

UNIVERSITE BLIDA 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

Mémoire de Magister

Spécialité Biotechnologies végétales

CARACTERISATION ET DOSAGE DE QUELQUES METABOLITES
SECONDAIRES DE L'ORTIE BRULANTE (*Urtica urens* L.) ET ETUDE
DES ACTIVITES ANTIOXYDANTE ET ANTIMICROBIENNE

Présenté par

Lamia ALI ABDESSEMEUD

Devant le jury composé de :

| | | |
|----------------------|-------------------------------------|--------------|
| Mr D. GUETARNI | Professeur Université Blida 1 | Président |
| Mr MS. HAMAI | Professeur Université Blida 1 | Examineur |
| Mme N. SMAIL SAADOUN | Professeur Université de Tizi ouzou | Examinatrice |
| Mme F. SAIDI | Professeur Université Blida 1 | Promotrice |

Blida février 2015

RESUME

L'objectif de ce travail est la valorisation d'une urticacée largement répandue en Algérie *Urtica urens* L. pour son utilisation dans les domaines thérapeutique et nutritionnel.

Le taux des cendres totales obtenu (29.02%) montre la richesse des feuilles en minéraux. Le screening phytochimique a mis en évidence la présence des flavonoïdes, des anthocyanes et des tannins. Le dosage des polyphénols totaux, par le réactif de Folin-Ciocalteu, dans l'extrait méthanolique a donné une valeur de 112.47 mg EAG/g MS dont 27.19% (30.58 mg EQ/g MS) sont des flavonoïdes. Dans l'extrait éthanolique la quantité des polyphénols totaux est de 103.27 mg EAG/g MS dont 65.22% sont des flavonoïdes (58.06 mg EQ/g MS).

Le pouvoir anti radicalaire des extraits alcooliques contre le DPPH est moyennement important par rapport aux standards. Il est de 1.03, 1.43, 5.56 et 253.18 (mg/ml)⁻¹ respectivement pour l'extrait méthanolique, éthanolique, rutine et quercétine. L'activité réductrice du fer est 3 fois moins importante que celle de l'acide ascorbique.

L'étude microbiologique a montré que les extraits alcooliques de *U. urens* sont légèrement inhibiteurs sur la croissance des souches microbiennes *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii* et *Candida albicans*.

Mots clés : *Urtica urens* L., polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

ABSTRACT

The objective of this work is the valorization of a widespread Urticaceae in Algeria, *Urtica urens* L., for use in therapy and nutritional field.

The rate of total ash obtained (29.02%) shows that nettle leaves are very rich in minerals. The phytochemical screening showed the presence of flavonoids, anthocyanins and tannins. The determination of total phenols, by the Folin-Ciocalteu reagent, in the methanol extract gave a value of 112.47 mg AGE / g DM which 27.19% (30.58 mg QE / g DM) are flavonoids. In the ethanol extract the amount of total phenols is 103.27 mg AGE/ g DM of which 65.22% are flavonoids (58.06 mg EQ / g DM).

The antioxidant activity of alcoholic extracts against DPPH is moderate compared to standards. It is measured at 1.03, 1.43, 5.56 and 253.18 (mg / mL) ⁻¹ in the methanol extract, ethanol extract, rutin and quercetin, respectively. The power of these extract to reduce the iron is 3 times less than that of ascorbic acid.

The microbiological study has shown that alcoholic extracts of *U. urens* are slightly inhibitors on the growth of the tested microbial strains: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii* and *Candida albicans*.

Keywords: *Urtica urens* L. total phenols, flavonoids, antioxidant activity, antimicrobial activity.

ملخص

إن الهدف من هذا العمل هو تقييم نبتة من الفصيلة القراصية الكثيرة الانتشار في الجزائر ألا وهي القراص الحارق (*Urtica urens L.*) و استخدامها في الطب التقليدي و التغذية.

إن كمية الرماد المتحصل عليها (29,02%) تبين ثراء الأوراق بالمواد المعدنية. أما الفحص الفيتوكيميائي، فقد أظهر وجود مركبات الفلافونويد، الأنتوسيان و التانات.

إن تقييم المركبات الفينولية، عن طريق كاشف Folin-Ciocalteu، بينت أن مستخلص الكحول الميثيلي لأوراق نبات القراص يحتوي على 112.47 ملغ/EAG غ (من المادة الجافة) حيث % 27.19 (30.58 ملغ/EQ غ مادة جافة) منها تمثل الفلافونويدات، أما مستخلص الكحول الإيثيلي فهو يحتوي على 103.27 ملغ/EAG غ (من المادة الجافة) و %56.22 (58.06 ملغ/EQ غ مادة جافة) منها عبارة عن فلافونويدات.

إن قوة مستخلصات نبات القراص في مكافحة الجذور الحرة متوسطة بالمقارنة مع الفلافونويدات النموذجية، حيث قدرت بـ : 1.03، 1.43، 5.56 و 253.18 (ملغ/مل) ⁻¹ لمستخلص الميثانول، الإيثانول، الروتين و الكيرسيتين على التوالي. اما قدرة مستخلصات النبتة على إرجاع الحديد المؤكسد فهي 3 مرات أقل من حمض الأسكوربيك.

في ما يخص النشاط المضاد للميكروبات، فقد أظهرت الدراسة أن المستخلصات الكحولية لنبتة القراص متوسطة الفعالية على نمو السلالات الميكروبية *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus* *Citrobacter* *Klebsiella pneumoniae* *Salmonella typhimurium* *Pseudomonas aeruginosa* *Candida albicans* ! *freundii*.

الكلمات الرئيسية: *Urtica urens L.* ، البوليفينولات ، الفلافونويدات ، النشاط المضاد الأكسدة ، النشاط المضاد للبكتيريا .

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

J'exprime ma profonde gratitude à Mme F. SAIDI (Professeur à l'Université Blida 1), qui ma fait l'honneur d'avoir veillé et dirigé ce travail. Ses conseils pertinents m'ont permis de mener à terme ce travail.

Je tiens à remercier Mr D. GUEZARNI (Professeur à l'université de Blida1), d'avoir accepté la présidence du jury, qu'il trouve dans ce travail toutes mes expressions respectueuses.

J'exprime mes plus vifs remerciements à Mme N. SMAIL-SAADOUN (Professeur à l'université de tizi-ouzou) et Mr MS. HAMAJDI (Professeur à l'université de Blida 1) d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Je ne remercierai jamais assez Mme Bentoura, Mme Brahim-errahmani, Mme Djebbabi, Mme Bani, et madame Faïdi, ainsi que Amina, Nabila, Nassima et Youmna pour les nombreux services qu'ils m'ont rendus durant la réalisation de ce travail, qu'ils trouvent ici le témoignage de mes remerciements les plus sincères.

Je suis très reconnaissante envers toute personne, qui m'a aidé à réaliser ce travail et je témoigne toute mon affection à Mr Fayçal pour son aide morale pendant toute la durée de ce travail.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents et grands parents

A mes sœurs

A toute ma famille et toutes mes amies

Lamia

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|-----------|
| RESUME..... | 1 |
| REMERCIEMENTS..... | 4 |
| TABLE DES MATIERES | 7 |
| INTRODUCTION..... | 13 |
| CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE | 15 |
| 1. Les plantes médicinales..... | 15 |
| 1.1. Historique | 15 |
| 1.2. Définition..... | 16 |
| 1.3. Utilisation et mode de préparation des plantes médicinales..... | 16 |
| 2. Généralités sur l'ortie | 17 |
| 2.1. Systématique..... | 17 |
| 2.2. Synonymes..... | 17 |
| 2.3. Noms vernaculaires..... | 18 |
| 2.4. Caractéristiques botaniques | 18 |
| 2.4.1. Feuilles..... | 18 |
| 2.4.2. Tige | 18 |
| 2.4.3. Racine..... | 18 |
| 2.4.4. Fleurs | 19 |
| 2.4.5. Fruit..... | 19 |
| 2.5. Principaux constituants de l'ortie | 20 |
| 2.6. Propriétés de l'ortie..... | 21 |
| 2.6.1. Propriétés médicinales..... | 21 |
| 2.6.2. Valeur nutritionnelle | 22 |
| 2.6.3. Usage agricole de l'ortie..... | 23 |
| 2.7. Toxicologie de l'ortie..... | 23 |
| 3. Les composés phénoliques..... | 24 |
| 3.1. Généralités | 24 |
| 3.2. Principales classes des composés phénoliques..... | 24 |

| | | |
|---|---|-----------|
| 3.2.1. | Les acides phénoliques simples..... | 24 |
| 3.2.2. | Les coumarines..... | 26 |
| 3.2.3. | Les quinones..... | 26 |
| 3.2.4. | Les tannins..... | 26 |
| 3.2.5. | Les flavonoïdes..... | 27 |
| 3.3. | Propriétés biologiques des composés phénoliques..... | 29 |
| 3.3.1. | Rôle physiologique des polyphénols dans la plante..... | 29 |
| 3.3.2. | Propriétés pharmacologiques des polyphénols..... | 30 |
| 4. | Activité antioxydante..... | 31 |
| 4.1. | Différents types de radicaux libres..... | 31 |
| 4.2. | Origine de production des ERO..... | 31 |
| 4.3. | Domages oxydatifs des radicaux libres..... | 32 |
| 4.4. | Les antioxydants..... | 32 |
| 4.4.1. | Antioxydants d'origine alimentaire..... | 33 |
| 4.4.2. | Antioxydants de synthèse..... | 33 |
| 4.5. | Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes..... | 33 |
| 5. | Activité antimicrobienne..... | 33 |
| 5.1. | Définition de l'activité antimicrobienne..... | 34 |
| 5.2. | Méthode de détermination de l'activité antimicrobienne..... | 34 |
| CHAPITRE II: PARTIE EXPERIMENTALE..... | | 35 |
| 1. | Matériel..... | 35 |
| 1.1. | Matériel végétale..... | 35 |
| 1.2. | Souches microbiennes..... | 37 |
| 2. | Méthodes..... | 37 |
| 2.1. | Etude histologique..... | 37 |
| 2.2. | Détermination de la teneur en eau..... | 38 |
| 2.3. | Détermination du taux d'humidité..... | 39 |
| 2.4. | Détermination de la teneur en cendres totales..... | 39 |
| 2.5. | Screening phytochimique..... | 40 |
| 2.5.1. | Caractérisation des saponosides..... | 40 |
| 2.5.2. | Caractérisation des tannins..... | 41 |
| 2.5.3. | Caractérisation des flavonoïdes..... | 42 |
| 2.5.4. | Caractérisation des alcaloïdes..... | 42 |
| 2.6. | Extraction des polyphénols totaux..... | 42 |
| 2.7. | Dosage des polyphénols totaux et des flavonoides..... | 43 |

| | |
|--|-----------|
| 2.7.1. Les polyphénols totaux..... | 43 |
| 2.7.2. Les flavonoïdes | 44 |
| 2.8. Activités biologiques..... | 45 |
| 2.8.1. L'activité antioxydante..... | 45 |
| 2.8.2. Activité antimicrobienne | 48 |
| 3. Etude statistique :..... | 50 |
| CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION | 51 |
| 1. Etude botanique | 51 |
| 1.1. La tige..... | 51 |
| 1.2. Les feuilles..... | 52 |
| 1.3. Les fleurs | 52 |
| 1.4. La racine..... | 53 |
| 2. Etude histologique..... | 53 |
| 2.1. La racine..... | 53 |
| 2.2. La tige..... | 54 |
| 3. La teneur en eau | 57 |
| 4. Le taux d'humidité | 58 |
| 5. La teneur en cendres | 59 |
| 6. Screening phytochimique..... | 60 |
| 7. Rendement de l'extraction des polyphénols totaux..... | 61 |
| 8. Dosage des composés phénoliques | 61 |
| 8.1. Polyphénols totaux | 61 |
| 8.2. Flavonoïdes..... | 63 |
| 9. Activités biologiques..... | 65 |
| 9.1. Activité antioxydante..... | 65 |
| 9.1.1. Piégeage du radical libre DPPH..... | 65 |
| 9.1.2. Réduction du fer (FRAP)..... | 68 |
| 9.2. Activité antimicrobienne..... | 69 |
| CONCLUSION | 76 |
| BIBLIOGRAPHIE | |
| APPENDICES | |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|-----------|
| Tableau 1.1: Principaux constituants chimiques de l'ortie..... | 20 |
| Tableau 1.2: Valeur nutritionnelle de la feuille d'ortie..... | 22 |
| Tableau 1.3: Principaux acides hydroxy-benzoïques..... | 25 |
| Tableau 1.4: Principaux acides hydroxy-cinnamiques..... | 25 |
| Tableau 1.5: Principaux types des coumarines..... | 26 |
| Tableau 1.6: Principales classes des flavonoïdes..... | 28 |
| Tableau 2.1: Souches microbienne utilisées dans le test antimicrobien..... | 37 |
| Tableau 2.2: Transcription des diamètres d'inhibition..... | 50 |
| | |
| Tableau 3.1: Teneur en eau des feuilles et tiges de <i>Urtica urens</i> L. | 57 |
| Tableau 3.2 : Taux d'humidité de la poudre des feuilles de <i>Urtica urens</i> L. ... | 58 |
| Tableau 3.3: Teneur en cendres des feuilles de <i>U. urens</i> L..... | 59 |
| Tableau 3.4: Screening phytochimique de <i>Urtica urens</i> L..... | 60 |
| Tableau 3.5: Rendement des extractions méthanolique et éthanolique des feuilles de <i>Urtica urens</i> L. | 61 |
| Tableau 3.6: Teneurs en polyphénols totaux dans les feuilles de <i>Urtica urens</i> L..... | 62 |
| Tableau 3.7: Teneur en flavonoïdes des feuilles de <i>Urtica urens</i> L..... | 63 |
| Tableau 3.8: Pouvoir anti radicalaire des extraits méthanolique et éthanolique des feuilles de <i>Urtica urens</i> L., la rutine et la quercétine..... | 67 |

LISTE DES ILLUSTRATIONS GRAPHIQUES

| | |
|---|----|
| Figure 1.1: <i>Urtica urens</i> L. (Original, 2013) | 19 |
| Figure 1.2: Fruits de <i>Urtica urens</i> L. (GX 2.5) (Original)..... | 19 |
| Figure 2.1: Carte géographique du point de récolte (Bouarfa) | 36 |
| Figure 2.2: Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH. | 45 |
| Figure 2.3: Technique de diffusion sur gélose..... | 48 |
| Figure 3.1: Tige de <i>Urtica urens</i> garnie de poils urticants (G x 4.5) (Original) | 51 |
| Figure 3.2: Feuilles avec poils urticants | 52 |
| Figure 3.3: Fleurs de <i>Urtica urens</i> L. G : 2.5x (Original)..... | 52 |
| Figure 3.4: Racine de <i>Urtica urens</i> L. (G: 2.5x) (original)..... | 53 |
| Figure 3.5: Structure anatomique de la racine de <i>Urtica urens</i> L. (Original) ... | 54 |
| Figure 3.6 : Structure anatomique d'une tige de <i>Urtica urens</i> L. G : 40x (Original) | 55 |
| Figure 3.7: Structure anatomique de la tige de <i>Urtica urens</i> L. G : 100x (Original) | 55 |
| Figure 3.8: Structure du tissu conducteur dans la tige de <i>Urtica urens</i> L G : 100x. (Original)..... | 56 |
| Figure 3.9: Pachyte continu dans une coupe de tige de <i>Urtica urens</i> L. G : 100x (Original)..... | 56 |
| Figure 3.10: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par les extraits de <i>Urtica uens</i> L., la rutine et la quercétine..... | 65 |
| Figure 3.11: Pouvoir réducteur des extraits de <i>Urtica urens</i> L. et de l'acide ascorbique | 69 |
| Figure 3.12: Effet des antibiotiques sur la croissance des souches microbiennes..... | 70 |

| | |
|---|----|
| Figure 3.13 : zones d'inhibition des extraits de <i>Urtica urens</i> vis-à-vis des souches microbiennes | 71 |
| Figure 3.14: Effet de l'extrait éthanolique de <i>Urtica urens</i> L. sur la croissance des souches microbiennes..... | 72 |
| Figure 3.15: Effet de l'extrait méthanolique de <i>Urtica urens</i> L. sur la croissance des souches microbiennes..... | 73 |

INTRODUCTION

L'utilisation des plantes médicinales en thérapeutique est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public [1]. En effet l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la planète ont recours aux plantes en tant que soin de santé primaire [2].

Actuellement les chercheurs s'intéressent aux composés de plantes qui sont destinés à l'utilisation dans le domaine phytopharmaceutique. Les molécules issues des plantes sont considérées comme une source très importante de médicaments ; sachant que plus de 120 composés provenant de plantes sont utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont appliqués selon leur usage traditionnel [2].

Les industries pharmaceutiques s'intéressent de plus en plus à la diversité des molécules biologiques des végétaux dans le but d'avoir de nouveaux composés pourvus de propriétés inédites. Parmi ces composés on retrouve, les terpènes, les alcaloïdes, et les polyphénols [3].

Les polyphénols sont en effet dotés de multiples vertus thérapeutiques, ils jouent un rôle très important, principalement dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique [4]. Cependant, l'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques antioxydante et antimicrobienne demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare, moins fréquente ou non connues dans la médecine traditionnelle. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs [5].

L'Algérie, grâce à sa diversité climatique, renferme une flore très riche en plantes médicinales dont certaines sont très utilisées en médecine traditionnelle [6]. Parmi ces plantes l'ortie est l'une des plus riches de notre climat méditerranéen, mais la majorité de nos contemporains semble l'ignorer. Elle est aujourd'hui considérée par la plus part d'entre nous comme adventice. Quand l'ortie est évoquée nous pensons immédiatement aux démangeaisons qu'elle provoque. De ce fait elle est fauchée, arrachée, piétinée, malmenée et combattue. Pourtant l'ortie est bien plus que cela, avec tous ses bienfaits extraordinaires, santé, beauté, jardin, maison, et même cuisine ; cette plante magique n'a pas fini de nous étonner [7].

Plusieurs études ont montré les propriétés médicinales de l'ortie dont la majorité, ont été réalisées sur l'espèce *Urtica dioica* L. [8] [9] [10] [11] [12] [13] [14] [15] [16] [17] [18] [19] [20] [21] [22], par contre l'espèce *Urtica urens* L. n'a été que très peu étudiée malgré sa disponibilité, en particulier en Algérie [23] [24] [25] [26].

Notre travail, s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche sur les plantes médicinales, et a pour but de participer à l'enrichissement des connaissances dans ce domaine et particulièrement sur un terrain aussi vierge que celui de l'Algérie, où de nombreuses plantes restent encore mal connues à l'heure actuel, en particulier l'espèce *Urtica urens* L. qui a fait l'objet de notre étude.

L'objectif principal de cette étude est de mettre en évidence quelques effets thérapeutiques que peut contenir cette espèce, dans le but d'être utilisée en phytothérapie. Pour cela nous avons réalisé un screening phytochimique pour rechercher les métabolites secondaires. Une extraction des polyphénols totaux a été effectuée pour étudier deux activités biologiques, à savoir l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne.

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Les plantes médicinales

1.1. Historique

L'homme utilise les plantes médicinales pour traiter les maladies depuis des millénaires. Il semble qu'il y a 60 000 ans, les Néandertaliens appréciaient les vertus thérapeutiques des plantes. Les chercheurs ont pu tirer cette conclusion après avoir examiné un lieu de sépulture en Iran dans lequel ils ont trouvé du pollen de huit plantes médicinales [27]. Depuis la préhistoire, les chamans ainsi que les sorciers et les sorcières d'Eurasie et d'Amérique ont acquis des connaissances très poussées sur les plantes médicinales [28].

Les arabes avaient aussi leurs spécialistes en médecine et en pharmacie tel que Abou Bakr al-Razi ou Rhazès (865 – 925). Il fut suivi par Ibn Sina ou Avicenne et Ibn al Baytar. Ce sont les arabes qui ont donné à la médecine son caractère scientifique. Les traditions pharmaceutiques arabes passèrent en Europe et influencèrent profondément les grandes universités au 9^{ème} siècle [29]. Hippocrate différencia entre l'usage interne et l'usage externe des plantes médicinales. Il définit la notion de dose qui permet de distinguer entre la drogue et le poison. Au 18^{ème} siècle, les professions de médecin et botaniste étaient étroitement liées [28]. Les plantes acquièrent ainsi leur identité. En effet un double nom latin indique le genre et l'espèce et ce, grâce aux travaux de Carl Von Linné. Celui-ci systématise l'utilisation de la dénomination binomiale [30].

1.2. Définition

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui contiennent une ou deux substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles. Le groupe consultatif de l'OMS qui a formulé cette définition a recommandé d'utiliser l'expression "drogue végétale" en référence à une partie de la plante médicinale (feuille, écorce, fleur ou racine) utilisée à des fins thérapeutiques [31].

1.3. Utilisation et mode de préparation des plantes médicinales

En phytothérapie, il y a plusieurs modes de préparation des plantes, selon l'usage que l'on veut en faire, les plus courant sont : [32].

- ✓ L'infusion : elle consiste à verser de l'eau chaude sur une quantité déterminée de plante puis laisser infuser pendant 3 à 15 minutes
- ✓ La décoction : consiste à mettre les plantes dans une casserole contenant de l'eau froide. Le tout est porté à ébullition et laissé frémir jusqu'à réduction du liquide au tiers.
- ✓ La macération : consiste à laisser une quantité de plantes dans de l'eau, l'huile ou dans de l'alcool à froid. La durée de macération peut varier de quelques heures à quelques semaines.
- ✓ Les extraits : sont obtenus en faisant évaporer une solution aqueuse, alcoolique ou étherée d'une substance végétale.
- ✓ L'alcoolature et teinture mère : elles sont obtenus par macération de la plante fraîche dans de l'alcool.
- ✓ Les huiles essentielles : sont extraites des plantes médicinales ou non, principalement par distillation à la vapeur d'eau ou par expression pour le zeste des agrumes.
- ✓ Les sirops : sont préparés par l'addition de sucre et d'eau dans les proportions 2/3 – 1/3 auxquels on incorpore le principe actif végétal.

- ✓ Les sucs : sont des liquides résultant du broyage et de l'expression du végétal frais.

2. Généralités sur l'ortie

L'ortie fait partie de la famille des Urticacées. Cette dernière compte une soixantaine de genres, dont le genre *Urtica*. Celui-ci regroupe plus de 80 espèces différentes. *Urtica dioïca* L. (la grande ortie) et *Urtica urens* L. (la petite ortie) sont les espèces les plus utilisées pour leurs multiples propriétés [7]. Le mot *Urtica*, qui fut le nom de la plante dans l'antiquité, vient du latin *Urere* (brûler). Par extension, urticaire, urticant, urtication se disent de toute espèces de démangeaisons similaires à celles provoquées par les piqûres d'ortie [33].

2.1. Systematique

D'après Angiosperm Phylogeny Group III (APGIII) (2009) [34].

| | |
|----------------|---------------------------|
| Règne : | Plantae |
| Embranchement: | Angiosperme |
| Classe : | Rosidaeae (Dicotylédones) |
| Ordre : | Rosales |
| Famille : | Urticaceae |
| Genre : | <i>Urtica</i> |
| Espèce : | <i>urens</i> L. 1753 |

2.2. Synonymes

Selon le référentiel des trachéophytes de France métropolitaine (2014) [35], l'espèce *Urtica urens* est connue par d'autres noms synonymes :

- ✓ *Urtica iners*. Forssk 1775
- ✓ *Urtica intermedia*. Formánek 1896
- ✓ *Urtica minor*. Moench 1794
- ✓ *Urtica ovalifolia*. Stokes 1812
- ✓ *Urtica parvula*. Blume 1856
- ✓ *Urtica quadristipulata*. Dulac 1867
- ✓ *Urtica verticillata*. vahl 1790

2.3. Noms vernaculaires

- ✓ En français : petite ortie, ortie brûlante, grièche, grec, sauvage, barbare et folle.
- ✓ En arabe : قراص, حرايق
- ✓ En anglais : Small Nettle
- ✓ En allemand : Brennessel.
- ✓ En espagnole : Ortiga.

2.4. Caractéristiques botaniques

Urtica urens est une plante annuelle, qui atteint rarement 50 cm. Elle est garnie de poils dont la pique est très brûlante [36] (figure 1.1).

2.4.1. Feuilles

Sont de couleur vert claire, assez petites, ovales, profondément incisées, dentées, comprenant 4 stipules à chaque paire de feuilles supérieurs

2.4.2. Tige

La tige est herbacée avec des poils urticants et d'autres non urticants.

2.4.3. Racine

La racine de la petite ortie est pivotante avec quelques ramifications secondaires.

2.4.4. Fleurs

La petite ortie est une plante monoïque et porte sur le même pied des fleurs staminées et pistillées réunies en grappes allongées ;

2.4.5. Fruit

Le fruit de l'ortie est un akène (figure 1.2)

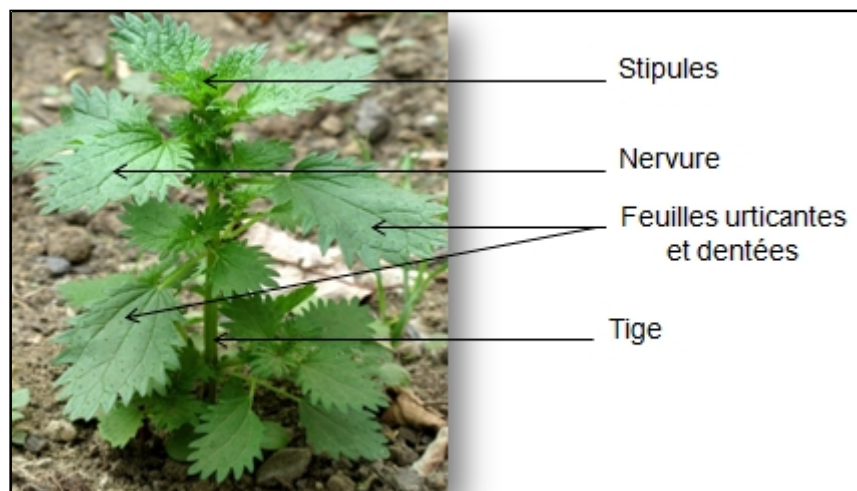


Figure 1.1: *Urtica urens* L. (Original, 2013)

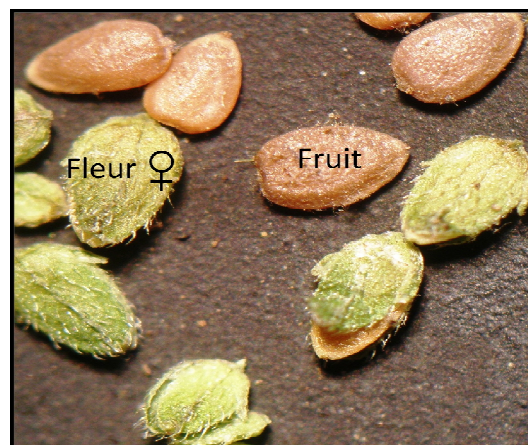


Figure 1.2: Fruits de *Urtica urens* L. (GX 2.5) (Original)

2.5. Principaux constituants de l'ortie

Dans le tableau 1.1 sont réunis les différents constituants chimiques de l'ortie.

Tableau 1.1: Principaux constituants chimiques de l'ortie

| Groupes chimiques | Constituants |
|------------------------|---|
| Neuromédiateurs | Histamine (0,1 à 0,56 %), Acétylcholine (1%), Sérotonine (0,02 %), Leucotriènes [37] |
| Acides phénols | Acides caféique et ces esters, Acide chlorogénique, Acides coumarique, Acide syringique, Acide gallique, et Acide férulique [38] |
| Flavonoïdes | 3-O glycosides et 3-O-rutinosides du Quercétol, du Kaempférol et de l'isorhamnétol (dans les fleurs) [39] Quercétine et rutine (dans les feuilles) [40]. |
| Minéraux ¹ | Calcium 3,24 g, Potassium 2,044 g, Phosphor 0,673 g, Magnésium 0,399 g, Fer 13,4mg, Manganèse 3,31 mg, Zinc 1,87 mg, Cuivre 1,59 mg, Bore 3,05 mg, Sodium 8,06 mg [33]. |
| Vitamines ¹ | Vit A 21 µg, Vit B ₁ 0,03 mg, Vit B ₂ 0,12 mg, Vit B ₉ 221 mg, Vit PP 1,45 mg, Vit K, Vit C 333 mg [33]. |
| Autres constituants | Scopolétol, sitostérol, glycoprotéines, lipides, sucres, acides aminés libres, chlorophylle. |

¹ Analyse des laboratoires Lara (Toulouse) pour le compte des éditions de Terran, réalisée en mai 2008 à partir d'un échantillon de 100 g de plante fraîche.

2.6. Propriétés de l'ortie

2.6.1. Propriétés médicinales

Aujourd'hui la majorité des propriétés médicinales de l'ortie sont connues. La pluparts des pratiques populaires ancestrales ont été confirmées par l'analyse et l'expérimentation. Parmi les propriétés connues de l'ortie :

- ✓ Régénératrice du sang, antianémique et antihémorragique [33] ;
- ✓ Reminéralisante et efficace contre l'arthrose, les rhumatismes et la goutte [9] [10];
- ✓ Antiulcéreuse et stimule les fonctions digestives [11] ;
- ✓ Antidiabétique [13] et hypoglycémiant par augmentation de la sécrétion de l'insuline [41] ;
- ✓ Prévention des complications cardiovasculaires associées au diabète de type2 [18] ;
- ✓ Dépurative, diurétique et astringente [42];
- ✓ Antiasthénique (lutte contre la fatigue) [33] ;
- ✓ Régularise le sommeil, et agit favorablement sur l'anxiété et la déprime [33] ;
- ✓ Améliore l'attention intellectuelle [33];
- ✓ Utilisée en cosmétique et permet de lutter contre les ongles cassants, la chute des cheveux et favorise leur repousse [7];
- ✓ Le traitement de l'acné est possible grâce à l'effet anti-inflammatoire du zinc qu'elle contient [33];
- ✓ Galactagogue (augmentation de la lactation) [33];
- ✓ Les racines ont une action sur l'hypertrophie bénigne de la prostate (HBP) [14] [43];
- ✓ La petite ortie est utilisée en Homéopathie pour apaiser l'urticaire [44];
- ✓ Utilisée comme engrais naturel et traitement préventif et curatif dans le jardin [45].

2.6.2. Valeur nutritionnelle

Avec leur haute teneur en protéines (8 %), les feuilles d'ortie présentent une meilleure qualité nutritionnelle par rapport aux autres légumes verts affichant en moyenne 1 à 2%. En plus ses protéines sont d'excellente qualité. Elles contiennent en effet 18 acides aminés différents notamment les 8 acides aminés essentiels. Des teneurs élevées en minéraux sont rencontrées dans les feuilles d'ortie, principalement le sélénium, le fer, le magnésium, le potassium, le zinc et le phosphore [7] (tableau 1.2). En effet elles contiennent trois fois plus de cendres que les épinards et le persil [46].

Tableau 1.2: Valeur nutritionnelle de la feuille d'ortie

| Elément | Dosage moyen/100g | Elément | Dosage moyen /100g |
|--------------------|--------------------------|----------------|---------------------------|
| Valeur énergétique | 76,4 Kcal | Manganèse | 3 à 3,31 mg |
| Eau | 76,9 à 80 g | Zinc | 0,9 à 1,87 mg |
| Fibres | 2 à 5,3 g | Cuivre | 0,52 à 1,59 mg |
| Cendres | 4 à 5,6 g | Bore | 3,05 mg |
| Calories | 57 à 82 Kcal | Sélénium | 2,7 µg |
| Protides | 4,6 à 8 g | Provitamine A | 0 à 6 mg |
| Lipides | 0,7 à 1,6 g | Vitamine B1 | 15 µg à 0,15 mg |
| Glucides | 7,1 à 12,7 g | Vitamine B2 | 0,12 à 0,23 mg |
| Calcium | 60 mg à 3,24 g | Vitamine B3 | 0,1 à 1,45 mg |
| Phosphore | 10 à 673 mg | Vitamine B6 | 68 µg |
| Fer | 7,8 à 13,4 mg | Vitamine B9 | 212 mg |
| Sodium | 1 à 16 mg | Vitamine C | 18,8 à 350 mg |
| Potassium | 400 mg à 2,044 g | Vitamine E | 14,4 mg |
| Magnésium | 7 à 399 mg | | |

[47]

2.6.3. Usage agricole de l'ortie

Parmi les dérivés agricoles de l'Ortie, le purin est le plus populaire et le plus anciennement connu aussi. Le purin d'Ortie s'utilise comme fertilisant, ou sous forme de traitement préventif de certaines maladies des plantes sans même connaître les raisons scientifiques. Ce n'est que récemment que des chercheurs ont décidé de soumettre le purin à de rigoureuses expérimentations [45].

Chrubasik et *al.* (2007) ont découvert que les racines d'ortie contenaient une substance de la famille des phytolectines, qui inhiberait la croissance des champignons responsables de certaines maladies des plantes [48], comme le cloque du Pêcher, oïdium, mildiou, rouille du Groseillier [46].

L'ortie, distribuée à l'état frais ou après dessiccation, améliore l'appétit chez les bovins. De ce fait, ils s'engraissent plus vite et sont en meilleure santé. Des analyses effectuées sur le lait et ses dérivés, produits par les animaux ainsi nourris sont venues confirmer l'intuition des agriculteurs [49]

L'Ortie, favorise aussi la ponte chez les oiseaux. Les graines distribuées aux poules durant l'hiver réchauffent celles-ci et permettent ainsi d'avancer les premières pontes. La graine, avant d'être distribuée, est séchée et réduite en une poudre qui sera ensuite mélangée à la ration quotidienne [46].

2.7. Toxicologie de l'ortie

La recherche dans les bases de données médicales et toxicologiques n'a révélé aucun effet indésirable grave lorsque les doses orales usuelles recommandées sont respectées. Plusieurs publications ont reporté que les contre-indications étaient inconnues et que les effets secondaires, pour la plupart des désordres gastro-intestinaux, étaient rares [50].

Aux Etats-Unis, la FDA (Food and Drug Administration) considère l'Ortie, prise par voie interne, comme une drogue à sécurité non définie [51]. Il a été rapporté que l'Ortie stimulait les contractions utérines chez la lapine, et par conséquent elle ne devrait pas être donnée par voie interne chez la femme enceinte [52].

Des études ont révélé que les orties pouvaient absorber des métaux lourds et des résidus de pesticides [53] [54]. Il est donc important que les orties récoltées pour l'alimentation ou l'utilisation médicinale ne contiennent aucune trace de contamination par des pesticides ou des métaux lourds.

3. Les composés phénoliques

3.1. Généralités

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires [55]. Ils constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué des substances chez les végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques présentes dans tous les organes de la plante. Ils résultent bio génétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et la voie acétate [56]. Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles [57].

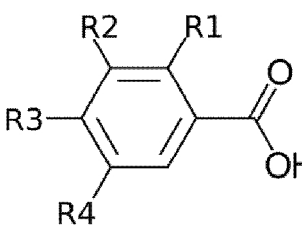
3.2. Principales classes des composés phénoliques

3.2.1. Les acides phénoliques simples

3.2.1.1. acides hydroxy-benzoïques

Ce sont des dérivés de l'acide benzoïque (tableau 1.3). Ils ont une structure générale de base de type (C6-C1). Ils existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides.

Tableau 1.3: Principaux acides hydroxy-benzoïques

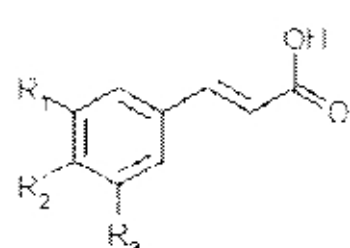
| Structure | R1 | R2 | R3 | R4 | Acides phénoliques |
|---|----|------|----|------|---------------------------|
|  | H | H | H | H | Acide benzoïque |
| | H | H | OH | H | Acide p-hydroxy-benzoïque |
| | H | OH | OH | H | Acide protocatéchique |
| | H | OCH3 | OH | H | Acide vanillique |
| | H | OH | OH | OH | Acide gallique |
| | H | OCH3 | OH | OCH3 | Acide syringique |
| | OH | H | H | H | Acide salicylique |
| | OH | H | H | OH | Acide gentisique |

[58]

3.2.1.2. Acides hydroxy-cinnamiques

Ils dérivent de l'acide cinnamique et possèdent une structure générale de base de type (C6-C3). Ils existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques. Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules. Le tableau 1.4 représente les principaux acides hydroxy-cinnamiques.

Tableau 1.4: Principaux acides hydroxy-cinnamiques

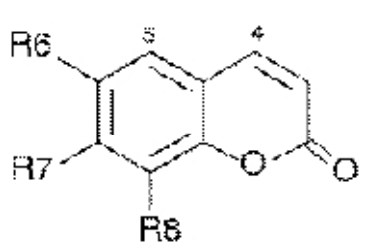
| Structure | R1 | R2 | R3 | Acide phénolique |
|---|------|----|------|--------------------|
|  | H | H | H | Acide cinnamique |
| | H | OH | H | Acide p-coumarique |
| | OH | OH | H | Acide caféique |
| | OCH3 | OH | H | Acide férulique |
| | OCH3 | OH | OCH3 | Acide sinapique |

[58]

3.2.2. Les coumarines

Les coumarines dérivent de la cyclisation interne de la chaîne latérale, (tableau 1.5). Ils ont fréquemment un rôle écologique ou biologique.

Tableau 1.5: Principaux types des coumarines.

| Structure | R1 | R2 | R3 | Acide phénolique |
|---|------|----|----|------------------|
|  | H | OH | H | Ambélliférol |
| | OH | OH | H | Aescultol |
| | OCH3 | OH | H | Scopolétole |
| | OCH3 | OH | OH | Fraxétole |
| | H | OH | OH | Daphnétole |

[59]

3.2.3. Les quinones

Ce sont des substances colorées et brillantes, en générale rouges, jaunes ou oranges et possèdent deux fonctions cétones [60].

3.2.4. Les tannins

ce sont des substances d'origine organique que l'on trouve dans pratiquement toutes les plantes et dans toutes leurs parties (écorces, racines et feuilles). Ils sont caractérisés par leur astringence [61]. Ils dérivent de l'acide gallique et d'autres acides poly-phénoliques. Ils résultent de l'estérification, par ces acides, des fonctions alcooliques du glucose. Leur structure chimique est très variable mais comporte toujours une partie poly-phénolique [4].

Chez les plantes supérieures, on distingue en générale deux groupes de tannins qui diffèrent entre eux par leur structure ainsi que par leur origine biosynthétique : les tannins hydrolysables et les tannins condensés [4].

3.2.4.1. Les tannins hydrolysables

ils sont composés d'ester de sucre et d'un nombre variable de molécules d'acides phénoliques. Le sucre le plus fréquemment rencontré est le glucose. Les acides phénols impliqués dans l'estérification sont l'acide gallique et l'acide hexahydroxydiphénique [62].

3.2.4.2. Les tannins condensés ou pro-anthocyanidines

ce sont des flavones polymériques. Ils consistent en unités flavan-3 ol reliées ensemble par des ponts carbonés en position 4-8 et 4-6. Ils ont été identifiés chez tous les groupes des végétaux. [63] [64] [65] [66] [67] [68] [69].

3.2.5. Les flavonoïdes

3.2.5.1. Généralités

Le nom flavonoïdes proviendrait du terme flavedo. Il désigne la couche externe des écorces d'orange [70]. Cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du mot flavus (flavus = jaune) [71] [72].

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base. Ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbone constitué de deux cycles aromatiques qui sont reliés entre eux par une chaîne de C3 en formant ainsi un hétérocycle [73]. Cette structure est généralement représentée selon le système C6-C3-C6 [74], de type diphenyle propane dont des groupements hydroxyles, oxygène, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule [75] [72]. Près de 4000 flavonoïdes ont été décrits [76].

Le tableau 1.6 montre les différentes classes de flavonoïdes, leurs structures et leurs molécules dérivées.

Tableau 1.6: Principales classes des flavonoïdes

| Classes | Structure chimique | R5 | R7 | R3' | R4' | R5' | Exemples |
|-----------------|--------------------|----|-------|-----|------------------|-----|---------------|
| Flavones | | OH | OH | H | OH | H | Apigénine |
| | | OH | OH | OH | OH | H | Lutéoline |
| | | OH | OH | OH | OCH ₃ | H | Diosmétine |
| Flavonols | | OH | OH | H | OH | H | Kaempférol |
| | | OH | OH | OH | OH | H | Quercétine |
| | | OH | OH | OH | OH | OH | Myrecétine |
| Flavanols | | OH | OH | OH | OH | H | Catéchine |
| Flavanones | | OH | OH | H | OH | H | Naringénine |
| | | OH | OH | OH | OH | H | Eriodictyol |
| Anthocyanidines | | OH | OH | H | OH | H | Pelargonidine |
| | | OH | OH | OH | OH | H | Cyanidine |
| | | OH | OH | OH | OH | OH | Delphénidine |
| Isoflavones | | OH | OH | / | OH | / | Genisteine |
| | | H | O-Glu | / | OH | / | Daidezine |

3.3. Propriétés biologiques des composés phénoliques

3.3.1. Rôle physiologique des polyphénols dans la plante

La présence des flavonoïdes ainsi que d'autres polyphénols dans quasiment tous les organes végétaux, confère une protection considérable à la plante. Elle assure sa survie dans les différentes conditions environnementales. Ces métabolites sont dotés de plusieurs rôles au sein de la plante, dont on peut citer :

3.3.1.1. La lutte contre les agents pathogènes

Des recherches ont démontré que la teneur en polyphénols augmente lorsque la plante est agressée par des bactéries, champignons, ou stressée par une exposition à de fortes températures [77] [70], confirmant leur rôle important dans la défense de la plante.

3.3.1.2. L'astringence et le goût

L'astringence correspond à une sensation d'assèchement dans la bouche. Elle est provoquée par l'ingestion de nombreux aliments. Dont la composition renferme des polyphénols. Il s'agit plus précisément des pro-anthocyanidines ou tannins condensés. De plus ces dernières contribuent à donner un goût amer aux aliments. D'un point de vue chimique, ces polyphénols provoquent la précipitation des protéines salivaires, entraînant avec elles des molécules d'eau qui lubrifie alors la muqueuse buccale [77] [78].

3.3.1.3. L'attraction et la pollinisation

Ces métabolites, polyphénols et flavonoïdes interagissent aussi dans le phénomène d'attraction. La couleur de la plante est considérée comme un signal visuel aux insectes pollinisateurs [79] [77].

3.3.1.4. Composés phénoliques et symbiose

L'existence d'une symbiose entre les légumineuses et les bactéries du genre *Rhizobium* permet à la plante d'acquérir la faculté de fixer directement l'azote atmosphérique. Les flavonoïdes possèdent un rôle important et primordial dans ce phénomène biologique. Il représente le premier niveau de spécificité entre la plante hôte et les différentes lignées bactériennes [80] [81] [77] [82].

3.3.2. Propriétés pharmacologiques des polyphénols

Les polyphénols sont reconnus par leurs activités biologiques nombreuses qui comprennent des activités antimicrobiennes, anti-cancérigènes, antifongiques, analgésiques, anti-inflammatoires, diurétiques et antioxydantes [83] [4].

Les acides phénols, dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique ont des propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, anti-radicalaire, cholagogue, hépato-protectrices, cholérétique et immunostimulantes [4].

Les coumarines sont connues pour leurs propriétés anti-œdémateuses [84], anti inflammatoires et analgésiques [85] [86]. De plus ils ont une action contre les troubles gastriques [87], les maladies virales [88] et microbiennes [89].

Les tannins favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse. Ils tonifient la peau dans le cas des rides, en plus de leur propriété de précipiter les protéines (fongiques ou virales) [60].

Les flavonoïdes sont des composés qui possèdent de fortes propriétés antioxydantes [90] [91]. Des études ont montré qu'ils sont des inhibiteurs d'enzymes responsable de la production de radicaux [92] [93]. De même des effets antiallergiques [94], anti-inflammatoires [93], antiulcéreux [95] [96], anti tumoraux [97] [98] [95] [99] [100] et antimicrobiens [101] [102], ont été démontrés.

4. Activité antioxydante

Les cellules et les tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques, chimiques et métaboliques. La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant. Ce stress est dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé qui est la production de radicaux libres dérivés de l'oxygène [103].

4.1. Différents types de radicaux libres

Un radical libre est une espèce caractérisée par une instabilité et /ou un pouvoir oxydant fort. Il se différencie par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe. Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les radicaux primaires à savoir : l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le monoxyde d'azote ($NO\cdot$), le radical peroxy ($ROO\cdot$) et le radical alkoxy ($RO\cdot$) [104].

4.2. Origine de production des ERO

Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal. Cette production augmente en rapport avec l'élévation de la consommation d'oxygène [105]. Plusieurs mécanismes et systèmes responsables de la production de radicaux libres ont été identifiés jusqu'à présent, parmi lesquels nous citons :

- ✓ Des fuites d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire de la mitochondrie [106];
- ✓ Des processus inflammatoires produits par les cellules phagocytaires activées [107] [108];
- ✓ Du système xanthine déshydrogénase/oxydase activé lors d'ischémie-reperfusion [109] [110] [111];
- ✓ D'exposition à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, la fumée de cigarette et le rayonnement [112].

4.3. Dommmages oxydatifs des radicaux libres

Les phénomènes radicalaires de base sont utiles au bon fonctionnement de l'organisme. L'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponibles. La conséquence de ce déséquilibre va entraîner un stress oxydatif [113]. Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés : lipides, protéines, glucides et ADN [106] [111]. Toutes ces altérations augmentent le risque de plusieurs maladies [114]. Parmi lesquelles, nous citons : les maladies d'Alzheimer [115] [116], de Parkinson [117], de Creutzfeldt Jacob et de méningo-céphalites [118], les maladies cardiovasculaires et déficience cardiaque [119], les œdèmes et vieillissement prématuré de la peau [120] et le cancer [118].

4.4. Les antioxydants

Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau de molécules réactives de l'oxygène. Elles disposent de moyens de défense, les uns sont d'origine endogène, comme des enzymes, et d'autres sont apportés par l'alimentation [121].

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui, présente à faible concentration, par rapport au substrat oxydable, est capable d'atténuer l'oxydation de ce substrat [122]. Les antioxydants agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables. La molécule piégeuse va devenir un radical, elle sera ensuite soit détruite, soit régénérée par un autre système. Ce type d'antioxydant est appelé piégeur ou éboueur ("scavenger" pour les Anglo-saxons). De très nombreux composés alimentaires peuvent aussi avoir ce comportement [104]. Selon leur origine on distingue :

4.4.1. Antioxydants d'origine alimentaire

Les aliments végétariens sont source de nombreuses substances à potentiel antioxydant [123]. Les vitamines (tocophérols, β -carotène, acide ascorbique) et les métabolites secondaires en particulier les polyphénols sont des composés antioxydants d'origine alimentaire [124].

4.4.2. Antioxydants de synthèse

De nombreux antioxydatifs de synthèse sont utilisés comme additifs alimentaires : butylhydroxyanisol (BHA) et butylhydroxytoluène (BHT). Ce sont des dérivés phénoliques qui agissent comme la vitamine E [125].

4.5. Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes

Plusieurs méthodes sont disponibles pour mesurer l'activité antioxydante des aliments et les systèmes biologiques [118] [126]. Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes : soit par le transfert d'atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un simple électron [127] [128].

Parmi les techniques les plus utilisées:

- ✓ La méthode FRAP (Capacités réductrices ferriques d'antioxydants) [129] ;
- ✓ La méthode du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) [130].

5. Activité antimicrobienne

Il est connu que le traitement des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. Hélas la consommation à grande échelle de ces " médicaments " peut conduire à une multi résistance des souches. A cet effet les végétaux ont toujours constitué une source d'inspiration dans les recherches médicales [131].

Les extraits de diverses plantes restent d'un grand intérêt pour la valorisation des ressources naturelles. Ils sont utilisés comme remèdes alternatifs dans le traitement de nombreuses maladies infectieuses. Ils peuvent aussi être utilisés comme moyens de conservation des aliments [132].

5.1. Définition de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne correspond à l'activité d'une molécule ou d'un composé présent au sein d'un végétale qui à très faible concentration, inhibe le développement d'une bactérie [133].

Les polyphénols sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytique (les protéases et les carboxhydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et l'enveloppe cellulaire [101].

5.2. Méthode de détermination de l'activité antimicrobienne

Parmi les multiples méthodes appliquées, celle de la diffusion en gélose s'avère la plus utilisée. Elle consiste en la recherche de la sensibilité d'une bactérie suite à l'application d'un extrait de plantes.

CHAPITRE II: PARTIE EXPERIMENTALE

Nos expérimentations ont été effectuées sur une durée d'une année, de septembre 2013 à septembre 2014 au niveau :

- ✓ Du laboratoire de recherche des biotechnologies, environnement et santé de l'université de Blida1, faculté SNV.
- ✓ Laboratoire de recherche d'amélioration végétale du département d'agronomie à l'université de Blida1.
- ✓ Le laboratoire de recherche des biotechnologies animales à l'institut des sciences vétérinaire Blida 1.
- ✓ Laboratoire des ressources naturelles, université de Tizi ouzou.

1. Matériel

1.1. Matériel végétale

Notre choix a porté sur l'espèce *Urtica urens* appartenant à la famille des Urticacées. La récolte de la plante a été effectuée au mois de mars 2013 au niveau du Parc National de Chréa (Wilaya de Blida). Le point de récolte se situe dans la région de Charkia, commune de Bouarfa (figure 2.1). Il est localisé à 4.025.455.65 m de longitude et 480.803.03 m de latitude, et 450 m d'altitude,

La plante étudiée est identifiée au niveau du laboratoire de botanique du département d'agronomie (Blida 1) et l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie d'El Harrache (Alger).

Une fois la récolte du matériel végétale réalisée, les feuilles sont lavées à l'eau puis séchées à l'ombre à température ambiante pendant 3 semaines. Elles sont ensuite finement pulvérisées au moulin.



Figure 2.1: Carte géographique du point de récolte (Bouarfa)

1.2. Souches microbiennes

Nous avons utilisé 6 souches bactériennes et une levure (tableau 2.1). Ce sont des souches de référence de l'American type culture collection (ATCC), gracieusement fournies par le laboratoire de biotechnologie de l'Institut Pasteur d'Alger.

Tableau 2.1: Souches microbiennes utilisées dans le test antimicrobien

| | Souches microbiennes | Référence | Gram |
|-------------------|-------------------------------|------------------|-------------|
| Bactéries | <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC 28923 | positif |
| | <i>Escherichia coli</i> | ATCC 25922 | Négatif |
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 27859 | Négatif |
| | <i>Salmonella typhimurium</i> | ATCC 13311 | Négatif |
| | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | ATCC 700603 | Négatif |
| | <i>Citrobacter freundii</i> | ATCC 8090 | Négatif |
| Ascomycète | <i>Candida albicans</i> | ATCC 1023 | / |

2. Méthodes

2.1. Etude histologique

Des coupes histologiques ont été effectuées au niveau des tiges et des racines de *Urtica urens*. Ces dernières ont été observées sous microscope photonique (MP) après une double coloration au vert de méthyle et rouge Congo [134].

➤ Réalisation des coupes à main levée

La technique de coupes à main levée est directe, rapide, mais très délicate pour obtenir des coupes minces et observables. Elle est réalisée à l'aide d'une lame de rasoir.

➤ Coloration

Nous avons utilisé la technique classique de double coloration au vert de méthyle et rouge Congo. Elle permet de colorer spécifiquement les parois cellulaires en fonction de leur composition chimique. Les coupes réalisées sont colorées selon la procédure décrite en appendice E :

➤ Montage et observation

Les coupes histologiques ainsi colorées sont montées entre lame et lamelle et observées au MP.

2.2. Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau est déterminée selon la technique de BOUKHARISS *et al.*, [135] avec quelques modifications.

Les feuilles et les tiges sont lavées et pesées séparément. Elles sont séchées dans une étuve ventilée à 75°C. Elles sont pesées toutes les 24H jusqu'à obtention d'un poids constant (PS). La teneur en eau (TE) est calculée selon la formule suivante :

$$TE = \frac{PF - PS}{PF} \times 100$$

Le taux de la matière sèche (MS) est déterminé selon la formule ci-dessous :

$$\% MS = 100 - TE$$

Où

TE = teneur en eau en % de poids frais ;

MS = matière sèche en % ;

PF = poids frais en g ;

PS = poids sec en g.

2.3. Détermination du taux d'humidité

Pour déterminer le taux d'humidité, environ 1 g de poudre végétale est introduit dans une étuve thermostatée à 75°C pendant 48H. Les échantillons sont pesés toutes les 24H jusqu'à obtention d'un poids constant. Le calcul du pourcentage d'humidité est donné par la formule suivante :

$$TH = \frac{Pe - Ps}{Pe} \times 100$$

Où

TH = taux d'humidité en % ;

Pe = prise d'essai en g ;

Ps = poids sec en g.

2.4. Détermination de la teneur en cendres totales

Les cendres totales sont le résidu de composés minéraux qui restent après l'incinération d'un échantillon contenant des substances organiques d'origine animale, végétale ou synthétique.

➤ Principe

Nous avons pesé environ 2g de poudre de feuilles séchées dans des creusets en porcelaine. Nous avons incinéré les échantillons à haute température (500 à 550°C) pendant environ 4H jusqu'à obtention de cendres blanches, gris clair ou rougeâtres. Ces creusets sont ensuite pesés après avoir été refroidis dans un dessiccateur pour déterminer le poids des résidus (les minéraux) [136].

Le pourcentage des cendres totales est calculé comme suit :

$$TC = \frac{P}{Pe} \times 100$$

Où :

TC = Taux de cendres totales en % (g/100g de poudre) ;

P = poids des feuilles calcinées (cendres) en (g) ;

P = poids de la prise d'essais en (g).

2.5. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un ensemble des méthodes et techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles de la plante. Ces techniques permettent de détecter, dans la plante, la présence des produits appartenant à des classes de composés physiologiquement actifs. Le nombre de ces classes est important et nous ne pouvons vérifier la présence de chacune. A cet effet nous avons choisi les classes faciles à détecter compte tenu des ressources techniques disponibles.

2.5.1. Caractérisation des saponosides

La présence des saponosides est caractérisée par leur pouvoir moussant en solution aqueuse qui donne l'indice de mousse [137].

Pour la préparation du décocté nous introduisons 1g de poudre dans 100 ml d'eau distillée. Le mélange est maintenu à ébullition pendant 30 min. Après filtration et refroidissement nous ajustons la décoction à 100 ml.

Dans une série de tubes à essai, nous introduisons successivement 1,2, 3..., 10 ml de décocté. le volume de chaque tube est ajusté à 10ml avec de l'eau distillée. Nous agitons ensuite les tubes dans le sens de la longueur pendant 15s. Après 15min de repos, nous mesurons la hauteur de mousse (en cm) dans chaque tube. Si elle est proche de 1cm dans le X^{ème} tube l'indice de mousse est alors calculé par la formule suivante :

$$I_m = \text{hauteur de la mousse du } X^{\text{ème}} \text{ tube} \times 10 / 0.0X$$

La présence de saponines dans la plante est confirmée avec un indice de mousse supérieur à 100 [138].

2.5.2. Caractérisation des tannins

La présence des tannins galliques et catéchiqes est mise en évidence par l'utilisation du perchlorure ferrique (FeCl_3) [137].

Un infusé à 5% est préparé à partir de 5g de poudre végétale dans 100 ml d'eau distillée bouillante. Après 15 min la suspension est filtrée et rincée à l'eau pour obtenir 100 ml d'infusé.

A 30 ml d'infusé sont additionnés 15 ml du réactif de Stiasny. Après 15 minutes de chauffage au bain Marie à 90°C, le mélange est filtré et saturé par 5g d'acétate de sodium. Ensuite 1ml de la solution FeCl_3 à 1% (m/v) est ajouté. L'apparition d'une teinte bleu-noire indique la présence des tannins galliques.

La recherche des tannins catéchiqes (non hydrolysables) est réalisée à partir de 15ml du réactif de Stiasny additionnés à 5 ml d'infusé. Le mélange est maintenu au bain Marie à 80°C pendant 30 min. La formation d'un précipité caractérise les tannins catéchiqes [139].

2.5.3. Caractérisation des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été recherchés par la réaction à la cyanidine [139].

- ✓ Les flavones et flavanones sont mis en évidence par 5 ml d'alcool chlorhydrique ajoutés à 5 ml d'infusé. En ajoutant quelques copeaux de magnésium une coloration rose orangé (flavones) ou violacée (flavanones) apparaît.
- ✓ Les leucoanthocyanes sont révélés par la même réaction sans l'ajout des copeaux de magnésium. Après un chauffage de 15 min au bain Marie, une coloration rouge indique leur présence (flavonols et flavanols).
- ✓ Les anthocyanes sont révélés en ajoutant 5ml de H₂SO₄ (10%) et 5ml de NH₄OH (50%) à 5ml d'infusé (5%). L'accentuation de la couleur de l'infusé par acidification puis virage au bleu en milieu basic, indique la présence d'anthocyanes.

2.5.4. Caractérisation des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont caractérisés à partir du réactif de Mayer (solution de tétra-iodomercure de potassium) [137].

10g de poudre végétale sont macérés dans 50 ml de H₂SO₄ à 10% pendant 24 h à température ambiante. Le macéré est ensuite filtré et lavé avec de l'eau distillée de manière à obtenir 50 ml de filtrat. 5 gouttes du réactif de Mayer sont ensuite ajoutées à 1ml du filtrat. La réaction dure 15min.

L'apparition d'un précipité blanc-jaune ou jaune-clair révèle la présence d'alcaloïdes.

2.6. Extraction des polyphénols totaux

L'extraction des polyphénols est réalisée par macération de la poudre végétale dans un solvant organique polaire. Pour cela nous avons choisi le protocole cité par OTLES et YALCIN [22] en y apportant quelques modifications.

On introduit 5 g de poudre végétale avec 50 ml de méthanol ou éthanol, dans un Erlenmeyer. Le mélange est macéré pendant 72h à température ambiante avec changement du solvant chaque 24h.

Après filtration sur papier wattman N°1, une évaporation à sec est réalisée en utilisant un évaporateur rotatif à 50°C. Les extraits secs obtenus (extraits méthanolique et éthanolique) sont mis dans des flacons opaques et conservés à 4°C jusqu'à utilisation.

Le rendement d'extraction (R %) a été calculé en se basant sur la formule suivante :

$$R \% = \frac{\text{Masse du résidu extrait (g)}}{\text{Masse de la poudre végétale (g)}} \times 100$$

2.7. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

2.7.1. Les polyphénols totaux

a) Principe

L'analyse du contenu poly-phénolique total a été faite par la technique de Folin-Ciocalteu (FC) [140] [141]. Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Lors de l'oxydation il est réduit en un mélange d'oxyde bleu. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait analysé.

b) Mode opératoire

Les polyphénols sont déterminés par spectrophotométrie, suivant le protocole appliqué par OTLES et YALCIN [22].

50 µl d'extrait de *Urtica urens* a été mélangé à 250 µl du réactif FC, après 5 min d'incubation à l'obscurité à température ambiante, 750 µl d'une solution de Na₂CO₃ à 7.5 % sont ajoutés. Une courbe d'étalonnage de l'acide gallique (25, 50, 100, 150, et 200 µg/ml) est établie, en suivant les mêmes étapes. Le blanc est réalisé en remplaçant l'extrait par du méthanol 95%.

Après incubation pendant 120 min à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance des échantillons et du standard est mesurée à 765 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-visible. Toutes les mesures sont répétées 3 fois

Le résultat est exprimé en mg équivalent d'acide gallique / g de matière sèche (MS).

2.7.2. Les flavonoïdes

La détermination des flavonoïdes totaux est réalisée selon la méthode citée par MAHMOUDI et *al.*, [142].

➤ Mode opératoire

500 µl de chaque extrait à analyser sont ajoutés à 1500 µl de méthanol à 95%, 100 µl de AlCl₃.6H₂O à 10% (m/v), 100µl d'acétate de sodium (CH₃COONa) 1M et 2,8 ml d'eau distillée. Le blanc est réalisé en remplaçant l'extrait par du méthanol à 95%. Une courbe d'étalonnage de la quercétine est établie, en suivant les mêmes étapes. Toutes les mesures sont répétées 3 fois

Le mélange est agité puis incubé à l'obscurité à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance est ensuite mesurée à 415 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-visible.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine / g de matière sèche (MS).

2.8. Activités biologiques

Deux activités biologiques sont testés à savoir l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne, en utilisant l'extrait des polyphénols totaux (méthanolique et éthanolique).

2.8.1. L'activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits polyphénoliques est testée par deux méthodes différentes :

- ✓ Piégeage du radical libre DPPH
- ✓ Réduction du fer ou la méthode FRAP

2.8.1.1. Piégeage du radical libre DPPH

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 515 nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune (figure 2.2).

Les absorbances mesurées à 515 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'échantillon.

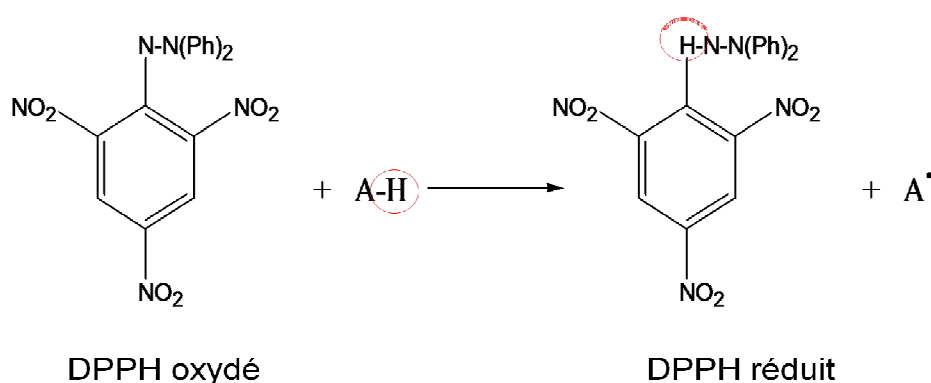


Figure 2.2: Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH.

a) Mode opératoire

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la technique décrite par SAHA et *al.*, [143].

Un volume de 1ml des différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 2 ml de la solution méthanolique du DPPH (2mg de DPPH dans 50ml de méthanol) fraîchement préparée. Le contrôle négatif est préparé en parallèle en remplaçant l'extrait par le méthanol. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min à la température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

b) Expression des résultats

Les pourcentages d'inhibition sont calculés par la formule suivante :

$$Pi = \frac{A_c - A_t}{A_c} \times 100$$

Où :

Pi : Pouvoir inhibiteur en % ;

A_c : Absorbance du contrôle ; A_t : Absorbance de l'extrait testé.

c) Calcul des IC₅₀

IC₅₀ de l'extrait de la plante, est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Elle est calculée graphiquement par les régressions linéaire; pourcentage d'inhibition en fonction de concentrations d'extrait.

2.8.1.2. Réduction du fer

a) Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir oxydant. La technique FRAP (Ferric reducing antioxidant power) a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700nm [144]. Une augmentation de l'absorbance du milieu correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

b) Mode opératoire

Le pouvoir réducteur est déterminé suivant la méthode décrite par OYAIKU [144]. 1 ml de différentes concentrations de chaque extrait est mélangé avec 2,5 ml de la solution tampon phosphate (0,2 M ; pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) à 1% (m/v). Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 30 min. Ensuite 2,5ml de l'acide trichloracétique (10%) sont additionnés. Après centrifugation à 3000 tours/min pendant 10 min, 2.5ml du surnageant de chaque concentration est mélangé avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml FeCl_3 (0,1%).

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans cette expérience dans les mêmes conditions opératoires.

L'absorbance est mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

c) Expression des résultats

Pour exprimer les résultats obtenus, nous avons tracé les graphes des absorbances obtenues en fonctions des différentes concentrations en extrait de plante. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des fractions testées.

2.8.2. Activité antimicrobienne

Nous avons testé l'activité antimicrobienne des extraits de *U. urens* L. par la technique de diffusion sur gélose.

a) Principe

Le principe de cette technique est celui du test d'antibiogramme. Il consiste à placer un disque de papier imprégné de l'extrait (à différentes concentrations) sur la gélose inoculée au préalable. L'extrait végétal diffuse dans le milieu en provoquant un gradient de concentration décroissant autour du disque (figure 2.3).

L'effet de l'extrait de la plante se traduit par la présence d'une zone d'inhibition (ZI) de la croissance microbienne autour du disque [11].

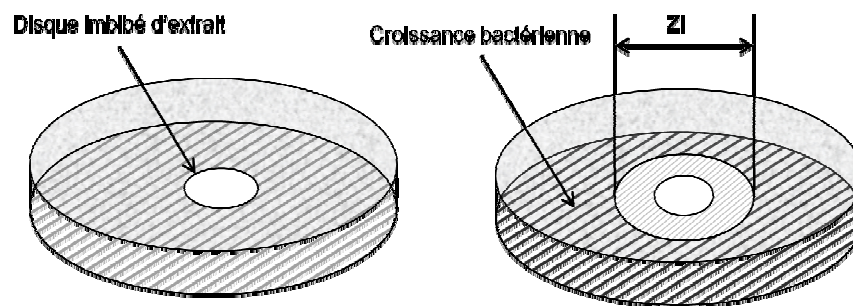


Figure 2.3: Technique de diffusion sur gélose.

b) Mode opératoire

➤ Repiquage des souches

A partir de leur milieux de conservation, les bactéries sontensemencées sur des boites de Pétri contenant le milieu Muller Hinton pour les bactéries et milieu OGA pour la levure. Les boites sont ensuite incubées (24 heures pour les bactéries, 48h pour la levure), afin d'obtenir une culture jeune avec des colonies isolées.

➤ Préparation des extraits

Les extraits de *Urtica urens* L. sont obtenus par macération. Ces derniers sont solubilisés dans le DMSO (Diméthylsulfoxyde) à 60% (v/v) pour préparer les différentes concentrations à tester (1, 0.5, 0.25, et 0.125 mg/ml).

➤ Préparation des suspensions bactériennes

Des suspensions bactériennes sont préparées à partir des cultures jeunes (18-24h), en utilisant l'eau physiologique stérile. La concentration de chaque suspension bactérienne doit être d'environ 10^6 germe/ml, correspondant à une densité optique comprise entre 0.08 et 0.1 à une longueur d'onde de 625 nm.

➤ Préparation des disques

Des disques de 9 mm de diamètre sont stérilisés à l'autoclave pendant 20 min à 120°C. Ces disques stériles sont imprégnés par les extraits à tester.

➤ Application du test

Les boîtes de Pétri contenant le milieu de culture sont ensemencés par les suspensions bactériennes en utilisant des pipettes Pasteur stériles. Ensuite la suspension est étalée sur toute la surface gélosée à l'aide d'un râteau.

Les disques imprégnés d'extrait à tester sont déposés sur la gélose ensemencée. Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées dans une étuve à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 25°C pendant 5 jours pour la levure [145].

Le même test est répété en remplaçant les extraits de la plante par 3 antibiotiques à savoir : Chloramphénicol (30µg/ml), Acide fucidique (10µg/ml) et Acide pipemidique (20µg/ml) (témoin positif) et le DMSO (test négatif).

➤ Expression des résultats

Les résultats de l'activité antimicrobienne sont exprimés en termes de zone d'inhibition (ZI) en mm. Ces dernières sont mesurées à l'aide d'un pied à coulisse.

La mesure du diamètre des ZI est souvent transcrite dans différents symboles proportionnels à l'activité en suivant une échelle [146] (tableau 2.2).

Tableau 2.2: Transcription des diamètres d'inhibition

| Diamètre des ZI (mm) | Transcription | Activité inhibitrice | Sensibilité du germe |
|---------------------------------|----------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| ZI < 10 | - | Non inhibitrice | Non sensible |
| 10 < ZI < 16 | + | Légèrement inhibitrice | Peu sensible |
| 16 < ZI < 28 | ++ | Modérément inhibitrice | Assez sensible |
| ZI > 28 | +++ | Fortement inhibitrice | Très sensible |

[146]

3. Etude statistique :

L'étude statistique a été établie sur Statistica 7 de Soft Inc., Tulsa, USA, et Microsoft Office Excel 2007. Toutes les mesures sont données en moyenne \pm SD de 3 mesures. Pour la comparaison des échantillons nous avons utilisé les tests non paramétriques. Nous avons utilisé le test de Mann Whitney, (pour 2 échantillons) et le test de Kruskal-Wallis pour plusieurs échantillons.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Etude botanique

L'identification de la plante à l'ENSA (El Harrache), nous a permis de confirmer qu'il s'agit de *Urtica urens*.

Cependant, nous avons eu recours à d'autres observations macroscopiques pour étayer l'identification réalisée.

1.1. La tige

La tige est herbacée d'une taille moyenne, ne dépassant pas 60 cm de long. Elle est entièrement recouverte de poils épidermiques à extrémité pointu (figure 3.1). Ils contiennent des substances qui provoquent une urticaire en contact avec la peau. La taille de cette espèce confirme son identité par rapport à l'espèce *Urtica dioïca* L qui peut atteindre 150 cm de long [46].

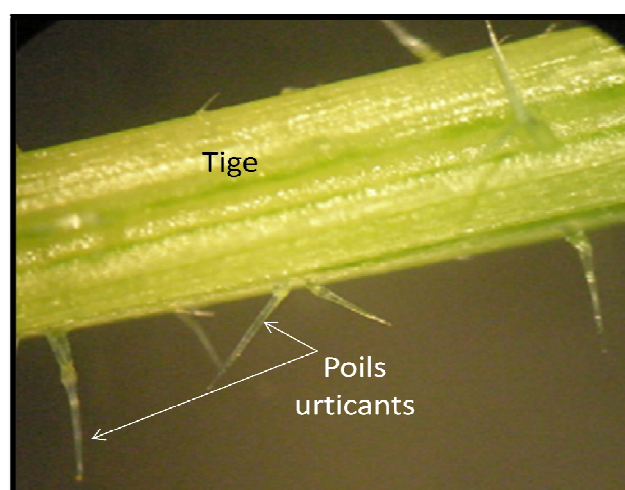


Figure 3.1: Tige de *Urtica urens* garnie de poils urticants (G x 4.5) (Original)

1.2. Les feuilles

Les feuilles de *U. urens* sont opposées, à nervure divergente, ovales ne dépassent pas 4 à 5 cm de long. Elles sont dentées. Les dents présentent une largeur de 3 à 5 mm. Les faces inférieure et supérieure de la plante sont entièrement recouvertes de poils épidermiques contenant des substances urticantes et d'autres plus petits non urticants (figure 3.2).

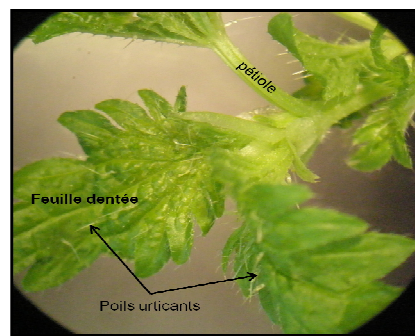


Figure 3.2: Feuilles avec poils urticants

1.3. Les fleurs

Après observation de la plante récoltée, nous avons constaté que les fleurs mâles et femelles sont réunies en grappe simple non ramifiée (figure 3.3). C'est une plante monoïque comportant les deux types de fleurs sur le même pied. Cette observation nous a permis de différencier l'espèce *U. urens* de l'espèce *U. dioïca* qui est une espèce dioïque [46]

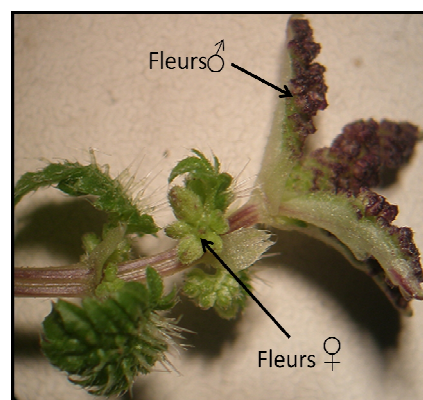


Figure 3.3: Fleurs de *Urtica urens* L. G : 2.5x (Original)

1.4. La racine

La figure 3.4 montre la morphologie de l'extrémité racinaire de la plante. C'est une racine pivotante ne dépassant pas 5cm de long. Elle comporte quelques ramifications. Cette morphologie distingue *Urtica urens* de *Urtica dioïca* qui est caractérisée par la présence de rhizome [46].



Rp : racine principale, Rs : racines secondaires.

Figure 3.4: Racine de *Urtica urens* L. (G: 2.5x) (original)

2. Etude histologique

Dans le but de localiser des structures et tissus particuliers de l'ortie, nous avons réalisé des coupes histologiques colorées par la technique de la double coloration. Nous avons obtenu les résultats suivants :

2.1. La racine

L'observation microscopique des coupes transversales de la racine de *Urtica urens* L. nous a permis d'identifier les tissus représentés dans la figure 3.5.

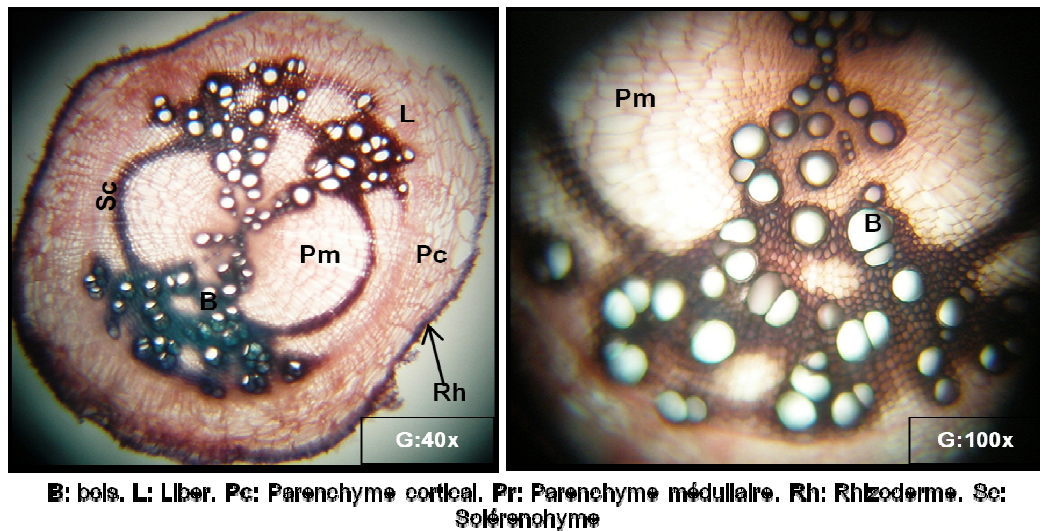
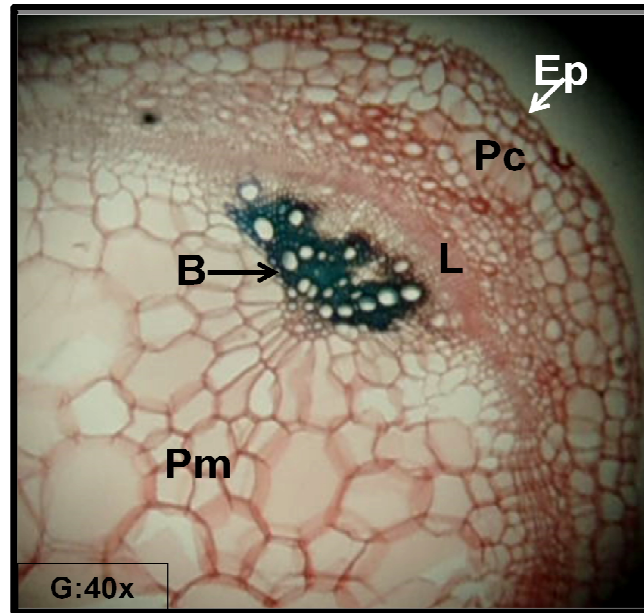


Figure 3.5: Structure anatomique de la racine de *Urtica urens* L. (Original)

De la périphérie vers le centre nous avons pu observer : le rhizoderme (tissu de revêtement), un parenchyme cortical, le liber, l'assise génératrice libéroligneuse ou cambium, le bois, un sclérenchyme entre les tissus conducteurs et le parenchyme médullaire au centre de la coupe.

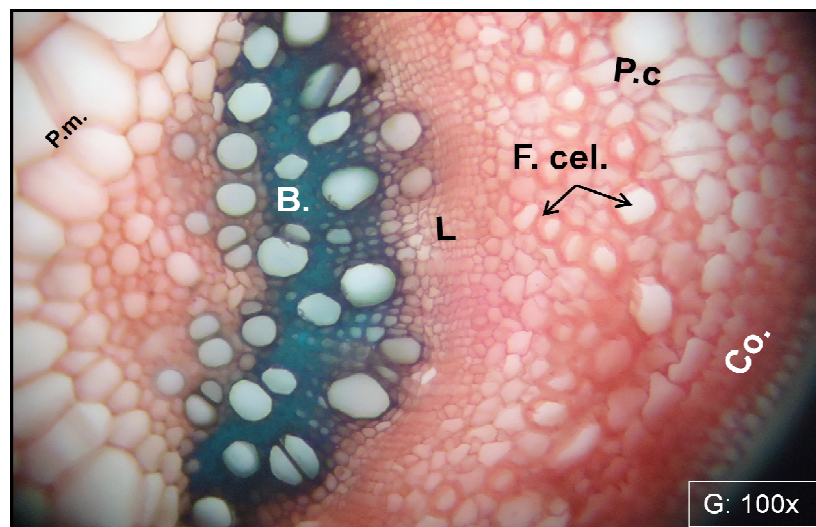
2.2. La tige

L'observation microscopique des coupes transversales de la tige de *Urtica urens* a permis d'identifier les tissus représentés dans les figures 3.6 , 3.7, 3.8 et 3.9.



B: Bois, Ep: Epiderme, Pc: Parenchyme cortical, Pm: Parenchyme médullaire, L: liber.

Figure 3.6 : Structure anatomique d'une tige de *Urtica urens* L. G : 40x (Original)



Co: collenchyme angulaire, Pc: Parenchyme corticale, F.cel: Fibre de cellulose, L: Liber, B: Bois, P.m: Parenchyme médullaire.

Figure 3.7: Structure anatomique de la tige de *Urtica urens* L. G : 100x (Original)

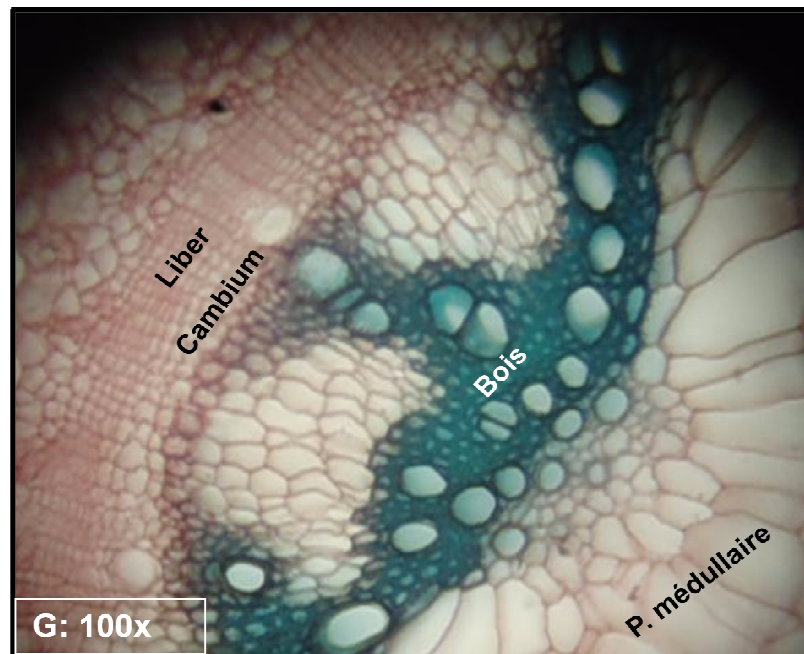
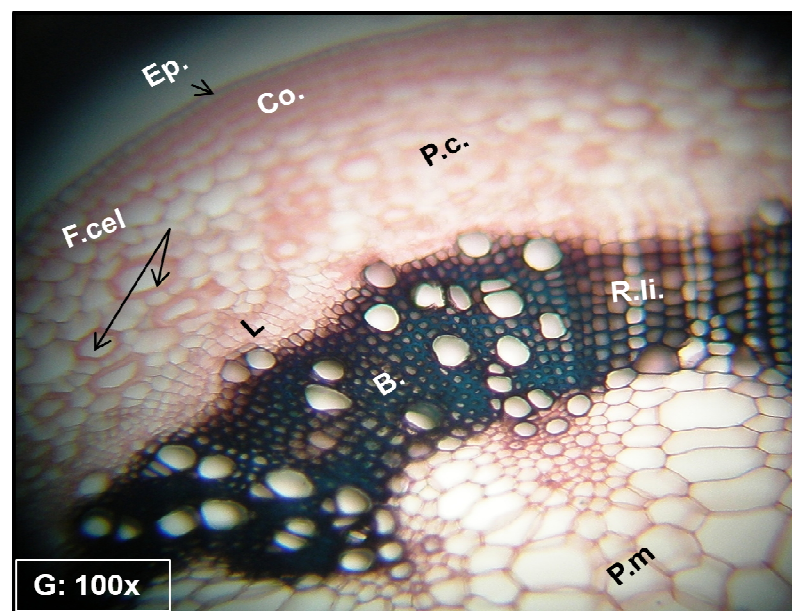


Figure 3.8: Structure du tissu conducteur dans la tige de *Urtica urens* L. G : 100x.
(Original)



Ep: Epiderme. Co: collenchyme angulaire. P.c: Parenchyme corticale. F.cel: Fibre de cellulose. L: Liber. B: Bois. P.m: Parenchyme médullaire.

Figure 3.9: Pachyte discontinu dans une coupe de tige de *Urtica urens* L. G : 100x
(Original)

Ces observations nous ont permis de reconnaître les structures suivantes : l'épiderme à la périphérie (tissu de revêtement) constitué de cellules épidermiques avec une cuticule, un collenchyme angulaire avec une paroi cellulosique épaisse, un parenchyme corticale avec présence de quelques cellules particulières que nous n'avons pas pu identifier s'ils s'agissent de cellules fibreuses ou de cellules sécrétrices. Le tissu conducteur est constitué de liber et de bois issu d'une assise génératrice libéro-ligneuse (cambium). Dans une tige plus âgée nous avons observé une formation de pachyte discontinu. Le cylindre central est constitué par des cellules parenchymateuses (parenchyme médullaire).

Au terme des observations macroscopiques et microscopique il nous est apparu que la tige et les feuilles sont pourvues de poils sécrétant une substance urticante.

3. La teneur en eau

Le calcul de la teneur en eau des parties aériennes de *Urtica urens* L. a donné un pourcentage de 84.49 ± 1.34 % pour les feuilles et $94.93 \pm 0,37$ % pour les tiges (tableau 3.1).

Tableau 3.1: Teneur en eau des feuilles et tiges de *Urtica urens* L.

| | Feuilles | Tiges |
|--|------------------------------------|------------------------------------|
| Teneur en eau (en g /100g de feuilles fraîches) | 84.49 ± 1.34 | $94.93 \pm 0,37$ |
| Teneur en matière sèche (en g /100g de tiges fraîches) | 15.51 ± 1.33 | $5.07 \pm 0,37$ |

Les résultats montrent que la plante est riche en eau. Les tiges contiennent plus d'eau que les feuilles. Cependant l'analyse statistique (Appendice H) ne montre aucune différence significative entre les deux parties ($p > 0.05$).

Ces résultats sont proches en comparaison avec la teneur en eau citée dans le Guide nutritionnel des plantes sauvages et cultivées de François Couplan (2011) où la teneur en eau de l'ortie a été déterminée à 80% [7]. De même HUDEC et *al.*, [147] et OTLES et YALCIN [22] ont rapporté que les tiges de l'orties (*Urtica dioïca* L.) sont plus riches en eau (88.88% et 83.11%) que les feuilles (78.67% et 77.75%). Cependant nos résultats s'avèrent beaucoup plus importants que ceux de JIMOH et *al.*, [148] qui ont trouvé que les feuilles de *Urtica urens* (récoltée en Afrique du sud) ne renferme que 57,16 % d'eau.

4. Le taux d'humidité

Nous avons calculé le taux d'humidité de la poudre des feuilles de *Urtica urens* L. et nous avons obtenu le résultat du tableau 3.2.

Tableau 3.2 : Taux d'humidité de la poudre des feuilles de *Urtica urens* L.

| Prise d'essai (g) | Poids de la poudre après dessiccation (g) | Taux d'humidité (%) |
|-------------------|---|---------------------|
| 0.97 ± 0.05 | 0.87 ± 0.05 | 9.98 ± 0.07 |

Les résultats obtenus montrent que le taux d'humidité de la poudre de *Urtica urens* est de 9.98 %.

Le taux d'humidité nous donne une idée sur la dégradation des principes actifs de la plante. La quantité du résidu sec nous renseigne sur la quantité de poudre présente dans l'extrait alcoolique. De plus un taux faible en humidité permettrait une bonne conservation de la poudre végétale.

5. La teneur en cendres

Le résultat de la teneur en cendres totales est mentionné dans le tableau 3.3

Tableau 3.3: Teneur en cendres des feuilles de *U. urens* L.

| Prise d'essai (g) | Pesée après calcination (g) | Teneur en cendres (%de PS) |
|----------------------|-----------------------------|----------------------------|
| 2.002 ± 0.002 | 0.581 ± 0.005 | 29.02 ± 0.28 |

Après la calcination totale de la poudre végétale, le taux de cendres obtenues est de $29.02 \pm 0.28\%$. Ce résultat est proche de celui rapporté par JIMOH *et al.*, [148] où le taux de cendres totales des feuilles de *Urtica urens* L. est de 27.75 %. Le résultat obtenu indique que *Urtica urens* est riche en minéraux comparée à l'espèce *Urtica dioïca*. En effet la pharmacopée Européenne 2008 [149] mentionne que pour l'espèce *Urtica dioïca* (l'espèce la plus étudiée) les feuilles présentent au maximum 20% de cendres. Néanmoins les travaux de WETHERILT [150] rapportent que les feuilles de *Urtica dioïca* sont riches en minéraux avec une teneur en cendres égale à 5,6%.

Les travaux de JIMOH *et al.*, [148] rapportent que *Urtica urens* est riche en minéraux et le rapport potassium / sodium est égal à 35.34, et pour *Urtica dioïca* il est de 33.2 [150]. Ce paramètre est, selon DRAGHI [46], un bon indicateur du pouvoir protecteur de l'ortie contre les maladies cardiovasculaires.

Toute fois cette valeur reste plus importante à celle estimée par NAFIR-ZENATI *et al.*, [151] pour les feuilles des épinards crues (19%) qui constituent un légume vert très utilisé pour l'alimentation humaine de part sa richesse en minéraux. Nous pouvons donc suggérer l'utilisation des feuilles d'ortie dans l'alimentation humaine, une inspiration qui n'a pas échappé aux grecs et aux romains depuis des millénaires [152].

6. Screening phytochimique

L'analyse du tableau 3.4 révèle que *U. urens* contient des flavonoïdes des leucoanthocyanes et des tannins (galliques et catéchiques), alors que les anthocyanes, les saponines, et les alcaloïdes sont absents.

Tableau 3.4: Screening phytochimique de *Urtica urens* L.

| Substances organiques | <i>Urtica urens</i> |
|-----------------------|---------------------|
| Flavonoïdes | + |
| Anthocyanes | — |
| Leucoanthocyanes | + |
| Tannins galliques | + |
| Tannins catéchiques | + |
| Saponines | — |
| Alcaloïdes | — |

(+) : Test t positif, (—): Test négatif.

La présence des flavonoïdes dans *Urtica urens* corrobore avec une étude effectuée par JIMOH et *al.*, [148] ainsi que plusieurs recherches sur l'espèce *Urtica dioïca* [15] [22] [147] [153]. De même PINELLI et *al.*, [154] rapportent que les anthocyanes ne sont présents que dans les tiges de *Urtica dioïca*. Contrairement à nos résultats MANGABU et *al.*, [15] et JIMOH et *al.*, [148] ont montré que *U. dioïca* et *U. urens* contiennent des alcaloïdes, des anthocyanes et des saponosides. Tandis que les tannis galliques et catéchiques sont absents chez *U. dioïca*.

La caractérisation des composés phénoliques des extraits de *Urtica urens* serait d'une importance considérable en ce qui concerne les propriétés biologique (antioxydante et antimicrobienne) de ces métabolites secondaires, pour leur application possible dans diverses activités industrielles, notamment dans l'alimentation, les cosmétiques et la phytothérapie.

7. Rendement de l'extraction des polyphénols totaux

Le rendement des extractions est mentionné au tableau 3.5.

Tableau 3.5: Rendement des extractions méthanolique et éthanolique des feuilles de *Urtica urens* L.

| | Extrait méthanolique (MeOH) | Extrait éthanolique (EtOH) |
|----------------|-----------------------------|----------------------------|
| Rendement en % | 9,214 | 8,376 |

D'après les résultats nous remarquons que, en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction nous avons obtenu un taux légèrement plus élevé (9.214%) que lorsque nous utilisons l'éthanol (8.376%). JIMOH et *al.*, ont obtenu un résultat comparable pour un extrait méthanolique des feuilles de *U. urens* (8.7%).

8. Dosage des composés phénoliques

8.1. Polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux par la technique du Folin-Ciocalteu à donné les résultats mentionnés dans le tableau 3.6.

La teneur en polyphénols totaux est rapportée en mg équivalent d'acide gallique/g de matière sèche (MS). La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est représentée dans l'appendice F.

Tableau 3.6: Teneurs en polyphénols totaux dans les feuilles de *Urtica urens* L.

| | Extrait MeOH | Extrait EtOH |
|--|----------------------|----------------------|
| Quantité des polyphénols totaux en mg EAG/g MS | 112,47 ± 8,16 | 103,27 ± 6,90 |
| Teneur des feuilles en polyphénols totaux (%) | 11.25 ± 0.82 | 10.33 ± 0.69 |

D'après les résultats obtenus, il semble que la teneur en composés phénoliques dans la poudre des feuilles de *U. urens* est légèrement plus élevée dans l'extrait méthanolique (112.47 mg EAG/g MS) par rapport à l'extrait éthanolique (103.27 mg EAG/g MS). Cependant, l'analyse statistique montre qu'il n'y a pas de différence significative de la teneur en polyphénols totaux entre les deux extraits ($p > 0.05$) (appendice H). Par conséquent, le pouvoir extracteur des polyphénols totaux des deux solvants serait comparable.

Dans le présent travail, les feuilles de *U. urens* se sont montrées moins riches en composés phénoliques comparées à *U. dioïca*. En effet, le dosage des polyphénols totaux par le Folin-Ciocalteu a donné des quantités comprises entre 320 et 490 mg EAG / g de MS dans les feuilles de *U. dioïca* (extrait MeOH) de la région méditerranéenne [22]. De même KURKIC et *al.*, [155] ont trouvé une valeur de 208.37 mg EAG/g MS dans les feuilles de *U. dioïca* par extraction à l'éthanol. Selon GHAIMA et *al.*, [156] le contenu poly phénolique dans un extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *U. dioïca* est de 48.3 mg EAG/g MS. Par ailleurs, en Inde KATAKI et *al.*, [157] ont trouvé un taux beaucoup plus faible en polyphénols totaux (6.35 mg EAG/g MS) dans un extrait MeOH des feuilles de *U. dioïca*.

Selon PARK et CHA [158] et LEE et *al.*, [159] le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre, même entre espèce du même genre, et entre différents extraits de la même espèce. Cela peut être attribué aux facteurs climatiques et environnementaux à savoir, la zone géographique, la sécheresse, le sol, les agressions et les maladies de la plante. Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante influent également sur la teneur en polyphénols totaux. De même la méthode d'extraction, la technique de quantification et la durée de conservation peuvent aussi influencer sur l'estimation de la teneur des phénols totaux.

8.2. Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes par la technique du chlorure d'aluminium (d' $AlCl_3$) a donné les résultats mentionnés dans le tableau 3.7. La teneur en flavonoïdes est rapportée en mg équivalent de quercétine par g de matière sèche. La courbe d'étalonnage de la quercétine est représentée dans l'appendice F.

Tableau 3.7: Teneur en flavonoïdes des feuilles de *Urtica urens* L.

| | Extrait MeOH | Extrait EtOH |
|--|---------------------|---------------------|
| Quantité de flavonoïdes (mg EQ/g MS) | 30,58 ± 1,63 | 58,06 ± 1,22 |
| Teneur des feuilles en flavonoïdes (%) | 3.06 ± 0.16 | 5.81 ± 0.12 |
| Flavonoïdes / Polyphénols totaux (%) | 27.19 | 56.22 |

D'après les résultats obtenus, il s'est avéré que l'extrait éthanolique contient deux fois plus de flavonoïdes ($58,06 \pm 1,22$ mg EQ/ g MS) que l'extrait méthanolique ($30,58 \pm 1,63$ mg EQ/g MS). L'estimation du taux des flavonoïdes par rapport aux polyphénols totaux montre que la moitié de la fraction polyphénolique de l'extrait éthanolique est constituée de flavonoïdes (56.22 %), alors que ces derniers ne représentent que 27.19% des polyphénols totaux dans l'extrait méthanolique. En effet, l'analyse statistique concernant la teneur des feuilles en flavonoïdes montre une différence significative entre l'extraction méthanolique et éthanolique ($p < 0.05$) (Appendice H). Il en ressort que l'éthanol montre un pouvoir extracteur des flavonoïdes deux fois plus important que celui du méthanol. Il serait par ailleurs préférable d'utiliser l'éthanol comme solvant d'extraction au lieu du méthanol. D'autant plus, du point de vue toxicologique, le méthanol est plus dangereux [160], plus cher et moins disponible que l'éthanol.

JIMOH et *al.*, [148] en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction, ont obtenu une teneur en flavonoïdes dans les feuilles de *U. urens* de 0.04%. Cette teneur est beaucoup moins importante comparée à nos résultats (3.06%). Par ailleurs KUKRIC et *al.*, [155] ont trouvé une teneur en flavonoïdes des feuilles de *U. dioïca* plus proche de nos résultats (2,03%). De même GUDER et KORKMAZ ont trouvé que 50% des polyphénols totaux des feuilles de *U. dioïca* (extrait éthanolique) sont des flavonoïdes. Cette valeur s'accorde avec nos résultats (56.22%) et confirme la richesse de la plante en flavonoïdes.

Les produits phytochimiques présents dans les parties aériennes de la plus part des espèces du genre *Urtica* se sont révélés être des composés phénolique et des flavonoïdes en particulier la rutine et la quercétine [16] [22] [161].

Il a été prouvé que les teneurs des phénols totaux et des flavonoïdes sont élevées lorsque le milieu de vie de la plante est contraignant. Dans ce cas, la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et pouvoir survivre [70] [162].

La teneur notable en flavonoïdes dans les feuilles de *Urtica urens* L. pourrait expliquer l'utilisation de la plante dans la médecine traditionnelle, pour son effet anti-inflammatoire contre les arthrites et les maladies rhumatismales [163].

9. Activités biologiques

9.1. Activité antioxydante

Le potentiel antioxydant de *Urtica urens* L. est estimée pour les deux extraits de la plante en utilisant deux techniques différentes : la technique au DPPH et la technique de réduction du fer (FRAP).

9.1.1. Piégeage du radical libre DPPH

➤ Détermination du pourcentage d'inhibition

Les résultats du calcul du pourcentage d'inhibition du radical DPPH pour les deux extraits de la plante ainsi que celui de la rutine et la quercétine sont représentés dans les tableaux (Appendice G) illustrés par la figure 3.10.

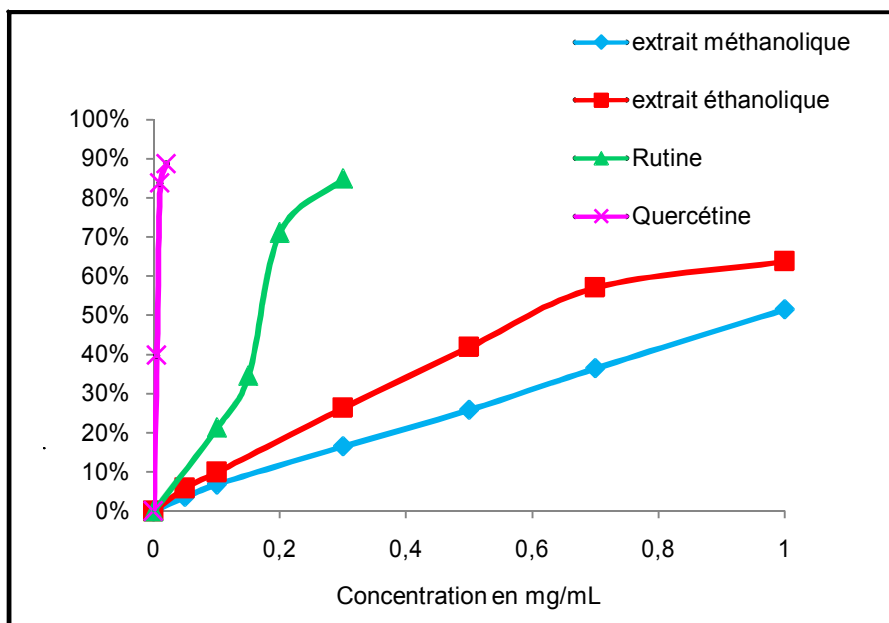


Figure 3.10: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par les extraits de *Urtica urens* L., la rutine et la quercétine

Les résultats montrent que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH (activité antioxydante) augmente avec l'augmentation de la concentration des deux extraits de la plante et celle des deux standards (Rutine et quercétine). Néanmoins, l'activité antioxydante des extraits de *U. urens* L. reste beaucoup moins important que celle de la rutine et la quercétine.

L'extrait éthanolique semble avoir une activité antioxydante légèrement supérieure à celle enregistrée pour l'extrait méthanolique. En effet, à une même concentration (1mg/ml) l'extrait éthanolique enregistre un pourcentage d'inhibition égale à 63,88%, alors que l'extrait méthanolique a inhibé 51,52% du radical libre initial. Concernant les deux standards les résultats montrent que le pouvoir antioxydant de la quercétine est beaucoup plus important que celui de la rutine.

➤ Détermination du pouvoir anti radicalaire

La concentration correspondant à 50% d'inhibition (IC_{50}) est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour réduire à moitié la concentration du radical libre. Plus la valeur de IC_{50} est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. Pour mieux caractériser le pouvoir anti radicalaire nous avons introduit un deuxième paramètre :

✓ Le pouvoir anti radicalaire (APR), ce dernier est inversement proportionnel à l' IC_{50} ($APR = 1/IC_{50}$) [164].

En se servant des courbes de régressions (Appendice G), nous avons pu calculer les IC_{50} des extraits testés et des standards (tableau 3.8).

Tableau 3.8: Pouvoir anti radicalaire des extraits méthanolique et éthanolique des feuilles de *Urtica urens* L., la rutine et la quercétine.

| Produit | IC ₅₀ (mg/ml) | 1/IC ₅₀ (mg/ml) ⁻¹ ou APR |
|------------|--------------------------|---|
| E. MeOH | 0.970 ± 0.029 | 1.03 ± 0.03 |
| E. EtOH | 0.703 ± 0.046 | 1.43 ± 0.09 |
| Rutine | 0.180 ± 0.004 | 5.56 ± 0.15 |
| Quercétine | 0.004 ± 0.000 | 253.18 ± 2.32 |

E. MeOH : Extrait méthanolique. E. EtOH : Extrait éthanolique. IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50% de DPPH. APR : Pouvoir Anti radicalaire.

L'analyse des résultats montrent que les extraits de la plante sont capables de neutraliser le radical libre DPPH. L'extrait méthanolique semble avoir une activité anti radicalaire plus faible que celle de l'extrait éthanolique avec des APR de l'ordre de 1.03 ± 0.03 et 1.43 ± 0.09 (mg/ml)⁻¹ respectivement. Cependant cette activité est beaucoup moins importante que celle des standards, rutine et quercétine. L'analyse statistique montre une différence significative entre les quatre échantillons (p<0.05) (Appendice H). Néanmoins aucune différence significative n'a été observée entre les deux extraits.

La quercétine a exprimé la plus faible IC₅₀ (0.004 ± 0.000 mg/ml), de ce fait elle présente le plus fort potentiel anti radicalaire contre le radical libre DPPH avec un APR 245 fois plus élevé que celui de l'extrait MeOH et 177 fois plus que l'extrait EtOH. Par ailleurs la rutine a révélé un pouvoir anti radicalaire moindre (5.56 ± 0.15) comparée à la quercétine (253.18 ± 2.32), mais plus important que celui des deux extraits.

Les résultats obtenus ne sont pas en accord avec ceux de JIMOH et *al.*, [148] qui montrent une activité antioxydante très importante pour des extraits de feuilles de *Urtica urens* L. En effet, 1mg/ml d'extrait méthanolique de cette plante a inhibé 91.2 % du radical DPPH, par contre l'extrait aqueux et l'extrait acétonique ont donné des valeurs plus faibles (60.8 et 63.5 %).

Selon GÜDER ET KORKMAZ [12], le pourcentage d'inhibition des feuilles, de *Urtica dioïca* ont été estimés à 54.2% à une concentration de 0.25 mg/ml d'extrait éthanolique. Cependant notre extrait éthanolique n'a pu atteindre ce pourcentage d'inhibition qu'à une concentration de 0.7 mg/ml. Une autre étude effectuée par GÜLÇİN et *al.*, [11] sur *U. dioïca* montre qu'un extrait aqueux d'une concentration de 0.06 mg/ml a une activité réductrice sur le DPPH de 37 %. De même MAVI et *al.*, [165], en étudiant l'activité antioxydante d'un extrait méthanolique de *U. dioïca*, ont trouvé une valeur de IC₅₀ de 0.34 mg/ml, cette concentration est trois fois moins importante que celle trouvée pour notre extrait.

Cette capacité réductrice du radical libre DPPH pourrait être due aux flavonoïdes contenus dans les feuilles de cette espèce. Sachant que l'extrait qui renferme le plus de flavonoïde s'est avéré le plus anti radicalaire. Ce qui pourrait supposer une corrélation positive entre la teneur en flavonoïde et l'activité antioxydante.

Nos résultats révèlent d'une part une forte proportion en flavonoïdes (56.22%) par rapport aux polyphénols totaux, d'autre part une forte activité anti radicalaire pour la quercétine. Ces résultats suggèrent que l'activité de nos extraits peut être due principalement aux flavonoïdes en particulier la quercétine. En effet, BONINA et *al.*, [166] ont prouvé que parmi les flavonoïdes testés, la quercétine était le plus efficace contre la peroxydation et que l'effet protecteur de la quercétine est dû aux propriétés de piégeage des radicaux libres. Également d'après RAMZAN [16] les activités biologiques des feuilles d'ortie sont généralement dues aux flavonoïdes.

9.1.2. Réduction du fer (FRAP)

L'activité réductrice des extraits MeOH et EtOH de la plante étudiée comparée à celle de l'acide ascorbique, est représentée dans la figure 3.11.

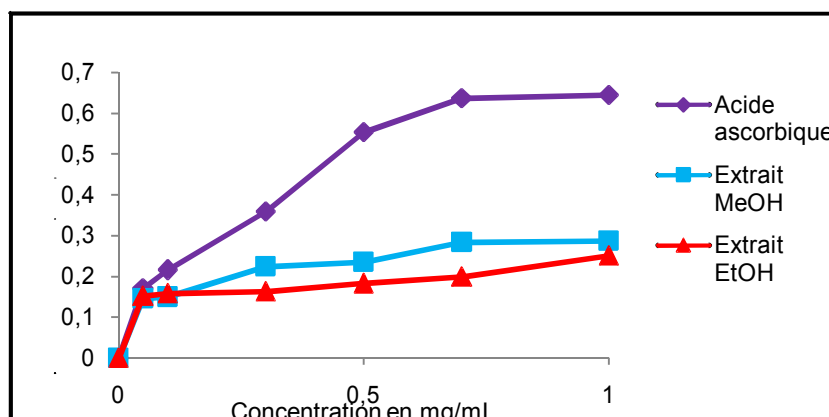


Figure 3.11: Pouvoir réducteur des extraits de *Urtica urens* L. et de l'acide ascorbique

La figure 3.11 montre que l'absorbance est proportionnelle à l'augmentation de la concentration en extrait (MeOH et EtOH). L'augmentation de l'absorbance correspond à la réduction du Fe III en Fe II. D'après les résultats nous remarquons que l'extrait MeOH a exprimé une capacité réductrice comparable à celle de l'extrait EtOH. Cependant, cette capacité est beaucoup moins élevée comparée à celle de l'acide ascorbique. En effet pour une même concentration (1mg/ml) le pouvoir réducteur est 3 fois plus élevé pour l'acide ascorbique que pour les deux extraits.

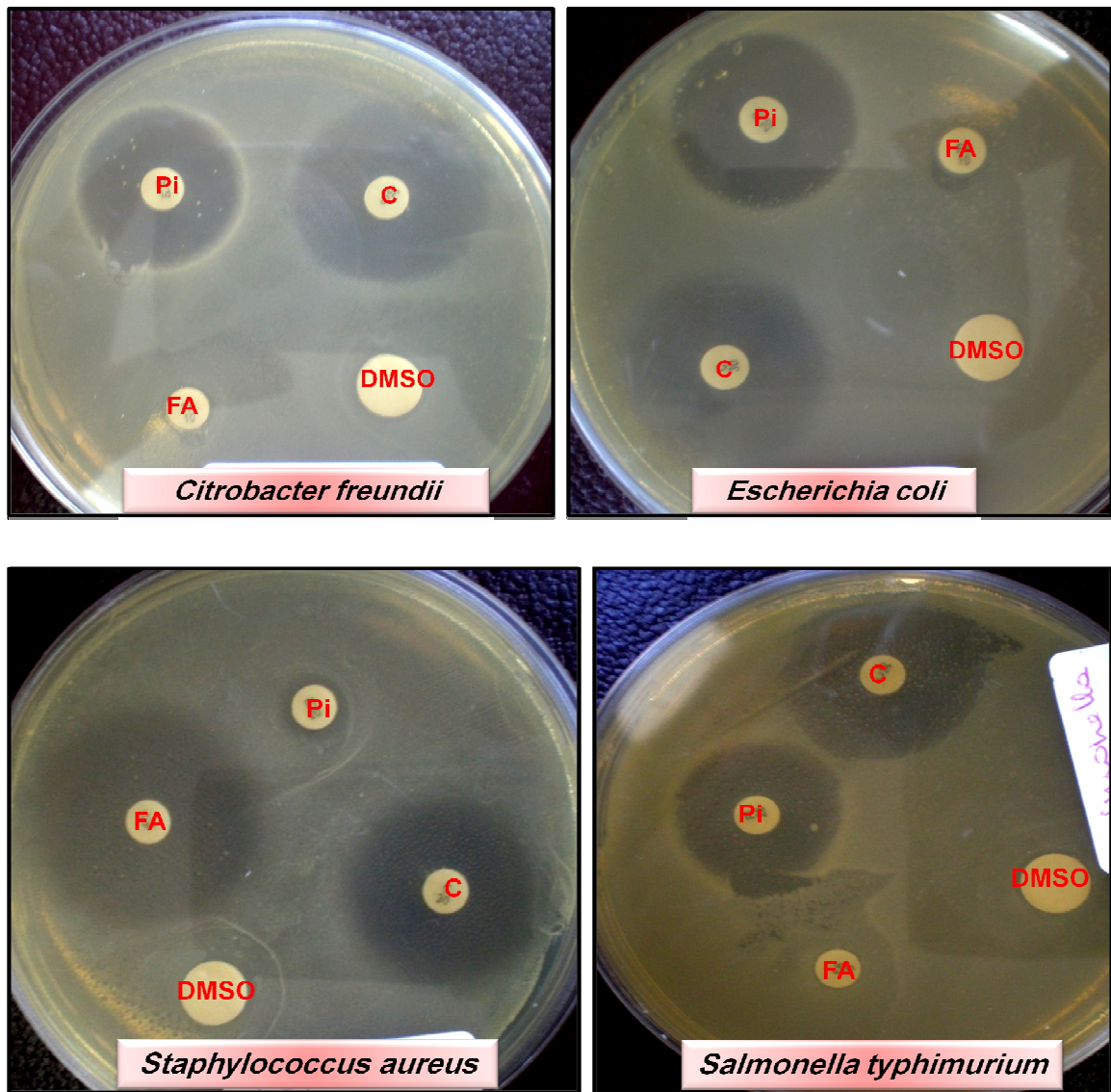
GULCIN et *al.*, [11] ont trouvé que la capacité réductrice d'un extrait aqueux de *Urtica dioïca* L. est supérieure à celle du BHA et l' α tocophérol.

Selon GÜDER et KORKMAZ [12] la capacité de réduire le fer par les composés phénoliques des extraits végétaux peut servir comme un indicateur significatif de l'activité antioxydante de la plante étudiée. Par ailleurs SOARES et *al.*, [167] ont indiqué la méthode du piégeage du radical DPPH pour évaluer l'activité antioxydante en peu de temps.

9.2. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des extraits de *U. urens* L. et des antibiotiques est donnée en termes de diamètres de la zone d'inhibition (ZI) autour des disques. Les résultats obtenus sont illustrés par les figures 3.13, 3.14 et 3.15.

L'analyse des résultats concernant les trois antibiotiques (Chloramphénicol, acide fucidique et acide pipémidique) sur la croissance des souches bactériennes montre que la souche Gram positif *S.aureus* est sensible à l'acide fucidique avec une zone d'inhibition de 30mm de diamètre. Cependant les Gram négatifs sont plus sensibles au chloramphénicol avec des zones d'inhibition de 25 à 27.7 mm de diamètre. Le DMSO n'a révélé aucune activité sur les souches microbiennes (figure 3.12.)



FA : Acide fucidique. Pi : Acide pipémidique. C: Chloramphénicol. DMSO: Diméthylsulfoxyde.

Figure 3.12: Effet des antibiotiques sur la croissance des souches microbiennes

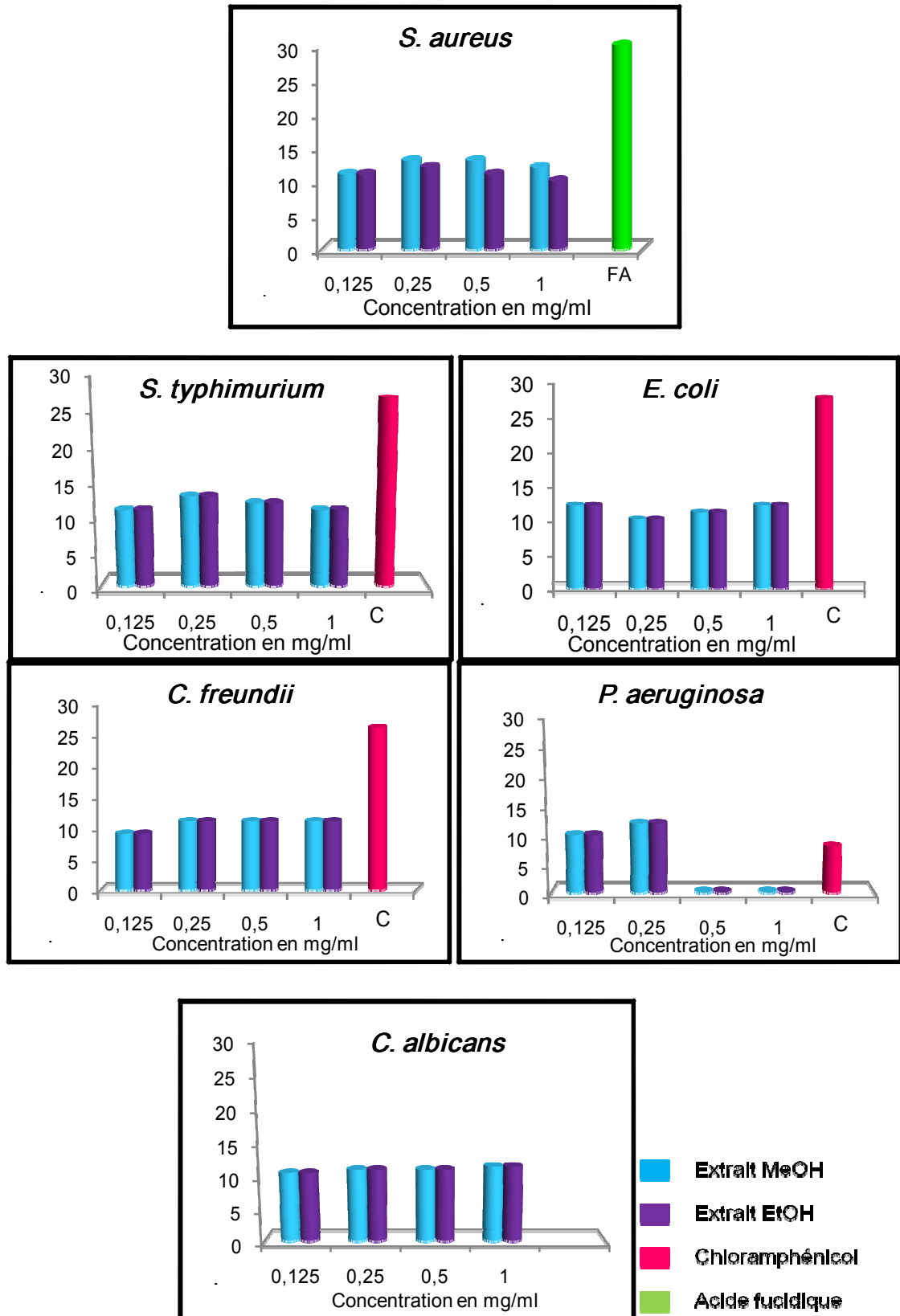


Figure 3.13 : zones d'inhibition des extraits de *Urtica urens* vis-à-vis des souches microbiennes

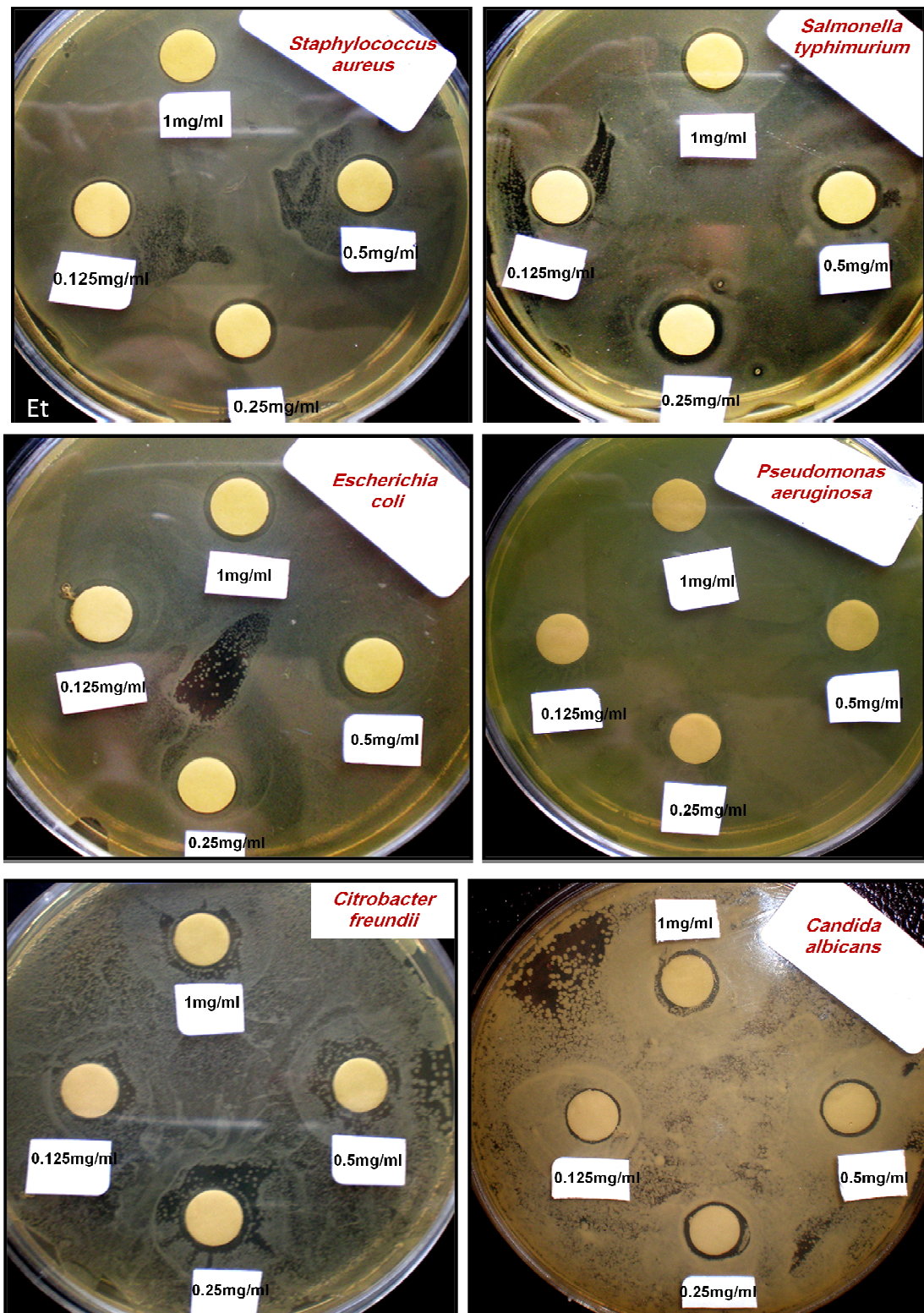


Figure 3.14: Effet de l'extrait éthanolique de *Urtica urens* L. sur la croissance des souches microbiennes

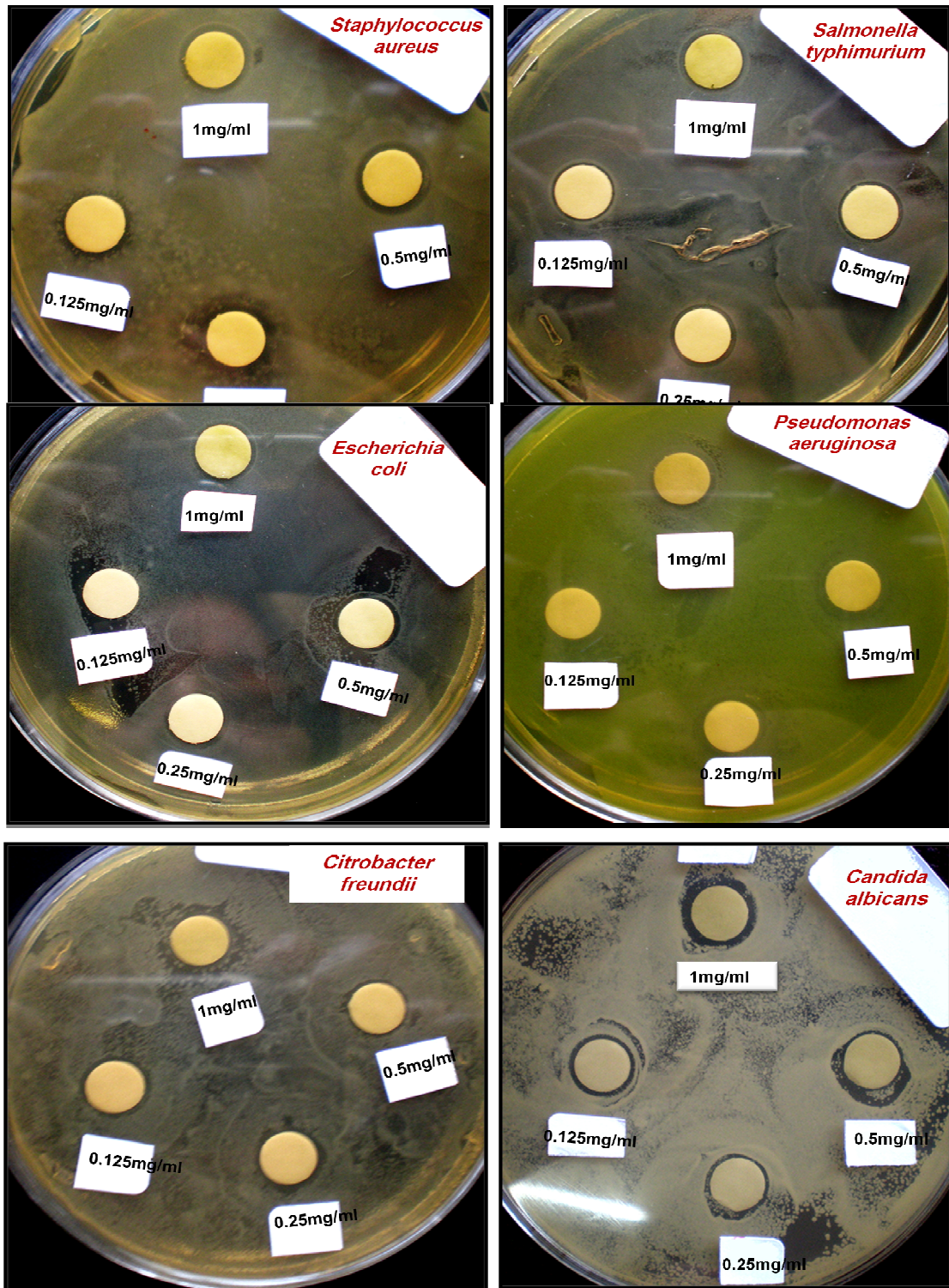


Figure 3.15: Effet de l'extrait méthanolique de *Urtica urens* L. sur la croissance des souches microbiennes

Les résultats mentionnés dans les figures 3.13, 3.14 et 3.15 montrent d'une manière générale que les souches bactériennes *S. aureus*, *C. freundii*, *E. coli* et *P. aeruginosa*, et même la souche fongique *C. albicans* se sont révélées peu sensibles aux deux extraits de la plante quelque soit la concentration ($10 \text{ mm} < \text{ZI} < 13 \text{ mm}$), alors que la souche *K. pneumoniae* n'est pas sensible aux deux extraits.

L'action des deux extraits, quand elle existe, reste très inférieure comparée à celle des antibiotiques testés exception faite pour l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* où l'inhibition des antibiotiques ($\text{ZI} = 8 \text{ mm}$) est inférieure à celle donnée par les extraits ($10 < \text{ZI} < 12$) à des concentrations faibles. Les travaux de JIMOH et al., [148] montrent que pour *S. aureus* et *E. coli* la concentration minimale inhibitrice (CMI) est de 5mg/ml d'extrait méthanolique de *U. urens*. Une autre étude récente menée par TAQA et al., [26] montrent que l'extrait MeOH de *U. urens* n'a pas d'effet inhibiteur sur la croissance de *P. aeruginosa* à de fortes concentrations. La meilleure inhibition serait à 25 mg/ml d'extrait. Dans notre cas nous avons testé des concentrations beaucoup plus faibles (de 0.1 à 1mg/ml) pour ces souches, ainsi nous avons obtenu une faible sensibilité. MODARRESI et al., [168] ont testé l'activité antimicrobienne de différents extraits de *U. dioïca*, les résultats ont montré que l'extrait méthanolique à 100 mg/ml n'a aucun effet sur la croissance de 36 souches parmi les 38 testées, entre autres *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. freundii*, *S. aureus* ainsi que la souche *C. albicans*. De même DAR et al., [169] n'ont observé aucune zone d'inhibition pour *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* et *S. typhi*, à une concentration de 2mg d'extrait méthanolique des feuilles de *Urtica dioïca*. Nos résultats ne corroborent pas avec ceux de MODARRESI et al., [168] et AHMAD DAR et al., [169] En effet, ces mêmes souches microbiennes se sont montrées peu sensibles aux extraits alcooliques de *U. urens* à des concentrations beaucoup plus faibles. On peut éventuellement dire que le résultat obtenu dans notre essai est dû à l'espèce étudiée qui est *U. urens*, à la région et la période de récolte de la plante. Néanmoins ABDULBAKI [24] a suggéré que les parois cellulaires des bactéries empêchent le passage de l'extrait à des concentrations élevées.

Par ailleurs, GULCIN et *al.*, [11] ont montré que toute concentration en extrait d'ortie (*Urtica dioïca*) possède une activité antimicrobienne contre les bactéries Gram positif et Gram négatif, sauf *P. aeruginosa* qui s'avère la plus résistante. De même DOSTBIL et *al.*, [170] ont observé un effet inhibiteur sur *S. aureus*, mais aucune activité inhibitrice n'a été exhibée pour *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa*.

L'étude de EL WASFI et *al.*, [171] contredit tous ces résultats. Ces auteurs ont montré que l'extrait méthanolique de *U. dioïca* présente une activité antimicrobienne à des concentrations élevées (50 et 100 mg/ml). La souche *P. aeruginosa* s'est montrée très sensible à cet extrait et *K. pneumoniae* peu sensible. Cependant, *salmonella* a résisté à l'extrait de cette plante. Ils ont montré également que cet extrait donne un meilleur résultat que l'extrait aqueux.

L'activité antimicrobienne de l'ortie peut être due aux composés phénoliques dont elle est constituée. Cette supposition s'accorde avec LIVIU et *al.*, [172] qui ont trouvé que les polyphénols représentent l'un des groupes majeurs responsables de l'activité antioxydante et antimicrobienne. Ainsi, selon MOSSA et *al.*, [23], l'effet inhibiteur de l'extrait de *Urtica urens* peut être dû à la présence des lectines, des glucosides et des tannins.

CONCLUSION

Le présent travail a pour objectif la valorisation de la petite ortie, *Urtica urens* L., dans le domaine de la thérapeutique et son utilisation dans la médecine traditionnelle.

Les feuilles de *Urtica urens* se sont révélées riches en matière minérale avec un taux de cendres totales qui atteint 29,02%. Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes, des leucoanthocyanes, et des tannins galliques et catéchiques.

Le dosage des polyphénols totaux des extraits alcooliques (MeOH et EtOH) a révélé une richesse en polyphénols qui représentent environ 10% de la matière sèches. Les feuilles de la petite ortie sont très riches en flavonoïdes. Ces derniers représentent 56,22% des polyphénols totaux dans l'extrait éthanolique, alors que dans l'extrait méthanolique ils ne représentent que 27,19%.

Les extraits alcooliques de *U. urens* ont révélé une bonne activité antioxydante avec un pouvoir anti radicalaire de 1.03 et 1.43 pour l'extrait méthanolique et éthanolique respectivement. Cette activité est beaucoup plus faible par rapport aux flavonoïdes standards rutine et quercétine qui ont montré un pouvoir anti radicalaire de 5.56 et 253.18 respectivement. De même l'activité réductrice de fer par les deux extraits s'est révélée 3 fois moins importante que l'acide ascorbique. La capacité antioxydante révélée *in vitro* est en relation direct avec le contenu polyphénolique de chaque extrait, et dépendent de l'ensemble des substances antioxydantes, de leur nature et de leur quantité.

L'étude de l'activité antimicrobienne, a révélé un faible pouvoir inhibiteur des extraits de la plante sur les souches testées.

Il en ressort de cette étude que la richesse de cette plante en matière minérale lui confère une bonne qualité nutritionnelle et elle peut être introduite dans l'alimentation humaine comme un complément alimentaire minéral. Vu sa richesse en polyphénols surtout en flavonoïdes, la plante est également une source prometteuse d'antioxydants, et peut être utilisées dans le cas des stress oxydatifs et de prévenir les différentes pathologies survenues suite à une attaque radicalaire.

Comme perspective, nous souhaitons pouvoir compléter cette étude par la caractérisation et identification des molécules antioxydantes de l'ortie par des techniques plus performantes comme la chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrophotométrie de masse. La détermination des effets thérapeutiques de cette plante par des études cliniques approfondies (effet hypoglycémiant, diurétique et anti-inflammatoire) pourrait enrichir les travaux sur cette plante. Aussi, une étude toxicologique sur des modèles animaux doit être effectuée pour pouvoir déterminer les doses à administrer. Enfin il serait intéressant d'évaluer l'activité antimicrobienne sur des souches phytopathogènes et prouver le rôle de la plante en agrobiologie.

BIBLIOGRAPHIE

- [1. **Marc, T., Gerard, W. et Denis, L.** "*Classification des anti-inflammatoires in guide pharmacologie etudiants et professionnels paramédicaux*". 4e édition. (2001).
2. **Bérubé-Gagnon, J.** "*Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de Picea mariana*". Mémoire de l'université de Québec. (2006).
3. **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J.C. et Pinkas M.** "*Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations*". *Arznei. Forschung.* (1996). Vol. 46. pp. 1086-1089.
4. **Bruneton, J.** "*Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*". *Medicals Internationals, Tech et Doc.* (1999). pp. 647-673.
5. **Teixeira Da Silva, J.A.** "*Mining the essential oils of the Anthemideae*". *Afr. J. Biotechnol.* (2004). Vol. 3 (12). pp. 706-720.
6. **Djerroumi, Ahmed-NACEF.** "*100 plantes médicinales de l'Algérie*". *Dar Houma.* (2012). p. 159.
7. **Lefief-Delcourt, Alix.** "*L'ortie c'est malin: santé, beauté, jardin, maison...toutes les vertus et les conseils pratiques de cette plante magique*". *Leduc. S.* (2012). p. 160.
8. **Teucher, T.** "*Cytokine secretion in whole blood of healthy subjects following oral administration of Urtica dioica L plant extract*".

Arzneimittelforschung. (1996). Vol. 9. pp. 906-910.

9. **Reihemann, K.** "*Plant extracts from stinging nettle (Urtica dioica), an antirheumatic remedy, inhibit the proinflammatory transcription factor NF-Kappa B*". FEBS Lett. (1999). Vol. 442 (1). pp. 89-94.

10. **Chrubasiks.** "*Evidence for antireumatic effectiveness of stewed Herba Urtica dioica in acute arthritis*". phytomedicine. (1997). Vol. 4. pp. 105-108.

11. **Gülçin, I., Küfrevioğlu, I Ö., Oktay, M., Büyükkuroğlu, M.E.** "*Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (Urtica dioica L.)*". Journal of Ethnopharmacology. (2004). Vol. 90. pp. 205–215.

12. **Güder, A. et Korkmaz, H.** "*Evaluation of in-vitro Antioxidant Properties of Hydroalcoholic Solution Extract Urtica dioica L., Malva neglecta Wallr. and their Mixture*". (2012). Vol. 11 (3). pp. 913-923.

13. **Ahangarpour, Akram., Mohammadian, Maryam., Dianat, Mahin.** "*Antidiabetic Effect of Hydroalcoholic Urtica dioica Leaf Extract in Male Rats with Fructose-Induced Insulin Resistance*". Iran J. Med. Sci. (2012). pp. 181-186.

14. **Mohammad Reza Safarinejad, MD.** "*Urtica dioica for treatment of benign prostatic hyperplasia: Aprospective, Randomized, Double-blind, placebo-controlled, crossover study*". Journal of Herbal Pharmacotherapy. (2005). Vol. 5(4). pp. 1-11.

15. **MANGAMBU, M. J. D., MUSHAGALUSA, K. F. et KADIMA, N. J.** "*Contribution à l'étude phytochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, R.D.Congo)*". Journal of Applied Biosciences. (2014). Vol. 75. pp. 6211–6220.

16. **Ramzan, Hafiza Sobia.** "*Protective Role of Urtica dioica methanol extract in treating experimentally induced urinary calculi in rats*". Ethiopian

International Journal of Multidisciplinary Research. (2014). Vol. 1(3). pp. 1-10.

17. **Shivani, Bisht, N.S., Bhandari, Snehlata et Bisht, et.** "*Urtica dioica (L): an undervalued, economically important plant*". Agricultural Science Research Journals. (2012). Vol. 2(5). pp. 250-252.

18. **Mohammed, El Houari, et al.** "*Urtica dioica extract reduces platelet hyperaggregability in type 2 diabetes mellitus by inhibition of oxidant production, Ca²⁺ mobilization and protein tyrosine phosphorylation*". J.Appl. Biomed. (2007). Vol. 5. pp. 105-113.

19. **Mansoub, Navid Hosseini.** "*Comparison of Effects of Using Nettle (Urtica dioica) and Probiotic on Performance and Serum Composition of Broiler Chickens*". Global Veterinaria. (2011). Vol. 6(3). pp. 247-250.

20. **Roschek, Jr Bill, et al.** "*Nettle Extract (Urtica dioica) Affects Key Receptors and Enzymes Associated with Allergic Rhinitis*". Phytotherapy research. (2009). Vol. 23(7). pp. 920-926.

21. **Rutto Laban, K., Yixiang, Xu, Elizabeth, Ramirez et Michael., et Brant.** "*Mineral Properties and Dietary Value of Raw and Processed Stinging Nettle (Urtica dioica L.)*". International Journal of Food Science. (2013). pp. 1-9.

22. **Otles, S. et Yalcin, B.** "*Phenolic Compounds Analysis of Root, Stalk, and Leaves of Nettle*". The ScientificWorld Journal. (2012). p. 12.

23. **Mossa, JS., Al-Yahya, MA. and Al-Meshal, IA.** "*Medicinal plants of Saudi Arabia*". King Saud University Libraries.Riyadh Saudi Arabia. (1987). Vol. 1(5). pp. 238-244.

24. **ABDUL-BAKI, E A.** "*Inhibitory effect of some medicinal plants on some species of bacterial isolated from infected wounds*". MSc thesis. College of University of Mosul. (2001).

25. **Mustapha, E.A., Al-Haliem, SA. and Taha, M.Y.** "*Antimicrobial activities of stinging nettle and fenugreek seeds extracts (in vitro)*". j. vet. sci. (2003). Vol. 17(2). pp. 137-148.
26. **Taqa, Ghada A., Mustafa, Eman A., Al-Haliem, Siba M.** "*Evaluation of Anti-bacterian and efficacy of plant extract (Urtica urens) on Skin Wound Healing in Rabbit*". International Journal of Enhanced Research in Science Technology & Engineering. (2014). Vol. 3 (1).
27. **Solecki, R.S. et Stanidar, I.V.** "*A Neanderthal flower burial in northern Iraq*". science 190. (1975). pp. 880-881.
28. **Small, E. et Catling, P.M.** "*Les culture médicinales canadienne*". Presse scientifique du CNRC. (2000). p. 281.
29. **Amar, Z.** "*Ibn al-Baytar and the study of the plants of Al-Sham*". Journal Qatedrah le-tôldôt Eres Yisra'el el me yïssûbah. (1995). Vol. 76. pp. 49-76.
30. **Keller-Didier, C.** "*les plantes médicinales*". ALS. (2004). pp. 57-64.
31. **Sofomora, A.** "*Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'afrique*". (2010). p. 378.
32. **Iserin, P.** "*Encyclopedie des plantes médicinales*". Larousse-Bordas. (1997).
33. **Bertrand, B.** "*Les secrets de l'ortie*". De Terran. (2010). Vol. 1. p. 181.
34. **APGIII.** "*An update of the Angiosperm Phylogeny Group Classification for the orders and families of flowering plants: APGIII*". Bot. J Linn. Soc. (2009). Vol. 161. pp. 105-121.
35. **Benoit, B.** "*Référentiel des trachéophytes de france métropolitaine*". www.tela-botanica.org. [En ligne] (2014).

36. **Wichtl, M. et Robert, A.** "*Plantes thérapeutiques, tradition, pratique, officinale, science et thérapeutique*". TEC et DOC. (2003). pp. 623-625.

37. **Czaruetzki, B.M., Thiele, T., Rosenbach, T.** "*Immunoreactive leukotrienes in nettle plants (*urtica urens*)*". Int Arch Allergy Appl Immunol. (1990). Vol. 91 (1). pp. 43-46.

38. **Proestos, C., Boziaris, I.S., Nycha, G.J.E. and Kamaitis M.** "*Analysis of flavonoids and phenolic acids in greek aromatic plants: investigation of their antioxydant capacity and antimicrobial activity*". Food Chemistry. (2006). Vol. 95 (4). pp. 664-671.

39. **Chaurasia, N. et Wichtl, M.** "*Flavonoglykoside aus *Urtica dioica**". Planta Medica. (1987). Vol. 53(5). pp. 432-434.

40. **Ji, T.F., Liu, C.H., et Wang.** "*Studies on the chemical constituents of *Urtica dioica* L. grown in Tibet autonomous region*". Zhong Yao Cai. (2007). Vol. 30(6). pp. 662-664.

41. **Farzami, B., Ahmadvand, D., Vardasbi, S., Majin, F.J., Khaghani, Sh.** "*Induction of insulin secretion by a component of *Urtica dioica* leave extract in perfused Islets of Langerhans and its in vivo effects in normal and streptozotocin diabetic rats*". J. Ethnopharmacol., (2003). Vol. 89(1). pp. 47-53.

42. **Daovy, Allais.** "*L'ortie dioïque*". Actualités Pharmaceutiques. (2009). Vol. 48(490). pp. 53-55.

43. **Koch, E. et Bieber, A.** "*Pharmacological effects of Saw Palmeto and *Urtica* Extracts for Benign Prostatic Hyperplasia and Sex Drive*". (1994).

44. **Horvilleur, A.** "*101 conseils pour vous soigner par l'homéopathie*". Hachette. (1977).

45. **Bertrand, B., Collaert, J.P. et Petiot, E.** " *Purin d'ortie & Cie* ". De Terran. (2004).

46. **Draghi, F.** " *L'ORTIE DIOIQUE (Urtica dioica L.) : Etude bibliographique*". Thèse pour obtenir un Diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. [éd.] Université de Nancy. (2005).

47. **Anonyme.** Urticamania, Composition chimique de la feuille d'ortie. *Urticamania, la tribune de l'ortie*. [En ligne] (2009). <http://urticamania.over-blog.com/article-32812586.html>.

48. **Chrubasik, Julia E., Roufogalis, B.D., Wagner, H., Chrubasik, S.** " *A comprehensive review on the stinging nettle effect and efficacy profiles. Part II: Urticae radix* ". *Phytomedicine*. (2007). Vol. 14(7-8). pp. 568–579.

49. **TABARDEL, Jacques.** " *Utilisation de l'Ortie (Urtica dioica L.) en alimentation animale: étude bibliographique*". Thèse, Vétérinaire, Toulouse 3. (2003).

50. **KAVALALI, G.** " *Urtica : therapeutic and nutritional aspects of stinging nettles*". [éd.] Taylor & Francis. Série Medicinal n° 37. (2003).

51. **PATTEN, G.** " *Urtica*". *J. Med. Herbalism*. (1993). Vol. 5(1).

52. **Castelman, M.** " *The Healing Herbs* ". Emmaus : Rodale Press. (1991).

53. **ERNEST, W.** " *Perennial herbs as monitor for moderate levels of metal fall-out*". *Chemosphere*. (1987). Vol. 16. pp. 223-238.

54. **Benecke, R.** " *Residues of pesticides in drugs grown from wild grown medicinal plants* ". *Pharmazie*. (1987). Vol. 42. pp. 869-871.

55. **Lebham.** *Thèse au laboratoire d'écophysiologie et de biotechnologie des halophytes et des algues au sein de l'institut universitaire Européen de la mer*". Université de Bretagne Occidentale

(UBO). (2005).

56. **Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K.V. et Biro, L.** "The role of antioxydant phytonutriments in the prevention of diseases". Acta Biologica Szegedensis. (2003). Vol. 1(4). pp. 119-125.

57. **Urquiaga, I. et Leighton, F.** "Plant polyphenol antioxydants and oxydative stress". Biological Research. (2000). Vol. 33(2). pp. 55-64.

58. **Sarni-Manchado, P. et Cheynier, V.** "Les polyphénols en agroalimentaire". Lavoisier. (2006). pp. 2-10.

59. **Macheix, J.J., Fleuriet, A. et Jay-Allemand, C.** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique". Presses polytechniques et universitaires romandes. (2005). pp. 4-5.

60. **Kansol, M.M.R.** "Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoshlundia oppossta vahl* et *Orthosiphon pallidus royale ex benth*". Mémoire pour obtenir un Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) en sciences biologiques. (2009).

61. **Joslyne, M.A. et Goldstein, J.L.** "Astringency of fruits and fruit products in relation to phenolc content". Adv. Food. Res. (1964). Vol. 13. pp. 179-217.

62. **Schmidt, O.Th., Mayer, W.** "Natürliche Gerbstoffe". Angewandte Chemie. (1956). Vol. 68. pp. 103-115.

63. **Weinges, K., Marx, H.D., Kaltenhauser, W., Nader, E., Nader, F., Perner, J. et Seiler, D.** "Procyanidine aus früchlen". Liebigs Annalen. (1968). Vol. 711. pp. 184-204.

64. **Weinges, K., Bahr, W., Ebert, W., Goritz, K. et Marx, H.D.** "Konstitution entstehung und bedeutung der flavonoid-gerbstoffe". Fortschritt

Chemistry.Organic Natural. (1969). Vol. 27. pp. 158-260.

65. **Haslam, E.** "Symmetry and promiscuity in proanthocyanidin biochemistry". *Phytochemistry*. (1977). Vol. 16. pp. 1625-1640.

66. —. "Practical polyphenolics: From structure to molecular recognition and physiological action". Cambridge University Press. (1998).

67. **Porter, L.J.** « *Flavans and proanthocyanidins* ». In: Harborne, J.B. Chapman and Hall,. (1988). pp. 21–62.

68. —. "Tannins". In Harborne J.B. (Ed), *Methods in plant biochemistry, Plant phenolics*. Academic Press. (1989). Vol. 1. pp. 389-419.

69. **Balas, L. et Vercauteren, J.** " Extensive high resolution reverse 2D NMR analysis allows structural elucidation of procyanidin oligomers ". *Magazin of Research in Chemistry*. (1994). Vol. 33. pp. 386-393.

70. **Piquemal, G.** "Les flavonoides". www.detoursante.com/phyto-aromatherapie-195/les-flavonoides.html. [En ligne] (2010).

71. **Karaali, A., Boyacioglu, D., Güneş, G. et Özçelik, B.** "Flavonoids in fruit and vegetables: their impact on food quality". Nutrition and health-STREP or CA. European commission's the 6th framework programme for research. Istanbul technical University. (2004).

72. **Malšev, D. et Kuntic, V.** "Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal flavonoid complexing reactions". *Journal of the serbian chemical society*. (2007). Vol. 72(10). pp. 921-939.

73. **W-Erdman, J., Balentine, J.D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J.T., Folts, J., Harnly, Hollman, J.P., L-Keen, C., Mazza, G., Messina, M., Scalber, A., Vita, J., Williamson, G. et Burrowes, J.** "Flavonoids and heart health": *Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31 June 1, 2005*. *Journal of nutrition*. (2007). Vol. 137. pp. 718-737.

74. **Emerenciano, V.P., Barbosa, K.O. Scotti, M.T. et Ferriro, M.J.P.** *"Self organising maps in chemotaxonomic studies of Asteracea: a classification of tribes using flavonoid data"*. Journal of brazilian chemical society. (2007). Vol. 18(5). pp. 891-899.

75. **Narayana, K.R., Reddy, M.S., Chaluvadi, M.R. et Krishna, D.R.** *"Bioflavonoids classification pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential"*. Indian Journal of pharmacology. (2001). Vol. 33. pp. 2-16.

76. **Medic-Saric, M., Jasparica, I., Smalcic-Bubalo, A. et Monar, A.** *"Optimisation of chromatography of flavonoids and phenolic acids"*. CROATICA MEDICA ACTA CCACAA., . (2004). Vol. 77(1-2). pp. 361-366.

77. **Mohammedi, Z.** *"Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen"*. Thèse de Magister de l'université Abou Bakr Belkaid d Tlemcen. (2006).

78. **Guggenbühl, N.** *"Les polyphénols sont à la fête"*. Vichy, France : s.n., (2003).

79. **Mafak, A.** *"Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: Formation de dépsides. Thèse de doctorat de l'université de Limoges"*. (2003).

80. **Lahlah, F.Z.** *"Extraction des flavonoïdes par le butanol, chloroforme à partir de Silybum marianum, et étude de leur activités antibactérienne"*. Thèse de magistère de l'université de Constantine. (2008).

81. **Kechkar, M.** *"Extraction de la silymarine et étude de son activité antibactérienne. Thèse de magistère de l'université de Constantine"*. (2008).

82. **Van Brussel, A.A.N., Tak, T., Boot, K.J.M., Kijne, J.W.** *"Autoregulation of root nodule formation: signals of both symbiotic partners"*

studied in a split-root system of Vicia sativa subsp. nigra". Molecular Plant-Microbe Interactions. (2002). Vol. 15. pp. 341-349.

83. **Harborne, J.B.** "*phytochemical methods*". A guide to modern technique of plants analysis, Third édition. (1998).

84. **Fugioka, T., Furumi, K., Fujii, H., Mihashi, K., Nakano, Y., Mastunga, H., Katano, M. et Mori, M.,** "*Antiproliferative constituents from umbelliferae plants, V.A. New furanocoumarine and falcarindal furanocoumarine ether from the root of Angelica japonica*". Chem. Pharm. Bull. (1999). Vol. 47. pp. 96-100.

85. **Chen, Y.F., Tsai, H.Y., Wu, T.S.** "*Anti-inflammatory and analgesic activities from the roots of Angelica pubescens*". Planta Medica. (1995). Vol. 61. pp. 2-8.

86. **Garcia-Agaez, A.N., Apam, T.O.R., Delgado, H.P., Velazquez, G. et Maetinez-Vasquez, M.,** "*Anti-inflammatory activity of coumarins from Decatropis bicolor on TPA ear mice model*". Planta Medica. (2000). Vol. 66. pp. 279-281.

87. **Resch, M., Steigel, A., Chem, Z.L. et Bauer, R.** "*5-Lipoxygenase and cyclooxygenase-1 inhibitory active compounds from Atractylodes lancea*". J. Nat. Prod. (1998). Vol. 61. pp. 347-356.

88. **Yorshikawa, M., Harada, E., Naitoh, Y., Inoue, K., Matsuda, H., Shimoda, H., Yamahara, J., Murakami, N.** "*Development of bioactive functions in hydrangeae dulcis folium. III. On the antiallergic and antimicrobial principles of hydrangeae dulcis folium*". Chemical & Pharmaceutical Bulletin. (1994). Vol. 42(11). pp. 2225-2230.

89. **Kaysre, O. et Kolodziej, H.** "*Antibacterial activity of extract and constituents of Pelargonium sedoides and Pelargonium reniforme*". Planta Medica. (1997). Vol. 63 (6). pp. 508-510.

90. **Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Bolwer, P.G., Bramley, P.M. and**

Ridham J.B. *"The relative antioxydant activities of plant derived polyphenolic flavonoids"*. Free Rad. Res. (1995). Vol. 22. pp. 375-383.

91. **Van Acker, S.A., Van den Berg, D.J., Tromp, M.N.,Griffioen, D.H., Van Bennekam, W.P., Van der Vijgh, W.J. et Bast, A.** *"Structural aspects of antioxydant activity of flavonoids"*. Free Radic.biol. Med. (1996). Vol. 20(3). pp. 331-342.

92. **Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J.P., Cimanga, K.,Van-Poel, B., Pieter, L., Vlietink, A.J. et Vanden Berghe, D.** *"Structure activity relationship and classification of flavonoids inhibitors of xanthine oxydase and superoxyde scavengers"*. J. Nat. Prod. (1998). Vol. 61. pp. 71-76.

93. **Landolfi, R., Mower, R.L. et Steiner M.** *"Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by flavonoids. Structure-activity relations"*. Biochem. Pharmacol. (1984). Vol. 33. pp. 1525-1530.

94. **Singh, B., Nadkarni, J.R., Vishwakarma, R.A., Bharate, S.B., Nivsarkar, M., Anandjiwala, S.** *"The hydroalcoholic extract of Cassia alata (Linn.) leaves and its major compound rhein exhibits antiallergic activity via mast cell stabilization and lipoxygenase inhibition"*. Journal of Ethnopharmacology. (2012). Vol. 1(5). pp. 469-473.

95. **Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A. et Capasso F.** *" Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs "*. Review lifes Sci. (1999). Vol. 65(4). pp. 337-353.

96. **Izzo, A.** *"PAF and the digestive tract"*. J.pharm.Pharmacol. (1996). Vol. 48. pp. 1103-1111.

97. **Bracke, M., Vyncke, B., Opdenakke,r G., Foidart, J.M., De pestel, G. et Mareel M.** *" Effect of catechins and citrus flavonoids on invasion in vitro"*. Clin.Exp.Metastasis. (1991). Vol. 9. pp. 13-25.

98. **Larocca, L.M., Giustacchin,i M., Maggiano, N., Ranelletti, F.O., Piantelli, M., Alcini, E. et Capelli, A.** *"Growth-inhibitory effect of quecetin*

and presence of type II estrogen binding sites in primary human transitional cell carcinomas". J. Urol. (1994). Vol. 195. pp. 1029-1033.

99. **Scutt, A., Meghji, S., Caniff, J.P. et Harvey, W.** "*Stabilisation of collagen by betel nut polyphenols as mechanism in oral submucous fibrosis*". *Experientia*. (1987). Vol. 43. pp. 391-393.

100. **Makimura, M., Hirasawa, M., Kobayashi, K., Indo, J., Sakanaka, S., Tagushi, T et Otake, S.** "*Inhibitory effect of tea catechins on collagenase activity*". *J. Periodontol.* (1993). Vol. 64. pp. 630-636.

101. **Cowan, MM.** "*Plants products as antimicrobial agent*". *Clinical microbiology reviews*. (1999). pp. 564-570. Vol. 12(4).

102. **Recio, M.C., Rios, J.L. et Villar, A.** "*A review of some antimicrobial compounds isolated from medicinal plants reported in the literature*". *Phytotherapy*. (1989). Vol. 3. pp. 117-125.

103. **Walker, J.E.M., Saraste, M.J., Runswick et Gay N.J.** "*Distantly related sequences in the alpha and beta subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP requiring enzymes and a common nucleotide binding fold*". *Embo. J.* (1982). Vol. 1(8). pp. 945-951.

104. **Favier, A.** "*Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et experimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique*". *L'actualité chimique*. (2003). pp. 108-115.

105. **Gauche, E., Hausswirth, C.** "*Stress oxydant, complémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice*". *Science & Motricité*. (2006). Vol. 58. pp. 43-66.

106. **Aurousseau, B.** "*Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits*". *INRA Prod. Anim.*, (2002). Vol. 15 (1). pp. 67-82.

107. **Milane, H.** "*La quercétine et ces dérivés: molécule à caractère*

pro-oxydant ou capteur de radicaux libres, étude et applications thérapeutiques. thèse en vue de l'obtention du grade de docteur en science". Université Louis Pasteur Strasbourg. (2004).

108. **Van Antwerpen, P.** "*Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système myeloperoxydase / peroxyde d'hydrogène /chlorure. Thèse de doctorat en Sciences Pharmaceutiques".* Académie universitaire Wallonie-Bruxelles. (2006).

109. **Li, C.Y., Jackson, R.M.** "*Reactive species mechanisms of cellular hypoxiareoxygenation injury".* Am. J. Physiol.-Cell Physiol. (2002). Vol. 282. pp. C227–C241.

110. **Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J.** "*Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence".* Mol. Cell. Biochem. (2004). Vol. 266. pp. 37–56.

111. **Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M.** "*Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer".* Chem. Biol Interact., (2006). Vol. 160. pp. 1–40.

112. **Tamer, Fouad M.D.** "Free radicals, Types, sources and damaging reactions". [En ligne] Internal Medicine Articles, (2003). (<http://www.doctorslounge.com/primary/articles/>).

113. **Rahman, I.** "*Oxidative stress and gene transcription in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: antioxidant therapeutic target".* Curr Drug Targets Inflamm Allergy, (2002). Vol. 1(3). pp. 291-315.

114. **Aruoma, O. I.** "*Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease".* J. Am. Oil Chem. Soc. (1998). Vol. 75. pp. 199–212.

115. **Smith, M. A., Perry, G., Richey, P. L., Sayre, L. M., Anderson, V. E., Beal, M. F., et al.,.** "*Oxidative damage in Alzheimer's".* Nature,.

(1996). Vol. 382. p. 120.

116. **Smith, A.R., Shenvi, S.V., Widlansky, M., Suh, J.H., Hagen, T.M.** "*Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress*". *Curr. Med.Chem.* (2004). Vol. 11. pp. 1135– 1146.

117. **Bolton, J. L., Trush, M. A., Penning, T. M., Dryhurst, G. et Monks, T. J.** "*Role of quinones in toxicology*". *Chem. Res. Toxicol.*, (2000). Vol. 13. p. 135.

118. **Ali, S.S., Kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., et Bora, U.** "*Indian medicinal herbs as sources of antioxidants*". *Food Res Int.*, (2008). Vol. 41. pp. 1-15.

119. **Jha, P., Flather, M., Lonn, E., Farkouh, M., Yusuf, S.** "*The antioxidant vitamins and cardiovascular disease. A critical review of epidemiologic and clinical trial data*". *Ann. Intern Med.*, (1995). Vol. 123. p. 860.

120. **Georgetti, S.R., Casagrande, R., Di Mambro, V.M., Azzolini Ana, E.C.S., Fonseca Maria, J.V.** "*Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids*". *AAPS Pharm Sci.* (2003). Vol. 5(2). pp. 1-5.

121. **Amstad, P., Peskin, A., Shah, G., Mirault, M.E., Moret, R., Zbinden I. et Cerutti P.** "*The balance between Cu-Zn-superoxide dismutase and catalase affects the sensitivity of mouse epidermal cells to oxidative stress*". *Biochemistry.* (1991). Vol. 30. p. 9305.

122. **Antolvich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., Mc Donald, S., et Robards, K.** "*Methods for testing antioxydant activity*". *Analyst.* (2002). pp. 183- 198. Vol. 127.

123. **Morelle, J. et Israel, L.** "*L'oxydation des aliments et la santé*". Edition impression librairie F-X de Guibert. (2003). p. 257.

124. **Léger, C.L.** "*Anti-oxydants d'origine alimentaire*". (2006). Vol.

13(2). pp. 213-222.

125. **Negre- Salvayre, A. et Salvayre, R.** "*Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif : implication en physiopathologie vasculaire*". OCL. (2005). Vol. 12. pp. 433-438.

126. **Scherer, R., Godoy, H.T.** "*Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method*". Food Chem. (2009). Vol. 112. pp. 654–658.

127. **Sanchez-Moreno, C.** "*Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems*". Food Sci Tech Int. (2002). Vol. 8(3). pp. 121-137.

128. **Huang, D., Ou, B., Prior, R.I.** "*The chemistry behind antioxidant capacity assays*". J. Agric. Food Chem. (2005). Vol. 53. pp. 1841-1856.

129. **Benzie, I. F. F. et Strain, J. J.** "*The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay*". Analytical Biochemistry. (1996). Vol. 239. pp. 70-76.

130. **Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C.** "*Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*". Food. Sci. Technol. (1995). Vol. 28. pp. 25–30.

131. **Ali-Shtayeh, M.S., Yaghmour, RM-R., Faidi, YR., Salem, K., Al-Nuri, MA.,** "*Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area*". Journal of Ethnopharmacology. (1998). Vol. 60. pp. 265-271.

132. **Kelen, M., Tepe, B.** "*Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of Salvia species from Turkish flora*". Bioresource Technology. (2008). Vol. 99. pp. 4096-4104.

133. **Nicolas, M. et Daniel, C.** "*Activités technologiques en microbiologie 1 –Techniques de base et méthodologie*". Editeurs CRDP

d'Aquitaine- Bordeaux,. (1998). p. 152.

134. **Prat, R.** "*Expérimentation en biologie et physiologie végétales*". Editions Quae. (2007). p. 296.

135. **Bourkhiss, M., Hnach, M., Bourkhiss, B., Ouhssine, M., Chaouch, A. et Satrani, B.** " *Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de Tetraclinis articulata (Vahl) Masters*". Agrosolution. (2009). Vol. 20(1).

136. **NGANGUEM, Marthe.** "*Approche physico-chimique du pouvoir conservateur du sel: Cas du salage de Pseudotolithus senegalensis. Maîtrise Professionnelle de Biotechnologie dans IAA*". Université d'Abomey-Calavi. (2007).

137. **Badiaga, M.** " *Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologique de Nauclea latifolia Smith, une plante médicinale africaine récolté au Mali*" , *Thèse de Doctorat*. Université Blaise-Pascal - Clermont-Ferrand II, France. (2011).

138. **Dohou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., Idrissi Hassani, L.M. et Badoc Gmira , N.** " *Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, Thymelaea lythroides*". Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. (2003). Vol. 142. pp. 61-78.

139. **N'Guessan, K., Kadja B., Zirihi, G., Traoré, D. et Aké-Assi, L.** "*Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire)*". Sci. Nat. (2009). Vol. 6(1). pp. 1-15.

140. **Singleton, V. L. and Rossi, J. A.** "*Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdc-phosphotungstic asit reagents*". American Journal of Enology and Viticulture,. (1965). Vol. 16. pp. 144-158.

141. **Singleton, V. L., Orthofer, R. et Lamuela-Raventos, R.M.** "*Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by*

means of folin-ciocalteu reagent". *Methods in Enzymology*. (1998). Vol. 299. pp. 152-178.

142. **Dehpour, A.A., Ibrahimzadeh, M.A. et N. Seyed, Mohammad et N. Seyed Fazel.** "*Antioxydant activity of the methanolextract of Ferula assafoetida and its essential oil composition*". *Grasas y Aceites*. (2009). pp. 405-412.

143. **Saha, M.R., Hasan, S.M.R., Akter, R., Hossain, M.M., Alam, M.A. et Mazumder, M.E.H.** "*In vitro free radical scavenging activity of methanol extract of the leaves of mimusops elengi Linn.*". *Bangl.J.Vet.Med*. (2008). Vol. 6(2). pp. 197-202.

144. **Oyaizu, M.** "*Studies on products of browning reaction prepares from glucose amine*". *Japanese Journal of Nutrition*. (1986). Vol. 44. pp. 307-315.

145. **Madi, A.** "*Caractérisation et comparaison deu contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques*". thèse de magistère de l'université Mentouri de Constantine. (2010).

146. **MEENA, M.R. et SETHI, V.** "*Antimicrobial activity of the essential oils from spices*". *J. Food Sci. and Tech. Mysore*. (1994). pp. 68-70.

147. **Hudec, J., Burdova, M., Kobida, L., Komora, L., Macho, V., Kogan, G., Turianica, I., Kochanova ,R., Loezk, O., Habàn, M. et Chelbo, P.** "*Antioxydant capacity changes and phenolic profile of Echinacez purpurea, nettle (Urtica dioica L.), and dandelion (Taraxacum officinale) after application of polyamine and phenolic biosynthetis regulator*". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (2007). Vol. 55 (14). pp. 5689-5696.

148. **JIMOH, F., ADEDAPO, A., ALIERO, A., AFOLAYAN, A.** "*Polyphenolic and biological activities of leaves extracts of Argemone subfusiformis (Papaveraceae) and Urtica urens (Urticaceae)*". *Rev. Biol*.

Trop. (December 2010). Vol. 58 (4). pp. 1517-1531.

149. **Européenne, Pharmacopée.** "*Community herbal monograph on Urtica dioica L.; Urtica urens L., folium*". (2008).

150. **WETHERILT, H.** "*Evaluation of Urtica species as potential sources of important nutrients*". [éd.] par Charalambous G. Elsevier Science Publishers,. (1992). pp. 15-25.

151. **NAFIR-ZENATI, S., GALLON, G., FAVIER, J-C.** "*Effet de la cuisson sur la teneur en minéraux des epinards*". ORSTOM Fonds Documentaire. (1993).

152. **GULSEL, M. KAVALALI.** "*Urtica: The genus Urtica. Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles*". [éd.] CRC Press. (2004). p. 112 p.

153. **Orčić, D., Franciskovic, M., Bekvalac, K., Svircev, E., Beara, Ivana.,.** "*Quantitative determination of plant phenolics in Urtica dioica extracts by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection*". Food Chemistry. (2014). Vol. 143(1). pp. 48-53.

154. **PINELLI, P., LERI, F., VIGNOLINI, P., BACCI, L., BARONTI, S. et ROMANI,A.** "*Extraction and HPLC analysis of phenolic compounds in leaves, stalks and textiles fibers of Urtica dioica L.*". J. Agri. Food.Chem. (2008). Vol. 56 (19). pp. 9127-9132.

155. **KURKIK, Z.Z., TOPALIC-TRIVUNOVIC, L.N., KUKAVICA, B.M., MATOS, SB., PAVICIC, SS., BOROJA, MM. et SAVIC, A.V.** "*Characterization of antioxydant and antimicrobial activities of nettle leaves (Urtica dioica L.)*". APTEFF. (2012). Vol. 43. pp. 257-272.

156. **KASSIM GHAIMA, K., MAKIE HASHIM, N., ABDALRASOOL ALI, S.** "*Antibacterial and antioxidant activities of ethyl acetate extract of nettle (Urtica dioica) and dandelion (Taraxacum officinale)*". Journal of Applied Pharmaceutical Science. (2013). Vol. 3 (05). pp. 096-099.

157. **KATAKI, M.S., MURUGAMANI, V., RAJKUMARI, A., SINGH MEHRA, M., AWASTHI, D., YADAV, RS.** "*Antioxidant, Hepatoprotective, and Anthelmintic Activities of Methanol Extract of Urtica dioica L. Leaves*". *Pharmaceutical Crops*. (2012). Vol. 3. pp. 38-46.

158. **Park, J. et Cha, H.C.** "*Flavonoids from leaves and exocarps of grape Kyoho*". *Korean Journal of Biological Society*. (2003). Vol. 7. pp. 327-330.

159. **Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J. et Lee, C.Y.** "*Cacao has more phenolic phytochemicals and higher antioxidant capacity than teas and red wine*". *Food Chemistry*. (2003). Vol. 51. pp. 7292-7295.

160. **THEFENNE, H., TURC, J., CARMOI, T., RENARD, C.,.** "*Intoxication aiguë au méthanol : réflexion à partir d'un cas*". *Annales de Biologie Clinique*. (2005). Vol. 63(5).

161. **KARAKAYA, S. and NEHIREL, S.,.** "*Quercetin, luteoline, apigenin and keampferol contents of some foods*". *Rev. Biol. Trop. s.l. : Food Chem.*, (1999). Vol. 66(3). pp. 289-292.

162. **Tim, T.P.C. et Lamb, A.J.** "*Antimicrobial activity of flavonoids*". *International Journal of Antimicrobial agents*. (2005). Vol. 26. pp. 343-356.

163. **Heymonet, C.** "*Les plantes à visée anti-inflammatoire utilisées en phytothérapie*". Thèse, docteur en pharmacie, université de Lorraine. (2013).

164. **PRAKASH, D., UPADHYAY, G., BRAHMA, N. et SINGH, H.B.** "*Antioxidant and free radical scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (Glycine max)*". *Food Chemistry*. (2007). Vol. 104. pp. 783-790.

165. **MAVI, A., TERZI, Z., ÖZGEN, U., YILDINI, A. et COSKUN, M.** "*Antioxidant properties of some medicinal plants Prangos ferulacea (Apiaceae), Sedum sempervivoides (Crassulaceae), Malva neglecta*

(*Malvaceae*), *Cruciata taurica* (*Rubiaceae*), *Rosa pimpinellifolia* (*Rosaceae*), *Galium verum subsp. verum* (*Rubiaceae*), *Urtica dioi*. *Biol. Pharm. Bull.* (2004). Vol. 27. pp. 702-705.

166. **BONINA, F., LANZA, M., MONTENEGRO, L., PUGLICI, C., TOMAINO, A., TROMBETTA, D., CASTELI, D., CASTELLI, F., SAIDJA, A.,** " *Flavonoids as potential protective agents against photo-oxidative skin damage* ". *International Journal of pharmaceutics.* (1996). Vol. 145(1-2). pp. 87-94.

167. **Soares, J.R., Dins, T.C.P., Cunha, A.P., Ameida, L.M.** " *Antioxidant activity of some extracts of Thymus zygis* ". *Free Radical Research.* (1997). Vol. 26. pp. 469–478.

168. **MODARRESI-CHAHARDEHI, A., DARAH, I., SHAIDA FARIZA, S. et MOUSAVI, Leila.** *Screening antimicrobial activity of various extract of Urtica dioica.* s.l. : *Rev. Biol. Trop.*, 2012. Vol. 4.

169. **AHMAD DAR, S., YOUDEF, A.R., AHMAD GANAI, F., SHARMA, P., KUMAR, N. et SINGH, R.** " *Bioassay guided isolation and identification of anti-inflammatory and anti-microbial compounds from Urtica dioica L. (Urticaceae) leaves* ". *African Journal of Biotechnology.* (2012). Vol. 11(65). pp. 12910-12920.

170. **DOSTBIL, N., AGAOGLU, S., ALEMDAR.** " *The antibacterial activity of common nettle* ". *Indian Veterinary Journal.* (2005). Vol. 82 (5). pp. 492-494.

171. **M.A. HASSAN AL-WASFI, R., JAAFER JABAAR AL-KAABEE, H. et MAJEED HAMEED ALFATLAWY, D.** " *Studying the hypoglycemic and the antibacterial activity of various plant extract of Urtica dioica* ". *magazin of alkufa university for biolog.* (2012). Vol. 4 (2).

172. **LIVIU, M., DANIEL, D., FLORE, C., NICODIM, F. et OTILIA, B.** " *Antibacterial activity of different plant extracts and phenolic phytochemicals* "

tested on Paenibacillus larvae bacteria". (2011). Vol. 44(2). pp. 94-99.

APPENDICE A

Liste des abréviations

ADN: Acide désoxyribonucléique

APGIII: Angiosperm Phylogeny Group III

APR: Pouvoir anti radicalaire

ATCC : American Type Culture Collection

BHA: Butylhydroxyanisol

BHT: Butylhydroxytoluène

C: Chloramphénicol

C° : Degré Celsius

cm : Centimètre

CMI : Concentration minimale inhibitrice

DMSO : diméthylsulfonide

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

ERO: Espèces réactives oxygénées

EtOH : éthanol

FA : Acide fucidique

FC: Folin-Ciocalteu

FDA: Food and Drug Administration

FRAP: Ferric reducing antioxidant power

G: Grossissement

HBP: Hypertrophie bénigne de la prostate

IC₅₀: Concentration inhibitrice de 50% du DPPH initial

MeOH : méthanol

mg EAG/g : milligramme équivalent d'acide gallique par gramme

mg EQ/g : milligramme équivalent de quercétine par gramme

MP : Microscope photonique

MS : Matière sèche

OMS : Organisation Mondial de la Santé

Pe : Prise d'essai

PF : Poids frais

pH : Potentiel d'Hydrogène

PI : Acide pipémidique

PI : Pourcentage d'inhibition

PS : Poids sec

TC : Taux de cendres totales

TE : Teneur en eau

TH : Taux d'humidité

V/V: Volume / Volume

ZI : Zone d'inhibition

APPENDICE B

Appareillage, verrerie et consommables

A1. Liste des appareillages

- Autoclave
- Bain Marie
- Balance de précision
- Centrifugeuse de paillasse
- Étuve bactériologique
- Evaporateur rotatif
- Four à moufles
- Loupe biloculaire
- Microscope photonique
- pH-mètre
- Plaque chauffante
- Spectrophotomètre UV-visible

A2. Liste de la verrerie et consommables

- Anse de platine
- Ballon à fond plat
- Béchers
- Boîtes de Pétri stériles de 90 mm de diamètre
- Disques d'antibiogramme Stériles de 9 mm de diamètre
- Disques d'antibiotiques de 6 mm
- Erlenmeyer

- Lames de rasoir
- Lames en verres et lamelles
- Micropipettes 5, 10, 100 et 1000 μ l
- Papier filtre WHATMAN
- Pincettes
- Pipettes graduées stériles
- Pipettes Pasteurs
- Spatule en inox
- Tubes à essai

APPENDICE C

Liste des solutions et réactifs utilisés

- Acétate de sodium
- Acide chlorhydrique (HCL)
- Acide sulfurique (H₂SO₄)
- Acide trichloracétique à 10%
- Ammoniaque (NH₄OH)
- Carbonate de sodium (Na₂ Co₃)
- Chlorure d'aluminium (AlCl₃)
- Chlorure de Fer (FeCl₃)
- Chlorure de mercure
- DMSO
- DPPH
- Eau distillée
- Eau physiologique stérile
- Ethanol à 95°
- Ferricyanure de potassium (K₃Fe(CN)₆) à 1%
- Formol à 40%
- Iodure de potassium (IK)
- Méthanol à 95°
- Perchlorure ferrique
- Solution tampon phosphate

APPENDICE D

Photos de quelques appareils et tests biologiques



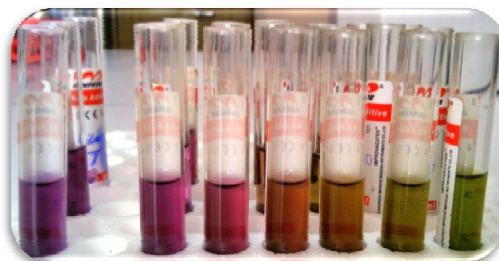
Four à mouffles



Plaque chauffante



**Screening phytochimique des
composés phénoliques**



**Activité antioxydante de
l'extrait MeOH**



**Activité antioxydante de la
quercétine**

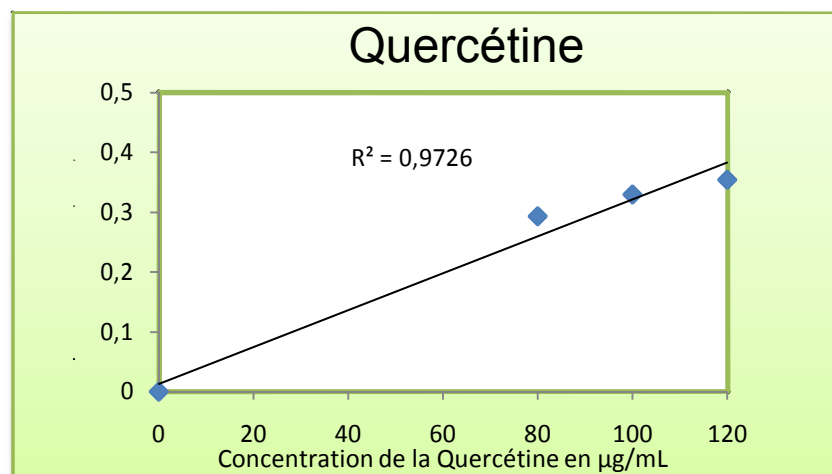
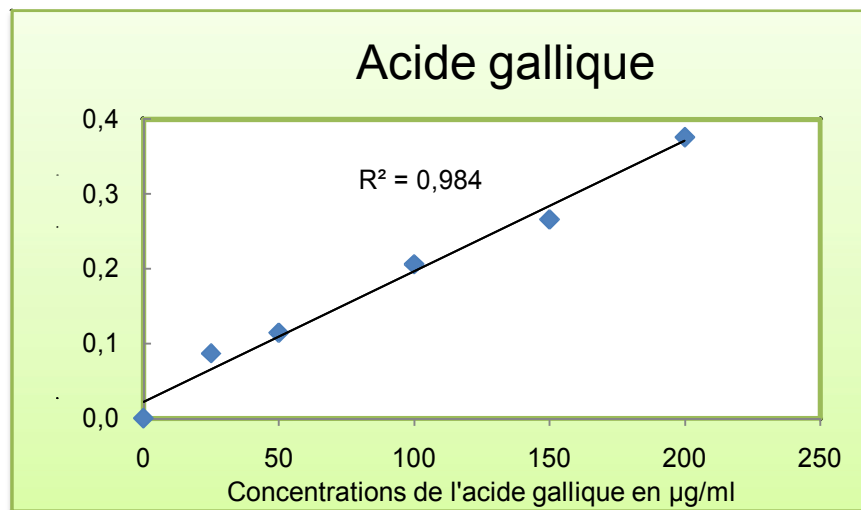
APPENDICE E

La double coloration au vert de méthyle et rouge Congo :

- ✓ Bain d'hypochlorite de sodium à 12° pendant 20mn pour vider les cellules de leur contenu cytoplasmique.
- ✓ Rinçage à l'eau courante.
- ✓ Bain d'acide acétique à 2% pendant 2 mn pour enlever toute trace d'hypochlorite de sodium.
- ✓ Rinçage à l'eau courante.
- ✓ Bain dans une solution de vert de méthyle pendant 20 mn. Il colore spécifiquement les parois des cellules lignifiées ou subérifiées en vert.
- ✓ Rinçage à l'eau courante.
- ✓ Bain dans une solution de rouge Congo pendant 20 mn. Il colore les parois pectocellulosiques en rose.
- ✓ Rinçage à l'eau courante.

APPENDICE F

Courbes d'étalonnage de l'acide gallique et de la quercétine

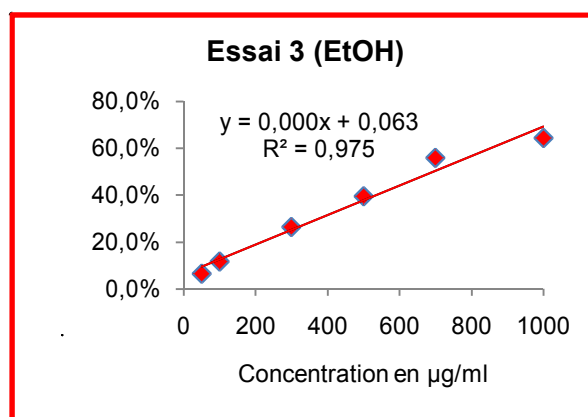
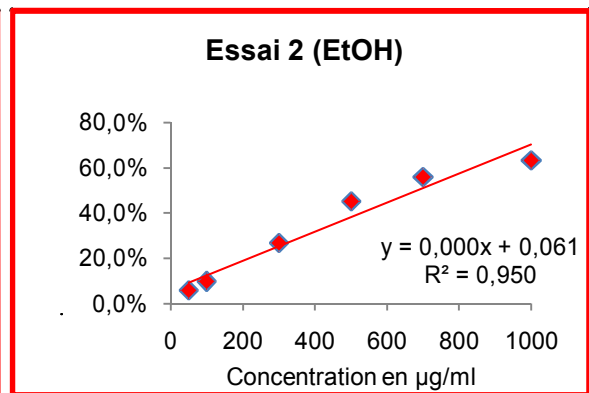
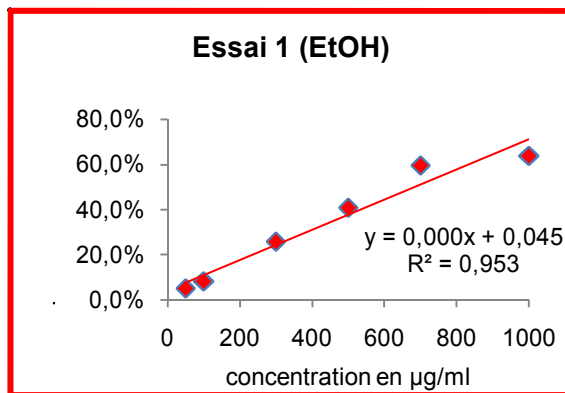


APPENDICE G

Résultats des activités biologiques

➤ Activité antioxydante (test du DPPH) de l'extrait EtOH

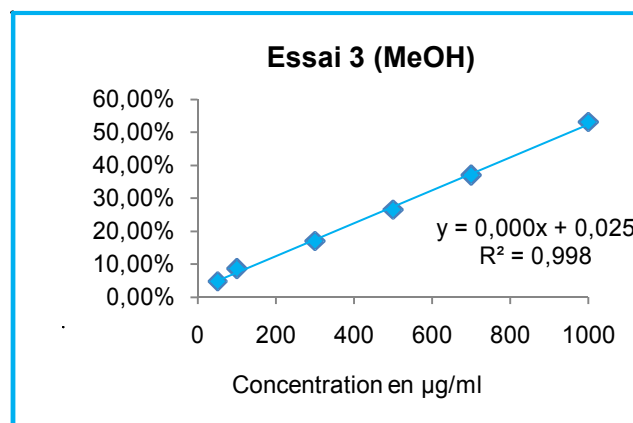
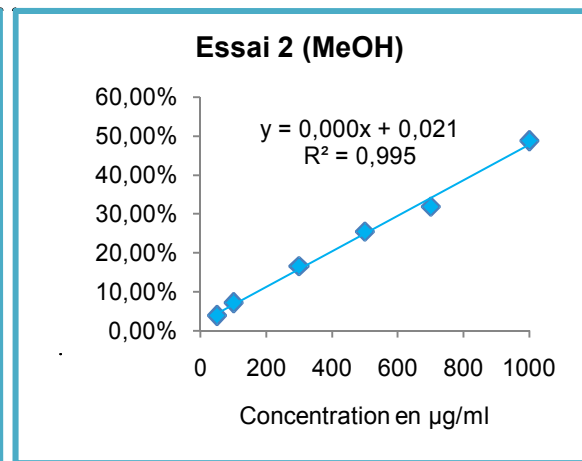
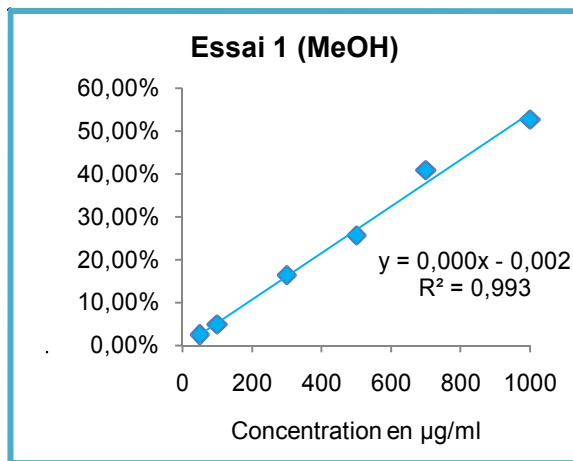
| Concentrations en $\mu\text{g/ml}$ | | 50 | 100 | 300 | 500 | 700 | 1000 |
|------------------------------------|----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Absorbances | E1 | 1,3170 | 1,2730 | 1,0310 | 0,8230 | 0,5640 | 0,5030 |
| | E2 | 1,3070 | 1,2530 | 1,0150 | 0,7590 | 0,6120 | 0,5080 |
| | E3 | 1,3000 | 1,2270 | 1,0220 | 0,8400 | 0,6130 | 0,4950 |



Courbes de régressions linéaire (pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extrait éthanolique)

➤ Activité antioxydante (test du DPPH) de l'extrait MeOH

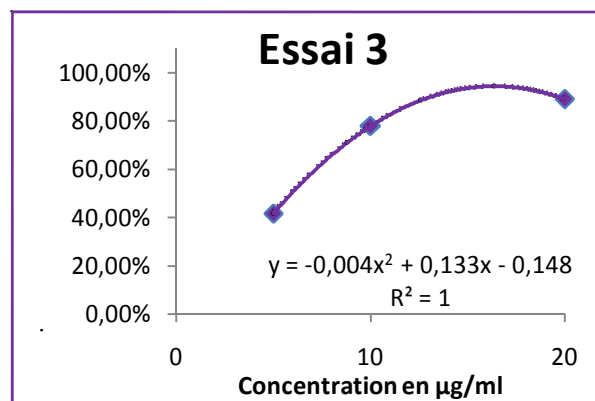
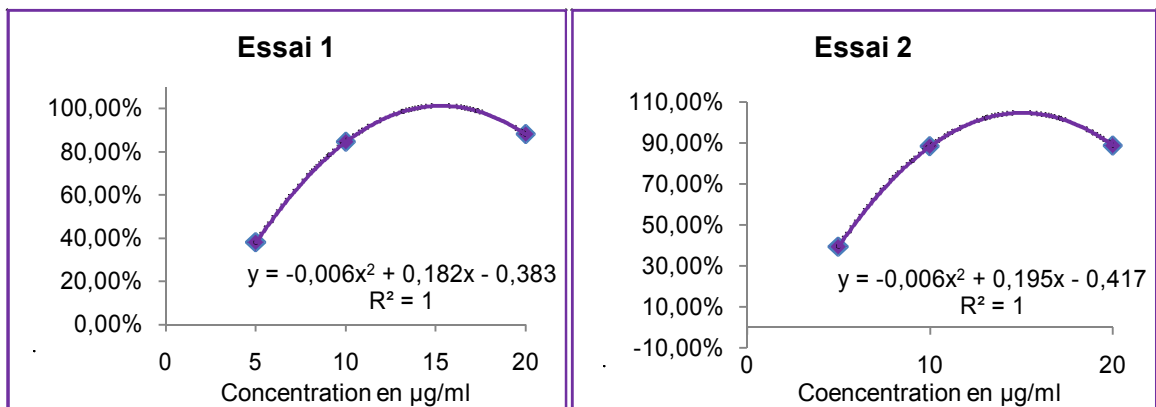
| Concentration en µg/ml | 50 | 100 | 300 | 500 | 700 | 1000 | |
|------------------------|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Absorbances | E1 | 1,001 | 0,976 | 0,858 | 0,763 | 0,607 | 0,485 |
| | E2 | 0,995 | 0,961 | 0,864 | 0,771 | 0,705 | 0,531 |
| | E3 | 0,997 | 0,958 | 0,869 | 0,77 | 0,661 | 0,491 |



Courbes des régressions linéaires (pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extrait méthanolique)

Activité antioxydante de la quercétine

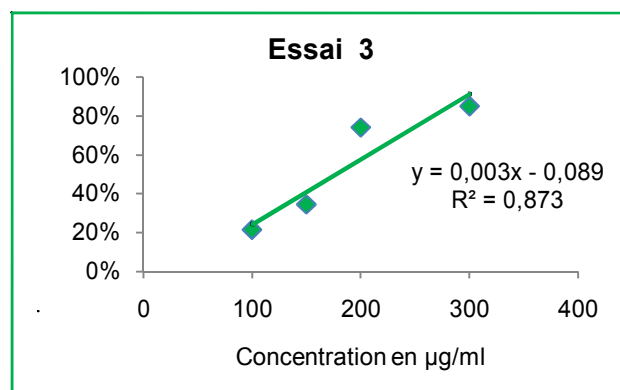
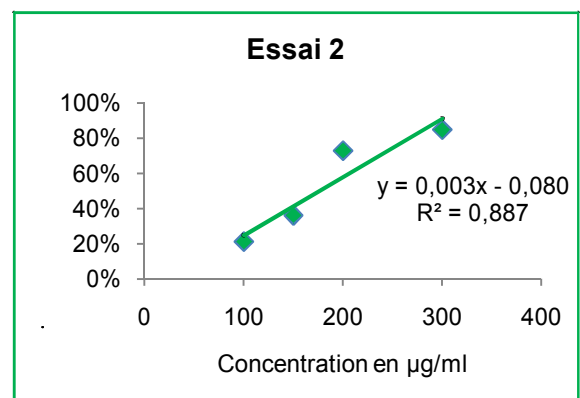
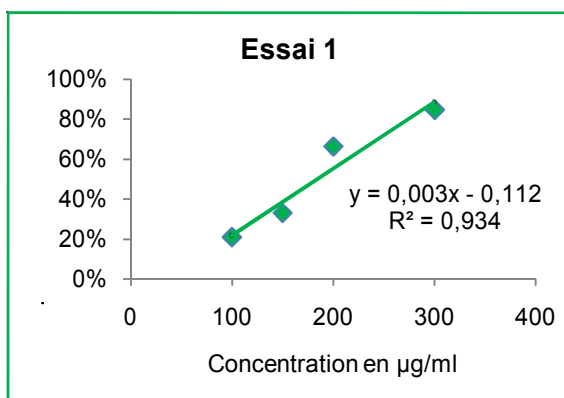
| | concentration en µg/ml | 0 | 5 | 10 | 20 |
|-------------|------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Absorbances | E1 | 0,8290 | 0,5130 | 0,1270 | 0,0980 |
| | E2 | 0,8470 | 0,5120 | 0,0980 | 0,0950 |
| | E3 | 0,8760 | 0,5100 | 0,1930 | 0,0950 |



Courbes des régressions polynomiales (pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en quercétine)

➤ Activité antioxydante de la rutine

| Concentration (mg/ml) | 0 | 100 | 150 | 200 | 300 | |
|-----------------------|-----|--------|--------|--------|--------|--------|
| Absorbances | E 1 | 1,2788 | 0,9523 | 1,4802 | 0,4303 | 0,1951 |
| | E 2 | 1,2817 | 0,9523 | 1,4067 | 0,3401 | 0,1931 |
| | E 3 | 1,2783 | 0,9608 | 1,4490 | 0,3336 | 0,1934 |



Courbes des régressions linéaires (pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en rutine)

➤ Diamètres des zones d'inhibitions (ZI) des extraits de *U. urens* L. sur les souches microbiennes.

| Germes | Zones d'inhibition en mm | | | | | | | | | | | |
|------------------------|----------------------------------|------|-----|----|---------------------|------|-----|------|--|-----------------|-------------------|-----------------|
| | Concentration en extrait (mg/ml) | | | | | | | | Sensibilité des bactéries aux extraits | Antibiogramme | | |
| | Extrait méthanolique | | | | Extrait éthanolique | | | | | Chloramphénicol | Acide pipémidique | Acide fucidique |
| | 0.125 | 0.25 | 0.5 | 1 | 0.125 | 0.25 | 0.5 | 1 | | | | |
| <i>S. aureus</i> | 11 | 13 | 13 | 12 | 11 | 12 | 11 | 10 | Peu sensible | 26.5 | 10 | 30 |
| <i>S. typhimurium</i> | 10 | 11 | 11 | 12 | 11 | 13 | 12 | 11 | Peu sensible | 27 | 22 | - |
| <i>C. freundii</i> | 11 | 11 | 12 | 12 | - | 11 | 11 | 11 | Peu sensible | 26 | 24 | 8 |
| <i>E. coli</i> | 10 | 11 | 12 | 11 | 12 | 10 | 11 | 12 | Peu sensible | 27.5 | 24 | 8 |
| <i>K. pneumeuniaie</i> | - | - | - | - | - | - | - | - | Résistante | 25.5 | 17 | 6.5 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 11 | 12 | 12 | 12 | 10 | 12 | - | - | Peu sensible | 8 | 8 | 7 |
| <i>C. albicans</i> | 11 | 11 | 12 | 12 | 10.5 | 11 | 11 | 11.5 | Peu sensible | / | / | / |

- : Aucune zone d'inhibition observée. / : Aucun antifongique testé.

APPENDICE H

Etude statistique

La teneur en eau : Statistique descriptives

| Descriptive Statistics (Spreadsheet3) | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|---------|----------|------------------------|----------------------|----------|----------|----------|---------------------------|---------------------------|
| Variable | Valid N | Mean | Confidence -99,000% | Confidence 99,000 | Minimum | Maximum | Std.Dev. | Confidence SD -95,000% | Confidence SD +95,000% |
| feuilles | 3 | 84,49433 | 76,89608 | 92,09258 | 82,96600 | 85,33900 | 1,326021 | 0,690404 | 8,333692 |

| Descriptive Statistics (Spreadsheet3) | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|---------|----------|------------------------|----------------------|----------|----------|----------|---------------------------|---------------------------|
| Variable | Valid N | Mean | Confidence -99,000% | Confidence 99,000 | Minimum | Maximum | Std.Dev. | Confidence SD -95,000% | Confidence SD +95,000% |
| feuilles | 3 | 84,49433 | 76,89608 | 92,09258 | 82,96600 | 85,33900 | 1,326021 | 0,690404 | 8,333692 |

Test de Mann Whitney

| Mann-Whitney U Test (URTICA) | | | | | | | | | | |
|---|----------------------|-------------------|------|----------|----------|---------------|----------|---------------------|------------------|--------------------|
| By variable partie | | | | | | | | | | |
| Marked tests are significant at p <,05000 | | | | | | | | | | |
| variable | Rank Sum feuilles | Rank Sum tiges | U | Z | p-level | Z adjusted | p-level | Valid N feuilles | Valid N tiges | 2*1side exact p |
| T eau | 6,000000 | 15,00000 | 0,00 | -1,96396 | 0,049535 | -1,96396 | 0,049535 | 3 | 3 | 0,1000 |

Dosage des composés phénoliques

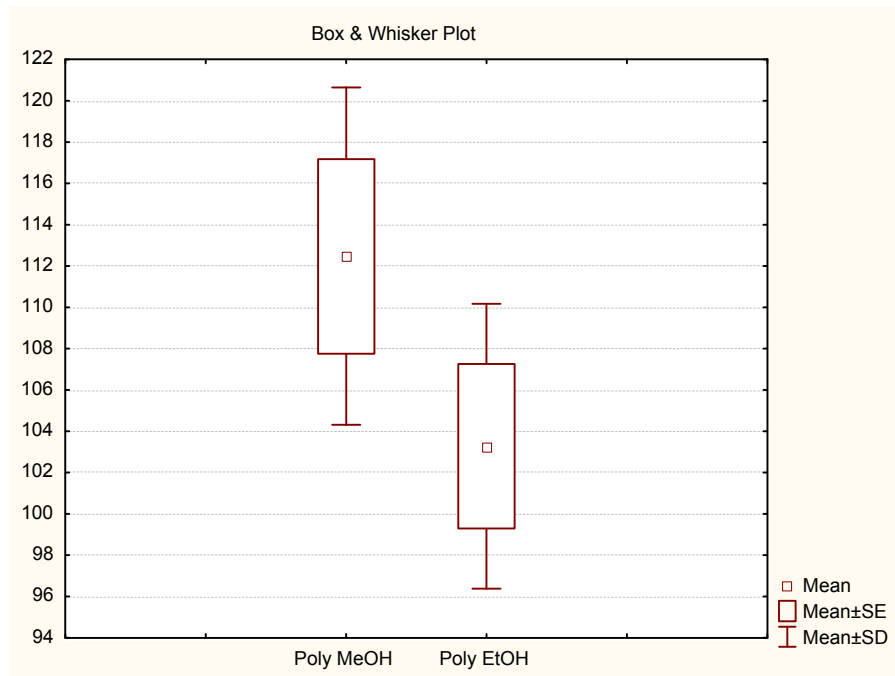
Statistiques descriptives

| Variable | statistiques descriptives: dosage des composés phé | | | | |
|------------------|--|----------|----------|----------|---------|
| | Valid N | Mean | Minimum | Maximum | Std.Dev |
| Poly totaux MeOH | 3 | 112,4744 | 104,1402 | 120,4461 | 8,1589 |
| Poly totaux EtOH | 3 | 103,2712 | 98,3441 | 111,1544 | 6,8978 |
| Flavonoides MeOH | 3 | 30,5786 | 29,3302 | 32,4214 | 1,6290 |
| Flavonoides EtOH | 3 | 58,0592 | 57,3026 | 59,4642 | 1,2179 |

Test de Mann-Whitney

Teneur en polyphénols totaux

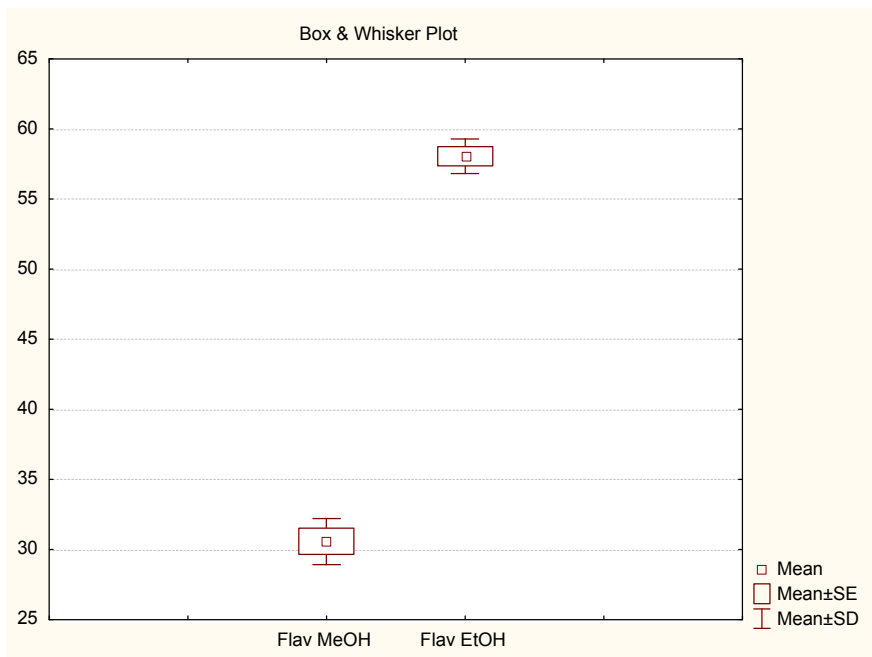
| Mann-Whitney U Test (URTICA) | | | | | | | | | | |
|---|------------------|------------------|---------|---------|----------|---------------|----------|-----------------|-----------------|---------------------|
| By variable EXTAIT | | | | | | | | | | |
| Marked tests are significant at p <,05000 | | | | | | | | | | |
| variable | Rank Sum MeOH | Rank Sum EtOH | U | Z | p-level | Z adjusted | p-level | Valid N MeOH | Valid N EtOH | 2*1sided exact p |
| Poly | 14,00000 | 7,00000 | 1,00000 | 1,52752 | 0,126631 | 1,52752 | 0,126631 | 3 | 3 | 0,20000 |



Boite à moustache de la teneur en polyphénols totaux des feuilles de *Urtica urens* L.

Teneur en flavonoïdes

| Mann-Whitney U Test (URTICA) | | | | | | | | | |
|---|------------------|------------------|------|----------|----------|---------------|----------|-----------------|-----------------|
| By variable EXTAIT | | | | | | | | | |
| Marked tests are significant at p <,05000 | | | | | | | | | |
| variable | Rank Sum MeOH | Rank Sum EtOH | U | Z | p-level | Z adjusted | p-level | Valid N MeOH | Valid N EtOH |
| Flav | 6,000000 | 15,00000 | 0,00 | -1,96396 | 0,049535 | -1,96396 | 0,049535 | 3 | 3 |



Boite à moustache de la teneur en flavonoïdes des feuilles de *Urtica urens* L.

Activité antioxydante

| Variable | Descriptive Statistics (URTICA) | | | | | |
|------------|---------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------------|
| | Valid N | Mean | Minimum | Maximum | Std.Dev. | Standard Error |
| Quercetine | 3 | 3,9500 | 3,9100 | 3,980 | 0,03606 | 0,02082 |
| Rutine | 3 | 180,0505 | 175,8485 | 185,576 | 4,99682 | 2,88491 |
| MeOH | 3 | 970,2667 | 949,8000 | 1004,000 | 29,43490 | 16,99425 |
| EtOH | 3 | 702,7778 | 650,0000 | 731,000 | 45,74365 | 26,41011 |

| Multiple Comparisons p values (2-tailed); IC50 (URTICA) | | | | |
|---|----------|----------|----------|------------|
| Independent (grouping) variable: EXTAIT | | | | |
| Kruskal-Wallis test: H (3, N= 12) =10,38462 p =,0156 | | | | |
| Depend.: | MeOH | EtOH | Rutine | Quercetine |
| IC50 | R:11,000 | R:8,0000 | R:5,0000 | R:2,0000 |
| MeOH | | 1,000000 | 0,249240 | 0,013407 |
| EtOH | 1,000000 | | 1,000000 | 0,249240 |
| Rutine | 0,249240 | 1,000000 | | 1,000000 |
| Quercetine | 0,013407 | 0,249240 | 1,000000 | |

