaction. Après agitation, le mélange réactionnel est incubé pendant 45 min à température ambiante et à l'obscurité. Une fois l'incubation arrivée à son terme, une lecture des densités optiques (DO) est effectuée à 760 nm. Le protocole que nous avons appliqué est basé sur la réduction en milieu alcalin des constituants du réactif de Folin, qui sont un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Ces derniers sont réduits lors de l'oxydation des composés phénoliques, en mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène (**Boizot et Charpentier, 2006**). Cela donne au mélange une couleur bleue dont l'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon analysé. L'absorbance est mesurée à 760 nm. Les valeurs des concentrations sont déduites par extrapolation à partir de la droite de la courbe d'étalonnage établie à l'aide de la solution de référence d'acide gallique à des concentrations allant de 10 à 100 µg/ml. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g). La solution mère de l'échantillon à doser ainsi que la gamme étalon sont préparées le même jour et dans les mêmes conditions opératoires.

#### **K. Dosage des flavonoïdes**

Le dosage des flavonoïdes a été effectué par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) citée par **Djeridane et al., (2006)**. Le principe du dosage est basé sur la capacité des flavonoïdes à chélater via leurs groupements hydroxyles (OH) libre l'ion Al<sup>3+</sup> et former un complexe jaunâtre (**Quettier et al., 2000**). 1ml de la solution d'extrait végétale à 1mg/ml est mélangé avec 1 ml d'une solution de chlorure d'aluminium AlCl<sub>3</sub> à 2%. Après 10min d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 448nm. La concentration des flavonoïdes dans les différents extraits de l'Ortie ce fait à l'aide des gammes d'étalonnage établies avec la quercétine par gramme de matière Sèche (mgEQ/gMS).

#### **1. 3. 4. Evaluation de l'activité anti-hémolytique de *Urtica urens* L**

L'étude de la protection de la membrane érythrocytaire présente un intérêt crucial dans le traitement de certaines pathologies hémolytiques.

L'objectif de cette étude est l'évaluation de la capacité des extraits déjà préparés de *Urtica urens* L à empêcher l'hémolyse des globules rouges humains (GRh), induite par un stress

osmotique, thermique et par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. L'exposition des globules rouges à certains paramètres physicochimiques telles que le milieu hypotonique, l'utilisation d'un perturbateur membranaire comme les détergents ou les espèces réactives oxygénées, les températures élevées, provoque une rupture de sa membrane cytoplasmique et par conséquent la libération de l'hémoglobine qui sera alors doser par spectrophotométrie d'absorbance visible. L'utilisation des globules rouges est motivée par le fait qu'ils soient admis comme modèle cellulaire en recherche scientifique et qu'ils partagent des similitudes avec d'autres membranes cellulaires, notamment celle du lysosome (Shobana et Vidhya, 2016).

#### **1. 3. 4. 1. A. Préparation de la suspension érythrocytaire**

La suspension érythrocytaire a été préparée suivant les étapes décrites par Hebbani et al, (2014) Du sang fraîchement prélevé sur des tubes héparine est centrifugé à 3000 tours /minutes durant 15 min, après élimination du surnageant le culot est lavé 3 fois par Solution physiologique puis suspendu à nouveau dans ce même volume que le surnageant éliminé. Après le culot est suspendu à nouveau dans une solution de tampon phosphate salé (PBS) à 0,2M, PH = 7,4 (1 volume du culot et 9 volume de PBS, un hématocrite à 10 %).

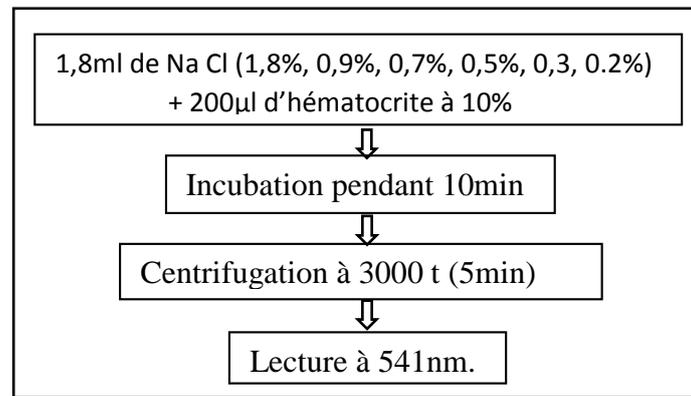
#### **1. 3. 4. 2. Induction de l'hémolyse vitro.**

Pour tester l'effet anti hémolytique de notre extrait de L'Ortie, des tests d'hémolyse induits sur le modèle érythrocytaire par une création d'un milieu hypotonique, la température élevée, et par l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ont été mis aux points. Ces tests correspondent aux témoins positifs de l'hémolyse.

##### **A. Test d'hémolyse induit par l'hypotonie**

Dans ce volet de notre étude, nous avons appliqué le protocole de Freitas et al. (2007) qui consiste à générer un stress osmotique par une variation des concentrations en NaCl, utilisées allant de 0.2%, 0.3%, 0.5%, 0.7 % , 0.9 % et 1.8%

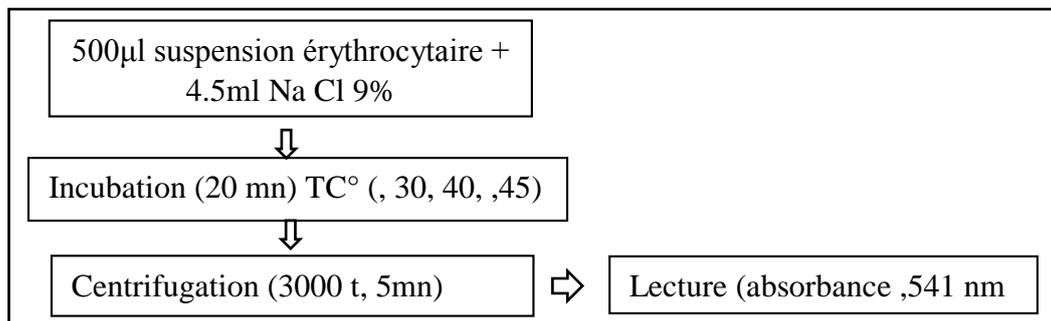
- 1,8 ml de Na Cl à différentes concentrations est ajoutés à 200µl de la suspension de GR à 10% d'hématocrite. La préparation a été mélangée, homogénéisée, incubée à température ambiante pendant 10 min, ensuite centrifugée à 3000T/mn pendant 5min. La densité optique du surnageant a été mesurée à 541nm



**Figure 16 :** Induction de l'hémolyse par Na Cl sur l'hématocrite à 10%

### B. Test de thermo-hémolyse.

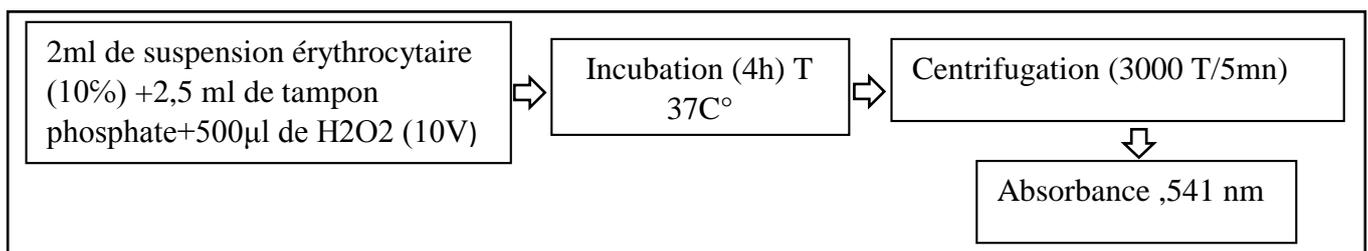
- 500 µl de la suspension érythrocytaire à 10% ont été mélangés avec 4,5ml de Na Cl à 9%
- Le mélange est incubé pendant 10 et 20 mn à différentes températures (30°C, 40°C, 45°C),
- Après la centrifugation, les absorbances sont mesurées à 541nm



**Figure 17 :** Induction de l'hémolyse par la température sur l'hématocrite à 10%

### C. Test d'hémolyse induit par le H2O2

- Selon le protocole décrit par James et Alewo (2014).
- 2ml de suspension érythrocytaire (10 %) ont été mélangés avec 2,5 ml de tampon phosphate (0,2M, PH=7,4)
- 500 µl de H2O2 (10V) ont été ajoutés au mélange
- Le mélange a été incubé pendant 4 heures à 37°C, puis centrifugé à 3000 tpm (10 min), l'absorbance du surnageant a été mesurée par spectrophotométrie à 541nm.



**Figure 18 :** Induction de l'hémolyse par H2O2 sur l'hématocrite à 10%

### 1. 3. 4. 3. Test de protection des extraits de l'Ortie vis-à-vis de l'hémolyse induite par l'hypotonie, la température et le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

#### A. Effet protecteur (anti-hémolytique) de l'extrait vis-à-vis d'un stress hypotonique

L'exposition de l'érythrocyte à un stress hypotonique aboutit à la lyse de sa membrane qui s'accompagne par le relargage de l'hémoglobine. Cette partie d'étude consiste à traiter la suspension érythrocytaire par l'extrait de L'ortie (*Urtica urens* L.) avant l'induction de l'hémolyse et d'évaluer l'activité anti hémolytique au spectrophotomètre. Le taux d'hémolyse de l'extrait végétal est calculé en pourcentage (%) par rapport à l'hémolyse induite - 200 µl de la suspension érythrocytaire à 10 % est mélangé avec 1.8 ml de tampon phosphate (pH 7.4). Une solution à concentrations variables en Na Cl citées précédemment est ajoutée, où chaque concentration est combinée à des concentrations variables de l'extrait (solution brute (100%), 25%, 50 %)

La préparation est incubée à la température ambiante pendant 10 mn. Après centrifugation, l'absorbance du surnageant a été mesurée à 541nm et le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse est calculé par l'équation suivante :

$$\text{Inhibition de l'hémolyse (\%)} = (\text{Do1} - \text{Do2}/\text{Do1}) \times 100$$

**Do1** = Densité optique de la solution hypotonique des globules rouges sans l'extrait

**Do2** = Densité optique de la solution hypotonique de globules rouges avec l'extrait

#### B. Effet protecteur (anti-hémolytique) de l'extrait vis-à-vis de la thermo-hémolyse.

L'évaluation de l'activité protectrice des extraits de la plante vis-à-vis de l'hémolyse induite par un stress thermique est réalisée in vitro par la méthode spectrophotométrique décrite par **Sakat et al. (2010)**.

- 4,5 ml d'extrait végétal à différentes concentrations déjà citées est dissout dans un tampon phosphate (pH 7.4 ; Na Cl)

- 500 µl de suspension érythrocytaire sont ajoutés puis l'incubation pendant 20min à différentes températures (30C°, 40C°, 45C°) a été réalisée.

- Après incubation, les tubes sont immédiatement refroidis à l'eau de robinet, puis centrifugés pendant 10 minutes et l'absorbance du surnageant est estimée à 540 nm.

Parallèlement, un control positif a été réalisé en remplaçant l'eau physiologique par 5 ml d'eau distillée provoquant ainsi une hémolyse totale (100 %). Le pourcentage de protection contre l'hémolyse induite par la chaleur est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Protection (\%)} = 100 - (\text{Do échantillon} / \text{Do contrôle}) \times 100$$

### C. Effet protecteur (anti-hémolytique) de l'extrait végétal vis-à-vis de l'hémolyse induite par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Ajouter à 500 µl de l'extrait 2 ml de suspension érythrocytaire puis incuber 1 mn à la température ambiante

- Ajouter 2,5 ml de tampon phosphate et 500 µl de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

- Centrifuger ensuite lire l'absorbance du surnageant

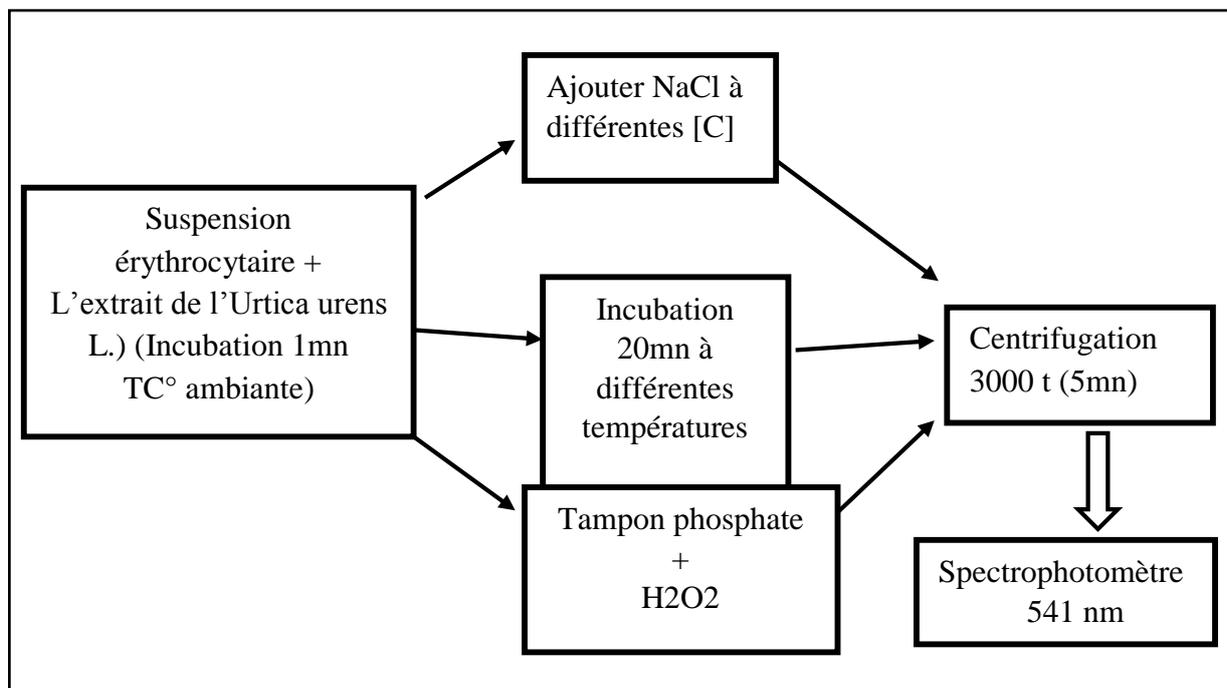
Le résultat du pourcentage de l'activité anti-hémolytique est calculé selon l'équation

$$\text{Inhibition de l'hémolyse (\%)} = (\text{Do1} - \text{Do2} / \text{Do1}) \times 100$$

**Do1** = Densité optique de la suspension érythrocytaire traitée par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sans l'extrait

**Do2** = Densité optique de la solution hypotonique de globules rouges avec l'extrait

Le protocole expérimental de l'effet anti-hémolytique de l'extrait de *Urtica urens* L est résumé dans le schéma suivant (figure 19)



**Figure 19:** Schéma de l'effet anti-hémolytique de l'extrait de l'Ortie (*Urtica urens* L.)

# *Partie 2. Expérimentale*

## *Chapitre 2. Résultats*

## 2. Résultats et Interprétations

### 2.1. Résultats des tests phytochimiques des extraits de feuilles de *Urtica urens* L

Le criblage phytochimiques a été réalisé sur différents extraits des parties aériennes de la plante *Urtica urens* à savoir, l'extrait d'infusion et de décoction dans le milieu aqueux, la décoction en milieu méthanolique et la décoction en milieu chloroformique. Concernant la partie racinaire, le test phytochimique a été appliqué seulement sur la décoction aqueuse

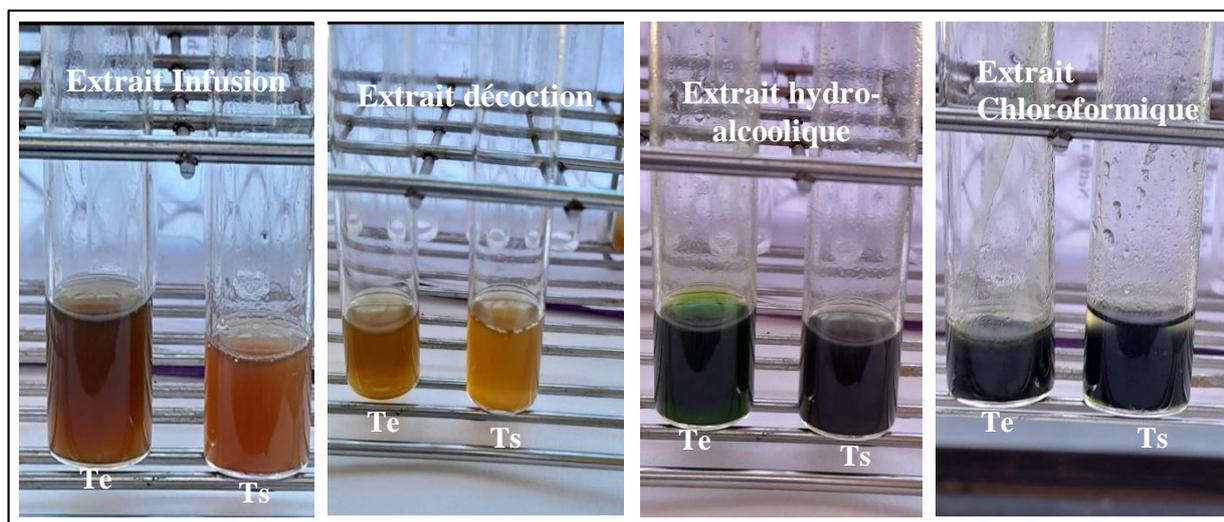
Ces tests ont été révélés en se basant sur le degré de la coloration de l'extrait dont l'intensité indique une présence importante du métabolite secondaire. Le tableau (3) et les figures (20 jusqu'au 26) regroupent l'ensemble des résultats

Les légendes Te et Ts correspondent au témoin et les tests respectivement

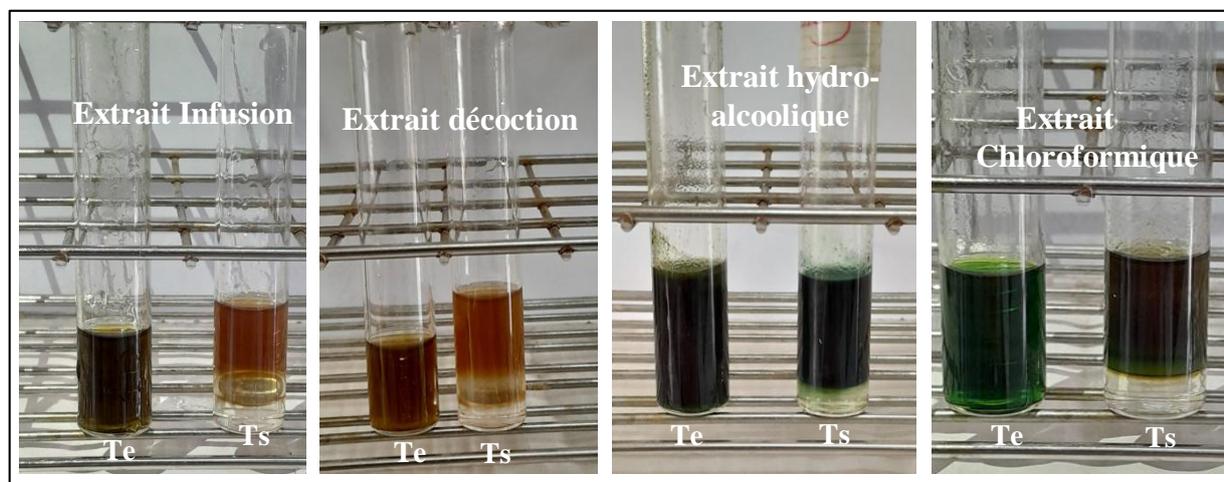
**Tableau 3** : Tests phytochimiques des extraits des parties aériennes de l'Ortie brûlante

Les tests phytochimiques		Les extraits			
		Aqueux décoction	Aqueux infusion	Décoction chloroformique	Décoction hydro alcooliques
Métabolites secondaires					
Les flavonoïdes		+++	+++	++	++
Les terpénoïdes		+++	+++	++	++
Les alcaloïdes	Mayer	++	++	+	+
	Wagner	++	++	+	+
Les saponines		-	-	-	-
Les tanins		+	+	+++	+++
Les stérols		-	-	+++	+++
Les coumarines		++	+	-	-
Les quinones		+++	+++	-	-
Les composés réducteurs		-	-	-	-

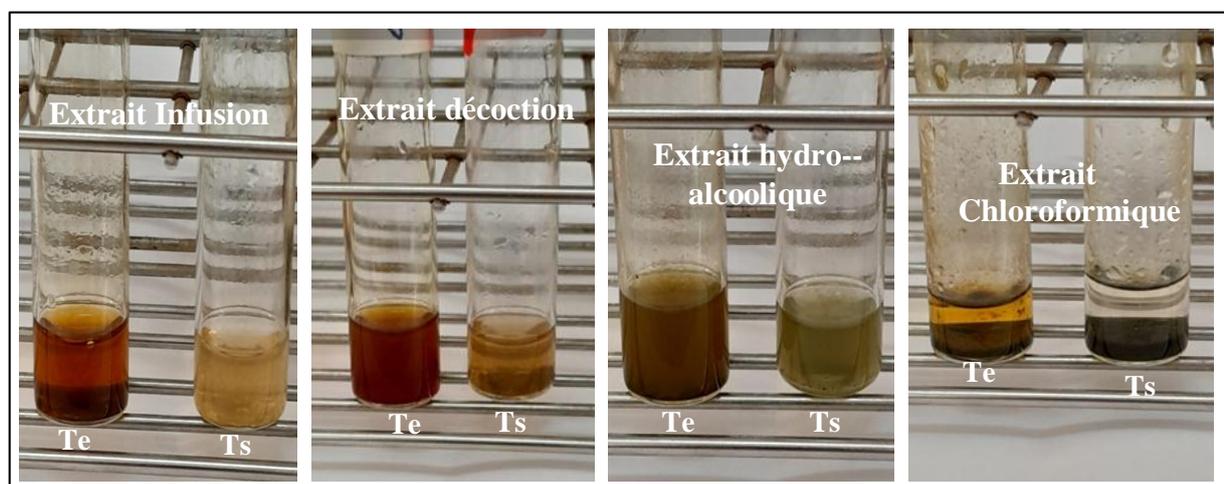
+++ : Fortement positif   - : Négatif   ++ : Moyennement positif   + : Faiblement positif



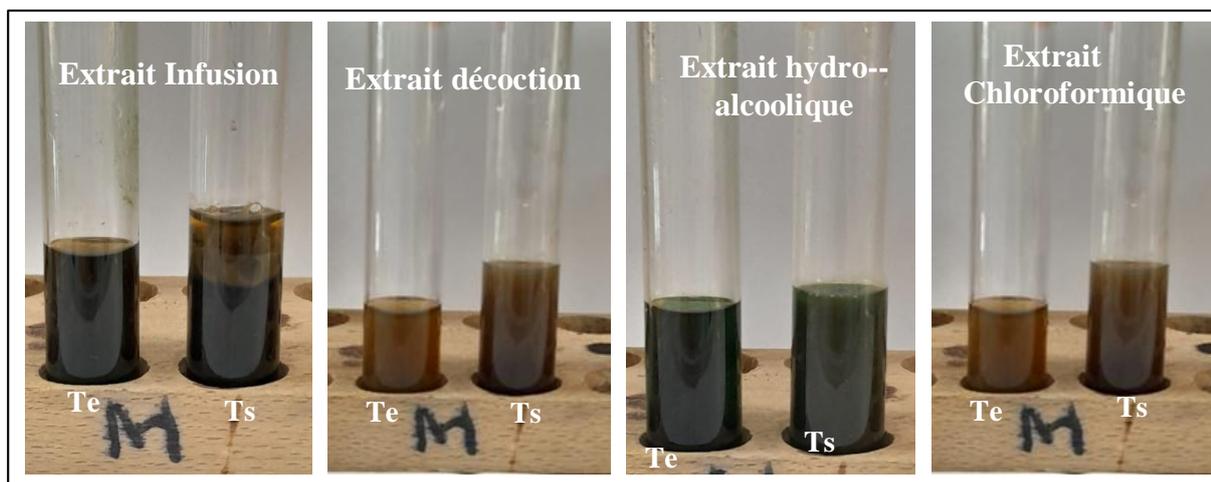
**Figure 20 :** La mise en évidence des flavonoïdes aux niveaux des extraits des feuilles de *U. urens*



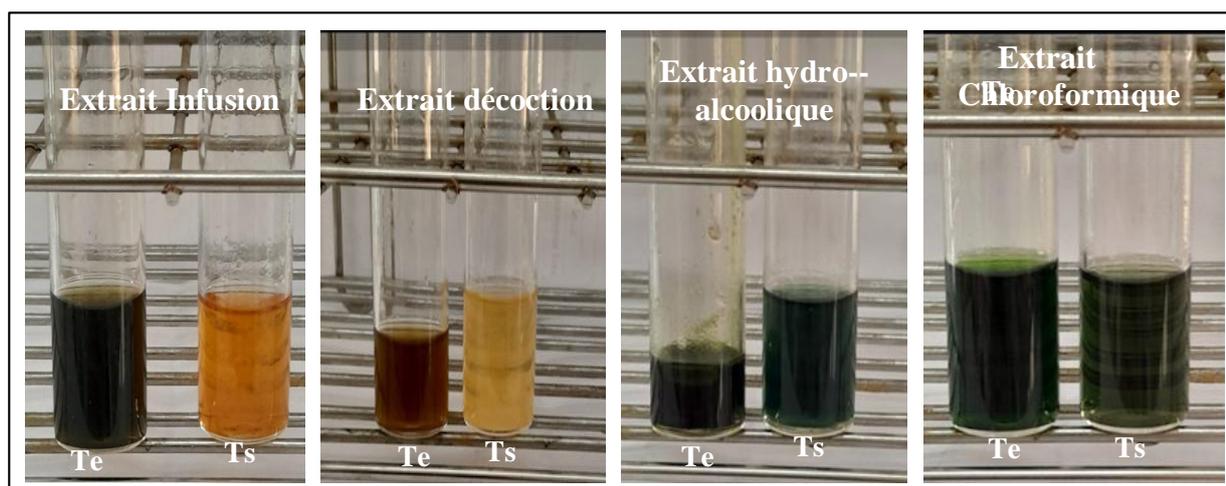
**Figure 21 :** La mise en évidence des terpénoïdes aux niveaux des extraits des feuilles de *U. urens*



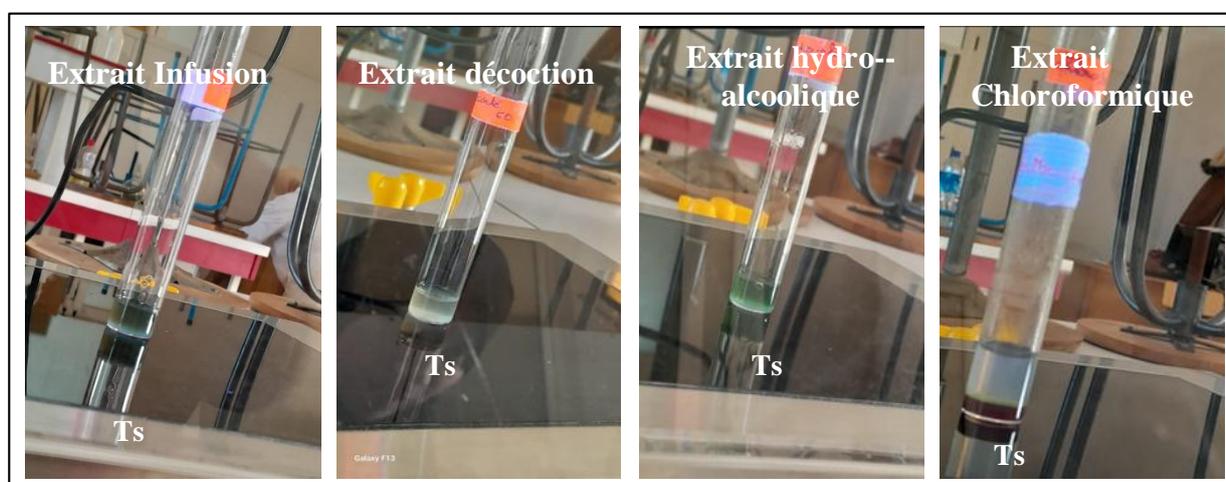
**Figure 22 :** Mise en évidence des alcaloïdes aux niveaux des extraits des feuilles de *U. urens*



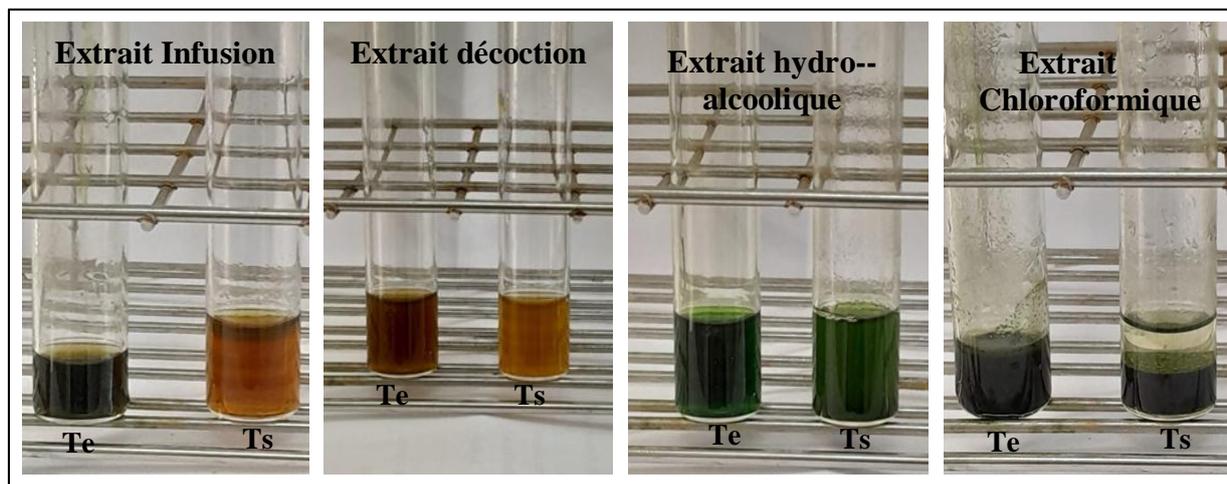
**Figure 23 :** Mise en évidence des tanins aux niveaux des extraits des feuilles de *U. urens*



**Figure 24 :** Mise en évidence des stérols aux niveaux des extraits des feuilles de *U. urens*



**Figure 25 :** Mise en évidence des coumarines aux niveaux des extraits des feuilles de *U. urens*



**Figure 26** : Mise en évidence des quinones aux niveaux des extraits des feuilles de *U. urens*

## 2. 2. Résultats des tests phytochimiques des décoctés aqueux des racines de *Urtica urens* L

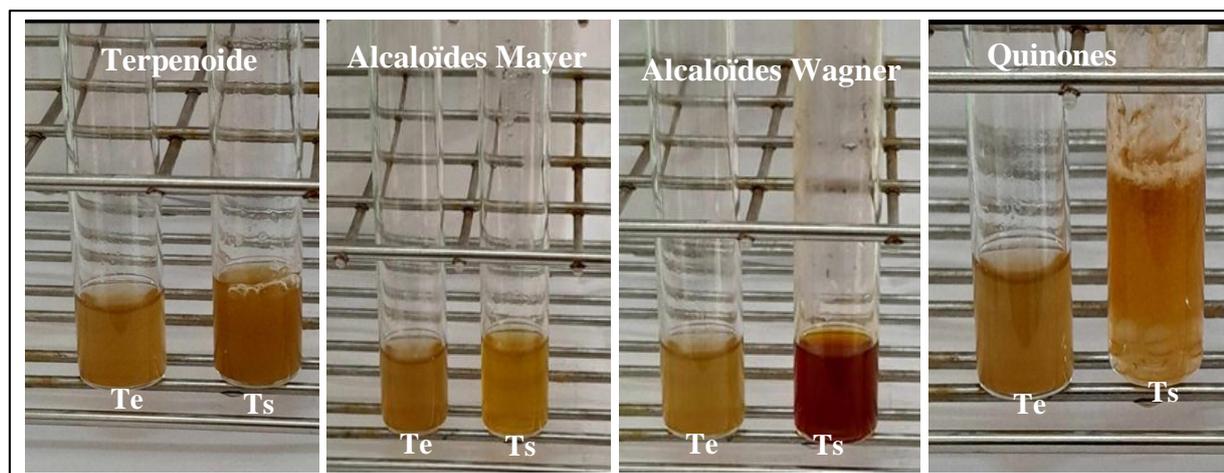
Les résultats du tableau (4) et les figures (27, 28 et 29) présente l'ensemble des données enregistrées des tests phytochimiques au niveau des racines de l'ortie brûlante

Les légendes Te et Ts correspondent au témoin et les tests respectivement

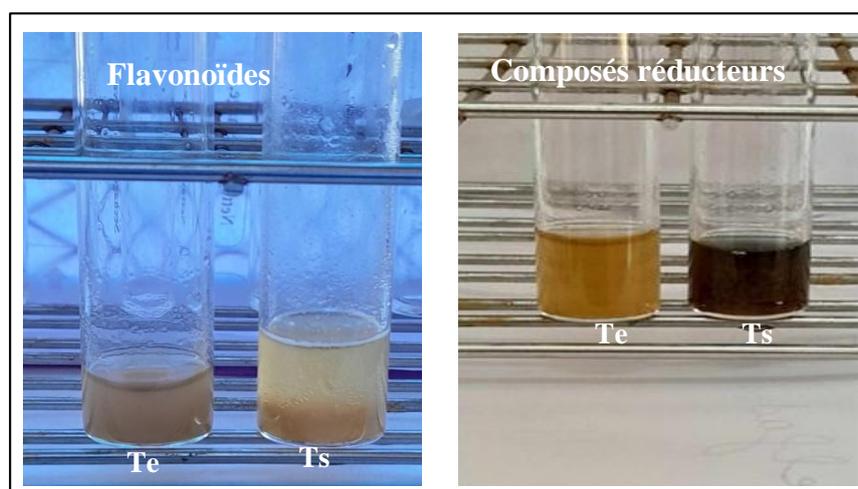
**Tableau 4** : Tests phytochimiques des extraits de la partie racinaire de l'Ortie brûlante

Les tests phytochimiques		Les extraits aqueux
Métabolites secondaires		Extrait de décoction
Les flavonoïdes		+++
Les terpénoïdes		++
Les alcaloïdes	Mayer	++
	Wagner	++
Les tanins		-
Les stérols		-
Les coumarines		-
Les quinones		++
Les saponines		-
Les composés réducteurs		+++

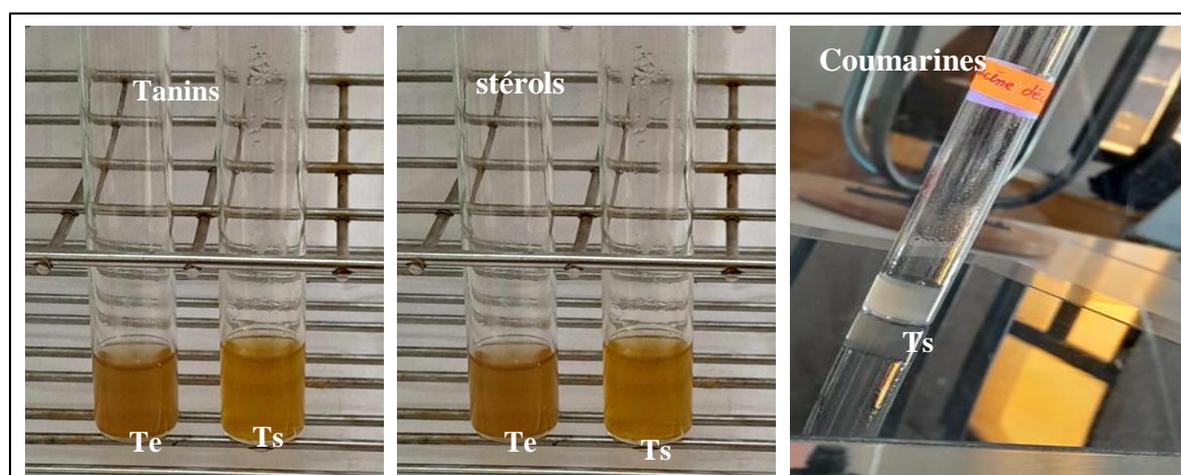
+++ : Fortement positif    - : Négatif    ++ : Moyennement positif    +: Faiblement



**Figure 27** : Mise en évidence des terpénoïdes, des alcaloïdes et des quinones au niveau des racines de *Urtica urens*



**Figure 28** : Mise en évidence des flavonoïdes et, des composés réducteurs au niveau des racines de *Urtica urens*



**Figure 29** : Mise en évidence des tanins, stérols et des coumarines au niveau des racines de *U.urens*

## Interprétations

Le screening phytochimique des parties aériennes et souterraine de *Urtica urens* a révélé une présence des métabolites secondaires qui varie selon le type d'extrait dont il existe une affinité du solvant à extraire la substance chimique et selon le révélateur spécifique pour chaque paramètre phytochimique

### ➤ Au niveau des feuilles

Les flavonoïdes et les terpénoïdes sont majoritairement présents dans les extraits aqueux d'infusion et de décoction en comparaison avec l'extrait hydro-méthanolique et chloroformique, ces molécules sont moins révélées (Tableau 3) (Figures 20 et 21) respectivement. Les deux tests (Mayer et Wagner) ont montré que les alcaloïdes sont mieux révélés au niveau des extraits aqueux par rapport aux extraits hydro-alcooliques et chloroformiques (Tableau 3), figure 22). Pour les tanins, ils sont détectés très positivement dans les extraits hydro-alcooliques et chloroformiques et légèrement présents dans les extraits d'infusion et de décoction (Tableau 3). (Figure 23). Tandis les saponines, ils sont considérés comme absents à cause du volume de la mousse qui est inférieur à 1 cm pour les quatre types d'extraits (Tableau 3). Pour les stérols, ils sont présents très positivement dans les extraits hydro-alcoolique et chloroformique. Ces molécules n'ont pas été révélées dans les deux extraits aqueux (Tableau 3), (Figure 24). Le test des coumarines nécessite la présence des UV pour une meilleure révélation, nous avons constaté leur présence dans les extraits aqueux et leur absence dans les deux autres extraits (Tableau 3), (Figure 25). Concernant les quinones, nous avons noté que les extraits aqueux par infusion et décoction ont donné une bonne révélation en comparaison avec l'extrait hydro alcoolique et chloroformique, ces métabolites n'ont pas été détectés (Tableau 3), (Figure 26). Nous avons noté une absence des composés réducteurs pour l'ensemble des extraits testés (Tableau 3).

### ➤ Au niveau des racines

Les tests phytochimiques appliqués au niveau de l'extrait aqueux de décoction des racines de *U. urens* ont montré que les terpénoïdes, les alcaloïdes et les quinones sont révélés positivement (Tableau 4) (Figure 27). Les flavonoïdes et les composés réducteurs sont majoritairement présents dans le décocté aqueux (Tableau 4) (Figure 28). Les tanins, les stérols, les coumarines et les saponines n'ont pas été détectés par le test de coloration (Tableau 4) (Figure 29).

Le screening phytochimique ce n'est qu'un test qualitatif pour apprécier la composante globale des métabolites secondaires d'une plante. Ce test dépend des révélateurs appropriés et des

conditions expérimentales. C'est pour cela qu'il est nécessaire de confirmer les tests qualitatifs par des tests quantitatifs et par des techniques de séparation des molécules bioactives et purification de la composante en métabolites secondaires (Expl : HPLC). Vu le manque des révélateurs et la disponibilité des produits chimiques qui revient d'un stock ancien, il nous a été intéressant d'effectuer un dosage des polyphénols totaux et de flavonoïdes afin de vérifier les résultats des tests phytochimiques. Ces tests nous seront utiles pour discuter l'activité anti-hémolytique des extraits de l'Ortie brûlante.

### 2. 3. Résultats du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les extraits des parties aériennes de l'Ortie brûlante ont été déterminées par la méthode colorimétrique. Les résultats obtenus sont exprimés en mgEqAG/gMS pour les polyphénols totaux (Tableau 4) et en µgEqQ/gMS pour les flavonoïdes (Tableau 5).

Les teneurs en polyphénols et flavonoïdes sont révélées positivement pour l'ensemble des extraits avec des valeurs qui diffèrent selon le type d'extraction des parties aériennes d'*Urtica urens* et la racine. Les valeurs moyennes des polyphénols totaux enregistrées sont comprises entre 1,57 et 2,08 mgEqAG/gMS (Tableau 4). Pour les flavonoïdes les teneurs varient de 101,80 et 428,38 µgEQ/gMS (Tableau 5). Les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux et flavonoïde ont été enregistrées dans l'extrait hydro-méthanolique et chloroformique. Pour les racines les polyphénols totaux et flavonoïdes du décocté sont de l'ordre de 1,08 mgEqAG/gMS et 109,12 µgEQ/gMS

**Tableau 5 :** Teneurs moyennes en polyphénols totaux au niveau des feuilles et racines

Extrait	Teneur (mgEAG/gMS)
Décoction aqueuse	1,57±0,008
Chloroformique	1,63±0,032
Hydroalcoolique	2,08±0,068
Infusion	1,97±0,017
Décoction racinaire	1,08±0,124

**Tableaux 6 :** Teneurs moyennes en flavonoïdes au niveau des feuilles et racines

Extrait	Teneur (µgEQ/gMS)
Décoction aqueuse	108,12±0,757
Chloroformique	428,38±0,708
Hydroalcoolique	101,86±0,844
Infusion	101,80±0,957
Décoction racinaire	109,12±0,919

## 2. 4. Résultats de l'activité anti-hémolytique

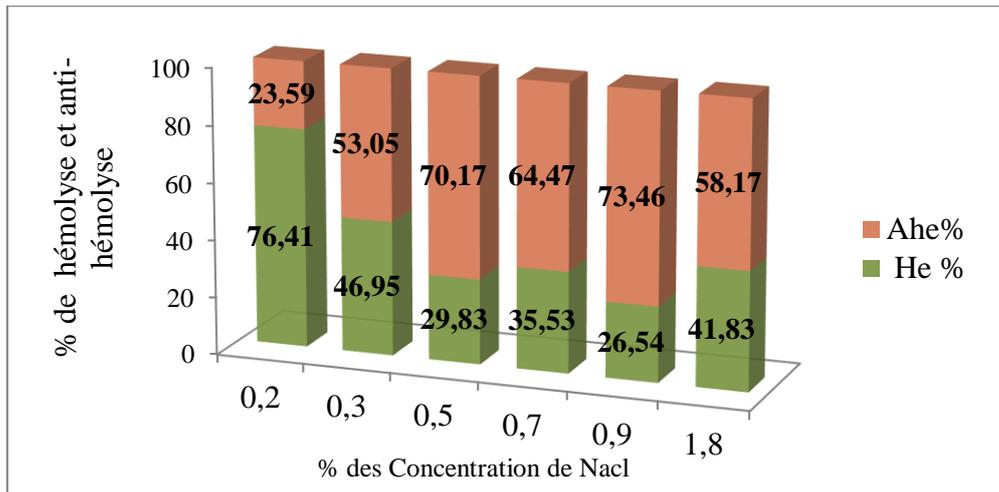
### 2. 4. 1. Résultats de l'activité hémolytique induite par hypotonie, la chaleur et le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

L'induction de l'hémolyse des érythrocytes a été réalisée par l'utilisation de Na Cl comme hémolysant hypotonique du sang avec des différentes concentrations (0,2% 0,3% 0,5% 0,7% 0,9% 1,8%) ; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comme un hémolysant par sa forte oxydation et les différentes températures (30°C, 40°C, 45°C) comme un facteur de la dégradation des protéines. Ces tests ont été réalisés sur la suspension érythrocytaire en absence de l'extrait. Les résultats seront utilisés comme des valeurs tests pour l'étude de la protection de l'extrait de *Urtica urens* l'hémolyse induite. Les figures (30, 31 et 32) présentent l'ensemble des résultats

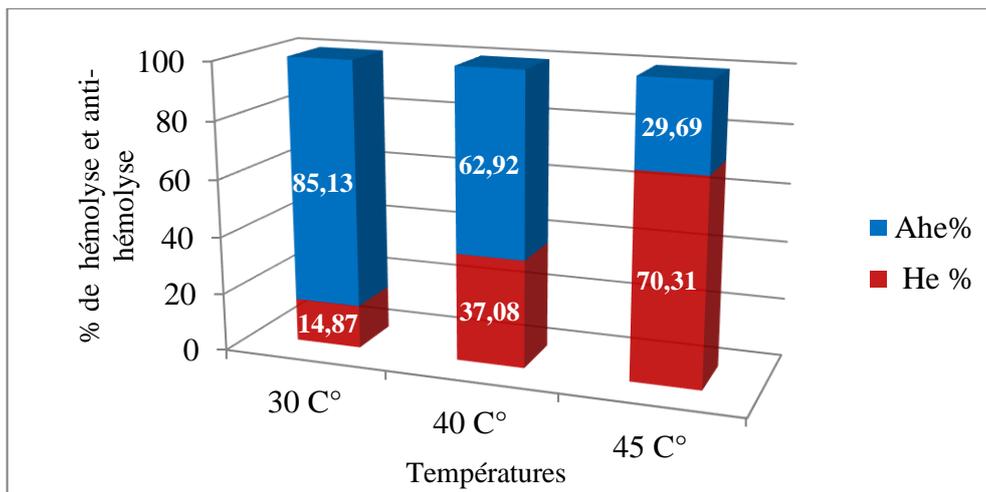
❖ D'après les résultats obtenus sur l'effet de l'hypotonie (figure 30), nous avons remarqué que pour des concentrations de Na Cl inférieures à 0,5% (milieu hypotonique), l'hémolyse augmente à des faibles concentrations de 0,2% et 0,3% pour atteindre un taux de 76,41% et 46,95 % respectivement. Le taux d'hémolyse diminue dans les fortes concentrations de Na Cl (milieux hypertoniques) pour atteindre une valeur de 26,54% à une hypertonie de 0,9%

❖ Les résultats de l'effet de la chaleur sur les globules rouges montrent que l'hémolyse augmente en fonction de la température élevée. En effet à la température 40°C le taux d'hémolyse est de 37,08 % pour atteindre un taux maximal de 70,31% à 45°C (Figure 31). L'effet de la température sur l'hémolyse est probablement dû à la dénaturation des protéines membranaires de globules rouges par la chaleur ce qui a abouti à la libération de l'hémoglobine dans le surnageant

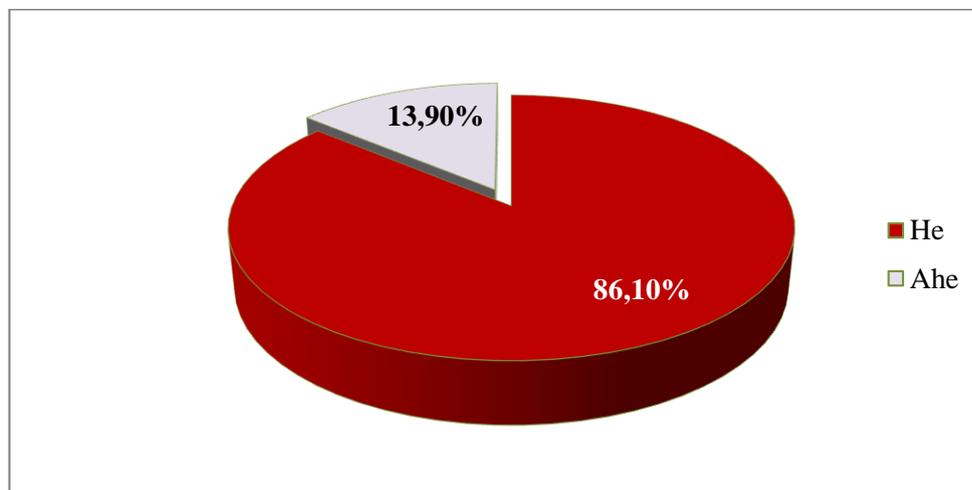
❖ Les résultats de traitement de la suspension érythrocytaire par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ont révélé une hémolyse très marquée avec une valeur est de 86,10% (Figure 32). Le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est une substance chimique qui dénature les structures membranaires des globules rouges.



**Figure 30 :** L'hémolyse des érythrocytes induite par l'hypotonie



**Figure 31 :** L'hémolyse des érythrocytes induite par la température



**Figure 32 :** L'hémolyse des érythrocytes induite par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

## 2. 4. 2. Résultats de l'effet protecteur des extraits des feuilles de *Urtica urens*

### 2. 4. 2. 1. Résultats de l'effet protecteur des extraits contre l'hypotonie

Les taux en pourcentage de la protection de l'Ortie brûlante des cellules érythrocytaires contre un phénomène hémolytique ont été calculés à base des valeurs de la densité optique (DO) qui met en évidence la fuite de l'hémoglobine au niveau du surnageant. En termes de comparaison, plusieurs paramètres ont été inclus à savoir, l'évaluation de l'activité hémolytique et anti-hémolytique du sang, induite par des agents hémolysants, ainsi que les témoins positifs et négatifs dont les formules sont représentées dans la partie méthodologie. Les résultats sont récapitulés dans les figures (33, 34, 35, 36).

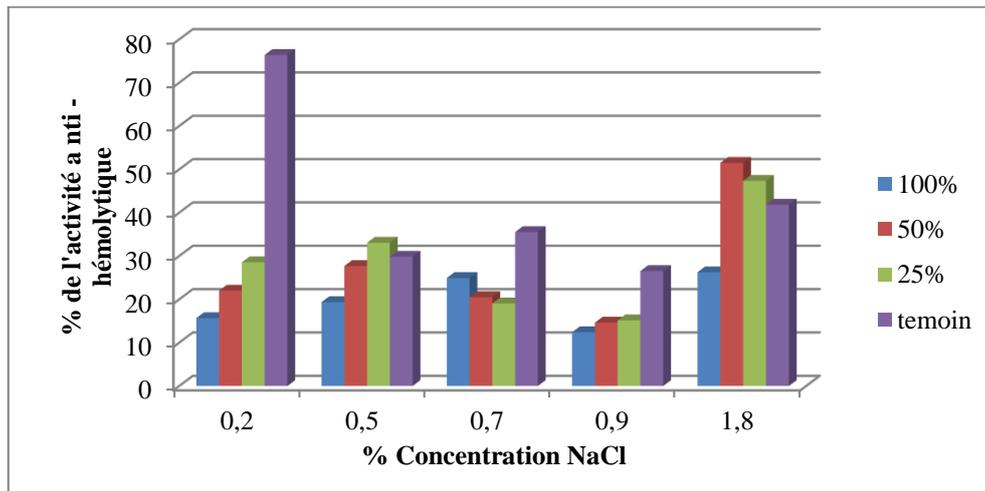
❖ Les résultats enregistrés sur l'activité anti-hémolytique des infusés de *U. urens* diffèrent selon les dilutions de l'extrait végétal et vis-à-vis des concentrations de NaCl (Figure 33). Nous avons noté une protection de l'extrait à 50% contre l'hémolyse induite par l'hypotonie en concentration de 1.8% avec un taux de protection de 51.50% suivie d'une protection de 33.06% pour l'extrait de 25% contre l'hémolyse induite par l'hypotonie en concentration de 0.5% dépassant ainsi celle du témoin dont le taux de l'activité anti-hémolytique est de 41,83% et 29.83% respectivement. Cette protection diminue fortement pour les infusés brutes et cela dans la phase hypotonique la plus forte (0,2%) et à la concentration en NaCl à 0.9%.

❖ Les résultats de la figure (34) montrent que le décocté brut des parties aériennes de l'Ortie révèlent une protection importante contre l'hypotonie élevée (NaCl 0.5%), les taux de protection varient entre 50.33% et 73.39%. Une protection contre l'hémolyse a été notée pour le décocté de dilution 50% et 25% à la concentration NaCl de 1.8 % avec un taux de protection de 71.42% et 69.47% respectivement dépassant l'anti-hémolyse du témoin qui a la valeur de 41.82%. Pour la majorité des résultats nous constatons que l'extrait de décoction de *Urtica urens* a un effet protecteur important contre l'hémolyse hypotonique.

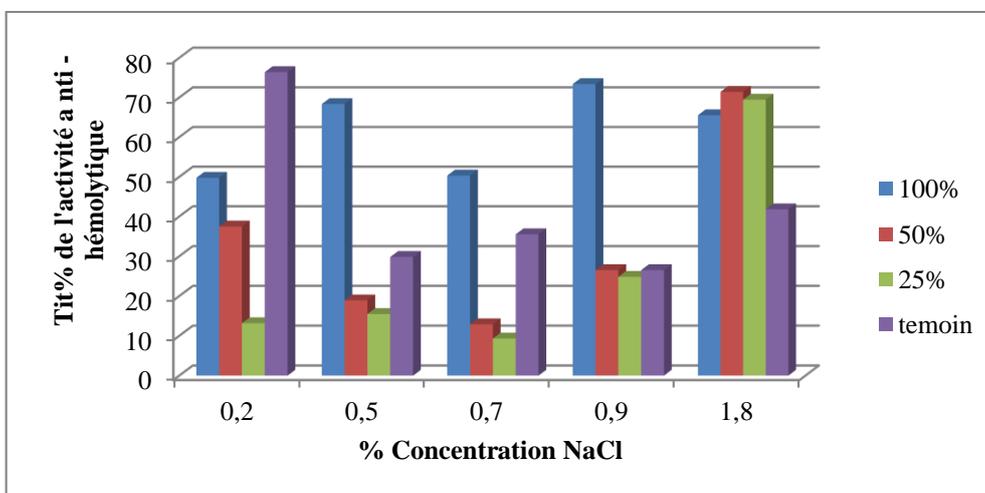
❖ Nous avons noté une faible activité anti-hémolytique qui est inférieure à celle enregistrées chez le témoin pour l'ensemble des extraits hydro-alcoolique vis à vis des concentrations de NaCl. Exception pour les extraits de 25% et 50% ont donné une protection anti-hémolytique positive de 41.65% et 30.29% respectivement pour la concentration de 0.9% NaCl contre l'anti-hémolyse du témoin qui est de 26.54% (Figure 35)

❖ Pour l'hypotonie maximale (0,2%, Na Cl) les extraits chloroformiques de l'Ortie brûlante ne présentent aucune protection contre l'hypotonie hémolytique (Figure 36). L'ensemble des taux de l'activité anti-hémolytique calculés sont inférieurs au ceux du témoin.

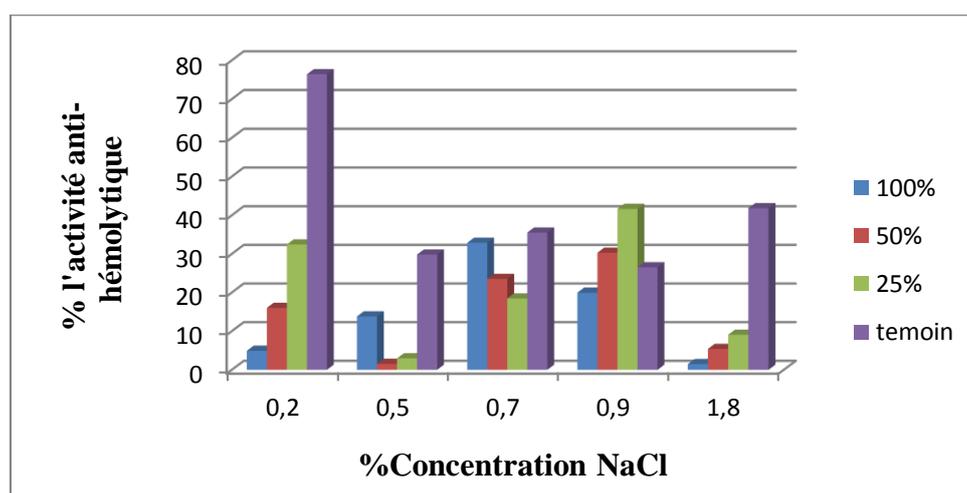
Nous constatons que les extrais chloroformiques de *Urtica urens* ne protègent pas les érythrocytes contre l'hémolyse hypotonique



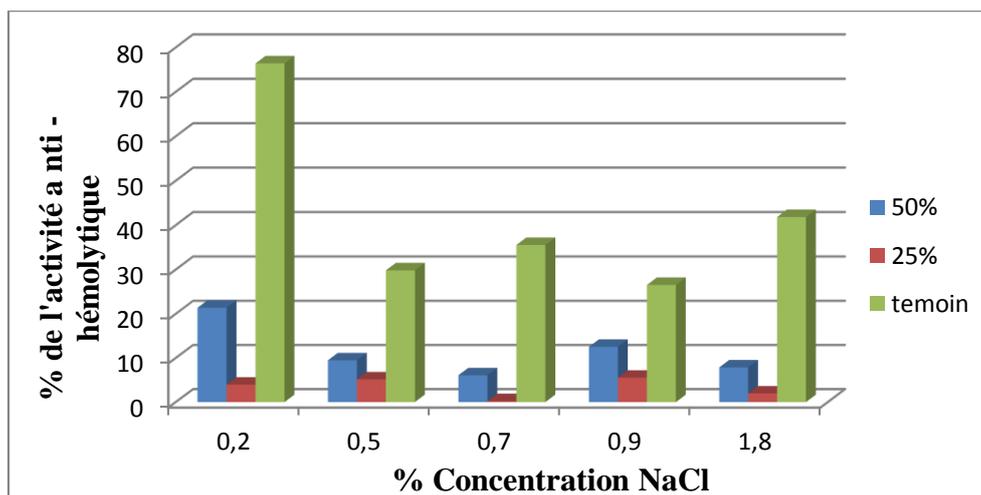
**Figure 33 :** L'effet protecteur des infusés aqueux de *Urtica urens* vis-à-vis de l'hémolyse Hypotonique



**Figure 34 :** L'effet protecteur des décoctés aqueux de *Urtica urens* vis-à-vis de l'hémolyse Hypotonique



**Figure 35 :** L'effet protecteur des extraits hydro-alcooliques de *Urtica urens* vis-à-vis de l'hémolyse hypotonique



**Figure 36 :** L'effet protecteur des extraits chloroformiques de *Urtica urens* vis-à-vis de l'hémolyse hypotonique

## 2. 4. 2. 2. Résultats de l'effet protecteur des extraits contre la thermo-hémolyse

Dans ce test, l'effet hémolysant est induit par exposition de l'échantillon érythrocytaire contenant l'extrait végétal à des différentes températures (30 C°, 40 C°, 45 C°). Un témoin sans extrait est préparé. Les résultats sont regroupés dans les figures (37, 38, 39 et 40)

❖ Les résultats de l'activité anti-hémolytique des extraits de l'Ortie brûlante contre la chaleur, indiquent que quelques soient les dilutions pour l'ensemble des extraits de l'infusé, à la température 45 C°, l'activité anti-hémolytique est élevée et la valeur du taux de protection maximale qui est de 53.92% est enregistrée pour l'extrait dilué à 50% suivie d'un taux de protection de 49.36% et 47.96% contre une anti-hémolyse de 29.69 (témoin) pour les extraits de concentration à 25% et le brut respectivement. Pour la température de 30 C° et 40C°, l'activité anti-hémolytique est faible pour l'ensemble des extraits (Figure 37).

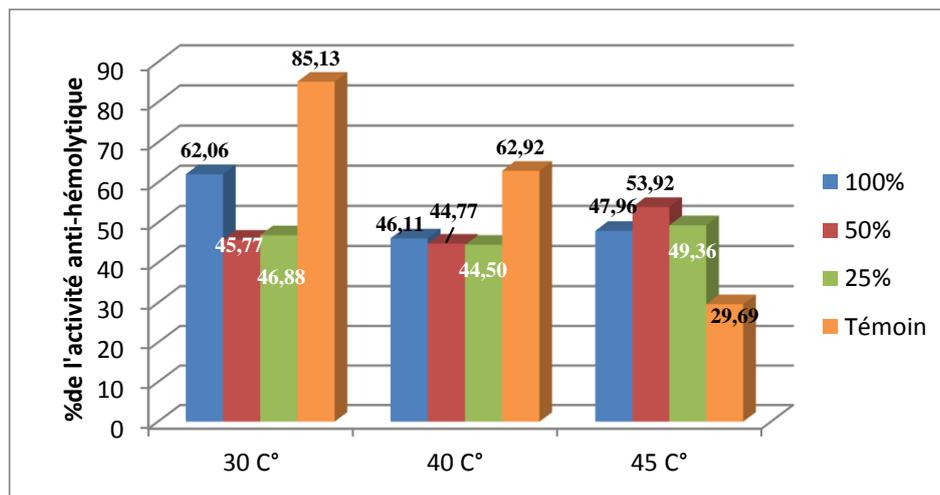
❖ Les résultats de l'activité anti-hémolytique des extraits de décoction révèlent une protection contre l'hémolyse à 45C° proche de celles enregistrée pour les extraits de l'infusé et cela pour l'ensemble des concentrations. Même constatation pour les températures de 30C° et 40C° (Figure 38)

❖ Les résultats des extraits hydro-alcooliques montrent que à 45C°, les extraits à des concentrations 50% et le brute présentent une protection très marquée et avec presque les mêmes valeurs (46.64 %, 42.25%) par rapport au témoin dont le pourcentage de l'activité anti-hémolytique est de 29.69%. Pour les autres températures l'activité anti-hémolytique est

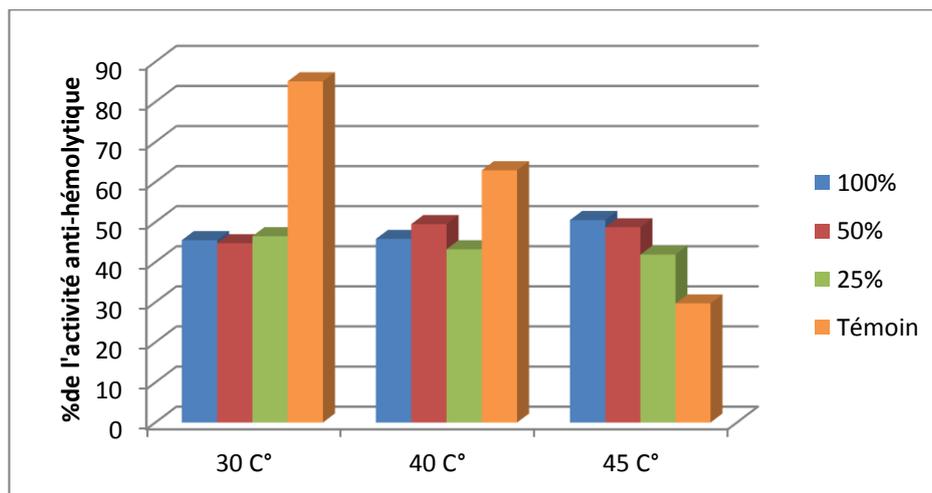
modérées et légèrement diminuée voir proche du témoin pour la majorité des extraits (Figure 39)

❖ Pour l'extrait chloroformique, la protection de l'ensemble des concentrations est inhibée vis à vis de la thermo hémolyse dont les taux de protection sont inférieurs aux ceux enregistrées pour les témoins (Figure 40)

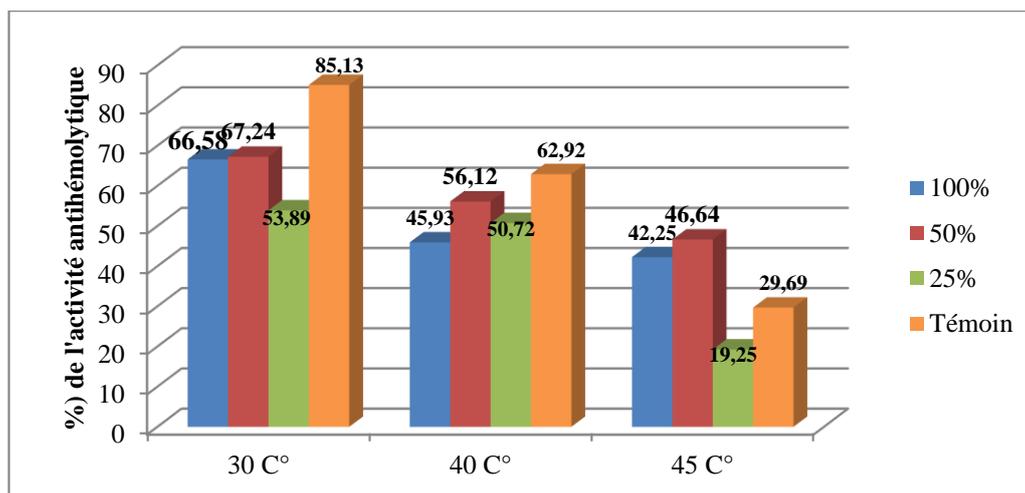
Nous constatons que les extraits chloroformiques de *Urtica urens* et quelques soit leurs concentrations, la plante ne protège pas les érythrocytes contre la thermohémolyse



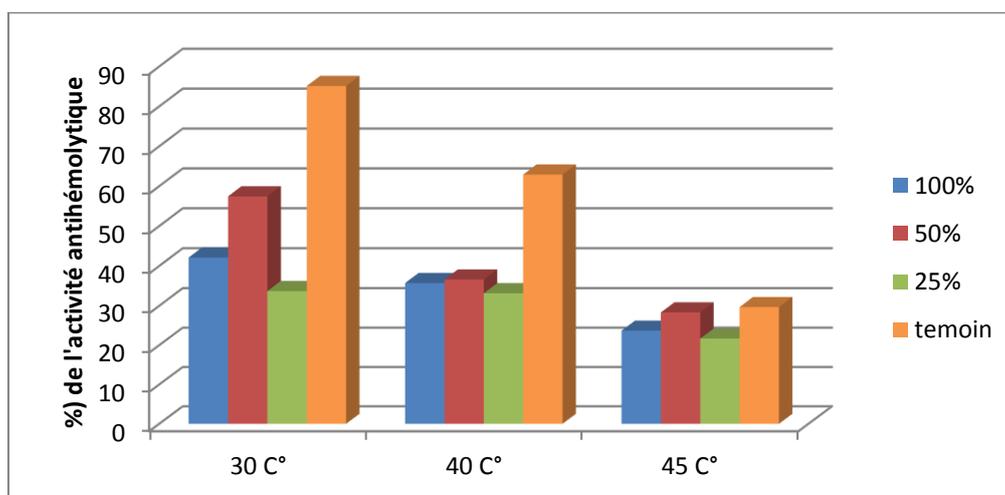
**Figure 37 :** L'effet protecteur de l'infusé de *Urtica urens* contre la thermohémolyse



**Figure 38 :** L'effet protecteur du décocté de *Urtica urens* contre la thermohémolyse



**Figure 39** : L'effet protecteur de l'extrait hydro-alcoolique de l'*Urtica urens* contre la thermohémolyse



**Figure 40** : L'effet protecteur de l'extrait chloroformique de l'*Urtica urens* contre la thermohémolyse

### 2. 4. 2. 3. Résultats de l'effet protecteur des extraits contre H2O2

❖ Les tests de l'activité anti-hémolytique des extraits aqueux de l'infusion et de la décoction des parties aériennes de l'Ortie brûlante contre l'hémolyse par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ont montré une protection importante pour l'ensemble des concentrations avec un taux de protection maximale enregistré pour l'infusion et qui est de 83.73 (extrait brut) suivi de 75.51% (extrait 50%) et 74.90% (extrait 25%). Ces valeurs dépassent largement celles de l'activité anti-hémolytique enregistrée chez le témoin et qui est de 13.9% de protection (Figure 41).

❖ Pour l'extrait de la décoction aqueuse, nous avons noté les mêmes remarques que celles de l'extrait d'infusion à savoir, pour l'ensemble des concentrations de l'extrait, la protection de

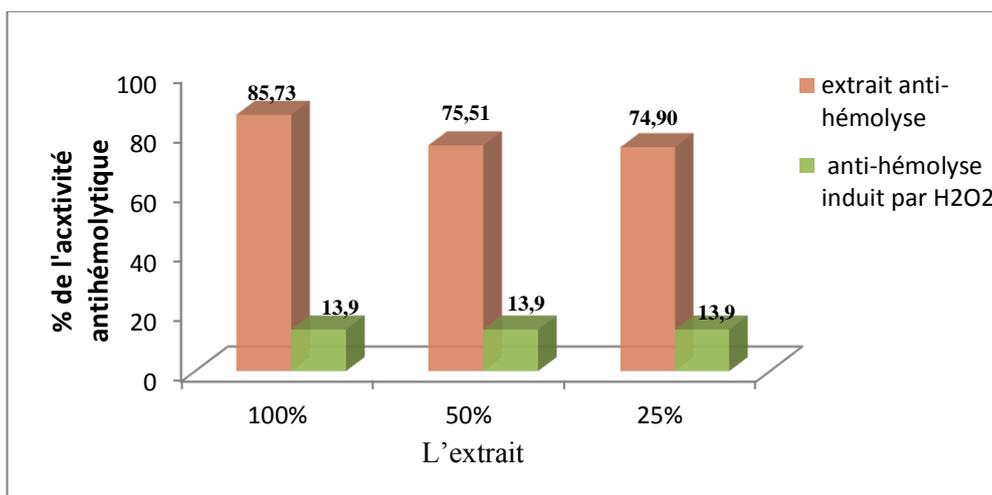
la plante contre l'hémolyse toxique par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est plus marquée notamment pour l'extrait brute, suivie de l'extrait 50% et 25% avec des taux de protection de 66.46%, 48.90% et 38.82% respectivement contre l'anti-hémolyse du témoin (13.9%) (Figure 42). L'extrait brut a donné de bons résultats.

Nous constatons que les extraits d'infusion et de décoction des parties aériennes de l'Ortie peuvent diminuer fortement l'effet toxique de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vis-à-vis des érythrocytes

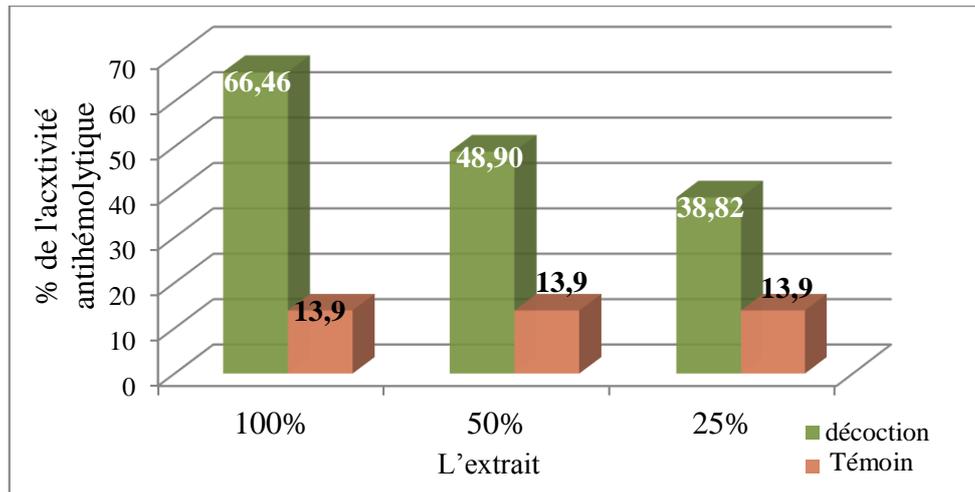
❖ Les résultats enregistrés de l'activité anti-hémolytique de l'extrait hydro-méthanolique des parties aériennes de *Urtica urens* contre l'hémolyse par la substance chimique H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ont révélé une protection très positive de 49.52% pour l'extrait 25% dépassant largement celle notée chez le témoin (13.9%). Pour l'extrait brut la protection est proche du témoin considérée comme légèrement positive. Cependant l'extrait de concentration 50% ne montre aucune protection contre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dont la valeur de protection est la même que celle du témoin (Figure 43)

❖ Concernant l'extrait chloroformique, l'activité anti-hémolytique est positive pour la concentration 25% avec un taux maximal de protection de 16.67% suivie de l'extrait brut d'une valeur de protection de 15.16%. Ces Valeurs dépassent légèrement celle enregistrée chez le témoin (13.90%) (Figure 44).

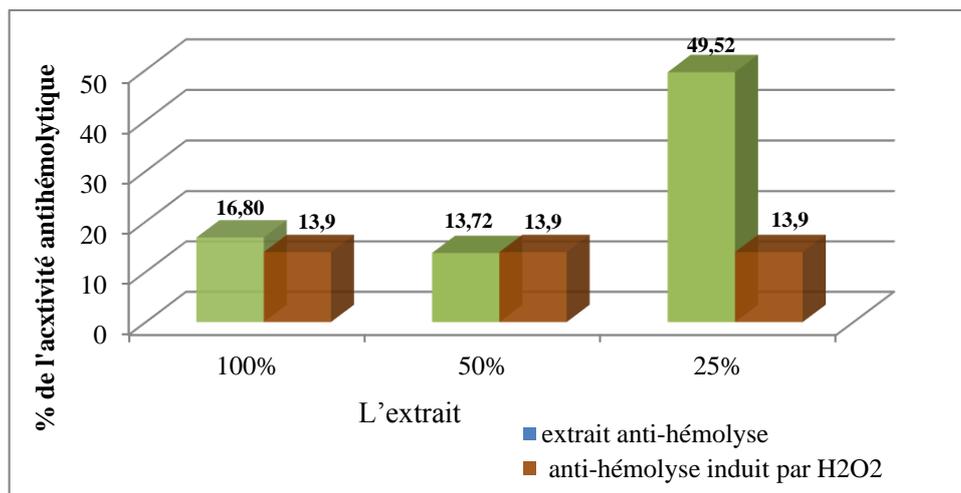
Nous constatons que les extraits chloroformiques des parties aériennes de *U.urens* ne présentent pas une protection efficace contre la toxicité de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vis-à-vis des érythrocytes.



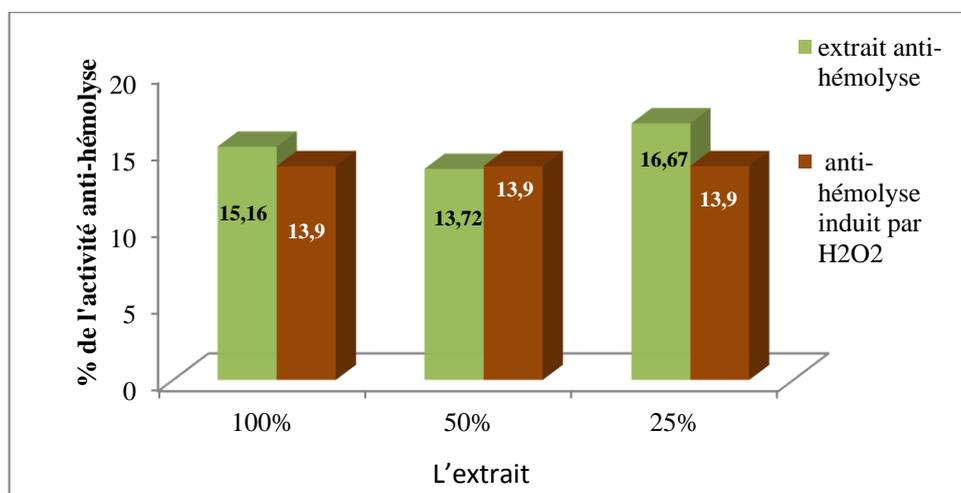
**Figure 41** : L'effet protecteur des infusés de *l'Urtica urens* contre l'hémolyse induite par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



**Figure 42 :** L'effet protecteur des décoctés aqueux de *U.urens* contre l'hémolyse par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



**Figure 43 :** L'effet protecteur de l'extrait hydro-alcoolique de *l'Urtica urens* contre l'hémolyse induite par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



**Figure 44 :** L'effet protecteur de l'extrait chloroformique de l'*Urtica urens* vis-à-vis de l'hémolyse induite par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

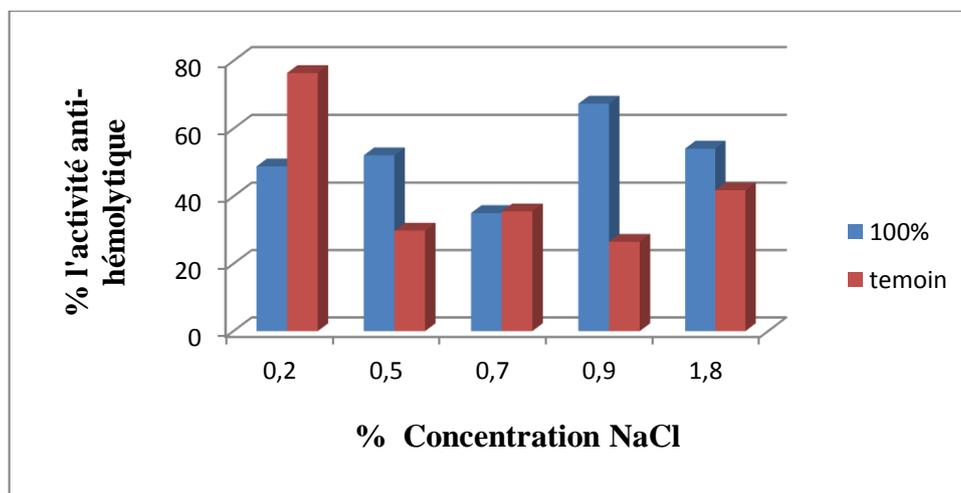
### 2. 4. 3. Résultats de l'effet protecteur des extraits de racines de *Urtica urens*

Les tests de la protection racinaire de l'Ortie brûlante contre l'hémolyse hypotonique et la thermohémolyse ainsi que toxique par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ont été appliqués sur l'extraction de décoction aqueuse des fragments racinaires car ce type d'extraction est plus conforme pour les parties dures comme les racines. Les résultats du pourcentage de protection des érythrocytes contre l'hémolyse induite par des paramètres hémolytiques déjà cités sont résumés dans les figures (45, 46 et 47).

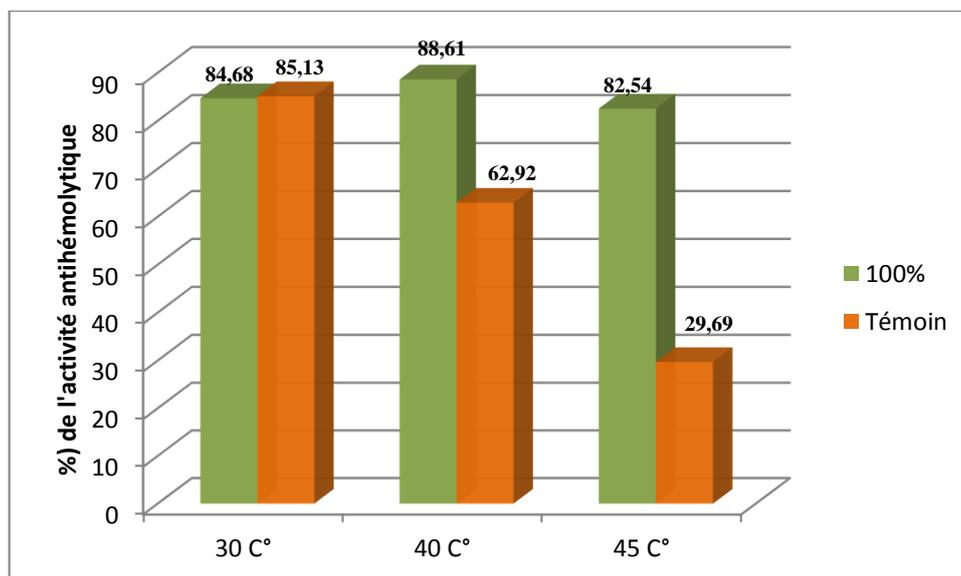
❖ D'après les résultats de la protection contre l'hémolyse hypotonique de la figure (45), l'activité anti-hémolytique de l'extrait brute du décocté des racines de *Urtica urens* est positive à des concentration de 1.8% NaCl avec un taux de 54.10% contre l'activité anti-hémolytique de 41.83% pour le témoin. Nous avons noté une protection inhibée de l'extrait qui est égale à celle du témoin (35.53%) pour les concentrations de 0.7% Na Cl. Pour les fortes hypotonies l'extrait ne présente aucune protection contre l'hémolyse hypotonique vis-à-vis des cellules érythrocytaires.

❖ Les résultats de l'activité anti-hémolyse du décocté racinaire contre la thermohémolyse, a révélé une protection remarquable contre l'hémolyse induite par la température de 40C° et 45C° en comparaison avec celle du témoin avec des taux de protection de 88.61% et 82.54% respectivement contre 29.69% pour le témoin (Figure 46).. Même observation a été notée pour le test de protection contre l'hémolyse toxique induite par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. En effet le pourcentage anti-hémolytique est de 76.34% contre 13.9% pour le témoin (Figure 47).

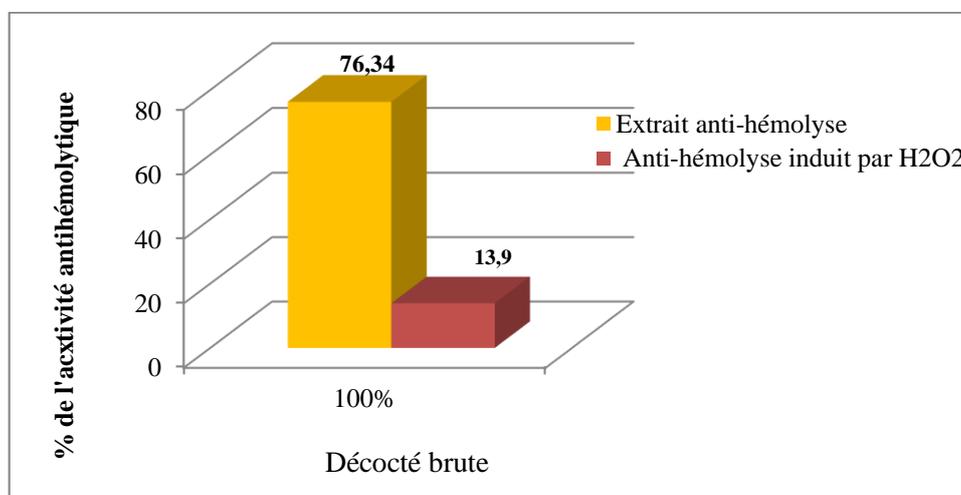
Nous constatons que l'extraction aqueuse de la décoction des racine de *U. urens* présente un pouvoir anti-hémolytique remarquable contre la thermohémolyse , l'hémolyse toxique induite par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et l'hémolyse hypotonique excepté la forte hypotonie ou la protection des érythrocytes est inhibée.



**Figure 45** : Effet protecteur des décoctés aqueux des racines de *U. urens* vis-à-vis de l'hémolyse hypotonique



**Figure 46 :** L'effet protecteur des racines de *Urtica urens* contre la thermohémolyse



**Figure 47 :** L'effet protecteur des racines de *l'Urtica urens* contre l'hémolyse induite par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

# *Discussion générale*

## Discussion générale

L'extraction est une étape très importante avant l'analyse quantitative et qualitative des extraits de plantes. Les conditions optimales ont été respectées concernant plusieurs paramètres tels que le diamètre de la poudre et le type du solvant : le broyage et le tamisage ont été réalisés de façon à pouvoir récupérer le maximum de poudre fine. Le type d'extraction était varié entre l'infusion, la décoction, l'extraction alcoolique et par solvant chloroformique dans le but d'extraire le maximum de métabolites secondaires.

Le screening phytochimique des feuilles et racines de l'Ortie brûlante (*Urtica urens*) a mis en évidence la présence en molécules bioactives notamment les terpénoïdes, les alcaloïdes, tanins, composés réducteurs au niveau des racines les stérols et les quinones. Grace à sa richesse minérale et phytochimique, les parties végétales de l'Ortie brûlante sont utilisées dans la médecine traditionnelle comme l'anémie, le rhumatisme, l'eczéma, la rhinite allergique et rhumatoïde et les racines, en particulier sont utilisées pour le traitement de l'hyperplasie bénigne de la prostate (**Farag et al, 2013**). Des recettes à base d'*Urtica urens* sont prescrites contre la pyélonéphrite et contre la lithiase (**Farag et al., 2013, Ghourri et al, 2014**). En Turquie, les populations utilisent l'ortie à pilule et l'ortie brûlante pour le traitement des maladies gastro-intestinales, le diabète, les problèmes rénaux (**Sargin et al., 2013**). Le hydro-méthanol a extrait la quantité la plus élevée des polyphénols. Même résultats chez *U.urens* avancé par **Falleh et al., (2008)** . Selon cet auteur pour une haute récupération de polyphénols, le méthanol est le solvant approprié. Les polyphénols végétaux sont largement utilisés en thérapeutique comme antimicrobiens, antioxydants et anti-hémolytiques (**Chaouche et al 2015**). Les polyphénols totaux ainsi que les flavonoïdes sont révélés positivement notamment pour les infusés et les décoctés testés. Selon **Cabrac et al., (2012)** la teneur ainsi que la composition des extrais végétaux en composés phénoliques et flavonoïdes sont étroitement liées à la diversité des activités biologiques exprimées par les extraits végétaux

La protection de l'Ortie contre l'hémolyse du sang soumis à un stress osmotique, oxydatif et thermique a été vérifiée dans les extraits des parties aériennes et racinaires. L'activité anti-hémolytique diffère selon le type d'extrait et sa dilution, d'une manière générale les résultats ont révélé que l'ortie peut diminuer l'effet toxique de l'hypotonie du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et de la chaleur des érythrocytes humaines. Un milieu hypotonique est un milieu dont la pression osmotique est plus faible que la pression intracellulaire ; ce déséquilibre induit une diffusion de l'eau vers l'intérieur de la cellule (milieu hypertonique) à travers la membrane. L'entrée massive

d'eau dans l'hématie entraîne son gonflement puis son éclatement et la libération de son contenu cytoplasmique notamment l'hémoglobine c'est le phénomène d'hémolyse. Ce dernier est observé à des concentrations en NaCl inférieures à 0.3%. **Chopade et al, (2012)** a démontré que l'incorporation des composés phénoliques notamment les flavonoïdes dans la membrane des érythrocytes améliore la stabilité de ces dernières contre la lyse hypotonique

Concernant la protection contre la toxicité par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, pour la majorité des extraits l'activité anti-hémolytique est positive pour l'ensemble des dilutions. Le peroxyde d'hydrogène peut causer une toxicité par le radical hydroxyle : L'action de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sur les érythrocytes provoque l'épuisement des protéines membranaires, la déformation des membranes et la perturbation des micro-constituants ce qui conduit à leurs lyse et la libération de l'hémoglobine **(Yasmeen et Hassnain, 2016)**

Les résultats de l'activité anti-hémolytique en présence des extraits de l'Ortie contre la chaleur révèlent une protection positive à 45°C quelque soient les dilutions pour l'ensemble des extraits, L'effet protecteur contre la lyse érythrocytaire induite par la chaleur peut s'expliquer par l'interaction de l'extrait avec les protéines membranaires inhibant ainsi leur dénaturation **(Lepock et al., 1990a)**. D'après **Gershfeld et Murayama (1988)** les érythrocytes exposés à des températures relativement élevées, se déforment progressivement pour devenir sphériques. Ainsi la perturbation de leurs membranes diminue leur capacité à résister à l'hémolyse

L'ortie a le grand potentiel de fournir de nouvelles pistes médicamenteuses avec de nouveaux mécanismes d'action **(Singh et al., 2012)**. Différents effets thérapeutiques de cette plante ont été rapportés dans de nombreuses études dont anti-inflammatoire et antirhumatismal **(Riehemann et al., 1999)**, antioxydant, antimicrobien, antiulcéreux, analgésique **(Gulcin et al., 2004)**, antiprolifératifs **(Konrad et al., 2000)** et cardiovasculaires **(Testai et al., 2002)**. L'effet thérapeutique et inhibiteur de l'extrait d'ortie sur l'hyperplasie prostatique a été démontré dans différentes études **(Lichius et Muth, 1997)**.

# ***Conclusion***

## Conclusion

La phytothérapie est l'une des plus vieilles médecines du monde. Elle représente une alternative intéressante pour traiter et soigner sans créer de nouvelles maladies. Le vif objectif de cette étude était la mise en évidence des composés phytochimiques et l'estimation *in vitro* de l'activité anti-hémolytique des extraits actifs de la partie aérienne et souterraine d'une plante médicinale : L'Ortie brûlante *Urtica urens* L.

✓ Pour se faire, dans un premier temps le screening phytochimique effectué par des tests qualitatifs qui dépend des réactifs révélateurs spécifiques pour chaque groupe chimique dont le taux est estimé en fonction de l'intensité de la coloration. Ce test nous a permis de mettre en évidence la composante chimique au niveau de l'Ortie brûlante.

\* Pour les feuilles : Les flavonoïdes, les terpénoïdes, alcaloïdes, coumarines et les quinones sont majoritairement présents dans les extraits aqueux d'infusion et de décoction. Les tanins et les stérols ils sont détectés très positivement dans les extraits hydro-alcooliques et chloroformiques

\* Pour les racines : les terpénoïdes, les alcaloïdes, les quinones, les flavonoïdes et les composés réducteurs sont majoritairement présents dans le décocté aqueux.

En ce qui concerne l'activité anti-hémolytique, celle-ci a été évaluée selon trois tests (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NaCl, Température) :

✓ Les résultats révèlent que *Urtica urens* présente une activité anti-hémolytique la plus élevée contre l'hypotonie qui est enregistrée à la dilution de 50% à un taux de protection de 51.50% dans l'extrait aqueux de l'infusion. Concernant la décoction, la protection est importante contre l'hypotonie hémolytique (0,5% NaCl jusqu'au 1.8%) avec un taux de protection maximal pour le décocté brut (73.39% dans NaCl de 0.9%). L'activité anti-hémolytique est inférieure à celle enregistrées chez le témoin pour l'ensemble des extraits hydro-alcoolique vis à vis des concentrations de NaCl. Exception pour les extraits de 25% et 50% ont donné une protection anti-hémolytique positive de 41.65% et 30.29% respectivement pour la concentration de 0.9% NaCl. Les extraits chloroformiques de *Urtica urens* ne protègent pas les érythrocytes contre l'hémolyse hypotonique puisque l'ensemble des taux de l'activité anti-hémolytique calculés sont inférieurs au ceux du témoin.

✓ L'activité anti-hémolytique contre la chaleur est positive pour l'ensemble des dilutions des extraits de l'infusé, à la température 45 C°. La valeur du taux de protection maximale est de 53.92% (Extrait dilué à 50%). Pour les décoctés aqueux, les résultats de protection

hémolytique sont proche de ceux enregistrés pour les extraits de l'infusé . A 45C°, l'ensemble des les extraits hydro-alcooliques présente une protection très marquée et avec presque les mêmes valeurs (46.64 %, 42.25%) par rapport au témoin dont le pourcentage de l'activité anti-hémolytique est de 29.69%. Les extraits chloroformiques de *Urtica urens* et quelques soit leurs concentrations, la plante ne protège pas les érythrocytes contre la thermohémolyse

✓ Les extraits brutes de l'infusion et la décoction présentent une protection importante contre l'hémolyse toxique par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> avec un taux de protection maximale pour l'infusé et le décocté qui est de 83.73 et 66.46%, respectivement. Pour les extraits hydro-méthanoliques et chloroformiques, la protection contre l'hémolyse chimique est modérée et elle est moins marquée par rapport aux extraits aqueux.

✓ L'effet protecteur de la décoction brute des parties racinaires de *Urtica urens* est positif contre l'hypotonie avec un taux de 54.10% (1.8% Na). Pour les fortes hypotonies l'extrait ne présente aucune protection contre l'hémolyse hypotonique vis-à-vis des cellules érythrocytaires. Il existe une protection remarquable contre la thermohémolyse à 45C° avec un taux de protection de 82.54%. Même constatations a été notée pour le test de protection contre l'hémolyse toxique induite par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (76.34% de protection)

### **\* *En perspectives,***

*Des analyses phytochimiques et biologiques plus détaillée seront nécessaire pour isoler et caractériser les composés actifs responsables des effets de stabilisation de la membrane pour mieux comprendre les mécanismes d'action exacts de ces activités*

Références

Bibliographiques

## Références bibliographiques

### A

**Aguilar M. (2007)**- Erythrocytes -MB7 : Hématologie. Faculté de médecine ; Montpellier, France

**Andrianne P h. (2008)**- La gemmothérapie, passé, présent et avenir. Phytothérapie, éd Springer 6 (1): 29–32

**Astier J F. (2017)**- « L'ortie une panacée oubliée : anémie, fatigue, rhumatismes, allergies, diabète, prostate et plus encore... ». Edition : Terran. P 112.

### B

**Baba Aïssa F. (2000)**-«Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident». Edition : EDAS, Alger. Algérie. P 368

**Beaumont F , Hergaux C. (2005)**. Erythrophagocytose et recyclage du fer héminique dans les conditions normales et pathologiques ; régulation par l'hepcidine, Transfusion Clinique et Biologique,23–130.

**Béraud J. (2014)**- Le technicien d'analyses biomédicales, 2ème édition, P. 628-650, ISBN: 978-2-7430-1299\_1.

**Bertrand B. (2010)** -Les secrets de l'Ortie.- 7ème édition. Editions de Terran (Collection Le Compagnon Végétal; N:01): 12 p

**Boizot N et Charpentier J P- (2006)**. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un forestier. Le cahier des techniques de l'Inra. 79-82

**Bossyt X , Boeynaems J M. (2001)**- Louvain Garant Repères en Diagnostic de laboratoire ISBN 90-441-1022-5,30-31

**Bost I. (2016)** - Ethnologie des herboristes en France, de l'instauration du certificat en 1803 à aujourd'hui. Thèse de doctorat. Paris, 458 p

**Bourgeois L. (2012)**- L'ortie: Maison -Cuisine -Santé - Beauté-100% nature ». Edition : Fleurus. p 64.pp 20-25

**Bruneton J. (1999)** - Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Editions Tec & Doc, Paris, éditions médicales internationales.P : 483-560.

### C

**Carillon A. (2000)**-Enseignement de physiologie intégrative et de phytothérapie clinique. Société Internationale de Médecine Endo-biogénique et de Physiologie Intégrative

**Cazau-Beyret N. (2013)** -Prise en charges des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie : 195 p

**Chabrier J Y. (2010)**- Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie.Diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy 1- 165P.

**Chaouche T M, Haddouchi F, Atik-Bekara F, et al (2015)** -Antioxydant, haemolytic activities and HPLC-DAD-ESI-MSn characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus* subsp. *Oxycedrus*. *Ind Crops Prod* 64:182–7

**Cherief W, & Messaoudene N. (2020)** - Etude comparative de l'activité antibactérienne de *Castrum nocturnum*, (Master en biologie, université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem)

**Chopade A R , Prakash M, Somade and Fahim J, Sayyad . (2012)** - Membrane Stabilizing Activity and Protein Denaturation: A Possible Mechanism of Action for the Anti-Inflammatory Activity of *Phyllanthus amarus* JKIMSU, Vol. 1 (1) 67-72 ISSN 2231-4261

**Couplan F. (2012)** - « La cuisine est dans le pré: 52 recettes à glaner dans la nature ».Edition : Soliflor.P167.

**Couplan F. (2008)** -« Remèdes et recettes à l'ortie : Les bonnes plantes de nos grands-mères » Editeur : Rustica . P 5-10.

## D

**Daoudi A , Sabiri M . Touria B, ZairiM . (2015)**- « Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica* : *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L». *Journal of Applied Biosciences*. 87 : pp 8094– 8104.

**Decaux I. (2002)** - Phytothérapie : mode d'emploi. Ed Le Bien Public : 6-7 p.

**Delahaye J. (2015)**- « Utilisations de l'ortie *Urticadioica* L »Thèse de Doctorat En pharmacie. Université de Rouen. P227

**Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. et Vidal, N. (2006).** Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts compound. *Food Chemistry*, 97: 654-660.

**Djerroumi A , NacefM . (2012)**- «100 Plantes médicinales d'Algérie».Edition : Houma. P 159.

**Draghi F. (2005)**- « L'ortie dioïque (*Urticadioica* L.) : Etude bibliographique ». Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Henri Poincaré Nancy 1. p p 19-20.

**Dubost É et Dupuis A. (2011)**- "La prise en charge des anémies par carence." *Actualités pharmaceutiques hospitalières* 7 é(26) : 10-17

## E

**Edenharder R , Grünhage D.(2003)-** Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in Salmonella typhimuriumTA102. *Mutat. Res*, 540: 1–18

**Epifano F, Genovese S ,Menghini L ,Curini M.(2007)-**Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry* 68:939 - 953.

## F

**Farag M A, Weigend M, Luebert F, Brokamp G, Wessjohann L A. (2013)-** Phytochemical, phylogenetic, and anti-inflammatory evaluation of 43 *Urtica* accessions (stinging nettle) based on UPLC–Q-TOF-MS metabolomic profiles. *Phytochemistry* 96 : 170-183.

**Federici L N H, Loukili J, Zimmer S, Affenberger F, Maloisel E, Andrés. (2007)-** "Manifestations hématologiques de la carence en vitamine B12: données personnelles et revue de la littérature." *La Revue de médecine interne* 28(4): 225-231

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

**Fouché J G, Marquet A, Hambuckers. (2000) -** Les plantes au médicament observation du monde des plantes .Sart-Tiliman

**Freitas M V, Netto rde C, Da Costa Huss J C, DE Souza TM, Costa J O, Firmino C B et Penha-Silva N. (2007)-** Influence of aqueous crude extracts of medicinal plants on the osmotic stability of human erythrocytes. *Toxicology in Vitro*, 22(1), 219–224.

**Frély R . (2012) -** « Vertus et secrets de l'ortie ». Editeur : Larousse. P 128.

## G

**Ghourri M, Zidane L, Douira A. (2014)-** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitementde la lithiase rénale dans la province de TanTan (Maroc saharien). *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 7:1688-1700

**Grunwald.J, Janick.C, (2006)-** Guide de la phytothérapie, 2éme édition, Italie : marabout ,

**Gulcin H, Irfan Küfrevioglu O, Oktay M, Büyükokuroglu M E. (2004)-** Antioxydant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.) *J Ethnopharmacol* 90 (2-3):205-15.

## H

**Hebbani A V, Reddy V D Nallanchakravarthula V. (2014)-** "In Vitro Anti-hemolytic Activity of Terminalia arjuna (Roxb.) Wt. & Arn. Bark Powder Aqueous Extract." *Ind. J. Adv. Chem. Sci* 3: 02-108.

## I

**Iserin P. (2001)**- «Encyclopedie des plantes medicinales ».Edition: Larousse Bourdasse. Paris P 336.

## J

**James O et Alewo I M. (2014)**- In vitro anti-hemolytic activity of *Gymnema sylvestre* extracts against hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)induced hemolysis in human erythrocytes,2 (7) :1-9p

## K

**Karumi Y ,Onyeyili P A, Ogugbuaja V O . (2014)**-identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M.blasmia* (baume du pomme) .Journal of médecine and scientific.4(3) :179-182p.nigeria.ISSN 1682-4474

**Kouadio Kouakou J, Ouattara-Soro F, Shcherazade Abizi G, Zougrou N'guessan E, Kouakou Koffi , Begbin Kouassi E , Kplé Tatiana Kangah M, Kablan Kassi J J, Koffi S. (2021)**- Activité Anti-Inflammatoire Et Études Phytochimiques De L'extrait Aqueux Des Écorces *Distemonanthus Benthamianus* Baill. (Caesalpiniaceae : Leguminosae Caesalpinioideae), *European Scientific Journal*, 17:7, 74-93.

**Konrad L, Muller, H H, Lenz C, Laubinger H, Aumuller G et Lichius J J.( 2000)**- Antiproliferative effect on human prostate cancer cells by a stinging nettle root (*Urtica dioica*) extract. *Planta Med*, 66, 44-7

## L

**Lefief-Delcourt A, (2012)**-« L'ortie, c'est malin : Santé, beauté, jardin, maison, cuisine... toutes les vertus et les conseils pratiques de cette plante magique».Editions : Leduc S. p160.pp 11-65

**Lepock J R, Frey, H E, and Inniss, W E. (1990a)**-Thermal analysis of bacteria by differential scanning calorimetry: relationship of protein denaturation in situ to maximum growth temperatures. *Biochim. Biophys.Acta* 1055, 19-26

**Leporrier M. (2008)**- "Anémies hémolytiques auto-immunes." *Hématologie* 14(6) : 432-441.

**Lichius J J et Muth C.(1997)**-The Inhibition Effects of *Urtica dioica* Root Extracts on Experimentally Induced Prostatic Hyperplasia in the Mouse. *Planta Med*, 63, 307-310

**Limonier S. (2018)**- La phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie, département bio-ingénierie pharmaceutique, Aix, Marseille université

**Lippi G, Avanzini P, Pavesi F, Bardi M, Ippolito L, Aloe R et Favaloro E J. (2011)**-Studies on in vitro hemolysis and utility of corrective formulas for reporting results on hemolyzed specimens. *Biochimica medica*: 21, 297-305

## M

**Manaargadoo-Catin M A, Ali-Cherif J, Poignas C, Perrin. (2016)-** "Hemolysis by surfactants—a review." *Advances in colloid and interface science* 228: 1-16.

**Mohammedi Z. (2013) -** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat en Biologie. Tlemcen : 170 p.

**Mostade J P. (2015) -** « L'ortie et ses mille secrets ». Editions: Tylgo. p p 15-23.

## N

**Nogaret-Ehrhart A S. (2003)-**La phytothérapie Se soigner par les plantes. Edition Eyrolles :19-36 p

## O

**Odile C and Daniel R. (2007)-** Botanique Pharmacognosie Phytothérapie. 3 eme Edition, Wolters Kluwer France: 141.

**Oloyde O I. (2005)-**Chemical profile of unripe pulp of *Carica papaya*. *Pakistan journal of nutrition* ;4(6) :379-381p.

**Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (200)-** Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle. Rapport d'étude, 87p.

## P

**Poiret J M. (1827) -** « Histoire philosophique, littéraire, économique des plantes de l'Europe, Volume 4 ».Edition : Ladrangue et Verdière.p500.pp 124-129.

**Portier K N, Kirschvink N, Fellmann J, Coudert P, Lequeux. (2007)-** Paramètres influençant la structure et la fonction du globule rouge chez le cheval. *Annales de Médecine Vétérinaire*, Université de Liège.

**Potel A M . (2002)-** Les plantes médicinales au Sénégal (commune de Nguékokh, zone de la Petite Côte) Extraits du rapport du stage, sciences naturelles, effectué à Nguekokh : 22 p

## Q

**Quettier-Deleu, C. Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C et Luyckx, M. (2000).** Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hull and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 72, 35-42

## R

**Riehemann K, Behnke B & Schulze-Osthoff K. (1999) -** Plant extracts from stinging nettle (*Urtica dioica*), an antirheumatic remedy, inhibit the proinflammatory transcription factor NF- $\kappa$ B. *FEBS letters*, 442, 89-94

**Roberto C. (1982)** - Guide vert, des plantes médicinales. Solar, Ed. A Paris, pour la trad. Fran., pp. 87-89

## S

**Sargin S A, Akçicek E, Selvi S, (2013)** - An ethnobotanical study of medicinal plants used by the local people of Alaşehir (Manisa) in Turkey. *Journal of ethnopharmacology* 150: 860-874

**Sakat S, Juvekar A R et Gambhire M N. (2010)**- In vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of methanol extract of *Oxalis corniculata* Linn. *International Journal of Pharmacology and Pharmacological Sciences*. 2(1):146-15.

**Sensri K H. El BAR, Z. (2017)**-Etude, Comparative de la composition chimique des feuilles de la plante *Hedera hélix* L. Algérienne et Allemande, mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master, Université des Frères Mentouri Constantine.

**Shobana Ser Vidhya R. (2016)** -Evaluation of in vitro hemolytic activity of different parts of *abutilon indicum*(linn.).*world journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 5(5) :1182-1196p.

**Singh R, Dar S et Sharma P. (2012)**- Antibacterial Activity and Toxicological Evaluation of Semi Purified Hexane Extract of *Urtica dioica* Leaves. *Research Journal of Medicinal Plant* 6

## T

**Testai L, Chericoni S, Calderone V, Nencioni G , Nieri P , Morelli I et Martinotti, E. (2002)**- Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) roots extracts: in vitro and in vivo pharmacological studies. *J Ethnopharmacol*, 81, 105-9

**Teuscher E, R, Anton & A, Lobstein. (2005)** - Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Lavoisier, Paris, 522 p.

**Trease E , Evans W C . (1987)**-Pharmacognosy.nilliaire tinadali. london 13th edition :67-62p

## U

**Urquiaga I, Leighton F. (2000)**- Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. Laboratorio de Citología Bioquímica y Lípidos, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, Chile. *Biol. Res.* vol.33 n.2 Santiago.

## V

**Verbois S. (2015)**- « La phytothérapie une synthèse de référence illustrée pour découvrir les vertus et profiter des bienfaits des plantes». Editions ; Eyrolles. P 190

## W

**Wichtl M, Anton R. (2003)**- Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, Ed. TEC & DOC.

## Y

**Yao L H, Jiang Y M, S H I J, Tomas-Barberan F A, Datta N, Singanusong R, Chen S S.(2004)-** Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant.Food Human.Nutrition*, 59: page 113-122.

**Yasmeen et Hassnain. (2016)-**Comparative analysis of different bioactivities of *Curcuma longa*, *Nigella sativa* seeds, and *Camellia sinensis* extracted by four different methods: A green way to reduce oxidative stress. *Food Science and Biotechnology* 25(3):811-819

**Yougbaré-Ziébrou M N, Ouédraogo N, Lompo M et al. (2016)-**Activités anti inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae). *Phytothérapie* 14, 213–219

# *Annexe*

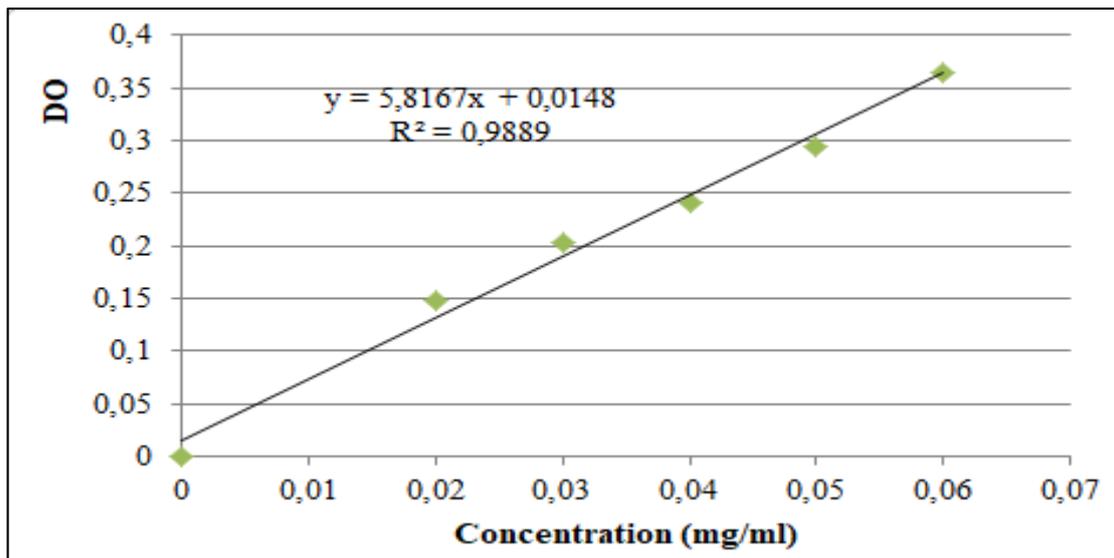


Figure 1 : Courbe d'étalonnage des phénols totaux (Acide gallique 0,1mg/ml)

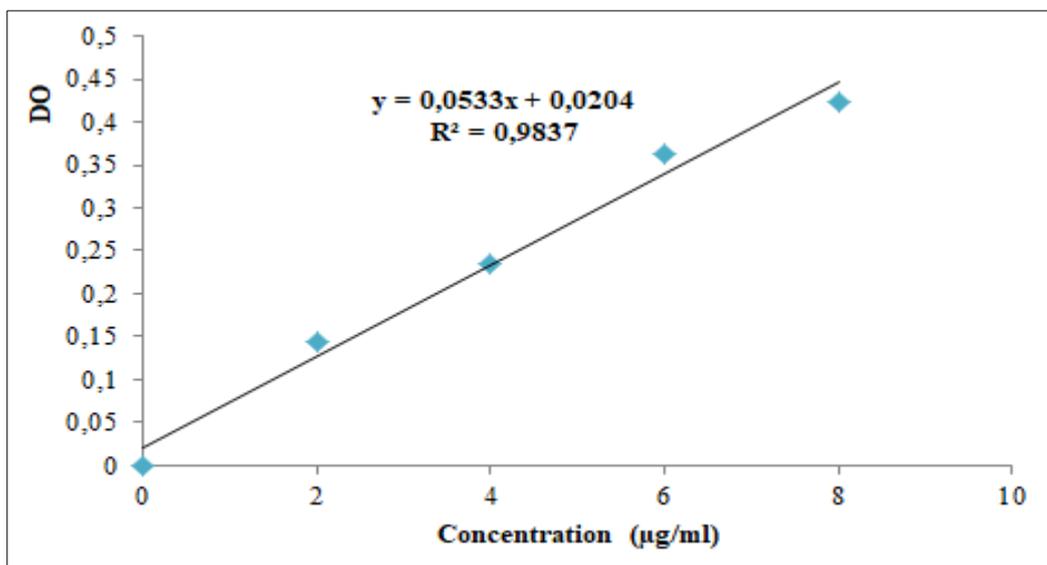


Figure 2 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes (Quercetine 0,1mg/ml)