

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Saad DAHLEB de Blida



Faculté des sciences Agronomiques- Vétérinaire et Biologiques

Département de biologie

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en biologie

Option : Phytothérapie et santé

Thème

**Contribution à l'étude phytochimique et évaluation des
activités anti-oxydante, anti- inflammatoire et
antimicrobienne de l'ortie dioïque (*Urtica dioica L.*)**

Présenté par : **Arbia BOUGUERRA**

Date de soutenance :
24/06/2013

Devant le jury composé de :

Mme AYADI R.	Maitre de conférences classe A (USDB)	Présidente
Mme AMAROUCHE N.	Maitre assistante classe A (USDB)	Examinatrice
Mme BENASSEL N.	Maitre assistante classe B (USDB)	Examinatrice
Mme Maria Stella BRADEA	Maitre de conférence classe A (USDB)	Promotrice

Promotion

2012 / 2013

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Ce qui sont les plus chers au monde, mes parents, aux quels je n'arriverai jamais à exprimer ma gratitude et ma reconnaissance, pour leur amour, leur soutien tout au long de mes études afin de ce que je suis aujourd'hui, que DIEU les protège toujours.

A mes frères et ma sœur.

A mes camarades et mes amis.

A mes oncles.

A toute la famille.

BOUGUERRA Arbia

REMERCIEMENTS

*Je remercie tout d'abord, notre vénéré Allah,
Le tout puissant, à qui nous devons le tout.*

*Je remercie Mme **Maria Stella BRADEA** pour avoir accepté d'être ma promotrice et de m'avoir aidé dans l'élaboration de cette mémoire. Je lui suis très reconnaissante pour sa patience, son aide, sa disponibilité et ses nombreuses suggestions qui ont amélioré le travail.*

*Je tiens à remercier tout les membres de jury : **Mme AYADI R.** maitre de conférence classe A à l'Université de Blida pour l'honneur qu'elle vous fait d'avoir accepté de présider le jury, Mme **AMAROUCHE N.** maitre assistante classe A à l'Université de Blida et Mme **BENASSEL N.** maitre assistante classe B à l'université de Blida pour avoir accepté d'examiner le travail et pour avoir consacré une partie de leur temps précieux pour lire et corriger ce mémoire.*

*Tous mes remerciements vont ensuite à l'ensemble du personnel des départements de physicochimie de microbiologie et de pharmacotoxicologie du Complexe SAIDAL Antibiotical Médéa et à leur tête **Mme BAKHTI F.***

*Toute ma gratitude va aussi à **Mr BOUTOUMI H.** à **Mme ZEFFOUNI S., M'elles Sonia et Nassima** du département de chimie de l'université de Blida et à **Mr TEFFAHI D** et Melle **Hadjer** du laboratoire d'hygiène de Blida.*

*Je remercie **Mme DIF S.** du département de biologie de L'université de Blida pour sa disponibilité et ses conseils.*

*Je remercie **Mme STAMBOULI F.** du département d'agronomie pour sa serviabilité et sa disponibilité.*

Je remercie tous les enseignants qui nous ont donné tous leur savoir faire pendant tout notre cycle universitaire.

Je remercie tous mes camarades avec qui J'ai passé un bon parcours d'étude.

Je remercie tous ceux qui m'ont aidé de loin ou de près dans la réalisation de ce mémoire.

Sans oublier de remercier nos chers parents, qui étaient toujours à ma coté et m'avaient tant aidé et soutenu. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude et ma profonde reconnaissance.

Résumé

L'ortie dioïque est une plante spontanée, très répandue dans le bassin méditerranéen. Elle appartient à la famille des Urticacées, communément appelée en Algérie « horraig ».

Notre étude porte sur une analyse phytochimique et de examens microbiologiques et pharmacologiques effectuée sur différents extraits de la plante (le suc frais, l'extrait aqueux et l'extrait aqueux des flavonoïdes)

L'analyse photochimique à montré la présence de plusieurs métabolites secondaires qui sont : les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les glucosides et les anthocyanes.

D'autre part, l'extraction des flavonoïdes a permis de mettre en évidence la forte teneur de la plante en ces composés et en poly Phénols en général et l'analyse par la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) a permis d'identifier chez la plante étudiée la quercétine qui est confirmée par la quercétine pure comme étalon.

Les études pharmacologiques sur l'extrait aqueux et l'extrait aqueux des flavonoïdes ont révélées que ces derniers possèdent des propriétés thérapeutiques importantes notamment l'effet anti-inflammatoire.

En outre' l'activité anti-oxydante réalisée par la méthode de réduction du fer FRAP de l'extrait aqueux à montré que ce dernier est doté d'un pouvoir antioxydant important.

Par ailleurs le test antimicrobien n'a pas révélé sensibilité des souches fongiques vis-à-vis les extraits testés sauf pour *Candida albicans* mais une légère inhibition des bactéries à gram positif par l'extrait aqueux.

Mots clés : *Urtica dioica L.*, analyse phytochimique, flavonoïdes, métabolites secondaires, effet anti-inflammatoire, antimicrobien, antioxydant.

Abstract

The nettle is a spontaneous plant widespread in the Mediterranean basin, it belongs to the Urticaceae family, and commonly called in Algeria “ horaig”

Our study focuses on physiochemical, pharmacological antimicrobial tests, realized on different type of extract (fraish extract, aqueous extract and aqueous extract of flavonoids

Physiochemical analysis showed the presence of several secondary metabolites, which are the flavonoids, the tannins, saponosids glycosids and anthocyanins.

The extraction of flavonoids, allowed to put on evidence a wealth of phenolic composents especially the flavonoids, and the analysis by high performance liquid chromatography (HPLC), she allowed to identify on the plant the quercetin which is conformed by pure quercetin as standard.

Pharmacological studies on both plant extracts revealed that they have important therapeutic properties, including anti- inflammatory effect.

Further antioxidant activity performed by the method of FRAP of the aqueous extract has shown that it possesses a significant antioxidant.

In addition, the antimicrobial test showed no sensitivity of fungal strains vis-à-vis the extracts tested, but a slight inhibition of gram-positive bacteria in the aqueous extract.

Keywords: Urtica dioica L., phytochemical analysis flavonoids, secondary metabolites, anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant.

الملخص

نبتة القراص (*Urtica dioica L.*) هي نبتة تلقائية النمو منتشرة في منطقة حوض البحر المتوسط. وهو نبات من فصيلة القراصية ومعروف في الجزائر باسم "الحرايق".

نعتمد من خلال دراستنا على التحاليل الفيزيوكيميائية والاختبارات الجرثومية والصيدلانية لمختلف المستخلصات: المائي و عصارة النبتة طازجة ومستخلص الفلافونويدات.

بينت التحاليل الفيزيوكيميائية وجود العديد من نواتج الأيض الثانوية وهي الفلافونويد, الغلوكوزيد, السابونوزيد والأنثوسيانين.

من جهة أخرى سمح استخلاص الفلافونويدات على إبراز غنى النبتة بهذه الأخيرة لاسيما من خلال التحليل الكروماتوغرافي العالي الجودة والذي بين احتواء النبتة على الكارستين وهذا ما أكده المركب الخام للكارستين.

أظهرت الدراسات الصيدلانية أن المستخلصين المائي والفلافونويدي يحتويان على خصائص علاجية مهمة لاسيما الأثر المضاد للالتهاب.

بينما النشاط المضاد للأكسدة باستعمال طريقة إرجاع الحديد للمحلول المائي بينت أنه يحتوي على قوة مضادة للاكسدة عالية

أما بالنسبة للفحص الجرثومي فلم يكشف عن أي نشاط مضاد للفطريات و الخمائر لكن نشاطه ضد البكتيريا الموجبة الغرام يعتبر تحت المتوسط.

الكلمات المفتاحية :

التحاليل الفيزيوكيميائية, الفلافونويد, الأيض الثانوية, المضاد للالتهاب, المضاد للأكسدة, مضاد للفطريات.

Liste des figures

Figure 1: <i>Urtica dioica</i> L.....	10
Figure 2: poils urticants d' <i>Urtica dioica</i> L.....	10
Figure 3 : La tige d' <i>Urtica dioica</i> L.....	11
Figure 4: La feuille d' <i>Urtica dioica</i> L.....	11
Figure 5 : Pied femelle d'Ortie dioïque.....	12
Figure 6 : Pied mâle d'ortie dioïque.....	12
Figure 7 : Le fruit d' <i>Urtica dioica</i> L.....	12
Figure 8 : Le noyau Flavone.....	16
Figure 9 : Le noyau Flavane.....	16
Figure 10 : Squelette de base des flavonoïdes.....	16
Figure 11 : La biosynthèse des flavonoïdes (BRUNETON, 1999).....	17
Figure 12 : Schéma récapitulatif des étapes d'extraction des flavonoïdes.....	29
Figure 13 : Profil chromatographique des flavonoïdes présent dans la plante détectés par HPLC à 254 nm en mode d'élution.....	38
Figure 14 : Profil chromatographique de quercétine pur détecté par HPLC à 254 nm en mode gradient d'élution.....	39
Figure 15 : Pouvoir réducteur de l'extrait aqueux d' <i>Urtica dioica</i> L.....	39
Figure 16 : Histogramme représentant l'évolution moyenne des pattes postérieures gauches des souris dans chaque lot en (mm).....	38
Figures des Annexes 04 et 05.	

Liste des tableaux

Tableau 01 : Souches bactériennes et fongiques utilisées	21
Tableau 02 : Résumé des réactions positives de la caractérisation phytochimique.....	24
Tableau 03 : Calcul du poids de l'extrait sec.....	27
Tableau 04 : Les conditions opératoires d'H.P.L.C.....	31
Tableau 05 : Résultats des tests d'identification colorimétrique de quelques métabolites secondaires existant chez <i>Urtica dioica L.</i>	36
Tableau 06 : Taux d'humidité d' <i>Urtica dioica L.</i>	37
Tableau 07 : résultats des pertes à la calcination.....	37
Tableau 08 : les valeurs d'absorption de l'acide ascorbique et de l'extrait aqueux d' <i>Urtica dioica L.</i> selon la méthode de FRAP.....	39
Tableau 09 : Evolution moyenne des pattes postérieures gauches des souris de chaque lot (mm).....	40
Tableau 10 : Pourcentage de réduction des œdèmes.....	41
Tableau 11 : Résultats du test anti microbien.....	42

Liste des abréviations

ATTC : American Type Culture Collection

DO : Densité Optique

FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power

H.P.L.C: Chromatographie liquide à haute performance

NMRI : Naval Medical Research Institute

ONAB : Office National de L'aliment du Bétail

Table des matières

Introduction	01
Données bibliographiques	
I – La phytothérapie et plantes médicinales	02
I-1- La phytothérapie	02
I– 1-1- Historique	02
I-1-2- Définition	03
I-1-3- Intérêt de la phytothérapie	03
I-1-4- Place de la phytothérapie en Algérie	03
I- 2-Les plantes médicinales	04
I-2- 1- Définition	04
I-2-2- Récolte et conservation	04
a- La cueillette	04
b- Le séchage	05
c- La conservation	05
II- Présentation de l’ortie dioïque.....	06
II-1- Historique	06
II-2- Etymologie	06
II-3- Systématique	07
II-4- Les principales espèces du genre <i>Urtica</i>	07
II-5- Origine	07
II-6- Description botanique	08
II-6-1- La racine	08
II-6-2- La tige	08
II-6-3- Les feuilles	09
II-6-4- Les fleurs	09
II-6-5- Le fruits	10
II-7- La reproduction	10
II-8- Répartition géographique de la grande ortie	11
II-9- Exigences écologiques	11
II-10- Culture et récolte	11
II-11- Conservation	11
II-12- Principaux constituants chimiques de l’ortie	12

II-13- Propriétés thérapeutiques de l'ortie	12
III- Généralités sur les flavonoïdes :	13
III-1- Introduction:	13
III-2- Structure chimique et classification:	14
III-2-1- Définition:	14
III-2-2- La biosynthèse:	14
III-3- Propriétés thérapeutiques des flavonoïdes :	16

Matériel et méthodes

Lieu et durée de stage.....	17
I- Matériel.....	17
I-1- Matériel végétale	17
I-2- Matériel animal et souches microbiennes.....	18
I-2-1- Pour l'activité anti-inflammatoire	18
I-2-2- Pour l'activité anti microbienne :	18
I-3- Matériel non biologique	19
II- Méthodes	19
II-1- Caractérisation phytochimique d' <i>Urtica dioica L.</i>	19
II-1-1- Identification de quelques métabolites secondaires	17
II-1-2- Détermination du taux d'humidité dans la matière végétale	21
II-1-3- Détermination des cendres totales (ou les pertes à la calcination).....	22
II-1-4- Détermination du potentiel d'hydrogène de l'extrait aqueux	23
II-2- Extraction des flavonoïdes	23
II-2-1- Macération et évaporation	23
II-2-2- Extraction liquide-liquide	23
II-2-3- Evaporation sous vide de butanol	24
II-2-4- Préparation de l'extrait aqueux des flavonoïdes	24
a- Calcul du poids de l'extrait sec	25
b- Préparation de la solution :	25
II-3- Identification des flavonoïdes (Analyse par H.P.L.C)	27
a- Principe	27
b- Préparation des échantillons	27
III- Les activités biologiques	27

III- 1- Mise en évidence de l'activité anti-oxydante de l'extrait aqueux de l'ortie

Dioïque.....	28
III-2- Mise en évidence de l'activité anti-inflammatoire:	29
III-3- Le test microbiologique	30
Résultats et discussion	
I- Résultats des analyses phytochimiques préliminaires	36
I-1- Identification de quelques métabolites secondaires	36
I-2- Détermination du taux d'humidité :	37
I-3- Détermination des cendres totales (ou les pertes à la calcination)	37
I-4- Détermination du potentiel d'hydrogène de l'extrait aqueux	37
II- Résultats de l'analyse qualitative par HPLC :	
identification des flavonoïdes :	37
III-1- Résultats de l'activité anti-oxydante :	39
III-2- Résultats de l'activité anti-inflammatoire :	40
III-3- Résultats du test antimicrobien :	41
Conclusion et perspectives	42
Annexes	

Introduction

Introduction

De nos jours l'efficacité de la médecine par les plantes est reconnue et démontrée scientifiquement, leurs bienfaits incontestables pour notre santé ont permis à la phytothérapie d'être présente dans notre vie quotidienne (ZORANI et BOBERT, 2010).

Les plantes constituent une réponse de choix pour fournir à l'organisme, de façon naturelle, les substances nécessaires pour maintenir son équilibre vital (ZORANI et BOBERT, 2010).

À travers les siècles et les continents, les hommes ont su acquérir la connaissance des plantes et leurs propriétés thérapeutiques, les médecines traditionnelles (Européenne, Chinoise, Indienne, Sud Américaine ou Africaine) sont riches en expériences accumulées depuis les temps les plus anciens sur plantes existantes (ZORANI et BOBERT, 2010).

En Algérie la pratique de la médecine par les plantes a toujours existé en raison de la diversité de la flore, qui est particulièrement riche en plantes (TATAI, 1995).

Le territoire Algérien couvre d'importantes ressources végétales réparties sur les cotes, les plaines, les montagnes, le Sahara autour des points d'eau.

En effet, plusieurs espèces se trouvent répandues sur des centaines d'hectares dans toutes les régions du pays comme la lavande, le romarin, la sauge, l'ortie, la mauve...etc. (GHEYOUCHE et HAMMICHE, 1998).

Ces ressources naturelles sont importantes pour l'économie Algérienne et pour le maintien de l'équilibre écologique de la région, parmi ces ressources, il existe au moins 500 espèces de plantes médicinales utilisables par les phytothérapeutes dont 100 espèces se vendent au marché chez les herboristes (BABA AISSA, 1999).

De nombreuses plantes médicinales revendiquées par la médecine populaire ont besoin de la recherche scientifique pour s'assurer de leur efficacité, de leur non toxicité et ensuite fournir des médicaments de substitution et des stratégies thérapeutiques (XAVIER, 1997).

Notre travail consiste à montrer les vertus thérapeutiques d'*Urtica dioica* L. Pour ce faire ; notre étude a porté sur :

L'analyse physicochimique et l'extraction du principe actif de la plante. La détermination de quelques activités biologiques à savoir : l'activité anti-oxydante, l'activité anti-inflammatoire et l'activité antimicrobienne.

Données

bibliographiques

I – La phytothérapie et plantes médicinales

I -1- La phytothérapie

I – 1-1- Historique

L'usage des plantes médicinales est aussi vieux que le monde. Dès que l'homme a eu à corriger des troubles de santé, il a eu recours par l'instinct aux expériences qui fait place à la conservation et la connaissance (BERNARDET, 1983).

Les plantes médicinales comme les autres remèdes thérapeutiques et étiologiques ont toujours été intégrées à la culture d'une époque ou d'une civilisation donnée (Janick, 1996).

Comme la transmission du savoir était orale, les connaissances acquises se sont transmises de génération en génération.

C'est seulement à partir de 4000 ans avant Jésus-Christ que l'on retrouve des documents écrits ou sont mentionnés des drogues comme l'opium, la jusquiame et la belladone. Les civilisations Babylonienne, Sumérienne et Egyptienne accumulent les connaissances empiriques concernant les plantes médicinales (POSSET, 2004).

Les arabes avaient aussi leurs spécialistes en médecine et en pharmacie tels que Abu Bakr Al-Razi ou Razès, il fut suivi par Ibn Sina ou Avicenne et Ibn al Baytar (FOUCHE et HAMBUCKERS, 2000).

Hippocrate différencia entre l'usage interne et externe des plantes médicinales, il définit la notion de dose qui permet de distinguer entre la drogue et le poison.

C'est au 18^{ème} siècle que les plantes acquièrent leur identité telle qu'on les connaît aujourd'hui, à savoir un double nom latin indiquant le genre et l'espèce, grâce aux travaux de Carl Von Linné, celui-ci systémise l'utilisation de la dénomination binomiale (le genre suivi de l'espèce). (KELLER et DIDIER, 2004).

C'est vers 1865 que le docteur Auguste qui procurait des soins en médecine par les plantes donne le nom de phytothérapie pour la définir (BERNARDET, 1983).

I-1-2- Définition

Selon ROLAND (2002) ; La phytothérapie est le traitement par les plantes, son nom vient du Grec : Phytion qui signifie plante et thérapie qui signifie soin ou cure.

L'utilisation des préparations obtenues à partir des plantes entières ou d'organes de plantes : feuilles, fleurs, racines, fruits et graines (FINTELMAN et WEISS, 2004).

La phytothérapie, c'est également l'emploi des médicaments végétaux pour soigner les différents dont on peut être victime. A travers les siècles, les hommes ont su développer la connaissance des plantes et de leurs propriétés thérapeutiques. En outre, L'efficacité prouvée et les bienfaits incontestables de la phytothérapie pour la santé lui ont permis d'entrer dans nos vies tous les jours (GILDO, 2006).

I-1-3- Intérêt de la phytothérapie

La phytothérapie a une action en douceur et en profondeur en contribuant au bon équilibre de notre corps.

Elle stimule notre organisme sans l'intoxiquer et sans provoquer des effets secondaires. Elle permet une véritable prévention pour de nombreuses maladies. On l'utilise dès l'apparition des premiers symptômes contre les maux quotidiens comme le stress, le surpoids, l'insomnie, le rhumatisme...etc. Et comme meilleur moyen d'empêcher le développement des affections plus graves ; comme la dépression, les maladies infectieuses ou le diabète (ZORANI et ROBERT, 2010).

I-1-4- Place de la phytothérapie en Algérie

Depuis des siècles, en Algérie comme dans tous les pays du Maghreb, les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées surtout dans les milieux ruraux par les personnes agrées qui connaissent encore certaines recettes de traitement.

Dans le Hoggar et en l'absence de médecin, dans certaines contrées isolées, les Touaregs se soignent avec les plantes médicinales et aromatiques dont ils connaissent le secret transmis de père en fils.

De même, en Kabylie lorsqu' il y a de la neige et que les routes sont coupées, les montagnards utilisent des plantes médicinales et aromatiques pour se soigner.

Egalement dans la Steppe pendant les transhumances, les nomades utilisent l'armoise blanche pour lutter contre les indigestions.

Comparé à d'autres pays africains, notre pays a très peu de tradipraticiens reconnus et d'herboristes agrées (QUEZEL et SANTA, 1962 ; ANONYME I, 2004 ;).

I- 2-Les plantes médicinales

I-2- 1- Définition

Les plantes sont dites médicinales lorsqu'un de leurs organes (feuilles, fleurs, racines, tiges, graines et fruits) possèdent des activités pharmacologiques ou possèdent au moins une partie ayant des propriétés médicamenteuses (BRUNETON, 1999).

Selon WILY (2010) ; Les plantes médicinales ou pharmaceutiques sont des plantes intervenant dans la préparation des médicaments.

A partir d'une plante médicinale, on n'utilise que la partie intéressante du point de vue médicale, un organe plus riche que les autres en principes actifs de composition chimique différente de celle des autres parties fraîches ou plus souvent desséchées, cet organe privilégié est appelé « drogue végétale » ou simplement drogue (BRUNETON, 1999).

I-2-2- Récolte et conservation

a- La cueillette

L'action médicinale des préparations galéniques dépend de la croissance de la plante, du moment de la récolte et enfin de la manière dont les produits sont récoltés, sont séchés et conservés (THURZOVA et *al.*, 1978).

Les plantes médicinales doivent être récoltées dans les meilleures conditions climatiques, par une matinée bien ensoleillée, en évitant la rosée, la pluie ou l'humidité excessive (ANONYME, 2003).

Les feuilles se cueillent avant le développement complet, au printemps ou en été (VALNET, 1972 ; ISERIN, 1997).

Les fruits et les semences doivent avoir leur maturité complète (CECCHINI et CHABAULT, 1993).

Les fleurs sont cueillies en pleine éclosion, lorsqu'elles resplendent de leur éclat (BABA AISSA, 1999).

Enfin, les racines seront récoltées pendant la période de repos végétatif, très souvent en début de printemps ou en fin d'été (SHAOUHA et JOUANNY, 1994).

b- Le séchage

Selon MAGHAMI (1979) ; Le séchage est nécessaire à la conservation des plantes, il permet de les garder disponibles pendant des périodes plus ou moins longues, appelé aussi déshydratation, il a pour but l'élimination de la majeure partie de l'eau contenue dans la plante.

Il est de première importance de sécher les plantes aussitôt que possible après la récolte, en un endroit bien aéré à l'ombre pour éviter les altérations qui peuvent en particulier concerner les principes actifs (FLUCK, 1977).

Pour le séchage, les plantes nettoyées seront étalées en couche mince sur une toile ou sur un tamis en matière synthétique, inséré dans un cadre de bois (VONARBURG, 1981).

c- La conservation

Une fois séchées, les plantes se conservent plusieurs mois dans un pot en verre ou dans un sac en papier Kraft.

Les plantes se conservent environ un an après la récolte à l'abri de la lumière et dans un endroit frais (ISERIN, 1997).

Les récipients seront étiquetés du nom français, éventuellement aussi du nom botanique, du nom commun et la date de la cueillette (VONARBURG, 1981).

II- Présentation d'*Urtica dioica* L.

II-1- Historique

Redoutée par ses piqûres, l'ortie est également appréciée depuis longtemps pour ses vertus médicinales. Au premier siècle après J-C, le médecin grec Discoride décrivait déjà plusieurs utilisations possibles, ses feuilles fraîches pour les blessures infectées, son jus contre les saignements de nez. Aujourd'hui, l'ortie est prescrite en cas de fièvre, d'arthrite, d'anémie et d'urticaire (ISERIN, 1999).

Au moyen âge, avant l'arrivée du coton et du lin, l'ortie était une fibre du premier choix, pouvant être transformée en cordage et filets solides ou en tissus presque aussi souple que la soie. Des tissus faits à partir de la fibre d'ortie datant de l'âge de bronze ont été trouvés aussi (PELIKAN, 2001 ; ANONYME, 2004).

L'ortie a été citée par plusieurs auteurs de la médecine arabe tels que El Djazari, Ibn El-Baytar et AD-Dinawari qui ont décrit la plante ainsi que ses usages et ses propriétés thérapeutiques (AD-DINAWARI, 1973 ; EL-AWEDATE et LEHAM, 1992).

Au XVI^e siècle, John GERARD l'utilisait comme anti poison (MAUBURGUET, 1990) et Gessner préconisait les racines contre la jaunisse, tandis qu'au XVIII^e siècle, Chomel affirmait que c'était « l'un des remèdes les plus assurés contre le crachement de sang et les hémorragies ». Dans les campagnes, on se roulait dans les orties pour calmer les crises de rhumatisme (LAFFITT, 1999).

Selon DEBELMAS et DELAVEAU (1983) ; En médecine populaire, les orties ont la réputation de plantes fortifiantes et leurs utilisations sont restées les mêmes de nos jours.

II-2- Etymologie

Urtica : du latin urere qui signifie brûler.

Donc le nom latin fait référence au suc piquant de cette plante et à son action sur l'épiderme.

dioica signifie qu'il y a des pieds mâles et des pieds femelles (WICHTL et ANTON, 2003).

Le nom commun d'*Urtica dioica* L. est : ortie dioïque ou la grande ortie (BABA AISSA, 1999).

Nom vernaculaires : Haraiq, qarris ou gouriss, bnat ennar, tizmi, azegdouf (BABA AISSA, 1999).

Son nom berbère ou tergui c'est Rimezrit, Azekdouf et harrous (BELOUED, 2005).

En anglais c'est: *Stinging Nettle* (WICHTL et ANTON, 2003).

II-3- Systématique

La systématique d'*Urtica dioica* L. a été adoptée par Quezel et Santa, (1962)

Règne —————> Plantae.
Embranchement —————> Phanérogames
Sous embranchement —————> Angiospermes
Classe —————> Dicotylédones
Ordre —————> Urticales
Familles —————> Urticacées
Genre —————> *Urtica*
Espèce —————> *Urtica dioica* L.

II-4- Les principales espèces du genre *Urtica* sont

Urtica dioica L.

Urtica urens L. (Ortie brûlante ou « petite Ortie»)

Urtica pilulifera L. (Ortie romaine ou « ortie à pilules»)

Urtica cannabina L.

Urtica atrovirens Req.

Urtica membranacea Poir. (DRAGHI, 2005).

La botanique distingue 600 à 800 espèces dans la famille des urticacées et 40 à 50 genres (JUDD et *al.*, 2002). Le genre *Urtica* regroupe environ 40 espèces (EL-SABBAR, 1988).

II-5- Origine d'*Urtica dioica* L.

L'espèce est nitrophile et prolifère au voisinage des habitations, dans les décombres, les fosses mais aussi dans les haies, les lisières et coupes forestières ainsi que dans les cultures, elle est devenue cosmopolite (ROMBI et ROBERT, 1998).

II-6- Description botanique

Plante herbacée vivace dioïque, de la famille des Urticacées, à rhizome rampant fortement ramifié. Tige non ramifiée de 30 à 100 Cm de haut. Feuilles opposées, vertes, à bords dentés. Fleurs insignifiantes en cymes groupées en panicules pendantes (THURZOVA, 1978).

Les feuilles et les tiges sont couvertes de poils urticants particulièrement abondants au niveau du pétiole.

Au microscope, on voit les poils urticants monocellulaires en forme d'aiguë, sur un bulbe basilaire renflé pluricellulaire, fragiles, ces poils se brisent aisément et se vident de leur contenu très irritant

Les poils urticants des tiges et des feuilles contiennent de l'histamine et de l'acide formique (ROMBI et ROBERT, 1998).



Figure 1: *Urtica dioica* L.

Figure 2: poils urticants d'*Urtica dioica* L.

II-6-1- La racine

La racine est fibreuse de couleur grise brune pouvant atteindre 5 mm d'épaisseur, irrégulièrement courbée, possédant des stries longitudinales distinctes (QUEZEL et SANTA, 1962 ; WICHTLE et *al.*, 1999).

II-6-2- La tige

Selon SCHAUBENBERG (2005) et BELOUED (2005) ; la tige de l'ortie est une tige dressée qui peut atteindre 100 Cm de hauteur, quadrangulaire simple, de couleur verte à brune portant des poils urticants et des poils simples.



Figure 3 : La tige d'*Urtica dioica* L.

II-6-3- Les feuilles

Les feuilles sont grandes, ovales, lancéolées, aiguës souvent cordées, fortement dentées, couvertes de poils urticants et possédant un pétiole presque aussi long que le limbe, elles sont opposées décussées et stipulées (ANTON, 2003).



Figure 4: La feuille d'*Urtica dioica* L.

II-6-4- Les fleurs

L'Ortie est dioïque, c'est-à-dire qu'il y a des pieds mâles et des pieds femelles. Les fleurs, apparaissant de juin à septembre, sont disposées à l'aisselle des feuilles, en grappes ramifiées, dans toute la partie supérieure de la plante.

La fleur femelle est verdâtre et comporte un ovaire uniloculaire, uniovulé, surmonté d'un style et d'un stigmate en pinceau. La fleur mâle est jaunâtre (anthères à grains de pollen jaunes) et comporte quatre étamines à filets longs, élastiques, repliés dans le bouton floral (BERTRAND, 2002 ; BEZANGER et BEAUQUESNE, 1980 ; WICHTL et ANTON, 2003).



Figure 5 : Pied femelle d'Ortie dioïque



Figure 6 : Pied mâle d'ortie dioïque

II-6-5- Le fruits

Le fruit est un akène, ovale enfermé dans un calice persistant contenant une graine, provenant des panicules à maturité, il est de couleur sable, jaune brune (ANTON et WICHTL, 2003).



Figure 7 : Le fruit d'*Urtica dioica*

II-7- La reproduction

Urtica dioica L. est une plante dioïque (BAYER et *al.*, 1990). La pollinisation se fait par les insectes et le vent (reproduction sexuée). Ses racines souche rampante et ses racelles très fines apprécient les terrains riches en azote, elles peuvent s'enfoncer dans la terre à une profondeur de 70 Cm, Les racines participent également à la multiplication en drageonnant régulièrement (reproduction asexuée).(ANONYME, 2006).

II-8- Répartition géographique de la grande ortie

- **Dans le monde**

Urtica dioica L. est une espèce méditerranéenne (QUEZEL et SANTA, 1962). Elle est commune dans toute la France, en Allemagne, en Suisse, Portugal, Canaries (ROMBI et ROBERT, 1998).

- **En Algérie**

Espèce cosmopolite, relativement commune dans les ravins des montagnes de Kabylie et dans les régions de Skikda et Annaba, moins fréquente dans l'Atlas Blidéen (BABA AISSA, 1999).

II-9- Exigences écologiques

L'ortie pousse mieux à l'ombre partielle, dans les endroits humides et riches en azote (plante nitrophile) (SHONFELDER, 1988).

Elle s'abrite dans les haies, les jardins aux bords des chemins, pieds des murs, sur les décombres riches en nitrates et les montagnes (MAIRE et QUEZEL, 1961, RAYMOND, 2006).

II-10- Culture et récolte

Selon RAYMOND (2006) l'ortie dioïque est une plante spontanée ; qui se cultive toute seule et ce sont les rhizomes qui donnent naissances aux jeunes plantules.

La récolte de cette espèce se fait du Juin à Septembre (SCHAUENBERG, 1997, avec une grande attention et avec des gants (BOURNERIAS et BOCK, 1992).

Les jeunes pousses sont récoltées au Printemps, les parties aériennes en Été lors de la floraison, les racines et les graines en Automnes (POLETTI, 1987 ; ISERIN, 1997).

II-11- Conservation

La partie aérienne de la plante doit être séchée à l'abri de la lumière et conservée en boîte en verre et les racines sont séchées à l'abri de la lumière et conservées en sachets en papier (POLETTI, 1987).

Les parties séchées sont conservées à l'abri de la poussière et de l'humidité (TALLASS, 1989).

II-12- Principaux constituants chimiques de l'ortie

Les principaux constituants chimiques de l'ortie sont :

Flavonoïdes : 1 à 2 % (3-glucosides et 3-rutinosides du Quercétol, du kaempférol et de l'isorhamnétol).

Minéraux et oligoéléments : Plus de 20 % d'éléments minéraux constitués de Calcium, Magnésium, Soufre, Phosphore, Fer, Silice, Cuivre, Zinc, Manganèse et Nickel (VALNET, 1992 ; WICHTL et ANTON, 2003)

Acides organiques : acide glycolique, glycérique, citrique, malique, caféique, gallique, formique (dans les poils urticants).

Protéines : 9 % de l'ortie fraîche et 40 % du poids sec, en outre, l'ortie possède les 8 acides aminés essentiels indispensables à la vie et au bon équilibre, que l'organisme ne peut pas les synthétiser : Leucine, isoleucine, lysine, méthionine, phénylalanine, tryptophane, thréonine, valine (VALNET, 1992).

Amines : histamine, choline, acétylcholine, sérotonine.

Beaucoup de chlorophylle environ 10 à 60 % (ISERIN, 1997 ; WICHTL et ANTON, 2003).

Mucilage, une cire et des tanins.

Stérols et Phénols dans la racine (THURZOVA et *al.*, 1978 ; BABA AISSA, 1999).

II-13- Propriétés thérapeutiques de l'ortie

Selon BABA AISSA (1999) et VALNET (1992) et grâce à sa composition chimique l'ortie possède plusieurs propriétés thérapeutiques, de la racine à la tige, des feuilles aux fleurs dont les plus importants sont :

Antiallergique.

Antianémique.

Anti-inflammatoire.

Astringente.

Dépurative.

Diurétique.

Hypoglycémiante.

Tonique.

➤ Autres usages

C'est l'une des plantes précieuses à des titres très divers, l'ortie était un légume pour les populations préhistoriques, elle était mangée presque partout (BELOUED, 2005). Elle était un aliment qui contient un excellent apport en vitamines et en fer, dont les jeunes feuilles qui ont une action revitalisante sur l'organisme peuvent être consommées en salade comme les épinards, en jus et en soupe (l'ébullition détruit les poils urticants) (FOREY et *al.* 1991 ; PELIKAN, 2001).

Dans les anciennes matières médicinales, on conseillait l'infusé des feuilles d'ortie à la dose de 60 g par litre d'eau contre le rhumatisme, la goutte, elle est indiquée aussi contre l'asthme humide, la rougeole, l'ortie constitue un auxiliaire remarquable dans la lutte contre le diabète. Les feuilles écrasées appliquées en cataplasme contre les morsures rabiques, les plaies dangereuses, les ulcères et les tumeurs. On préconise l'ortie contre l'angine, les crachements de sang, les maladies de la rate et contre les maux de tête. Dans l'usage populaire, on attribue à la racine et aux graines une activité plus énergétique qu'au reste de la plante. Les graines sont efficaces contre les maux de l'estomac, les maladies des reins et de poitrine. La décoction des racines d'orties est utile contre la gravelle, l'hydropisie et la jaunisse (BELOUED, 2005).

III- Généralités sur les flavonoïdes :

III-1- Introduction:

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des poly Phénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones, les anthocyanes et les tanins.

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits, et aussi dans le miel. (BENGUERBA A., 2008)

III-2- Structure chimique et classification:

III-2-1- Définition:

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau FLAVONE ou 2-PHENYL CHROMONE portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides.

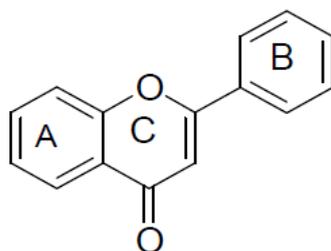


Figure 8 : Le noyau Flavone.

Le noyau FLAVONE est lui même un dérivé du noyau FLAVANE de base.

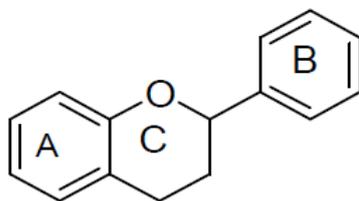


Figure 9 : Le noyau Flavane.

Les flavonoïdes sont donc des poly Phénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C). (BENGUERBA A., 2008).

III-2-2- La biosynthèse:

De nos jours, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés. Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3. (BENGUERBA A., 2008)

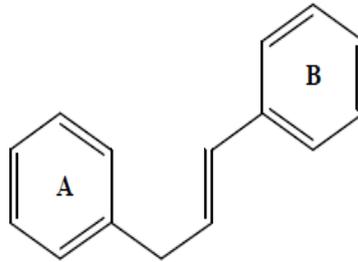


Figure 10 : Squelette de base des flavonoïdes.

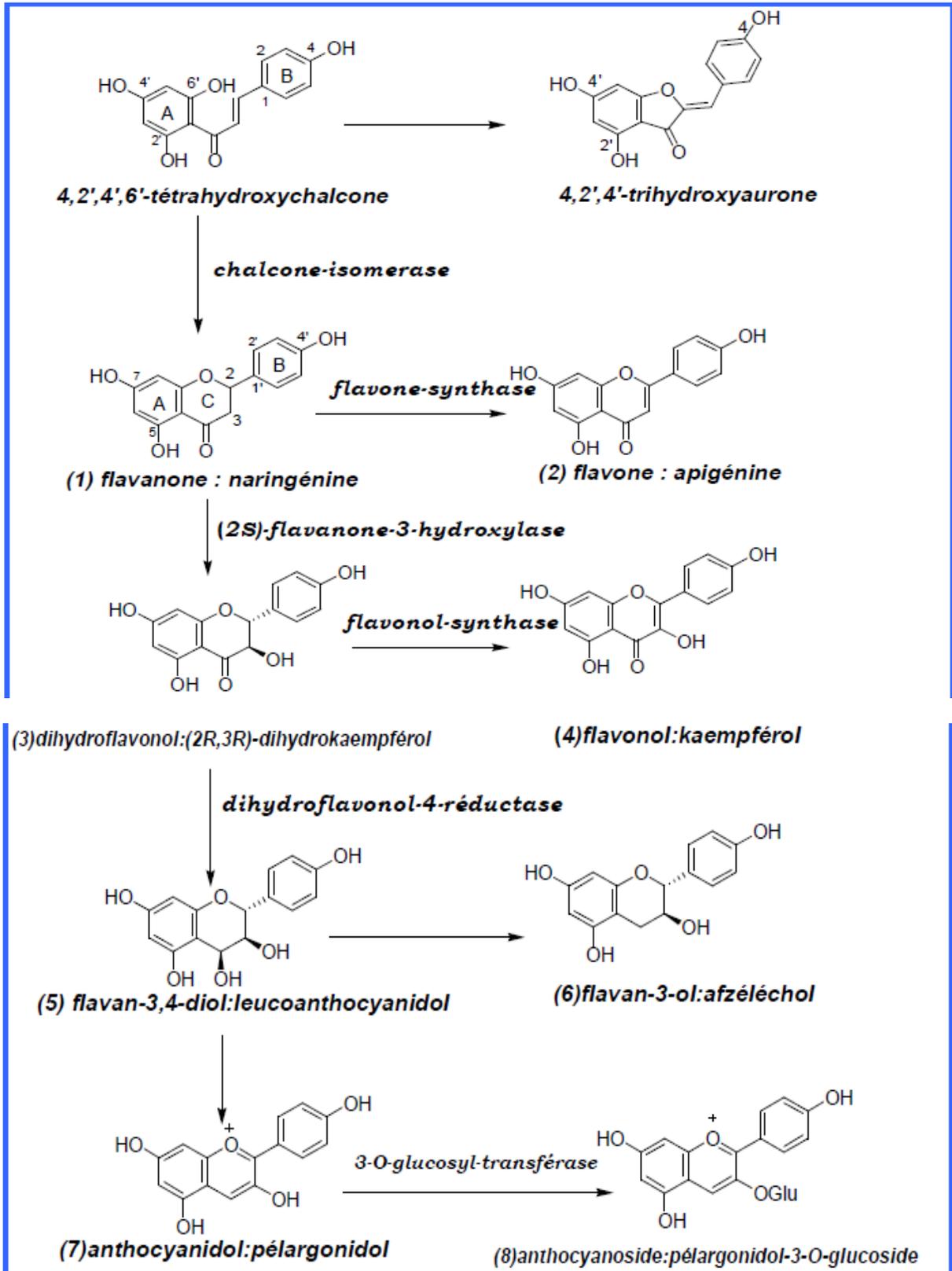


Figure 11 : La biosynthèse des flavonoïdes (BRUNETON, 1999)

III-3- Propriétés thérapeutiques des flavonoïdes :

Les flavonoïdes possèdent des propriétés :

- ❖ anti-inflammatoire et immunologiques
- ❖ antivirale et antibiotique
- ❖ antinéoplasique
- ❖ anti-cancérogène
- ❖ anti-oxydante. (BENGUERBA A., 2008).

Matériel et méthodes

Lieu et durée de stage

Cette étude a été effectuée au niveau des centres suivants :

- Complexe Sidal Antibiotical de Médéa : Laboratoires des analyses physico-chimiques et des analyses microbiologiques pour le screening phytochimique, l'activité anti-oxydante.
Et Laboratoire de pharmacotoxicologie du même complexe pour la réalisation de l'activité anti-inflammatoire.
- Département de chimie de l'Université de Blida : Laboratoire de chimie analytique pour l'évaporation sous vide des solvants utilisés pour l'extraction des flavonoïdes.
- Le laboratoire d'hygiène de Blida pour le test antimicrobien.

Ce stage a été réalisé durant 3 mois : du 20 Février 2013 jusqu'au 20 Mai 2013.

I - Matériel

I-1- Matériel végétal

Nous avons utilisé la partie aérienne (tiges et feuilles) de la plante *Urtica dioica L.*, qui a été récolté au niveau de l'Université Saad Dahleb Blida et identifiée au niveau du département de botanique de l'Institut National d'Agronomie (I.N.A) et du département des sciences agronomiques de l'Université de Blida. Nous avons cueilli la plante à la fin du moi de Février. La plante est nettoyée et séchée à l'ombre, à l'air libre et loin de l'humidité pour éviter le développement des moisissures, pendant 7 à 10 jours. Puis broyées à l'aide d'un moulin électrique pour l'obtention d'une poudre fine, qui a été mise dans un flacon en verre dans un endroit sec (pour le screening phytochimique et l'extraction des flavonoïdes).

L'extrait aqueux des flavonoïdes et l'extrait aqueux de la poudre végétale (infusé) sont utilisés pour effectuer l'activité anti-inflammatoire et le test antimicrobien.

En plus des activités biologiques citées, nous avons utilisé l'extrait aqueux de la plante pour effectuer l'activité anti-oxydante.

I-2- Matériel animal et souches microbiennes

I-2-1- Pour l'activité anti-inflammatoire

Nous avons travaillé sur 24 souris Albinos de souche NMRI, de sexe male dont le poids corporel varie entre 17 et 24 g, fournis par l'élevage de SAIDAL Antibiotical de Médéa.

❖ **Conditions d'élevage :**

- **Température ambiante :** 20 ° C à 24 ° C.

- **Taux d'humidité :** 50 %.

- **Eclairage :** 10H/24.

❖ **Régime alimentaire :**

- **Nourriture :** d'origine ONAB.

- **Boisson :** eau de robinet.

I-2-2- Pour l'activité anti microbienne :

Les souches bactériennes utilisées ont été fournis par le laboratoire de microbiologie du complexe SAIDAL Antibiotical-Médéa tandis que les souches des levures et des champignons ont été isolées cliniquement au niveau du CHU Mohamed YAZID (ferroudja) Blida.

Tableau 01 : Souches bactériennes et fongiques utilisées

Les souches	Références	Coloration de gram	Provenance
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	Bactérie à gram +	Laboratoire de microbiologie SAIDAL
<i>Echerichia coli</i>	ATCC 10536	Bactérie à gram -	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29737	Bactérie à gram +	
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	Levure	
<i>Candida parapsilosis</i>	Espèces isolées cliniquement	Champignons et levures	CHU Mohamed YAZID Ferrodja
<i>Candida tropicalis</i>			
<i>Tricosporum sp</i>			
<i>Aspergillus niger</i>			
<i>Aspergillus tirreus</i>			
<i>Aspergillus flavus</i>			

I-3- Matériel non biologique

- **Appareillage :** voir annexe 01.
- **Petit matériel :** La verrerie et les accessoires utilisés sont présentés dans l'annexe 01.

II- Méthodes

II-1- Caractérisation phytochimique d'*Urtica dioica L.*

Le travail a été effectué sous une hotte à flux laminaire.

II-1-1- Identification de quelques métabolites secondaires

Dans cette partie de nos expériences nous avons fait une étude comparative de la composition chimique de l'infusé de la poudre végétale et le suc frais de *Urtica dioica L.* qui est obtenu en mixant la poudre à l'aide d'une juteuse électrique.

Remarque : Dans l'étude comparative de la composition chimique de l'infusé et le suc frais d'*Urtica dioica L.*, On considère que 5 g de la poudre végétale est équivalente à 5 ml du suc frais et on a calculé :

- La densité de l'eau :
 $d_{H_2O} = m_1/v_1 = 4.9157/5 = 0.98314$
Avec : m_1 = la masse de 5 ml d' H_2O
 V_1 = le volume d' H_2O
- La densité de l'échantillon :
 $d_{éch} = m_2/v_2 = 4.9246/5 = 0.98492$

On calcule R_{ds} le rapport entre les deux valeurs de densités ;

$$R_{ds} = d_{éch} / d_{H_2O} = 0.98492/0.98314 = 1.0018 \approx 1$$

Donc 5 ml du suc frais est équivalent à 5 gr de poudre végétale.

Mode opératoire

Les modes opératoires sont les mêmes pour l'infusé et le suc frais.

Selon GIRRE (1980) ; Le screening phytochimique est un ensemble de réaction chimiques simples permettant d'orienter rapidement vers l'étude détaillée de quelques types de constituants chimiques.

Préparation de l'infusé

20 gr de la poudre végétale sont placés dans 100 ml d'eau bouillante, on laisse infuser pendant 15 minutes, après filtration, le filtrat est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée.

a- Mise en évidence des anthocyanes :

On a ajouté quelques gouttes d'HCl à 5ml d'infusé et à 5 ml du suc frais, la réaction donne une coloration rouge en présence des anthocyanes. (Pharmacopée européenne, 2002).

b- Mise en évidence des tanins :

On a ajoutés à 5ml d'infusé et à 5 ml du suc frais, quelques gouttes de FeCl₃ à 5 %, la réaction donne une coloration rouge en présence des tanins. (NTIHAGOWUMWE.2005).

c- Mise en évidence des flavonoïdes

Leurs identification s'effectue par la réaction cyanhydrique ou l'essai de Chinoda 5 ml d'infusé et 5 ml du suc sont additionnés à 5 ml d'HCl, un copeau de magnésium et 1 ml alcool iso butanol.

La réduction des flavonols, flavonones et flavones par le magnésium métallique en présence de l'acide chlorhydrique donne une coloration rouge orange. (Pharmacopée européenne, 2002).

d- Mise en évidence des saponosides :

La présence des saponosides est détectée de la manière suivante ; à 2 ml d'infusé et du suc frais nous avons ajouté quelques gouttes d'acétate de plomb, la formation d'un précipité blanc indique la présence des saponosides. (Pharmacopée européenne, 2002).

e- Mise en évidence des glucosides :

A 2 g de poudre végétale et 2 ml du suc frais, nous avons ajouté quelques gouttes d'acide sulfurique, la formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides. (NTIHAGOWUMWE.2005).

f- Mise en évidence des quinones

❖ **Quinones libres :**

2 g de poudre végétale humectée avec 2 ml d'acide chlorhydrique 1N, sont mis en contact pendant 3 h avec 20 ml de chloroforme puis filtrée ce test est réalisé sur le filtrat grâce à 5 ml d'ammoniaque ½ comme réactif la réaction donne une coloration rouge en présence des quinones libres. (NTIHAGOWUMWE.2005).

❖ **Quinones combinées**

2 gde poudre végétale sont additionnés à 5 ml d'acide sulfurique 2 N puis portés à reflux pendant deux heures la solution extractive est filtrée puis épuisée par 20 ml de chloroforme.

La solution de chloroforme est évaporée à sec puis prise par l'ammoniaque concentrée la réaction donne une coloration rouge en présence des quinones combinées(NTIHAGOWUMWE.2005).

Les réactions sont résumées dans le tableau 02.

Tableau 02 : Résumé des réactions positives de la caractérisation phytochimique.

Les métabolites secondaires	Les réactifs	Réaction positive
Les anthocyanes	HCl	Rouge
Les tanins	FeCl ₃	Bleu noir
Les flavonoïdes	HCl + Mg	Rouge orangé
Les saponosides	Acétate de plomb	Précipité blanc
Les glucosides	H ₂ SO ₄	Rouge brique vire vers violet
Les quinones		
▪ Quinones libres	HCl + CHCl ₃ + NH ₄ OH	Rouge
▪ Quinones combinées	H ₂ SO ₄ + CHCl ₃ + NH ₄ OH	Rouge

II-1-2- Détermination du taux d'humidité dans la matière végétale

La Détermination du taux d'humidité est réalisée par la méthode de Karl-Fischer (Pharmacopée Européenne, 2009).

Le principe de cette méthode est de neutraliser la quantité d'H₂O existant ce qui permet de la mesurer.

Quand l'appareil de Karl-Fischer indique la neutralisation du produit (dans notre cas c'est la poudre végétale), le calcul du taux d'humidité est fait selon la formule suivante :

$$KF = \frac{V_{sol} \text{ (ml)} \times F \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}}\right)}{P \text{ (mg)}} \times 100$$

Avec ; V_{sol} : volume de la solution lu sur l'appareil de Karl-Fischer.

F : constante égale à 4.88952 mg/ml.

P : pesé de la poudre végétale en gr.

Mode d'utilisation de l'appareil Karl-Fischer (Voir annexes 02)

II-1-3- Détermination des cendres totales (ou les pertes à la calcination)

Selon Anonyme (2002), Les cendres totales de la matière végétale sont les corps inorganiques obtenus après la calcination jusqu'à obtention d'un poids constant.

Les cendres totales de la plante contiennent le plus souvent les éléments suivants : K^+ , Na^+ , Mg^{++} , Ca^{++} , Fe^{+3} .

Ces éléments se trouvent sous forme d'oxydes ou de sels d'acides carboniques, acides sulfuriques, acides phosphoriques et d'autres acides.

Mode opératoire

- Peser puis chauffer au rouge un creuset en platine qui contient quelques gouttes d'acide sulfurique pendant 30 minutes et laisser refroidir dans un dessiccateur.
- Introduire dans le creuset 1 gr de poudre végétale.
- Distribuer uniformément la prise d'essai à l'intérieur du creuset et dessécher à l'étuve pendant une heure à 100-105 ° C puis calciner à l'aide d'un bec benzène, ensuite incinérer dans un four à moufle à une température de 600 ° C pendant 4 heures.
- L'échantillon ne doit s'enflammer à aucun moment de l'opération, il faut continuer l'incinération jusqu'à une masse constante. Après chaque incinération laisser refroidir le creuset au dessiccateur puis peser. Il faut que la couleur du résidu soit grise blanchâtre car les couleurs noire indique que la matière organique existe encore.

Nous avons calculé le pourcentage des cendres selon la formule suivante :

$$\% X = \frac{P - Pc}{P e} \times 100$$

Avec ; % X : pourcentage des cendres.

P : poids du creuset après calcination

Pc : poids du creuset vide

Pe : poids de l'échantillon

II-1-4- Détermination du potentiel d'hydrogène de l'extrait aqueux

Le pH est un nombre qui représente conventionnellement la concentration en ions hydrogènes d'une solution aqueuse.

La détermination potentiométrique du pH est effectuée par mesure de la différence de potentiel entre deux électrodes judicieusement choisies plongeant dans la solution à examiner, l'une de celle-ci est une électrode sensible aux ions hydrogènes (le plus souvent, une électrode en verre) et l'autre une électrode comparaison (Pharmacopée Européenne, 2005).

Mode opératoire du pH mètre (voir annexes 02)

II-2- Extraction des flavonoïdes

Nous avons suivi la méthode décrite par GUIGNARD (2000).

II-2-1- Macération et évaporation

Peser 30 g de poudre des feuilles séchées sur une balance analytique.

Mettre la poudre dans un Erlen Mayer, puis verser 100 ml de méthanol dessus et laisser macérer pendant 72 h. (On filtre chaque 24 h et on récupère les filtrats dans un autre Erlen Mayer).

Puis évaporer le méthanol par un évaporateur rotatif (L'évaporation se fait sous vide à l'aide d'une pompe).

La température d'évaporation du méthanol est de 45° C sous vide.

L'extrait sec obtenu est traité par 50 ml d'eau tiède pour l'obtention d'un extrait aqueux.

II-2-2- Extraction liquide-liquide

Nous avons utilisé une ampoule à décanter

(Nous avons fait 3 fois la décantation pour chaque solvant).

—> Pour l'élimination de la chlorophylle et des lipides :

Mettre l'extrait aqueux dans l'ampoule à décanter, et ajouter 30 ml de chloroforme, agiter et laisser décanter un moment jusqu'à la formation de deux phases bien séparées. (La séparation se fait selon la différence de densité entre l'eau et le chloroforme).

Ouvrir le robinet pour la récupération de chloroforme avec un certain pourcentage des lipides et de chlorophylle et garder la phase supérieure dans l'ampoule.

—> Pour l'élimination des génines libres :

Mettre 30 ml d'éther dans l'ampoule, agiter et laisser décanter

Formation des deux phases, libérer la phase en dessous

Libérer ensuite l'autre phase (éther + quelques génines libres)

—> **Pour l'élimination des monosides :**

Mettre 30 ml d'acétate d'éthyle dans l'ampoule qui contient l'extrait aqueux

Laisser décanter, puis refaire la même manipulation faite pour l'éther (30 ml × 3).

—> **Pour l'obtention des flavonoïdes :**

Obtenir un extrait aqueux à qui on doit ajouter (3×30 ml) de butanol, On fait la même manipulation faite pour l'éther puisque la phase butanol sera au dessus de la phase aqueuse.

Récupérer la phase de butanol car c'est la phase qui contient les flavonoïdes.

Agiter après chaque versement d'un solvant dans l'ampoule à décanter, ensuite ouvrir le bouchon de cette ampoule pour dégazer.

II-2-3- Evaporation sous vide de butanol

Peser le ballon du l'évaporateur rotatif avant de verser le butanol dedans.

Evaporer le butanol pour l'obtention d'un extrait sec des flavonoïdes.

La température d'évaporation de butanol est de 55° C.

Peser le ballon après l'évaporation pour le calcul du poids de l'extrait sec des flavonoïdes (le pesage se fait par la même balance.

II-2-4- Préparation de l'extrait aqueux des flavonoïdes

Selon BRUNETON (1999) ; Le repas équilibrée de la journée contient environ 1 gr de flavonoïdes.

Pour tester si cette dose a un effet anti-inflammatoire, antimicrobien nous avons préparé un extrait aqueux de flavonoïdes à une concentration de 1 g/l.

c- Calcul du poids de l'extrait sec

Tableau 03 : Calcul du poids de l'extrait sec

Poids du ballon vide	285.70 g
Poids de ballon avec l'extrait sec des flavonoïdes	285.85 g
Poids de l'extrait sec des flavonoïdes	0.150 g = 150 mg

d- Préparation de la solution :

On met 100 ml d'eau distillée avec 1 ml de la solution de tween à 80 % (les flavonoïdes ne sont pas solubles dans l'eau, alors on ajoute 1 ml de tween 80 % à cette eau pour les faire dissoudre).

On mélange le tout et on le met à l'étuve pour quelques minutes (pour faire dissoudre la tween dans l'eau).

Après refroidissement du mélange, on le verse dans le ballon des flavonoïdes obtenus après évaporation du butanol (extrait sec).

Agiter bien et ajuster le volume au 150 ml avec de l'eau distillée (pour obtenir une concentration de 1 g/l).

La préparation de l'extrait aqueux des flavonoïdes à 1g/l.

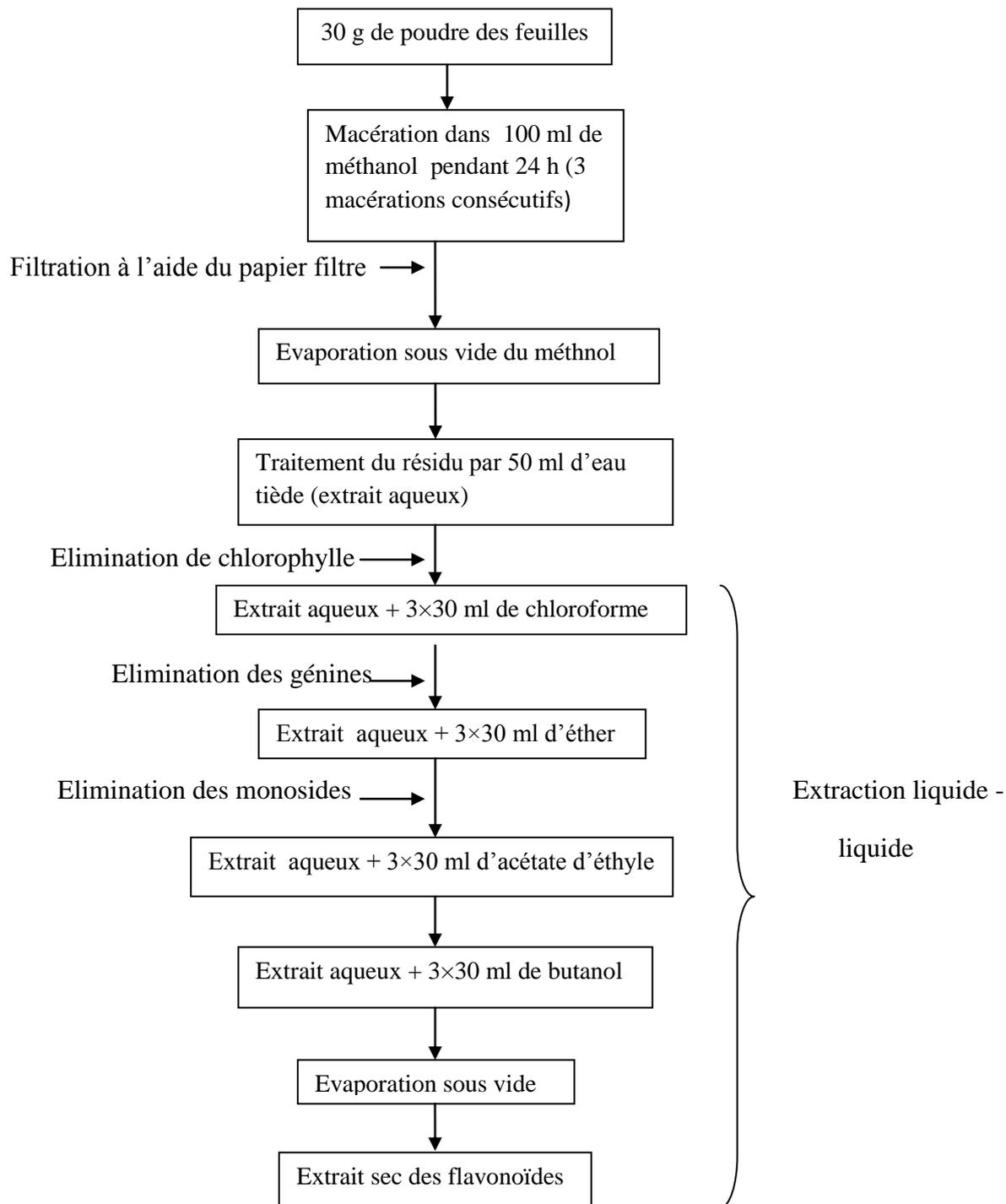


Figure 12 : Schéma récapitulatif des étapes d'extraction des flavonoïdes.

II-3- Identification des flavonoïdes (Analyse par H.P.L.C.)

L'ortie est l'une des plantes les plus riches en composés phénoliques en général et en flavonoïdes en particulier, pour cela nous avons effectué une analyse qualitative par HPLC de la phase chloroformique de l'extrait méthanolique de notre espèce par rapport à un étalon quercétine.

c- Principe

La chromatographie liquide à haute performance (C.L.H.P.) est la technique la plus performante, utilisée pour la séparation et le dosage des produits non volatils thermo-dégradables, tels que les composés phénoliques. Elle ne demande qu'une faible quantité d'échantillon végétal et permet de combiner en une seule opération les analyses qualitatives et quantitatives d'un extrait complexe, ce qui permet l'étude des matériels végétaux très variés (SALGAROLO, 2003 ; PIETTA *et al.*, 2003).

La séparation des composés dépend de leurs affinités pour deux phases non miscibles, une phase stationnaire et une phase mobile (solvant d'élution) de polarités différentes (MACHEIX *et al.*, 2005).

L'échantillon à analyser est déposé au sommet de la colonne, la phase mobile entraîne sa migration suivant un gradient de solvant ou en régime isocratique. La phase mobile étant alors de composition constante (LAURANSON, 1989).

d- Préparation des échantillons

- **Préparation de l'étalon**

Peser 0.0016 mg de la poudre du quercétine sur une balance analytique

Mettre la poudre de quercétine dans une fiole jaugée de 10 ml

Faire dissoudre la poudre dans 5 ml d'eau distillée puis ajuster le volume jusqu'au trait de jauge.

Mettre la fiole dans l'ultra son (appareil spécial pour bien mélanger la quercétine et l'eau et pour éliminer les bulles d'air) pendant quelques secondes.

- **Préparation de la phase chloroformique**

A l'aide d'une micropipette, prendre 0.2 ml de la phase chloroformique dans une fiole jaugée de 10 ml.

Ajuster le volume jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée.

Mettre la fiole dans l'ultra son pendant quelques secondes.

La phase chloroformique et la solution de la quercétine sont la phase stationnaire tandis que la phase mobile est formée du mélange d'Acétonitril grade HPLC/eau (7V/3V).

Préparation de la phase mobile.

Tableau 04 : Les conditions opératoires d'H.P.L.C.

Matériel	Types et caractéristiques
Colonne - Diamètre - Longueur - Température	C 18 4.6 mm 25 nm 25 ° C
Pompe - Débit	1 ml/min
Micro-seringue	20 µl
Détecteur multi faisceaux	254 nm (UV visible)

III- Les activités biologiques

III- 1- Mise en évidence de l'activité anti-oxydante de l'extrait aqueux de l'ortie dioïque

L'activité réductrice du fer de notre est déterminée selon la méthode décrite par OYAIKU (1986), basée sur la réduction du Fe^{+3} présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en Fe^{+2}

- Un millilitre de l'extrait de concentrations croissantes est mélangé avec 2.5 ml d'une solution tampon phosphate 0.2 M (pH 6.6) et 2.5 ml d'une solution ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1 %.
- L'ensemble est incubé au bain marie à 50 ° C pendant 20 minutes.
- Ensuite, 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10 % sont ajoutées pour stopper la réaction
- Les tubes sont centrifugés à 300 tours/min pendant 10 minutes
- 2.5 ml du surnageant sont mélangés avec 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml d'une solution de chlorure ferrique fraîchement préparé à 0.1 %.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par l'eau distillée qui permet calibrer l'appareil (Spectrophotomètre UV-Visible).

Le control positif est représenté par une solution d'un antioxydant : l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que l'échantillon.

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur de l'extrait testé (HUBRT, 2006).

III-2- Mise en évidence de l'activité anti-inflammatoire :

La méthode utilisée afin de réaliser cet essai est celle de (WINTER, 1963)

Le principe

Le principe de cette méthode consiste à administrer les doses appropriées des substances à contrôler à un groupe de souris blanches, ensuite provoquer une inflammation locale en injectant par voie sous plantaire dans la patte du pied d'une patte postérieure une substance pathogène : la carraghénine.

Remarque : La carraghénine : c'est une gélatine végétale extraite de *Chondrus crispus* (algue rouge comestible-légume).

Parallèlement, procéder de même à un deuxième groupe de souris, mais en administrant de la solution physiologique au lieu du produit à contrôler (témoin négatif) et le médicament de référence le Diclofénac® (témoin positif).

La comparaison de l'évolution de l'inflammation à travers le volume ou l'épaisseur de la patte, chez les groupes expérimentaux et le groupe témoin renseigne sur la propriété anti-inflammatoire des extraits testés.

Mode opératoire :

- Constituer 4 lots de 6 souris chacun L₁, L₂, L₃ et L₄ de sexe mâle et de poids corporel compris entre 20 et 24 g, les souris sont mis à jeun 18 heures avant l'essai et privées d'eau 2 heures avant l'expérimentation.
- Administrer aux souris du L₁ expérimental, par voie orale, 0.5 ml de solution physiologique (NaCl à 0.9 %) dénuée de toute activité anti-inflammatoire.
- Administrer aux souris du L₂ expérimental, par voie orale, 0.5 ml de solution d'infusé de l'ortie dioïque, la concentration de cette dernière est de 20 g de poudre/100 ml d'eau distillée.
- Administrer aux souris du L₃ expérimental, par voie orale, 0.5 ml de l'extrait aqueux des flavonoïdes de l'ortie dioïque, la concentration de ce dernier est de 1 g/l d'eau distillée.
- Administrer aux souris du L₄ témoin positif, par voie orale, 0.5 ml de solution du Diclofénac, la concentration de cette dernière est de 16 mg /100 ml d'eau distillée.
- Mesurer les pattes postérieures gauches des souris à l'aide d'un pied à coulisse.
- 30 minutes après le gavage, administrer à toutes les souris 0.05 ml de solution de carraghénine à 1 % par voie sous plantaire au niveau de la patte postérieur gauche.

- De nouveau remesurer l'épaisseur des pattes juste après l'injection et toutes les trente minutes. On refait la mesure de l'épaisseur des pattes pour chaque lot. Les résultats obtenus seront présentés dans un tableau. (voir annexe 03).

Arrêter les mesures lorsque les pattes des souris reprennent leurs dimensions initiales à savoir avant l'injection de la carraghénine.

Calcul de l'épaisseur moyenne.

Nous avons calculé la moyenne pour chaque lot selon la formule suivante :

$$M = \frac{\sum Xn}{N}$$

Avec : Xn = épaisseur d'une patte pour une souris.

N = le nombre des souris.

Calcul du pourcentage de réduction des œdèmes :

Le pourcentage de réduction des œdèmes est calculé selon la formule suivante :

$$P (\%) = \frac{\text{Epaisseur de la patte du témoin} - \text{Epaisseur de la patte traitée}}{\text{Epaisseur de la patte du témoin}}$$

(BERKAN et al., 1997)

III-3- Le test microbiologique

Le but de ce test est de mettre en évidence l'activité antimicrobienne des extraits des feuilles d'*Urtica dioica* L. qui est connue par son usage dermique vis-à-vis des différents microorganismes : bactéries, levures et champignons dermiques, pour cela nous avons utilisé l'infusé et l'extrait aqueux des flavonoïdes afin de tester l'effet anti bactérien et antifongique in vitro de ces extraits par la méthode de diffusion sur gélose.

Principe

Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisée dans une boîte de pétrie

Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier. La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés par les différents extraits à tester à tester. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Chaque antibiotique diffuse à partir du disque au sein de la gélose. On observe ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition, plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique, plus il est petit, plus la bactérie est résistante. (FAUCHERE et AVRIL.202).

Préparation de l'inoculum :

- A partir de culture jeune des bactéries (18-24h) ou de levures (48h) on réalise une suspension microbienne dans 5 ml d'eau physiologique avec deux ou trois colonies.
- On agite manuellement jusqu'à dissolution totale des colonies dans l'eau physiologique.
- On fait une première lecture de la densité optique à une longueur d'onde de la 620 nm en estimant l'absorbance comprise entre 0.22 - 0.32 pour les bactéries et entre 2-20 pour les levures.

Mode opératoire

On trempe un écouvillon stérile dans une suspension, puis on étale en stries serrées sur une boîte de pétrie stérile (Coulée précédemment par le milieu de culture approprié) en la tournant horizontalement pour couvrir toute la surface. On fait le même travail avec les autres suspensions.

A l'aide d'une pince stérile, on prend un disque en papier absorbant (papier buvard de 9 mm de diamètre) dont on imbibé l'extrémité avec les extraits à tester (dont les concentrations sont 1mg/ml pour l'extrait aqueux des flavonoïdes et 10 mg/ml pour l'infusé), ce dernier est déposé sur la surface de la géloseensemencée par les microorganismes à tester.

Milieux de culture utilisés

- ❖ Gélose de soja triptyque (GST) : appelé communément Soja agar DIFCO, pour les bactéries (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S subtilus*, *S aureus*).
- ❖ Gélose de dextrose de Sabouraud (GDS) : appelé communément Sabouraud DIFCO
Pour les levures (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C.tropicalis*) et les champignons (*Pinicellium sp*, *Tricosporum sp*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus tirreus*, *Aspergillus flavus*)

Les boîtes de pétrie sont incubées à

- ✓ 37 ° C pendant 24 heures pour les souches bactériennes
- ✓ 25 ° C 48 heures pour les levures et 5 jours pour les champignons et les levures.

La mesure du diamètre des zones d'inhibition se fait à l'aide d'une règle.

Résultats et discussion

I- Résultats des analyses phytochimiques préliminaires

I-1- Identification de quelques métabolites secondaires

Quelques métabolites secondaires ont été mis en évidence chez *Urtica dioica L.*, et les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous

Tableau 05 : Résultats des tests d'identification colorimétrique de quelques métabolites secondaires existant chez *Urtica dioica L.*

Métabolites	Réaction	Résultats
Flavonoïdes	Coloration rouge orangée	Extrait aqueux (infusé) (+ + +)
		Suc frais (-)
Anthocyanes	Coloration rouge	Extrait aqueux (infusé) (+ +)
		Suc frais (+)
Tanins	Coloration bleue noire	Extrait aqueux (infusé) (+ +)
		Suc frais (-)
Saponosides	Précipité blanc	Extrait aqueux (infusé) (+)
		Suc frais (+)
Glucosides	Coloration rouge brique vire vers le violet	Extrait aqueux (infusé) (+)
		Suc frais (+)
Quinones libres	Coloration rouge	Extrait aqueux (infusé) (+ +)
		Suc frais (+ +)
Quinones combinées	Coloration rouge	Extrait aqueux (infusé) (+)
		Suc frais (+)

- ❖ D'après la caractérisation phytochimique réalisée sur l'extrait aqueux et le suc frais, les résultats ont démontré que l'ortie est riche en métabolites secondaire : les flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins, les saponosides, les glucosides et les quinones.
- ❖ Les résultats négatifs du suc frais par rapport à l'infusé sont dues au type d'extraction, au lieu de stockage et la localisation des métabolites secondaires dans la plante.

Ces métabolites secondaires présentent des applications dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique.

Nos résultats sont en accord avec ceux cités par BABA AISSA (1999).

I-2- Détermination du taux d'humidité :

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 06 :

Tableau 06: Taux d'humidité d'*Urtica dioica L.*

L'essai n° 1	12.2 %
L'essai n° 2	12.15 %
L'essai n° 3	13.41 %
Moyenne	12.58 % ± 0.0058

- ❖ D'après les résultats affichés dans le tableau, Le taux d'humidité est de 12.58 % au moyen, Cette teneur reste dans l'intervalle cité par la pharmacopée européenne (2002) ; (12 et 15%).

I-3- Détermination des cendres totales (ou les pertes à la calcination)

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 07 :

Tableau 07 : résultats des pertes à la calcination.

Poids de la matière prise	1 ± 0.001
Poids du creuset vide	23.1975 g
Poids du creuset après calcination totale	23.2590 g
Pourcentage de cendres	6.15 %

Les cendres totales sont évaluées à 6.15 % pour 1 g de poudre des feuilles, et elle nous renseigne sur sa composition minérale.

Cette teneur est en accord avec celle rapportée par la pharmacopée Européenne (2008) ou la teneur des cendres totales est de 20 % au maximum.

Cette teneur est variable en raison de plusieurs facteurs à savoir la composition du sol, les facteurs climatiques.

I-4- Détermination du potentiel d'hydrogène de l'extrait aqueux

Le pH de l'extrait aqueux est de 8.44.

Le pH obtenu montre que l'extrait aqueux de la plante est légèrement alcalin.

- La quantification à partir du spectre de la quercétine (160 ppm) à donner une valeur de 0.64 ppm de quercétine dans l'extrait chloroformique.

III-1- Résultats de l'activité anti-oxydante :

L'activité anti-oxydante de l'extrait aqueux des feuilles d'*Urtica dioica L.* a été réalisée et évaluée par la méthode de FRAP.

Selon CHUNG et *al.*, (2002) ; La présence de composés réducteurs dans l'extrait de la plante provoque la réduction du fer ferreux en fer ferrique ($Fe^{+3} \longrightarrow Fe^{+2}$). Par conséquent l'évaluation du Fe^{+2} est faite en mesurant l'intensité de la couleur bleue dans le milieu réactionnel à 700 nm.

Le tableau 08 présente les valeurs d'absorption de l'acide ascorbique et de l'extrait aqueux d'*Urtica dioica L.*

Tableau 08 : les valeurs d'absorption de l'acide ascorbique et de l'extrait aqueux d'*Urtica dioica L.* selon la méthode de FRAP.

Concentration de l'échantillon	2.5mg/ml	05mg/ml	10mg/ml	20mg/ml	50mg/ml
Densité optique de l'extrait aqueux à 700	0,0055	0,0974	0,2971	0,5346	1,1421
Densité optique de l'acide ascorbique à 700	0,0403	0,1444	0,3954	0,5189	1,0956

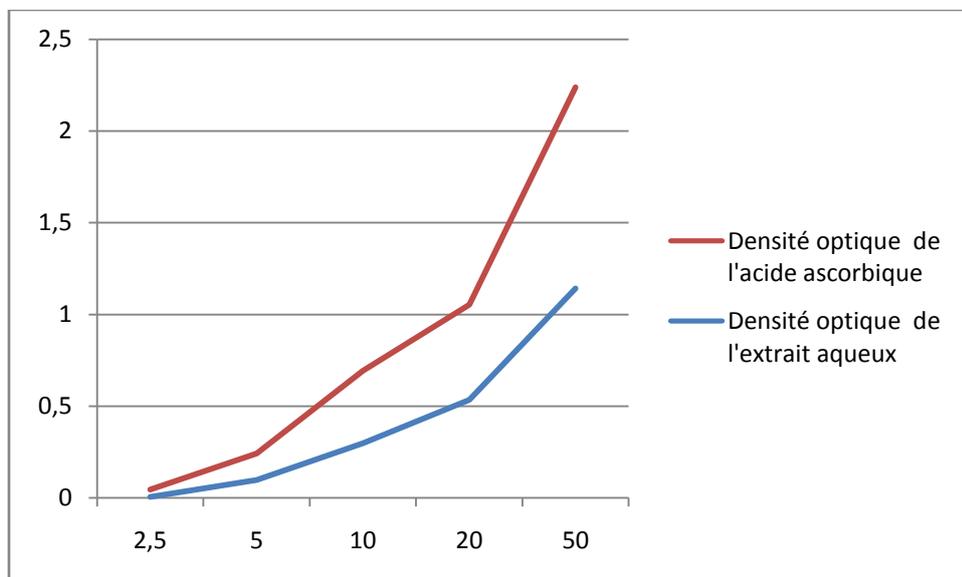


Figure 15 : Pouvoir réducteur de l'extrait aqueux d'*Urtica dioica L.*

Ces résultats montrent que le pouvoir réducteur de l'extrait aqueux d'*Urtica dioica L.* dépend de la concentration (dose dépendante) cet effet apparait à partir d'une concentration égale à 2.5 mg/ml.

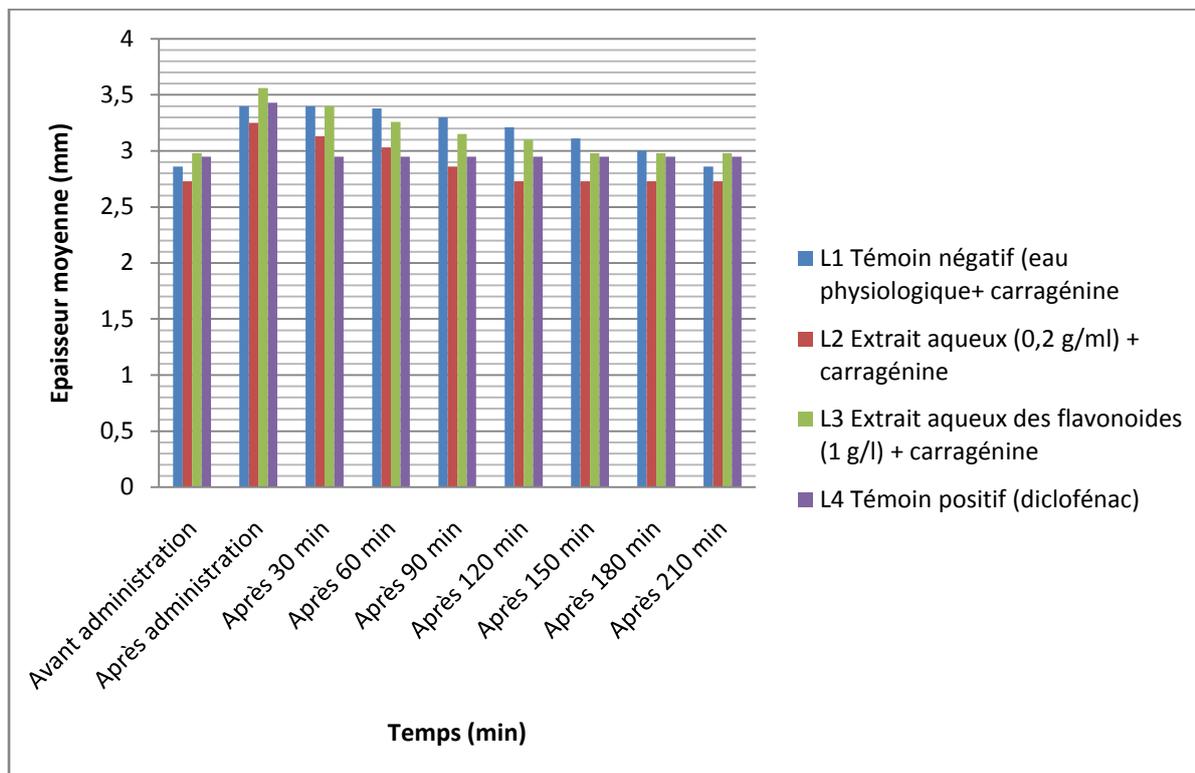


Figure 16 : Histogramme représentant l'évolution moyenne des pattes postérieures gauches des souris dans chaque lot en (mm).

Les pourcentages de la réduction des œdèmes dans chaque lot sont indiqués dans le tableau suivant :

Tableau 10 : Pourcentage de réduction des œdèmes

Pourcentages de réduction d'œdème chez des souris traitées par rapport au témoin	Chez les souris traitées par l'extrait aqueux des feuilles (0.2 g/ml)	12,58 %
	Chez les souris traitées par l'extrait aqueux des flavonoïdes (1 g/l)	8.67 %

Après 30 minutes de l'administration de la carraghénine, nous notons une légère baisse des œdèmes chez le lot témoin traité par l'eau physiologique, la réduction de ces œdèmes est très lente dans le temps car il n'atteint le point de stabilisation qu'après 210 min de l'injection.

Pour les animaux du lot traités par l'extrait aqueux dont la concentration est de 0.2g/ml, une baisse très importante des œdèmes est observée (pourcentage de réduction = 12.58 %), la réduction de ces derniers est très rapide. Elle atteint après 120 min de l'injection.

Pour les animaux du lot traité par l'extrait aqueux des flavonoïdes dont la dose est de 1 g/l, une baisse importante des œdèmes est observée, (pourcentage de réduction = 8,67 %). Le retour à l'état initial et une disparition totale des œdèmes après un intervalle de temps de 150 min.

D'après les résultats obtenus, nous avons déduit que les deux extraits (aqueux et celui de flavonoïdes ont un effet anti-inflammatoire marqué par rapport au lot témoin.

Nos résultats sont en accord avec ceux de BABA AISSA (1999), ROBERT et ROMBI (2001) qui ont mis en évidence le pouvoir anti-inflammatoire de la partie aérienne de l'ortie dioïque et ceux de Goetz (2010) qui a confirmé que l'ortie possède une véritable activité anti-inflammatoire in vivo par ses extraits hydro alcooliques, ce qui explique le rôle de l'ortie dans la cascade anti-inflammatoire.

L'activité anti-inflammatoire des feuilles d'*Urtica dioica L.* est liée selon ROBERT et ROMBI (2001) à sa richesse en flavonoïdes.

III-3- Résultats du test antimicrobien :

Le test antimicrobien n'a pas montré une sensibilité des souches fongiques vis-à-vis les extraits sauf pour les levures *Candida albicans* et les bactéries : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* qui ont été traitées par l'extrait aqueux des feuilles ou l'inhibition est légère.

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 11

Tableau 11 : Résultats du test anti microbien

Souches	Diamètre des zones d'inhibition (mm)	
	Extrait aqueux (10mg/ml)	Extrait aqueux des flavonoïdes (1mg/ml)
<i>Bacillus subtilis</i>	16	0
<i>Echerichia coli</i>	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	14	0
<i>Candida albicans</i>	12	0
<i>Candida parapsilosis</i>	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	0	0
<i>Tricosporum sp</i>	0	0
<i>Aspergillus niger</i>	0	0
<i>Aspergillus terreus</i>	0	0
<i>Aspergillus flavus</i>	0	0

Les résultats de l'extrait aqueux montrent une sensibilité remarquable chez les bactéries à gram + par rapport à la bactérie à gram – qui s'est montrée résistante aux extraits testés ce ci peut être expliqué par la présence de la paroi qui joue le rôle d'une barrière protectrice alors que l'extrait de flavonoïdes n'a aucun effet inhibiteur pour toutes les bactéries, les zones d'inhibition obtenues sont de 16 et 14 mm pour *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* respectivement.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de BRANKA et BORIS (2001) et ceux de ILHAMI et IRFAN (2003) qui ont mis en évidence un effet antimicrobien modéré pour les extraits d'*Urtica dioica* L. notamment pour les spores et les entérointestinales.

Les espèces fongiques utilisées n'ont pas montré une sensibilité aux extraits testés sauf pour *Candida albicans* qui est légèrement sensible à l'extrait aqueux avec une zone d'inhibition de 12 mm.

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire et le test antimicrobien sont dus à la composition en métabolites secondaires des deux extraits :

L'extrait aqueux contient plus de principe actifs par rapport à l'extrait aqueux des flavonoïdes (la phase butanolique) qui est devenu moins riche en métabolites secondaires suite au contact avec plusieurs solvants organiques.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Ce travail vise la valorisation d'une plante médicinale très répandue dans le bassin méditerranéen, dont le nom est *Urtica dioica L.* ou « horraig » appartenant à la famille des Urticacées. La plante est dotée de propriétés thérapeutiques importantes.

Les résultats du criblage phytochimique révèle la présence de plusieurs catégories de métabolites secondaires néanmoins les anthocyanes, les flavonoides, les tanins les gluconosides, les saponosides et les quinones.

L'analyse par HPLC de la phase chloroformique a montré la présence d'un type de flavonol ; la quercétine et son identification a été faite par rapport à un étalon.

Les résultats de l'étude pharmacologique des extraits de la plante ont mis en évidence : Pour l'activité anti-oxydante; le pouvoir réducteur du fer de l'extrait aqueux de la plante étudiée est important comparativement à celui de l'acide ascorbique.

Pour l'activité anti-inflammatoire et le test antimicrobien, la composition en métabolites secondaires a influencé la réduction des œdèmes chez les souris et l'inhibition de la croissance microbienne, l'extrait aqueux est apparu plus efficace que l'extrait des flavonoïdes.

On peut déduire que l'extrait des flavonoïdes est inactif sur les souches fongiques sauf pour *candida albicans* et les bactéries à gram – testé, mais une étude plus approfondie et sur un large spectre de souches reste indispensable et en utilisant des doses plus fortes.

Les effets thérapeutiques d'*Urtica dioica L.* sont dus à sa richesse en métabolites secondaires mais une étude clinique et sur une large gamme d'espèces microbiennes est souhaitée pour les champignons dermiques.

Une étude clinique est souhaitée pour les champignons dermiques

Une analyse plus performante par HPLC MS et en utilisant une large gamme d'étalon est primordiale pour plus de précision en composition chimique.

Annexes

Annexe 01

Appareils :

Balance analytique,
Balance pour animaux,
Agitateur magnétique,
Bain marie,
Etuve,
Haute pour solvants,
Rota vapeur,
Broyeur électrique,
Plaque chauffante.

Petit matériel :

Seringues de 1 ml et de 2.5 ml,
Sonde de gavage,
Fioles,
Eprouvettes,
Béchers (petits et grands),
Entonnoir,
Erlen Mayer,
Ampoule à décanter,
Support pour ampoule.

Réactifs / Produits :

Eau physiologique à 0.9 % ?
Suspension de carraghénine 1%,
Eau distillée,
Méthanol,
Chloroforme,
Acétate d'Ethyle,
Ether,
Butanol.

Annexe 02

Mode d'utilisation de l'appareil Karl-Fischer

- Mettre l'appareil en marche.
- Verser 10 ml de méthanol anhydre dans le récipient de titration jusqu'à immersion de l'électrode en appuyant sur la touche \square et démarrer l'agitation.
- Appuyer sur la touche (mode).
- En appuyant sur la touche \downarrow et \uparrow sélectionner (échantillon titration).
- Appuyer 2 fois sur F_1 puis sur START.
- Attendre jusqu'à ce que le titrateur affiche « condition prêt » à la place de « conditionnement » et que le volume se stabilise à 0.
- Introduire rapidement l'échantillon dans le récipient de titration.
- Appuyer sur START.
- Valider par F_1 .
- Introduire à l'aide des touches \uparrow , \downarrow et \rightarrow , la quantité pesée en gramme de l'échantillon puis valider par F_1 .
- Le résultat est affiché sur l'écran, % en eau, Volume versé moyen.
- Recentralisation du milieu en appuyant sur START s'il s'agit d'un même produit à analyser. (2^e et 3^e essai).
- Vider le récipient de titration en appuyant sur la touche \uparrow , arrêter l'agitation puis éteindre le Karl-Fischer.
- Vérification du titre du réactif Karl-Fischer une fois par mois avec le tartrate de Sodium di hydraté.
- Avant chaque utilisation vérifier le titre de la solution en pesant 0.1 gr de tartrate double de Sodium et de potassium.
- Mettre l'appareil hors tension.

Mode opératoire

- La mesure du pH se fait par lecture directe au pH mètre du type METROHM.
- Prendre 5 ml d'échantillon (de l'infusé) et y ajouter 45ml d'eau distillée, c'est une dilution à 10 %.
- Dans le cas de l'infusé (extrait végétal aqueux) n'est pas importante on prépare un infusé de 5 gr de poudre dans 50 ml d'eau distillée.
- Etalonner le pH mètre avant son utilisation à l'aide d'une solution tampon (au mois solution acide et neutre).
- Mesurer le pH de la préparation
- Lire directement la valeur au pH mètre
- Effectuer deux examens pour le même échantillon.

Annexe 03

Tableau 01 : Mesure des pattes postérieures gauches du lot traité par l'extrait aqueux

Temps (min)	Avant administration	Après administration	Après 30 min	Après 60 min	Après 90 min	Après 120 min	Après 150 min	Après 180 min
Souris 1	3,1	3,5	3,4	3,3	3,2	3,2	3,2	3,1
Souris 2	3	3,4	3,3	3,2	3,1	3	3	3
Souris 3	3,2	3,4	3,4	3,3	3,2	3,2	3,2	3,2
Souris 4	3,4	3,6	3,6	3,5	3,4	3,4	3,4	3,4
Souris 5	2,8	3,1	3,1	3	2,9	2,8	2,8	2,8
Souris 6	3	3,3	3,3	3,2	3	2,9	2,9	2,9
La moyenne des épaisseurs	3,08	3,38	3,35	3,25	3,13	3,08	3,08	3,08

Tableau 02 : Mesure des pattes postérieures gauches du lot traité par le diclofénac.

Temps (min)	Avant administration	Après administration	Après 30 min	Après 60 min	Après 90 min	Après 120 min	Après 150 min	Après 180 min
Souris 1	2,8	3,1	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
Souris 2	2,9	3,2	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9
Souris 3	2,9	3,1	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9
Souris 4	3	3,2	3	3	3	3	3	3
Souris 5	3	3,3	3	3	3	3	3	3
Souris 6	3,1	3,4	3,1	3,1	3,1	3,1	3,1	3,1
La moyenne des épaisseurs	2,95	3,21	2,95	2,95	2,95	2,95	2,95	2,95

Tableau 03 : Mesure des pattes postérieures gauches du lot traité par l'extrait aqueux des flavonoïdes.

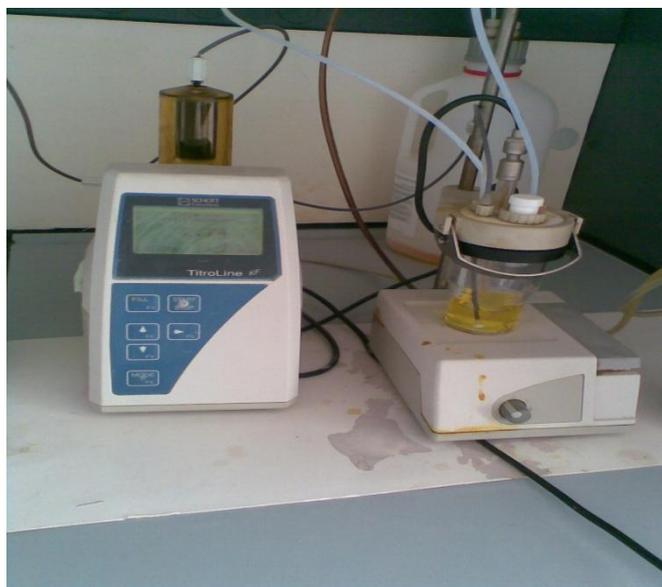
Temps (min)	Avant administration	Après administration	Après 30 min	Après 60 min	Après 90 min	Après 120 min	Après 150 min	Après 180 min
Souris 1	2,6	3	2,9	2,8	2,7	2,7	2,6	2,6
Souris 2	2,6	3,1	3	2,9	2,8	2,7	2,6	2,6
Souris 3	2,8	3,2	3,2	3,1	3	2,9	2,8	2,8
Souris 4	2,5	2,9	2,9	2,8	2,7	2,6	2,5	2,5
Souris 5	2,9	3,3	3,2	3,1	3,1	3,1	3	2,9
Souris 6	2,9	3,2	3,2	3,2	3,1	3,1	3	2,9
La moyenne des épaisseurs	2,71	2,9	2,9	2,85	2,78	2,76	2,71	2,71

Tableau 03 : Mesure des pattes postérieures gauches du lot traité par l'eauphysiologique

Temps (min)	Avant administration	Après administration	Après 30 min	Après 60 min	Après 90 min	Après 120 min	Après 150 min	Après 180 min	Après 210 min	Après 240 min
Souris 1	2,8	3,2	3,2	3,2	3,2	3,1	3,1	3	2,9	2,8
Souris 2	2,6	3	3	3	3	2,9	2,9	2,8	2,7	2,7
Souris 3	2,9	3,1	3,1	3,1	3,1	3,1	3	3	3	2,9
Souris 4	2,9	3,1	3,1	3,1	3,1	3,1	3,1	3	2,9	2,9
Souris 5	2,9	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2	3,1	3	2,9
Souris 6	3,1	3,3	3,3	3,3	3,3	3,2	3,2	3,1	3,1	3,1
La moyenne des épaisseurs	2,86	3,15	3,15	3,15	3,15	3,08	3,08	3	2,93	2,86

Annexes 04

Photos originales



Appareil de Karl-Fischer



Agitateur



Balance analytique



Evaporateur rotatif



Dessiccateur



Creuset en platine



pH mètre



Spectrophotomètre UV-vis



Four à moufle



Etuve



H.P.L.C

Annexes 05



Balance pour souris



Pied à coulisse



Souris de souche NMRI



Gavage des souris



Injection de la carraghénine



Tricosporum sp



Candida parapsilosis



Candida tropicalis



Candida parapsilosis



Aspergillus flavus



Bacillus subtilis



Staphylococcus aureus



Candida albicans



E. coli