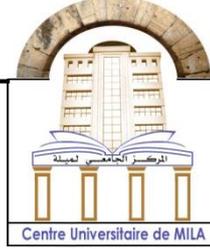


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N°Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf- Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

Contribution à l'étude des caractéristiques médicinales de l'Ortie

Présenté par :

- Louaheb Chaima
- Benchaoui Amira
- Bouchelaghem Meryem

Devant le jury :

- | | | |
|-----------------------|-------|-----------|
| ➤ Benserradj Wafa | (MCA) | Président |
| ➤ Kellab Rabah | (MAA) | Examineur |
| ➤ Benmakhlouf Zoubida | (MCA) | Promoteur |

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

On remercie ALLAH le tout-puissant de nous avoir donné la santé et la volanté d'entamer et de terminer ce mémoire

En premier lieu, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu être possible sans l'aide, les conseils et l'encadrement de Mme BENMAKHLOUF Zoubida et Mr KELLAB Rabah, Nous les remercions pour la qualité de leur travail et leur encadrement exceptionnel ; pour ces patiences, ces rigueurs et leurs disponibilités durant notre préparation de ce mémoire.

Nous remercions aussi Mme BENSERRADJ Wafa pour avoir accepté de juger ce travail.

Notre remerciement s'adresse également à tous nos professeurs pour leur générosité et la grande patience dont ont su faire preuve malgré leur charge académiques et professionnelles.

AU terme de ce travail, Nos profonds remerciements vont également à Toutes les personnes qui nous ont aidés et soutenue de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce mémoire

Dédicace

Avec l'expression de ma gratitude, j'ai dédié ce travail à toutes les personnes qui m'ont soutenu et m'ont encouragé tout ce temps, je ne pourrais pas être plus reconnaissant et je ne pourrais jamais exprimer mon amour sincère.

*À mon adorable MAMA “**Salih**” la femme qui m’a donnée tout son amour, qui m’a donné tout ce dont j’avais besoin et plus encore, qui n’a épargné aucun effort pour me rendre heureuse*

*À mon héros l'homme de ma vie PAPA “**Mohamed Tahar**”, l’homme qui doit ma vie, et tout mon respect, l'homme que j'admire le plus, qui a consacré sa vie à mon bonheur et à mon succès, je ne pourrais pas être plus reconnaissant d'avoir un père comme toi.*

*À mes chers frères “**Seyf Eddine**” et “**Wakil**” et mes adorables sœurs “**Dina**” et “**Lina**”, qui m’ont toujours soutenu et encouragé tout au long de mes études, qu'Allah les protégeait et les aider à réaliser tout ce qu'ils veulent et leur offre tout le bonheur.*

*À ma précieuse grand-mère, ma tante maternelle “**Kouka**” et ma tante paternelle “**Meriem**” mon oncle paternelle “**papa Nesseredine**” et sa femme “**Mama Naouel**”, tous mes oncles maternels et toutes mes tantes, Que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.*

*À mon binôme, “**Amira JK**” pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet, et sa famille*

*À mes amis, les personnes que j’aime le plus ; MY BESTIES “**Amira**” et “**Sarra**”*

*À tous les cousins, les amis et les voisines et surtout “**Tata halima**” et que j'ai connu jusqu'à maintenant.*

And My cat bishou <3

Merci à tous pour l’amour et l’encouragement

*“**Chaima**”*

Dédicace

J'ai l'honneur de dédier ce mémoire réalisé grâce à l'aide de dieu, à Ceux qui me sont les plus chers au monde :

*A mes chers parents, Ma Mère **LIELA** et Mon Père **SLIMANE** qui m'avez dirigé et suivi pendant toute mes années, ça me tient énormément au cœur de vous dire merci, aucune dédicace ne pourrait exprimer l'amour et le respect que j'ai pour vous.*

*A mon très chère frère **CHAKER**, à mes chères sœurs **RYMA**, **FIFI** et **NOUSSAIBA** qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance et de courage.*

A ma grand-mère, tous mes oncles et tantes, mes cousins et cousines.

*Je dédie à mon binôme **CHAIMA** qui a cru en moi jusqu'au bout et qui a toujours été à mes côtés, et à toute sa famille.*

*A tous mes amis et à toutes les personnes que j'aime surtout **MALAK**, pour son soutien moral.*

AMORA

Dédicace

Avant toutes les choses, je remercie Allah, le tout puissant pour m'avoir donné la force et la patience pour réaliser ce travail.

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce travail pour ceux qui m'ont embrassé le cœur et je n'arriverai jamais à leur exprimer mon amour sincère.

*Mon père, l'homme de ma vie **Bouchelaghem Achour***

*Ma chère mère **Sakina**, la femme qui a souffert sans me laisser souffrir et qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse.*

*A mes chères sœurs : **Amel, Hadjer, et Mounira** qui n'ont cessé de me soutenir, conseiller et m'encourager tout le long de mes études.*

*A mes frères **Houcine et Noureddine**.*

*À ma grand-mère, **El Wazna** et mon grand-père, **Muhammad Al-Zein**, que Dieu ait pitié de leur part*

*A ma grand-mère **Aisha** et mon grand-père **Mihoub** que Dieu puisse prolonger leurs âges et les préserver.*

*A mes amies, **Feriel et Chahla** .*

A toutes la promotion de biochimie appliquée 2022

A vous tous merci

Bouchelaghem Meryem

Sommaire

Résumé (français)	
Résumé (anglais)	
Résumé (arabe)	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	

Introduction

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I. Présentation de la plante étudiée ; L'ortie : (<i>Urtica dioica</i> L.)	1
I.1 Historique.....	1
I.2 Généralités sur l'ortie.....	1
I.3 Dénomination de l'ortie	2
I.4 Classification.	2
I.4.1 Position systématique	2
I.5 Les différentes espèces de l'ortie.....	3
I.6 Distribution géographique	3
I.7 Ecologie (Milieu de vie)	3
I.8 Description botanique	4
I.8.1 Appareil végétatif.....	4
I.9 Reproduction.....	6
I.10 Composition chimique d' <i>Urtica dioica</i> L.....	6
I.11 Utilisations de l'ortie	7
I.11.1 Utilisation médicinale.....	8
I.11.2 Utilisation pharmacothérapeutique.....	10
I.11.3 Les contre-indications.....	11
II. Métabolites secondaires	11
II.1 Les huiles essentielles	11
II.2 Les polyphénols	12
II.3 Les flavonoïdes	12
III. Les activités biologiques	12

III.1	Activité antioxydante	12
III.1.1	Le stress oxydant	12
III.1.2	Les radicaux libres.....	13
III.1.2.1	Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)	14
III.1.2.1.1	Les différents types des ERO	14
III.1.2.2	Sources des radicaux libres	15
III.1.2.3	Domages oxydants des molécules biologiques	15
III.1.3	Les antioxydants	16
III.1.3.1	Définition des antioxydants.....	16
III.1.3.2	Classification des antioxydants	16
III.1.3.3	Mode d'actions des antioxydants	19
III.2	L'activité antibactérienne :	19
III.2.1	Généralités sur les bactéries testées.....	19
III.2.2	Les infections microbiennes	21
III.2.3	Les antibiotiques.....	21

Chapitre II

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I.	Objectif de travail.....	22
II.	Matériel et méthodes utilisés.....	22
II.1	Matériel végétal	22
II.1.1	Mode d'extraction.....	22
II.1.2	Préparation des extraits.....	22
II.1.3	Calcul du rendement	25
II.2	Méthode d'analyse des métabolites secondaires	25
II.2.1	Dosage des polyphénols totaux	25
II.2.2	Dosage des flavonoïdes	26
II.3	Activités biologiques	26
II.3.1	Activité antibactérienne.....	26
II.3.1.1	Techniques d'étude de l'activité antibactérienne.....	27
II.3.2	Activité antioxydant	29
II.4.1.	Matériel animal	30
II.4.1.1.	Local de travail	30
II.4.1.2.	Les animaux d'expérimentation	30

II.4.1.3. Produit médical.....	30
II.4.1.3.1. Définition de l'alloxane	30
II.3.2.1 Mécanisme d'action de l'alloxane	32
II.3.3 Méthode d'évaluation d'activité anti-hyperglycémiant d'extraits de d' <i>Urtica dioica</i> L.	32
II.3.3.1 Induction chimique du diabète.....	32
II.3.3.2 Mesure de la glycémie	32
II.3.3.3 Répartition des animaux	33
II.3.3.4 Gavage des extraits	33
II.3.3.5 Evaluation du poids corporel	34
II.3.3.6 Abattage et prélèvement sanguin	34
II.3.4 Méthodes des dosages biochimiques du sang.....	34
II.3.4.1 Dosage du glucose	34

Résultat et discussion

I. La détermination du rendement	37
II. Dosage des différentes substances phénoliques.....	38
II.1 Dosage des polyphénols totaux.....	38
II.2 Dosage des flavonoïdes	39
III. Résultats des tests des effets biologique	40
III.1 Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits d' <i>Urtica dioica</i> L.	40
III.2 Evaluation de l'effet antioxydante des extraits d' <i>Urtica dioica</i> L.....	45
III.2.1 Test du piégeage du radical DPPH.....	45
III.3 Evaluation d'activité anti-hyperglycémiant d'extraits de d' <i>Urtica dioica</i> L.....	47
III.3.1 Résultats des différents paramètres avant et après induction :	47
III.3.1.1 Avant induction	47
III.3.1.2 Après induction	49
III.3.2 Effet des traitements sur les différents paramètres biochimiques	50
III.3.2.1 Les paramètres biochimiques	50
III.3.2.1.1 Le glucose	50

Conclusion

Références bibliographique

Liste des figures

Figure 1 : <i>Urtica dioica</i> L.....	2
Figure 2 : Feuille d' <i>Urtica dioica</i> L.	4
Figure 3 : Tige dressée d' <i>Urtica dioica</i> L.	5
Figure 4 : Position des poils urticants d' <i>Urtica dioica</i> L. (Reaume, 2010).	5
Figure 5 : Schéma montrant le stress oxydant (Belaïch et Boujraf, 2016).	13
Figure 6 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, 2003).	15
Figure 7 : Régulation de la production des espèces oxygénées activées (EOA) par des systèmes antioxydants de défenses primaire et secondaire (Pincemail, 2001).....	19
Figure 8 : la région de la vielle de Mila.....	22
Figure 9 : séchage des feuilles d' <i>Urtica dioica</i> L.....	23
Figure 10 : filtration des extraits	24
Figure 11 : évaporation dans le rotavapeur	24
Figure 12 : conservation des extraits dans l'étuve	25
Figure 13 : Eppendorf contenant des extraits secs	25
Figure 14 : préparation de L'inoculum bactérien	27
Figure 15 : milieux de culture préparée.....	28
Figure 16 : ensemencement bactérienne.....	28
Figure 17 : Évaluation de l'activité antioxydant par le test du DPPH.....	29
Figure 18 : Lapins au niveau de l'animalerie	30
Figure 19 : Alloxane.....	31
Figure 20 : Mesure de la glycémie des lapins	33
Figure 21 : Rendement d'extraction des trois extraits d' <i>Urtica dioica</i> L.....	37
Figure 22 : comparaison de la teneur en phénols totaux dans les différents extraits d' <i>Urtica dioica</i> L.....	38
Figure 23 : comparaison de la teneur en flavonoïdes totaux dans les différents extraits d' <i>Urtica Dioica</i> L.....	40
Figure 24 : Diamètre d'inhibition des extraits éthanoliques et méthanoliques sur la souche <i>E. Coli</i>	42
Figure 25 : Diamètre d'inhibition des extraits éthanoliques et méthanoliques sur la souche <i>Bacillus</i>	43
Figure 26 : Diamètre d'inhibition d'extrait éthanolique de la souche <i>S.aureus</i>	43
Figure 27 : Diamètre d'inhibition des extraits éthanoliques et méthanoliques sur la souche <i>P.aeruginosa</i>	44
Figure 28 : d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différents extraits d' <i>Urtica dioica</i> L.....	46
Figure 29 : Taux de la glycémie avant induction de diabète chez les lapins des différents lots.	48
Figure 30 : Evaluation de la glycémie après l'induction du diabète.	50
Figure 31 : Effets des traitements par les différents extraits sur la glycémie.....	51

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les constituants chimiques des feuilles d'ortie (Ghedira et al., 2009).	7
Tableau 2 : Constituants chimiques de différentes parties d' <i>Urtica dioïca</i> L. (Pinelli et al., 2008).	7
Tableau 3 : Propriété thérapeutique d' <i>Urtica dioïca</i> L.	8
Tableau 4 : Exemples de médicaments à base d' <i>Urtica dioïca</i> L. (Boyrie, 2016).....	10
Tableau 5 : Les principaux radicaux libres (Haton, 2005).	14
Tableau 6 : résumé les principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées (Koechlin, 2006).	18
Tableau 7 : classification des bactéries.	20
Tableau 8 : Les bactéries testées	26
Tableau 9 : Propriétés chimiques d'alloxane.....	31
Tableau 10 : Doses administrées aux différents lots.	34
Tableau 11 : Rendement d'extraction des différents extraits d' <i>Urtica dioïca</i> L.....	37
Tableau 12 : Teneur des polyphénols totaux d'extrait aqueux, méthanolique, éthanolique d' <i>Urtica dioïca</i> L.....	38
Tableau 13 : Teneur des flavonoïdes d'extrait aqueux, éthanoliques et méthanoliques d' <i>Urtica dioïca</i> L.....	39
Tableau 14 : Diamètres d'inhibition en (mm) des différents extraits d' <i>Urtica dioïca</i> L. sur les souches testées.....	41
Tableau 15 : Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différents extraits d' <i>Urtica dioïca</i> L.....	45
Tableau 16 : Résultats de la glycémie avant induction de diabète.....	47
Tableau 17 : Moyennes des doses par rapport au poids corporel moyen.....	48
Tableau 18 : Poids corporel moyen des lapins témoins et traités en (g) avant et après induction du diabète.	49
Tableau 19 : résultats de la glycémie après 7, 14, 28 et 35 jours de l'induction du diabète ...	49

Liste des abréviations

Abs : Absorbance.

ADN : Acide Désoxyribonucléique

C : Concentration.

°C : Degré Cesium.

DO : densité optique.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

E. coli : *Escherichia coli*.

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

EPS : Extrait de plante standardisé.

Eth : Ethanol.

Meth : Méthanol

H : Heurs.

No3 : Ion de nitrate.

NADH : Nicotinamide adénine di nucléotide + hydrogène.

H2O2 : Peroxyde d'hydrogène.

± : Plus ou moins.

PH : Potentiel d'hydrogène.

% : Pourcentage.

SM : Solution mère.

UV : Ultra-violet.

HBP : High blood pressure

GAE : Gallic acid equivalent

Résumé

Le monde végétal est une excellente source de principes actifs, ce qui lui confère une activité antibactérienne, antidiabétique et antioxydante importante, souvent recherché dans la médecine alternative et le domaine agroalimentaire.

Dans le but de connaître les activités biologiques des plantes médicinales utilisées traditionnellement, notre travail a porté sur l'étude des caractéristiques médicinales de l'*Urtica dioica* L.

L'*Urtica dioica* L., une espèce de la famille des Urticaceae pousse dans la région méditerranéenne et connu comme plante médicinale par son effet thérapeutique. L'ortie dioïque a fait l'objet de nombreuses études qui ont souligné des activités telles que l'activité antibactérienne, antioxydante et anti-hyperglycémiant ainsi que déterminé quelque composition chimique de différents extraits d'UDL, obtenus par macération (aqueux, Hydro-éthanlique, Hydro- méthanolique).

L'extraction des composés bioactifs est réalisée à partir des feuilles. Les extraits obtenus sont dilués à différentes dilutions pour chaque activité.

Le dosage des différentes substances phénoliques montre que la teneur en flavonoïdes est très élevée dans l'extrait éthanlique suivi par l'extrait méthanolique de l'*Urtica dioica* L. alors que l'extrait aqueux est le plus riche en polyphénol suivi par l'extrait méthanolique.

L'activité antioxydante est étudiée avec la méthode de DPPH et le test de pouvoir réducteur. Les résultats obtenus montrent que les différents extraits possèdent une activité anti-radicalaire. L'activité antibactérienne des extraits d'*Urtica dioica* L. est enregistrée contre *E.coli*, *S.aureus*, *Bacillus* et *P.aeruginosa* par la méthode de diffusion sur gélose, cette activité est déterminée avec les extraits éthanlique et méthanoliques pour toutes les souches bactériennes testées, alors que l'extrait aqueux ne montre aucun effet inhibiteur. Les résultats de l'activité antidiabétique notent que le traitement avec les trois extraits a permis la diminution du taux de la glycémie dont les meilleures diminutions sont enregistrées après traitement par l'extrait aqueux.

Les résultats indiquent que les extraits obtenus à partir des feuilles de l'*Urtica dioica* L. peuvent être considéré comme un agent antibactérien, antidiabétique et antioxydant dans le domaine pharmaceutique.

Mots clés : *Urtica dioica* L., activité antibactérienne, activité antioxydant, activité antidiabétique, extraction, substances phénoliques, flavonoïdes, polyphénols

Abstract

The plant world is an excellent source of active principles, which gives it an important antibacterial, antidiabetic and antioxidant activity, often sought in alternative medicine and the food industry.

In order to know the biological activities of the traditionally used medicinal plants, our work has focused on the study of the medicinal characteristics of *Urtica dioica* L.

Urtica dioica L., a species of the family Urticaceae, grows in the Mediterranean region and is known as a medicinal plant by its therapeutic effect. The stinging nettle has been the subject of numerous studies that have highlighted activities such as antibacterial, antioxidant and anti-hyperglycemic activity as well as determined some chemical composition of different extracts of UDL, obtained by maceration (aqueous, Hydro-ethanolic, Hydro-methanolic).

The extraction of bioactive compounds is carried out from the leaves. The extracts obtained are diluted at different dilutions for each activity.

The determination of the different phenolic substances shows that the flavonoid content is very high in the ethanolic extract followed by the methanolic extract of *Urtica dioica* L. whereas the aqueous extract is the richest in polyphenol followed by the methanolic extract.

The antioxidant activity is studied with the DPPH method and the reducing power test. The results obtained show that the different extracts have an anti-radical activity. The antibacterial activity of *Urtica dioica* L. extracts is recorded against *E.coli*, *S.aureus*, *Bacillus* and *P.aeruginosa* by agar diffusion method, this activity is determined with ethanolic and methanolic extracts for all tested bacterial strains, while the aqueous extract shows no inhibitory effect. The results of the antidiabetic activity note that the treatment with the three extracts allowed the decrease of the glycemia rate, the best decreases were recorded after treatment with the aqueous extract.

The results indicate that the extracts obtained from the leaves of *Urtica dioica* L. can be considered as an antibacterial, antidiabetic and antioxidant agent in the pharmaceutical field.

Keywords : *Urtica dioica* L., antibacterien activity, antidiabetic activity, antioxidant activity, extaction, phenolic substances, flavonoid, polyphenol

ملخص

المملكة النباتية مصدر ممتاز للمركبات النشطة التي تمنحها نشاط مضاد للبكتيريا، مضاد للسكري ومضاد للأكسدة هام وفي كثير من الأحيان مطلوب في الطب البديل وقطاع الاغذية الزراعية.

في هدف معرفة الأنشطة البيولوجية للنباتات الطبية المستخدمة تقليديا ركز عملنا على دراسة الخصائص الطبية ل *Urtica dioica L.*

ال *Urtica dioica L* نوع من فصيلة *Urticaceae* تنمو في منطقة البحر الأبيض المتوسط وتعرف كنبته طبية بتأثيرها العلاجي، القريض موضوع العديد من الدراسات التي ابرزت مختلف الأنشطة كالنشاط مضاد البكتيريا، مضاد للأكسدة وخافض للسكر وكذلك التعرف على بعض المركبات الكيميائية لمختلف مستخلصات *Urtica dioica L* المتحصل عليها عن طريق النقع (في الماء، الايثانول والميثانول)

استخلاص المركبات النشطة حيويًا، تم باستخدام أوراق النبات، المستخلصات المتحصل عليها مخففة بتركيزات مختلفة حسب الأنشطة.

يظهر تحديد مواد الفينول المختلفة ان محتوى الفلافونويد مرتفع جدا في مستخلص الايثانول متبوعا بمستخلص الميثانول في حين ان المستخلص المائي هو الأغنى فيما يخص البوليفينول يليه مستخلص الميثانول.

النشاط المضاد للأكسدة مدروس باستخدام طريقة DPPH واختبار قدرة الارجاع، النتائج المتحصل عليها أظهرت ان مختلف المستخلصات تملك نشاط *Anti radicalaire* كما ان النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصات *Urtica dioica L* سجل ضد السلالات البكتيرية *S.aureus*، *E.coli* و *Bacillus* و *P.aeruginosa* باستخدام طريقة الانتشار على الجيلوز. هذا النشاط حدد في مستخلصات الايثانول والميثانول لجميع السلالات البكتيرية المستعملة في حين ان المستخلص المائي لم يظهر أي تأثير مثبت. نتائج النشاط المضاد للسكري أظهرت ان العلاج بالمستخلصات الثلاث مكن انخفاض نسبة السكر في الدم حيث ان أفضل الانخفاضات سجلت بعد العلاج بالمستخلص المائي.

النتائج تبرز ان المستخلصات المتحصل عليها من *Urtica dioica L* يمكن ان تعتبر كعامل مضاد للبكتيريا، مضاد السكر ومضاد للأكسدة في المجال الصيدلاني

الكلمات المفتاحية: نبات القراص، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للسكري، المواد الفينولية، الفلافونويد، البوليفينول

Introduction

Introduction

Afin de traiter traditionnellement toutes sortes de maladies, l'homme a utilisé les plantes médicinales depuis 7000 ans et certains animaux les consomment dans aussi un but thérapeutique. Environ 35000 espèces des plantes sont employées à l'échelle mondiale à des fins médicinales (Hordé, 2014). La médecine traditionnelle constitue soit le mode principal de soins de santé, soit un complément à ce dernier (Dar et al, 2012).

On estime que plus de 25 % des médicaments utilisés sont à base de plantes. Ces médicaments ont une meilleure compatibilité avec le corps humain, plus efficaces et produisant de moindres effets indésirables (Nidavani et Mahalakshmi, 2014).

D'après Ribeiro, (2018) et Chevallier, (2001), les plantes médicinales présentent aujourd'hui l'objet des recherches modernes en raison de leurs grande diversité en métabolites secondaires qui ont diverses intérêts mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (Baharun et al., 1996).

Au cours des dernières années, les polyphénols ont fait l'objet d'études pour leur implication potentielle dans la prévention de maladies chroniques comme les maladies inflammatoires, infectieuses, cardiovasculaires, le cancer, l'ostéoporose et le diabète. Leur activité de protection était initialement attribuée à leurs propriétés antioxydantes (Tayel et El-Tras, 2012).

L'*Urtica dioica* L. est une plante herbacée vivace, appartenant à la famille d'urticacées porte le nom commun de l'ortie (Ghedira et al. 2009). Elle est peu exigeante pour se développer et elle fait l'objet d'un regain d'intérêt sur le plan de la recherche en raison de son contenu en substance bioactives (DiVirgilio et al, 2015). Cette plante sauvage que l'on peut reconnaître facilement présente partout, ses feuilles contiennent de la chlorophylle, caroténoïdes, des vitamines C, K, B vitamines du groupe (B1, B2 et B5), les tanins, l'huile essentielle, les protéines et minéraux (Fe, Cu, Mn et Ni), alors que la tige et la racine contiennent des flavonoïdes (Akabay, 2003). Elle est utilisée en médecine traditionnelle et moderne (Bhuwan et al, 2014) comme purificateur de sang, hypotensive, diurétique, dans le traitement de l'eczéma, de l'arthrite et des infections urinaires, anti- diarrhéique, antihémorragique, antidiabétique, antirhumatismal (Vajić et al, 2018) anti anémique et anti inflammatoire (Brown, 1995). Cette plante ne s'est jamais laissée surprendre par son contact irritant, c'est sans doute ce qui explique que l'ortie est tombée un peu dans l'oubli (Bertrand et Jeanne, 2008).

Le présent travail a pour objectif : la caractérisation de l'effet antioxydant, antimicrobien et antidiabétique des extraits (aqueux, éthanolique et méthanolique) des feuilles de l'*Urtica dioica* L.

Ce mémoire comporte deux chapitres :

Le premier chapitre est consacré à la synthèse bibliographique regroupant des généralités sur les plantes médicinales, la phytothérapie et une description botanique de la plante étudiée.

Le deuxième chapitre est pour la présentation du matériel et des protocoles expérimentaux utilisés pour l'extraction, la caractérisation des trois extraits étudiés, dosage des polyphénols et flavonoïdes et la recherche de leurs activités antioxydante, antimicrobiennes et antidiabétique. Suivi des résultats des différents tests effectués ainsi que leurs interprétations. Finalement nous avons terminé notre recherche par une conclusion générale sur notre étude.

Chapitre I
Synthèse bibliographique

I. Présentation de la plante étudiée ; L'ortie : (*Urtica dioica* L.)

I.1 Historique

L'ortie, vénérée par les anciens peuples indo-européens des milliers d'années avant l'ère Chrétienne, mais souvent méprisée par le citadin, cette plante pourtant exceptionnelle de par la qualité de ses protéines, de sa richesse en vitamines et en minéraux, a été largement utilisée dans le monde rural et principalement dans les pays froids tels que la Scandinavie, l'Ecosse, la Prusse. Elle occupe une place particulière dans la culture allemande, notamment au nord de l'Allemagne où on l'a cultivée jusqu'à la seconde guerre mondiale et commercialisée comme n'importe quel légume.

En ce XXI siècle, la tendance est le retour au « naturel » plutôt que de produire des substances de synthèse (Bernard.,2010). C'est pourquoi des études se multiplient notamment sur des plantes indigènes. Certaines de ces plantes ont la réputation d'être une panacée et d'autres un « produit miracle » : l'ortie dioïque ou (*Urtica dioica* L.) a l'originalité de correspondre à ces deux catégories donc il ne faut surtout pas s'arrêter à la première impression liée au contact de cette plante qui provoque une piqure douloureuse (Bertrand et Jeanne.,2000).

C'est sans doute ce qui explique que l'ortie est tombée un peu dans l'oubli. On redécouvre actuellement ses qualités ainsi que ses nombreuses applications dans des domaines aussi variés que thérapeutiques, textiles, culinaires ou agricoles. Toutes raisons suffisantes pour l'étudier afin de découvrir ou redécouvrir ce que cette plante sauvage peut nous apporter (valerie, 2010).

I.2 Généralités sur l'ortie

D'après Mostade, (2015) l'ortie dioïque est aussi une grande ortie, elle est la plus répandue, elle pique et possède le plus de propriétés mises à profit par l'homme. C'est une plante vivace ses racines appelées rhizomes survivent en terre durant l'hiver, tandis que sa partie aérienne, tige et feuilles, fanent pouvant atteindre un mètre cinquante centimètres de hauteur.

Elle pousse spontanément le long des murs et des chemins, au bord des haies ou des fossés et bien sûr comme beaucoup le savent, dans les jardins et les montagnes (Couplan., 2013).

On la retrouve sur des sols riches dans des forêts suite à des coupes mais aussi sur tout terrain laissé en friche. Elle est adaptée à de larges conditions climatiques (Guy, 2004).



Figure 1 : *Urtica dioica* L.

I.3 Dénomination de l'ortie

- **Nom latin :** *Urtica dioica* L.
- **Noms français :** ortie élevée, ortie dioïque, ortie piquante, grande ortie.
- **Noms anglais:** Greater Nettle, Nettle, Common Nettle, Tall Nettle, Slender Nettle, Stinging Nettle (Camille et Christine, 2009).

D'après Beloued (1998), Wichtl et Anton (1999), et Ghedira et *al.*, (2009), les noms vernaculaires d'*U. dioica* L. sont les suivants :

- **Arabe :** Elhourayga
- **Kabyle :** Azagtouf
- **Allemand :** Brennessel blatter, Brennessel kraut
- **Italien :** Ortica comune.

I.4 Classification.

I.4.1 Position systématique

Elle est positionnée comme ci-dessous suivant l'Angiosperme Phylogénie Group APGIII en (2009).

Selon Quezel et Santa (1963) , la classification qu'occupe *Urtica dioica* L. dans la systématique est la suivante :

- **Règne :** Plantae
- **Sous règne :** Tracheobionta
- **Embranchement :** Magnoliophyta
- **Sous-embranchement :** Magnoliophytina
- **Classe :** Rosidaeae
- **Sous-classe :** Rosidaeae dialycarpellées
- **Ordre :** Rosales
- **Famille :** Urticaceae
- **Genre :** Urtica
- **Espèce :** *Urtica dioica* L.

I.5 Les différentes espèces de l'ortie

Dans le genre *Urtica*, il existe une cinquantaine d'espèces, dont une trentaine en régions tempérées, huit en Europe et cinq en France. Les principales espèces du genre *Urtica* sont *U. dioica* L., *U. urens* L., *U. pilulifera* L., *U. atrovirens* L. et *U. membranacea* L. (Delahaye, 2015).

I.6 Distribution géographique

De nos jours, l'ortie est répandue dans les zones tempérées sur tous les continents, et originaire d'Eurasie (Camille et Christine, 2009). Elle se trouve dans le monde entier et dans toutes les régions montagneuses jusqu'à 2400m (Draghi, 2005). Elle est indigène de l'Afrique, de l'Asie occidentale, de l'Amérique du Sud et de l'Europe (Zhang et al., 2005).

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

I.7 Ecologie (Milieu de vie)

L'ortie est une plante dite nitrophile qui est à la recherche de l'azote (principalement des nitrates NO₃-), des déchets organiques décomposés dont elle va se servir pour synthétiser des protéines de très grande valeur. D'un autre côté, elle rééquilibre le terrain qu'elle habite.

C'est une plante ferreuse (régularise la teneur en fer du sol) et considérée bénéfique pour toutes les autres plantes qui y poussent. Elle préfère le plein soleil et s'adapte à la mi-ombré grâce à son appareil photosynthétique.

L'*Urtica dioica* L. nous renseigne fidèlement sur la richesse des lieux en fumure avec un pH de 6 à 7, voire plus acides. Elle apprécie les sols plutôt humides, pousse sur tous les terrains, argileux ou sablonneux, calcaires ou siliceux.

Au début de sa croissance, elle nécessite de l'eau. Une fois son système racinaire est développé, elle résiste bien à la sécheresse (Moutsie, 2003; Fleurentin et Hayon, 2008).

I.8 Description botanique

I.8.1 Appareil végétatif

1) Les feuilles

L'ortie présente des feuilles simples charnues, opposées deux à deux, tombantes, dentelées, de couleur vert foncé, riche en chlorophylle (Moutsie, 2008). Elles mesurent environ 1,5-20 cm de long par 0,6-12cm de largeur. Elles sont plus longues que larges (Reaume, 2010 ; Upton, 2013), pétiolées, stipulées, caractérisées par une faible odeur herbacée, velues sur les deux faces et munies de poils que sur le dessus. Prendre une ortie par le dessous est une technique évitant la sensation piquante (Collectif, 1981).



Figure 2 : Feuille d'*Urtica dioica* L.

2) La tige

Cette plante présente une tige velue, dressée, non ramifiée et quadrangulaire ayant des poils urticants et des poils courts, très fibreuse (Schaffner, 1992). Ces tiges sont fortes à section carrée, plus ou moins raides.



Figure 3 : Tige dressée d'*Urtica dioica* L.

3) Les poils urticants

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

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

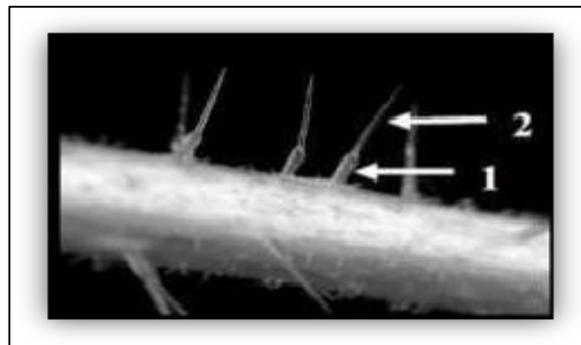


Figure 4 : Position des poils urticants d'*Urtica dioica* L. (Reaume, 2010).

4) Les racines

L'ortie est composée de longues racines de 1 à 5 mm d'épaisseur pourvues d'un chevelu de fines racines ; de rhizomes cylindriques de 3 à 10 mm d'épaisseur (Wichth et Anton, 1991). Ce dernier est considéré comme une racine spécialisée (tige souterraine) de couleur jaunâtre, abondamment ramifié. La fixation d'azote par les rhizomes se fait par une symbiose avec un microorganisme tellurique *Rhizobium frankia* (Langlade, 2010).

I.9 Reproduction

La grande ortie se reproduit selon deux méthodes :

1) La reproduction sexuée

Implique généralement chez elle la présence de plantes mâles et des plantes femelles (espèce dioïque). La floraison a lieu entre juin et septembre - octobre. Après fécondation, une plante située en pleine lumière peut donner jusqu'à 20.000 graines (akènes) qui n'ont pas de dormance et peuvent dès lors germer 5 à 10 jours après avoir atteint la maturité. Elles peuvent rester viables de nombreuses années dans le sol (Crémer et *al.*, 2008).

2) La reproduction asexuée

Les rhizomes servent à la reproduction asexuée, grâce à ce système, la grande ortie est capable de coloniser un grand espace en quelques années. Dans ces colonies, toutes les autres plantes sont rejetées car la concurrence est très forte vis-à-vis de la lumière. En effet, l'ortie a cette capacité de grandir plus haut et plus vite que d'autres plantes afin de sortir ses pousses à la lumière (Crémer et *al.*, 2008).

I.10 Composition chimique d'*Urtica dioica* L.

L'*Urtica dioica* L. synthétise une gamme extraordinaire de métabolites secondaires (Cox et *al.*, 1994). Les scientifiques accordent un important intérêt à sa composition chimique (Tableau 01 et 02) principalement des flavonoïdes, des tanins, des acides gras, des polysaccharides, des stérols, des protéines (Gul et *al.*, 2012) vu son usage traditionnel millénaire (Tita et *al.*, 2009).

D'autre part, les feuilles d'ortie sont riches en glucides (9%), en protides (8%) et en contiennent 80% d'eau (Couplan, 2011). Elles constituent une bonne source de flavonoïdes, de tanins, des acides aminés essentiels, de vitamines, d'hydrates de carbone rares, de plusieurs minéraux et oligo-éléments et des éléments nutritifs (Toldy et *al.*, 2005).

Tableau 1 : Les constituants chimiques des feuilles d'ortie (Ghedira et al., 2009).

<i>Familles</i>	<i>Constituants chimiques</i>
<i>Flavonoïdes</i>	3-glucosides, 3-rutinosides du quercétol, kaempférol, isorhamnétol
<i>Acides phénoliques</i>	Acide caféique et ses esters (acide caféyl-malique), acide Chlorogénique acide néochlorogénique.
<i>Vitamines et Oligoéléments</i>	Acide ascorbique (vitamine C), (vitamine E), vitamine K, pyridoxine B6, cide pantothénique B5, cuivre, zinc, nickel.
<i>Pigments</i>	Chlorophylle (1 à 5%) : 75% α -chlorophylle et 25% β -chlorophylle, carotène : β -carotène et xanthophyles.
<i>Autres</i>	glycoprotéines, sel minéraux lipides, acides aminés libres, Sucre, Huile essentielle, Tanins.

Tableau 2 : Constituants chimiques de différentes parties d'*Urtica dioica* L. (Pinelli et al., 2008).

<i>Poïl urticante</i>	Catécholamines. Acides : acide acétique. acide formique Neuromédiateurs, Acétylcholine, Histamine, Choline
<i>Racine</i>	Coumarines : scopolétoïl. Tanins. Polysaccharides. Flavonoïdes (10 à 60 % de chlorophylle) Chlorophylles A et B.
<i>Tige</i>	Acides phénoliques : Acide 2-O-caféyl-malique Flavonoïdes : Quercétine 3-O-rutinoside Glucoside p-cumaryl Kaempferol 3-O-glucoside Isorhamnetine 3-O-rutinoside

I.11 Utilisations de l'ortie

Depuis l'antiquité, l'*Urtica dioica* L. a été utilisé dans plusieurs produits cosmétiques tels que les shampoings, les dentifrices et les crèmes, en raison de nombreux effets bénéfiques

de leurs applications topiques sur la santé de la peau, en particulier l'effet anti-âge (Semelty et al., 2017). Grâce ses multiples composés chimiques, cette plante est aussi utilisée en plusieurs domaines (Kjuma et al., 2015) .

I.11.1 Utilisation médicinale

Avant que la médecine et pharmacie n'admissent cette plante dans leurs catalogues, elle était employée comme succédané aux irritants même les plus dangereux et les moins avouables. On la préconise contre les rhumatismes et les paralysies (Eloff, 2005).

L'ortie est un tonique général de l'organisme. C'est également un excellent dépuratif, utilisé contre les dermatoses rebelles : Eczéma, psoriasis et dartres. La décoction de feuilles d'ortie, fraîches ou séchées, possède des propriétés diurétiques et galactagogues (elle fait monter le lait). On la conseille donc aux nourrices. Les vertus astringents de notre plante sont mises à profit contre les hémorragies d'origines diverses : crachements de sang, règles trop abondantes, saignements de nez, etc. Ces vertus anti diarrhéiques sont certaines et se montrent précieuses dans les diarrhées des tuberculeux et des affaiblis, ou les entérites muco-membraneuses. Les orties contribueraient, en outre, à faire baisser le taux de sucre dans le sang et seraient utiles dans les cas de diabète. En usage externe, on en prépare des lotions qui passent pour tonifier le cuir chevelu et pour aider à combattre la calvitie .les rhizomes d'ortie s'avèrent efficaces contre les troubles de la prostate. Quant aux graines d'ortie, qui pendent de l'aisselle des feuille durant tout l'été, d'aucuns leur attribuent des vertus aphrodisiaques (Couplan, 2013).

Le tableau 03 comprend les différentes propriétés thérapeutiques d'*Urtica dioica* L.

Tableau 3 : Propriété thérapeutique d'*Urtica dioica* L.

<i>Propriétés Thérapeutiques</i>	<i>Actions</i>	<i>Références</i>
Traitement de cancer prostatique et d'hypertrophie bénigne de la prostate.	Les effets de la racine d'ortie dans - le traitement de l'HBP. (un effet - comparable à celui de la tamsulosine).	Durak et al., 2004. Hoffman, 2006 Konrad et al., 200 Safarinejad, 2005 Schneider et Rubben, 2004
Hypotenseur	Les racines d'ortie peuvent produire des réponses à travers des effets vasodilatateurs,	Blumenthal, 2000 Broncano, 1983.

	Hypotenseur par la libération de l'oxyde d'azote endothélial et par l'ouverture des canaux potassiques, et travers une action inotrope négative	Legssyer et al., 2002. Newall et al., 1996. Tahri et al., 2000. Testai et al.,2002
Diurétique	Augmente le débit urinaire	Blumenthal, 2000. Tahri et al., 2000
Hépatoprotectrice, Dépurative	Elimination des toxines accumulées dans l'organisme (urée-ions de chlorure). La feuille aide à assainir autant la lymphe que le sang en diminuant l'acidité tout en régulant les facteurs inflammatoires.	Turkdogan et al., 2003 Yener et al., 2008.
Anti-anémique. Anti-agrégation plaquettaire	Antifatigue grâce à la forte teneur en fer contenu dans la chlorophylle des feuilles.	- El houari et al., 2006
Anti-allergique, Anti-oxydante	Utile dans le traitement de l'allergie, au pollen, traitement de longue durée. Effets sur les récepteurs clés et les enzymes associés à la rhinite allergique (feuilles)	Gulcin et al., 2004 Ilhami et al., 2004 Mittman, 1990. Roschek et al., 2009
Anti-inflammatoire, Immunostimulateur	Activité inhibitrice sur un œdème - de patte de rat des - polysaccharidique de l'extrait - aqueux des racines. Une activité - immuno-stimulatrice des flavonoïdes glycosides des feuilles sur les neutrophiles	Akbay et al., 2003 Capasso et al., 2003 Glusker et Rossi, 1986 Wagner, 1994

Traitement de rhumatismes et Arthrose	Effet sur la maturation des cellules - dendritiques myéloïdes humaines, - avec diminution de l'induction la réponse des cellules T primaires du rhumatisme articulaire. Consolidation des cartilages grâce à sa richesse en Silice (surtout les racines).	Broer et Behnke, 2002 Wang et Wei, 2001.
Effet sur la fonction cérébrale et la mémoire	La feuille d'ortie est capable de diminuer la transcription des facteurs de l'inflammation, et de stimuler la performance cérébrale	Wichtl et Anton, 2003.
Alopécie (chute des cheveux)	Stoppe la chute des cheveux. (surtout les racines)	Davis, 1982

I.11.2 Utilisation pharmacothérapeutique

Selon la partie utilisée de la plante (partie aérienne et racine), il existe plusieurs formes pharmaceutiques qui ont été fabriquées dans différents laboratoires (Tableau 04).

Tableau 4 : Exemples de médicaments à base d'*Urtica dioica* L. (Boyrie, 2016)

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

I.11.3 Les contre-indications

L'ortie ne doit pas être consommée en cas :

- D'œdème par rétention due à une insuffisance cardiaque ou rénale. Tout comme le millepertuis.
- L'ortie est incompatible avec un certain nombre de traitements médicamenteux, dont elle entrave ou au contraire accentue l'action. En particulier les diurétiques, les anti-inflammatoires, les anticoagulants, les sédatifs, de même que la digitaline et les traitements contre l'hypertension.
- Pour ce qui concerne le diabète, si la tradition considérait l'ortie comme l'un de ses remèdes les études cliniques sont divergentes.
- Il n'est pas conseillée aux femmes enceintes ou qui allaitent, ainsi qu'aux enfants de moins de 12 ans. (Horde, 2014).

II. Métabolites secondaires

Les plantes possèdent des métabolites dits «secondaire» biosynthétisés à partir de métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces, ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants, tels que parasites, pathogènes et prédateurs, mais aussi pollinisateurs et disséminateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires (Krief, 2003). Plus de 8500 métabolites secondaires sont déjà connus. Les plus grands groupes sont les alcaloïdes, terpénoïdes, les stéroïdes et les composés phénoliques. Ils présentent une énorme valeur économique (en particulier pour l'industrie pharmaceutique et la cosmétique) (Alilou ,2012).

Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies (Hartmann, 2007) et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Ils constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour des propriétés anti oxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses (Epifano et al., 2007).

II.1 Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles et odorantes qui sont sécrétées par les plantes aromatiques que l'on extrait par divers procédés dont l'entraînement à

la vapeur d'eau et l'hydro distillation, par pressage ou incision des végétaux qui les contiennent (Oakes et al., 2001). Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire (Angus et al., 1976). Elles sont très utilisées dans l'industrie de produits cosmétiques, pharmaceutiques et agro-alimentaire. Les huiles essentielles se retrouvent dans des glandes minuscules situées dans différentes parties de la plante aromatique : les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, l'écorce et pour certaines plantes dans les racines (Eckert et Knutson, 1994).

II.2 Les polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

En effet les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus (Lugasi et al., 2003).

Les principales classes de composants phénoliques sont : les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (King et Young, 1999 ; Tapiero et al., 2002).

II.3 Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Seyoum et al., 2006), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (Bruneton, 1999 ; Ghestem et al., 2001).

En effet, les flavonoïdes sont omniprésents dans les organes aériens jeunes où ils sont localisés dans les tissus superficiels (Remy et al., 1996). Une meilleure connaissance de la biodisponibilité des flavonoïdes est indispensable pour expliquer leurs effets protecteurs sur la santé (Walle, 2004).

III. Les activités biologiques

III.1 Activité antioxydante

III.1.1 Le stress oxydant

La chaîne respiratoire mitochondriale joue un rôle capital dans la cellule en étant responsable de la transformation de l'oxygène en deux molécules d'eau.

Environ 0,4 à 4% de l'oxygène ne sera pas correctement converti en eau, donnera naissance à des espèces oxygénées activées (EOA) parmi lesquelles figurent des radicaux libres (Pincemail et al., 2001).

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants (Figure 05) dû soit à la défense antioxydant défailante, soit à un état pro oxydatif accru (Berger, 2006).



Figure 5 : Schéma montrant le stress oxydant (Belaïch et Boujraf, 2016).

Ce déséquilibre potentiellement conduisant à des dégâts structuraux et fonctionnels (Pincemail et al., 1999) provoque plusieurs pathologies telles que : le vieillissement, le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, le diabète, l'ostéoporose, l'arthrose, la cataracte et l'athérosclérose (Scalbert et Faradet, 2006).

III.1.2 Les radicaux libres

Un radical libre (RL) est une espèce chimique qui possède un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe. La présence d'un électron non apparié confère à ces molécules une grande instabilité, c'est-à-dire qu'elles sont extrêmement réactives et que leur durée de vie est courte (Carange, 2010). Ils cherchent donc à atteindre un état stable en s'appropriant les électrons des molécules proches qui à leur tour deviennent instables (Capasso, 2013).

Les RL peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (espèces réactives d'azote ERN) (Delattre et al., 2005). Le tableau 05 représente les principaux radicaux libres.

III.1.2.1 Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les radicaux dérivés de l'oxygène représentent la classe la plus importante d'espèces radicalaires générées dans les systèmes vivants (Grassi et al., 2010).

III.1.2.1.1 Les différents types des ERO

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer trois groupes : les radicaux primaires, qui constituent un ensemble restreint de composés radicalaires et dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron.

Ils un rôle particulier en physiologie. Les radicaux secondaires se forment par réaction des radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'acide peroxy-nitrique (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux (Favier, 2003).

Tableau 5 : Les principaux radicaux libres (Haton, 2005).

Oxygène	O ₂
Oxygène singulet	1O ₂
Anion super oxyde	O ₂ ^{•-}
Radical hydroxyle	OH
Radical hydroperoxyde	HOO
Radical peroxyde	ROO
Hydroperoxyde	ROOH
Radical alkoxyde	RO•
Peroxyde d'hydrogene	H ₂ O ₂
Radical oxyde nitrique	NO•

Les ERO possèdent des propriétés physiologiques lorsqu'elles sont produites en faibles concentrations : elles jouent un rôle dans l'expression des gènes au niveau des cellules vasculaires (Bonnefont et al., 2002). Elles participent aussi à plusieurs fonctions : (phagocytose, signalisation cellulaire, fécondation de l'ovule (Haleng et al., 2007)). Les ERO jouent ainsi un

rôle dans le contrôle du processus cellulaires physiologiques (croissance, sénescence, apoptose ou survie des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses) (Bonnefont, 2006).

Le monoxyde d'azote ($\text{NO}\cdot$) joue un rôle important dans la vasodilatation endothéliale (Bonnefont et al., 2002), mais dans le cas d'une production élevée, il provoque des dommages dans l'organisme (Valko et al., 2007).

III.1.2.2 Sources des radicaux libres

Les sources de ces radicaux libres sont très variées : la pollution atmosphérique, le tabac, le rayonnement UV, les radiations ionisantes, le métabolisme cellulaire (activité mitochondriale, réactions enzymatiques (NADH oxydase, xanthine oxydase)), l'inflammation et les métaux toxiques (chrome, cuivre) (figure 06) (Uttara et al., 2009).

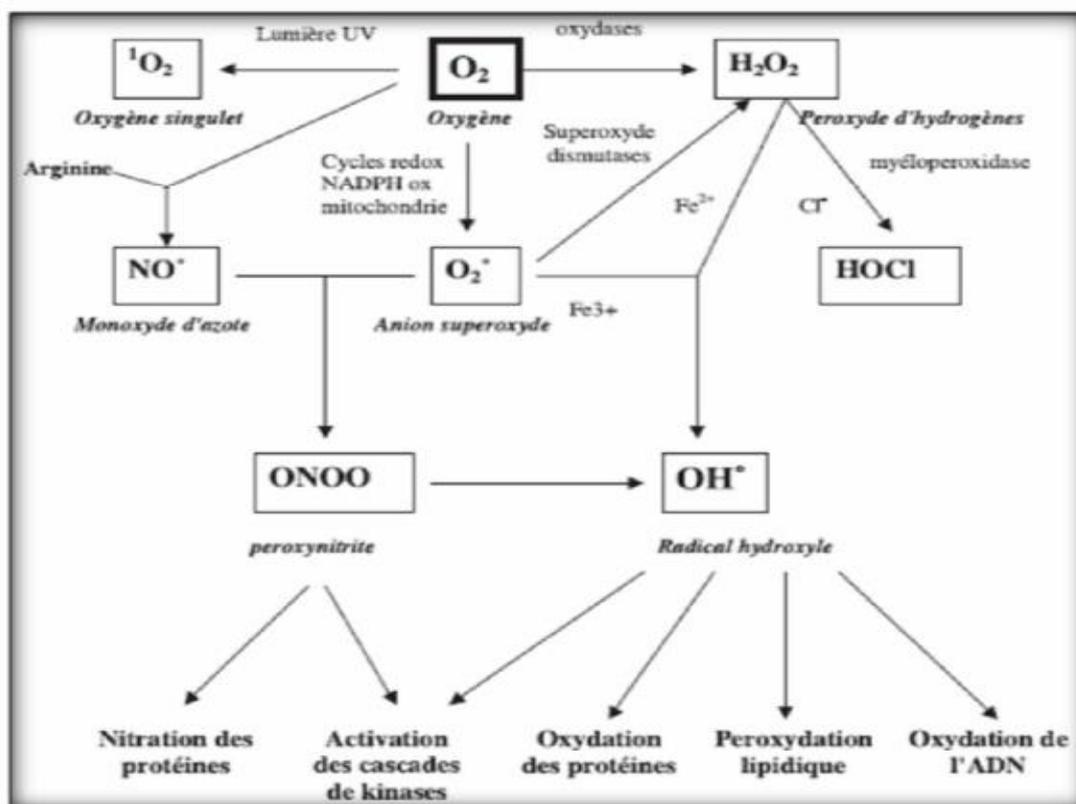


Figure 6 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, 2003).

III.1.2.3 Dommages oxydants des molécules biologiques

L'oxydation des acides nucléiques : susceptibles d'entraîner des modifications des bases azotées, des fragmentations de l'ADN, des ruptures de brins ou à des pontages entre des bases altérant ainsi l'expression génétique (Cooke et al., 2003).

L'oxydation des protéines : il s'ensuit une fragmentation de la protéine, une oxydation des chaînes latérales des acides aminés ou une formation de liaisons croisées entre deux protéines, les fonctions de multiples enzymes, de récepteurs et de protéines de transport cellulaire peuvent ainsi être modifiées (Davies, 2003).

La peroxydation des lipides : surtout des acides gras polyinsaturés (AGPI) qui sont facilement oxydables, aboutissant à la désorganisation complète de la membrane cellulaire, altérant de ce fait ses fonctions d'échanges, de barrières et d'informations (Koechlin, 2006).

L'oxydation des glucides : générant ainsi des intermédiaires réactifs. Les dommages se propagent via l'attaque des radicaux libres formés sur d'autres molécules. C'est toute la machinerie cellulaire qui peut être affectée (Davies., 2003).

III.1.3 Les antioxydants

III.1.3.1 Définition des antioxydants

Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient (Berger, 2006). Le terme « antioxydant » désigne toute molécule capable de stabiliser ou de désactiver les radicaux libres avant qu'ils n'attaquent les cellules (Eboh, 2014).

III.1.3.2 Classification des antioxydants

1) Les antioxydants enzymatiques

- a) **La catalase** : (EC1.11.1.6) est une enzyme responsable de la détoxification du peroxyde d'hydrogène produit dans les conditions physiologiques (Niki et al., 2007).

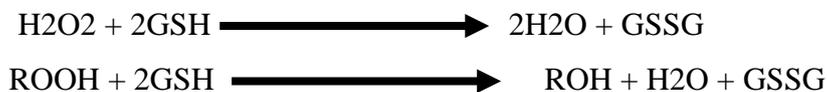


- b) **Les superoxydes dismutases** : ou SOD (EC 1.15.1.1) sont des antioxydants enzymatiques ubiquitaires. Ils représentent l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydant en assurant l'élimination de l' $\text{O}_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire selon la réaction suivante (Haleng et al., 2007).



- c) **Glutathions peroxydases (GPX)** : (EC 1.11.1.19) La glutathion peroxydase joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène, de l'hydroperoxyde

résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de ces dérivés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH) (Piquet et Hebuterne, 2007).



2) Les antioxydants non enzymatiques

a) Le système antioxydant non enzymatique d'origine endogène

Ce groupe de systèmes antioxydants renferme de nombreuses substances parmi lesquelles on peut citer le glutathion, l'acide urique et la bilirubine (Raman et Berry, 2012 ; Haleng et al., 2007 ; Algeciras et al., 2007).

b) Le système antioxydant non enzymatique d'origine alimentaire

L'organisme possède une seconde ligne de défense « les piègeurs de radicaux libres » qui sont des composés pour la plupart apportés par l'alimentation et dont le rôle essentiel est de neutraliser les effets toxiques des ERO, limitant ainsi toute atteinte de l'intégrité cellulaire (Koechlin, 2006).

- **La Vitamine E** : Cette vitamine fait partie de la famille des tocophérols, α -tocophérols est la forme la plus active (Cuvelier et al., 2003). Elle est capable de piéger chimiquement l'oxygène singlet et aussi de réagir avec le radical hydroxyle HO•. Mais son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux peroxydés ROO• pour former un radical tocophéryle (Deliatre et al., 2005).
- **La vitamine C** : Ou acide L-ascorbique est un antioxydant hydrosoluble souvent considéré comme le principal antioxydant des fluides extracellulaires. En plus de réagir directement avec les ERO, la vitamine C permet la régénération d'autres antioxydants, tel que l' α -tocophéol, le glutathion, l'urate et les α -carotènes (Carra et Frei, 1999) [64].
- **Le β carotène** : Il appartient à la grande famille des caroténoïdes. Le β -carotène est notamment capable de piéger les radicaux hydroxyles OH et peroxydes RO₂ et ainsi d'inhiber les chaînes de peroxydations lipidiques, il neutralise également l'oxygène singlet $^1\text{O}_2$ (Jean et Genevève, 2008).
- **Les oligoéléments** : Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes

antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique (Garait, 2006).

- **Les polyphénols** : Les polyphénols notamment les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, ces activités sont attribuées en partie aux propriétés antioxydants. Car ils sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (Fuhrman et al.,1995).

L'action antioxydant ne s'exerce pas seulement par l'inhibition et la désactivation des radicaux libres, elle se manifeste aussi par la chélation des traces d'ions métalliques responsables de la production d'ERO (Cotelle, 2001).

Tableau 6 : résume les principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées (Koechlin, 2006).

<i>Principaux nutriments antioxydants</i>	<i>Sources alimentaires</i>
Vitamine C	Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre et dans les œufs et les noix
β -carotène	Légumes et fruits orangés et vert foncés
Sélénium	Poisson, œufs, viandes, céréales et volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres et produits laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes et thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, baies et cerise
Tanins	Lentilles, thé, raisins et vin
Métabolisme de cystéine, glutathion	Caséine, Lactalbumine (petit-lait), produits laitiers, Brocoli, chou, cystéine, glutathion œufs, poissons et viandes

III.1.3.3 Mode d'actions des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singul et, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2006).

Selon leur mode d'action, les antioxydants sont classés en deux catégories (Figure 07) :

- Système de défense primaire : comme la catalase, le glutathion (GSH). Ces antioxydants préviennent la production de ROS en limitant la phase d'initiation des réactions d'oxydation.
- Système de défense secondaire : à titre d'exemple les tocophérols, sont capables de piéger directement les radicaux oxydants et sont ainsi des antioxydants « briseurs » de la chaîne radicalaire bloquant ainsi les réactions de propagation (Buettner, 1993).

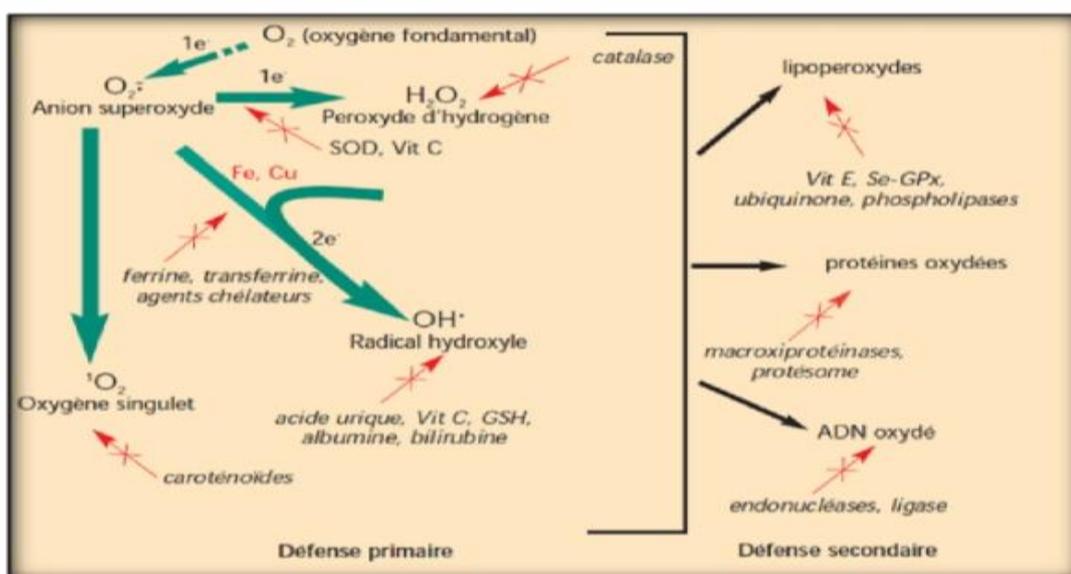


Figure 7 : Régulation de la production des espèces oxygénées activées (EOA) par des systèmes antioxydants de défenses primaire et secondaire (Pincemail, 2001).

III.2 L'activité antibactérienne :

Les bactéries sont des procaryotes (Boudjouref, 2011). Elles ont généralement un diamètre inférieur à $1\mu m$. On peut les voir au microscope optique. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes) (Nauciel et Vildé., 2005).

III.2.1 Généralités sur les bactéries testées

➤ *Escherichia coli*

L'allemand Theodor Escherich découvre pour la première fois la bactérie *Escherichia coli*, bactérie isolée à partir de celles de nourrissons. Sa première nomination *Bacterium coli*

commune et en hommage aux travaux de T. Escherich elle est devenue *Escherichia coli*. (Zhar, 2011).

E. coli est une bactérie versatile qui comprend à la fois des bactéries pathogènes, commensales du tube digestif et adaptées à l'environnement. (Diallo, 2013). C'est une bactérie mobile non exigeante. Capable de croître sur des milieux ordinaires, de fermenter le lactose et de produire l'indole, sa température optimale est de 37°C (Baliere, 2016).

➤ ***Staphylococcus aureus***

En 1881, *Staphylococcus aureus* a été mis en évidence par Alexander Ogston, qui découvre des bactéries rondes, aéro-anaérobie facultatives, immobiles, groupées en forme de grappes de raisin après une analyse microscopique d'infections purulentes. (Alioua, 2015).

Chez l'homme, *S.aureus* se trouve dans plusieurs sites corporels mais coloniser principalement les fosses nasales qui constitue le principale gîte (smith, 2021).

➤ ***Pseudomonas aeruginosa***

En 1882, Gessard découvre *P. aeruginosa* pour la première fois à partir des particules circulaires dans un pus de coloration bleu-vert, c'est le pigment pyocyanique (la pyocyanine) l'origine de cette coloration (Chaker, 2012). *P. aeruginosa* est omniprésente dans l'environnement, notamment dans les sols, les milieux humides et dans l'eau. (Kerr et Snelling, 2009).

La concentration en *P. aeruginosa* dans l'environnement est très faible pour présenter un risque chez un individu en bonne santé, elle est très mobile et tend à coloniser des sites riches en nutriments. (Hardalo et Edberg, 1997).

La bactérie responsable a plusieurs types d'infection, principalement touchent voies respiratoires ou pulmonaires, système urinaires, brûlures, plaies ouvertes ou aux septicémies (infection du sang) (Mena et Gerba, 2009).

➤ ***Bacillus***

Le genre *Bacillus* a été créé en 1872 par Ferdinand Cohn à partir de l'air d'une étable au Royaume-Uni (Frankland et Frankland, 1887)

Bacillus sont des bactéries aérobies ou aéro-anaérobies facultatives, tirent leur énergie par respiration ou fermentation. Sont hétérotrophe, saprophytes et ubiquitaire (Bounoua, 2008).

Tableau 7 : classification des bactéries.

Gram	Morphologie	Genre	Espèce
Positif	<i>En amas</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Grands</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
Négatif	<i>Bacille à coloration bipolaire</i>	<i>Enterobactériaceae</i>	<i>Escherichia coli</i> (<i>colibacille</i>)
	<i>Bacille aérobies stricts</i>	<i>Pseudomonaceae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (<i>bacille pyocyanique</i>)

III.2.2 Les infections microbiennes

Les maladies infectieuses représentent la cause majeure de mortalité dans le monde, ce sont des affections provoquées par des microorganismes pathogènes et touchent des millions de personnes dans le monde (Alwash et al., 2013).

L'infection bactérienne est la propagation d'une souche de bactéries nuisibles sur ou dans le corps. Les bactéries peuvent infecter n'importe quelle partie du corps. La pneumonie, la méningite et l'intoxication alimentaire ne sont que quelques-unes des maladies pouvant être causées par des bactéries nocives.

Le traitement des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée et peut entraîner la sélection de souches multi-résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base de plantes (Billing et Sherman, 1998).

III.2.3 Les antibiotiques

Les antibiotiques se définissent comme des molécules capables d'inhiber la croissance ou même de tuer des bactéries (Van et Tulkens, 2008). Les antibiotiques actuels peuvent se diviser en quatre groupes, en fonction de leur cible pharmacologique : antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne et membrane cytoplasmique, antibiotiques actifs sur la synthèse protéique, antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs précurseurs, et antibiotiques inhibiteurs de voies métaboliques (Lavigne, 2007) .

Chapitre II
Partie expérimentale

Matériels et méthodes

I. Objectif de travail

Le but principal de notre travail consiste à mieux valoriser les caractéristiques de la grande ortie *Urtica dioica* L. comme une plante médicinale, notamment par l'étude de ces différentes activités biologique

II. Matériel et méthodes utilisés

II.1 Matériel végétal

La cueillette des feuilles de la grande ortie *Urtica dioica* L., est effectuée entre le mois de février et avril 2022 dans leur site naturel situé dans la vielle de Mila (centre-ville) qui se trouve à l'Est de la wilaya de Mila.

Selon la classification de Köppen-Geiger, ce site est caractérisé par un climat méditerranéen avec un été chaud et humide et sec, avec une température annuelle moyenne de 16 °C, dont les mois les plus chauds atteignent 25 à 38 °C, alors que les plus froids 6 à 10 °C.



Figure 8 : la région de la vielle de Mila

II.1.1 Mode d'extraction

L'extraction des plantes médicinales est très importante, afin d'obtenir un extrait de bonne qualité et grande quantité l'extraction par solvants tel que le méthanol, l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol etc... est la méthode la plus utilisable, on les choisi de manière qu'ils ne réagissent pas chimiquement avec l'extrait.

II.1.2 Préparation des extraits

1) Séchage

Les feuilles de la plante qui sont fraîchement récoltées sont coupées en petits morceaux, ensuite séchés sur un papier dans un endroit sec loin de l'humidité, à l'ombre et à température ambiante pendant quelques jours.



Figure 9 : séchage des feuilles d'*Urtica dioica* L.

2) Macération

Les feuilles sèches d'*Urtica dioica* L. sont utilisées pour la préparation des solutions aqueuse, méthanolique et éthanolique par la méthode de macération

Dans un erlenmeyer, On mit 30g de l'ortie sèche à l'aide d'un entonnoir et spatule dans 200 ml de chaque solvant (L'eau distille, le méthanol et l'éthanol).



On ferme les erlenmeyers par un parafilm pour éviter l'évaporation des solvants alcooliques et on les couvre par un papier aluminium à l'abri du soleil et l'air.



Les erlenmeyers sont mis dans l'agitateur pendant 24h pour la solution aqueuse et 48h pour les solutions méthanoïque et éthanoïque.



3) Filtration

Afin d'améliorer la filtration, on a filtré les solutions deux fois, la première par une combinaison de compresse et coton et la deuxième par un papier-filtre.

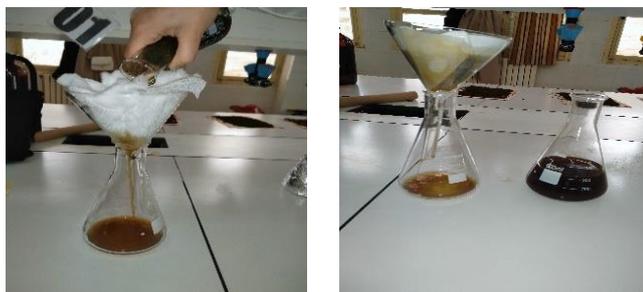


Figure 10 : filtration des extraits

4) Evaporation

Le filtrat obtenu est mis dans le rotavapeur jusqu'à l'évaporation de tout le liquide et l'obtention d'une pâte



Figure 11 : évaporation dans le rotavapeur

On a ajouté quelques gouttes des solvants utilisés, versé chaque extrait dans des boîtes de pétries et placé ces derniers dans l'étuve jusqu'au séchage.



Figure 12 : conservation des extraits dans l'étuve

Après le séchage, L'extrait obtenu est mis dans des tubes sec et conservé à 4°C jusqu'à utilisation.



Figure 13 : Eppendorf contenant des extraits secs

II.1.3 Calcul du rendement

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait obtenu et le poids de la poudre du plant

$$Re \% = \frac{Me}{Ms} \times 100$$

Re : Rendement en extrait (%)

Me : Masse de l'extrait obtenu en g

Ms : Masse de la poudre sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

II.2 Méthode d'analyse des métabolites secondaires

II.2.1 Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols ont été déterminés par le spectrophotomètre suivant de protocole de Ribéreau-Gayon, (1970), qui a utilisé le réactif de Folin-Ciocalteu, ce dernier est un acide de couleur jaune qui réagit avec les résidus phénoliques afin de former un complexe colore en bleu.

Au début on mélange 2mg de chaque extrait avec 1ml de chaque solvant ensuite on ajoute 40µl de chaque extrait (méthanolique, éthanolique et aqueux) à 1,5ml de réactif Folin-

Ciocalt eu (10%) et 1,5ml de Na₂CO₃ à 7,5% (M/V) dans une fiole jaugée de 100ml et on l'a rempli avec l'eau distille. Ensuite on incube le tout pendant 30 min à une température ambiante.

La lecture est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à 765 nm. Le blanc est préparé de la même façon sauf que l'extrait est remplacé par le solvant.

La courbe d'étalonnage est réalisée avec l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de chaque extrait.

II.2.2 Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode d'AlCl₃ décrite par Djeridane et al., (2006) ainsi que Bousiaf, (2006) avec de légères modifications.

On a préparé les extraits par le mélange de 2ml de chaque extrait sec avec 1ml de chaque solvant. Ensuite, 1ml de chaque extrait préparé est mélangé avec 1ml de solution de chlorure d'aluminium (AlCl₃). Le mélange est incubé pendant 10 min à température ambiante en obscurité et l'absorbance est mesurée à 430 nm. La quantification des flavonoïdes est faite en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par la quercétine et la teneur est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait.

II.3 Activités biologiques

Depuis longtemps, les plantes médicinales sont considérées comme une thérapie pour de nombreuses maladies en raison de leurs propriétés chimiques. Aujourd'hui, la recherche d'une alternative dans les plantes est due à la toxicité qui existe dans les antioxydants synthétiques, ainsi que de la résistance des microbes aux antibiotiques.

II.3.1 Activité antibactérienne.

Tableau 8 : Les bactéries testées

Bactérie	Code
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10987

II.3.1.1 Techniques d'étude de l'activité antibactérienne

1) Stérilisation du matériel

Le matériel (les pinces, les embouts, les tubes, les disques en papier Whatman enrobés dans du papier aluminium), les solutions, et les milieux de cultures doivent être stérilisés par autoclavage à 121°C pendant 20 à 30 min.

2) L'inoculum bactérien

Les souches bactériennes sont réactivées dans un milieu nutritif par incubation dans l'étuve à 37 °C pendant 24h pour optimiser leur croissance.

Une suspension bactérienne est réalisée par l'ajoute de 5ml de l'eau physiologique dans plusieurs tubes à visse puis auto-claver pendant 2h à 121°C pour les stérilisés. Ensuite on racle les colonies isolée et identiques (des souches auparavant réactivées) à l'aide d'une pipette pasteur et on les décharger dans les tubes qui contient l'eau physiologique stérile.

La turbidité de cette suspension est réalisée par la mesure de la densité optique des concentrations des différentes solutions (cette mesure se fait à l'aide d'un spectrophotomètre à 625 nm et le DO doit être à l'intervalle de 0,08 et 0,12).

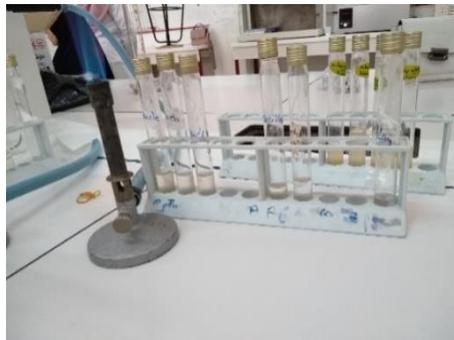


Figure 14 : préparation de L'inoculum bactérien

3) Préparation de milieux de culture

Le milieu utiliser pour la culture des différentes souches bactériennes testées est le milieu Muller-Hinton agar.

Dissoudre de la gélose dans une micro-onde ou bien un bain-marie et le coulé dans des boîtes pétries avec une épaisseur de 3 à 4mm. Apres les boîtes sont laissées pour séchage.

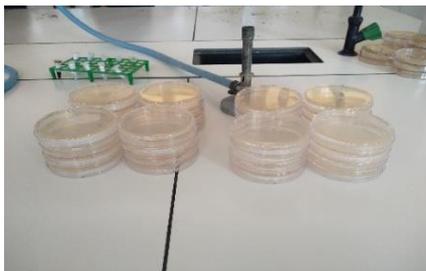


Figure 15 : milieux de culture préparée

4) Préparation des extraits

Chaque extrait a été préparé à une concentration de 300 mg avec 1ml de DMSO avec l'extrait méthanolique et éthanolique et pour l'extrait aqueux on utilise 1ml de l'eau distillée stérile au lieu de la DMSO, ensuite on a dilué la solution mère 4 fois pour obtenir de cinq concentrations.

5) Evaluation de l'activité antibactérienne

Ce test a été réalisé par la méthode de diffusion en milieu solide qui consiste à la détermination des diamètres des zones d'inhibition (Gupta et al., 2010).

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur les boîtes pétri. Un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne puis frotté sur toute la surface de la gélose, de haut en bas et en stries ajusté. Cette opération est répétée deux ou trois fois, en tournant la boîte pétrie 60° à chaque fois. Ensuite à l'aide d'une pince stérile, les disques imbibés dans l'extrait sont délicatement déposés à la surface de la gélose. A la fin les boîtes de pétrie sont fermées et incubées à l'étuve à température de 37°C pendant 24h.

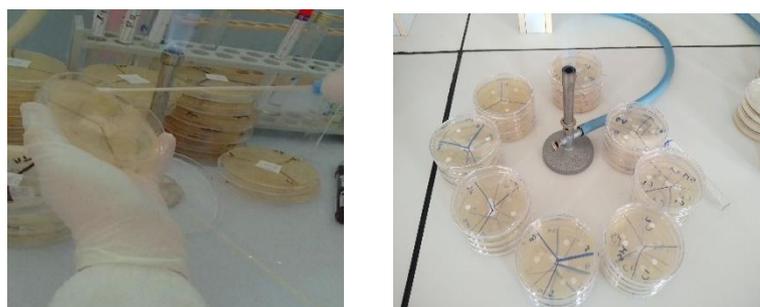


Figure 16 : ensemencement bactérienne

6) La lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque. D'autre façon, les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition (Doughari et al. 2007).

II.3.2 Activité antioxydant

Pour étudier l'activité antioxydant de nos extraits, on a choisi la méthode qui utilise le DPPH (1, 1-diphényl-2-picryl-hydrasyl) (fig 17), comme un radical libre relativement stable violet (Sanchez, 2002). Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit par un capteur de radicaux libres. On peut résumer la réaction selon la forme de l'équation suivante :



Le (AH)_n représente un composé capable de donner un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en molécule DPPH-H (jaune) (Brand-Williams et al, 1995).

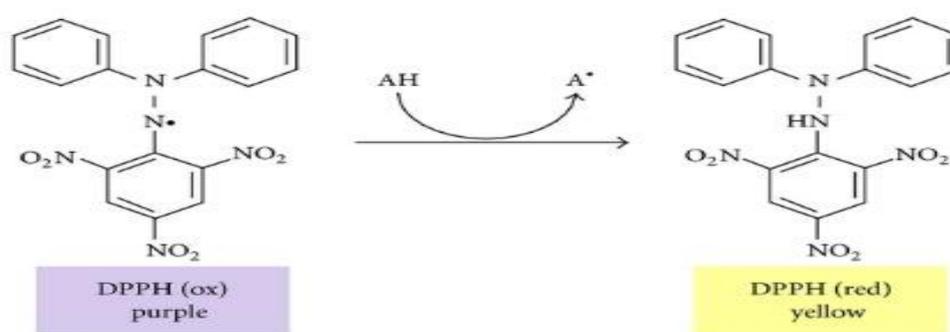


Figure 17 : Évaluation de l'activité antioxydant par le test du DPPH

On prépare une solution de DPPH par mélanger 4mg de ce dernier avec 100ml de méthanol ensuite on mesure l'absorbance de cette solution avec un spectrophotomètre à 517nm. On trouve les résultats dans un intervalle de [0.4 à 0.8].

Pour la préparation des solutions des extraits, on mélange 25mg de chaque extrait sec avec 50 ml de ces solvants (éthanol, méthanol et eau).

Un volume de 500µl de chaque extrait (avec dilution 0.5, 1, 2 et 3) est mélangé avec 2.5ml de la solution de DPPH, après agitation les tubes sont incubés pendant 30 min à l'obscurité, la décoloration de ces derniers par rapport au contrôle négatif (contiennent uniquement la solution de DPPH) est mesurée à 517 nm (Prakash et al 2007).

Le pouvoir anti-radicalaire de l'extrait est exprimé en pourcentage d'inhibition du radical DPPH par la formule suivante :

$$\%I = ((\text{Ablanc} - \text{Aéchantillon}) / \text{Ablanc}) \times 100$$

II.4. Activité antidiabétique

II.4.1. Matériel animal

II.4.1.1. Local de travail

Ces travaux ont été réalisés dans un local mis en place en tant qu'animalerie, au centre universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila, préparé préalablement pour assurer le maintien hygiénique et prophylactique du lieu où se déroulera l'élevage des animaux pour le maintien des conditions qui leur seront favorables.

II.4.1.2. Les animaux d'expérimentation

L'étude est effectuée chez des lapins, de souche locale *Oryctolagus cuniculus domesticus*, de sexe mâle et femelle, pesés de 900g à 2300g et âgés d'environ 7 mois et élevés dans les mêmes conditions.

Le 07 /02 / 2022 les lapins sont placés dans l'animalerie du centre universitaire Abdelhafid Boussouf Mila, les lapins sont repartis aléatoirement en groupes de 5 dans des cages standard pendant une période d'acclimatation de 2 semaines avant d'être utilisés pour les différentes expériences, au cours de cette période les lapins ont un accès libre à la nourriture et l'eau. Ils sont maintenus à une température constante (22 ± 2) °C soumis en alternance à un cycle lumière / obscurité de 12 / 12h. L'identification individuelle des lapins se fait par numérotation au niveau de l'oreille avec un marqueur permanent.



Figure 18 : Lapins au niveau de l'animalerie

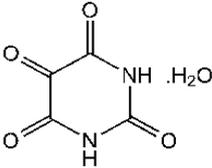
II.4.1.3. Produit médical

II.4.1.3.1. Définition de l'alloxane

L'alloxane est un dérivé pyrimidique de l'acide urique, découvert pour la première fois en 1818 par Brugnaletti, puis à nouveau en 1838 par Wohler, c'est un composé organique basé

sur un squelette de l'hétérocyclique de la pyrimidine produit chimique et est le plus souvent utilisé pour l'induction du diabète expérimental (Etuk, 2010).

Tableau 9 : Propriétés chimiques d'alloxane.

<i>La formule chimique</i>	
<i>Nom chimique</i>	2, 4, 5,6(1H, 3H)-pyrimidine tétraone monohydrate.
<i>Structure chimique</i>	$C_4H_2N_2O_4$
<i>Masse moléculaire</i>	160,09 g/mol.
<i>Point de fusion</i>	253°C

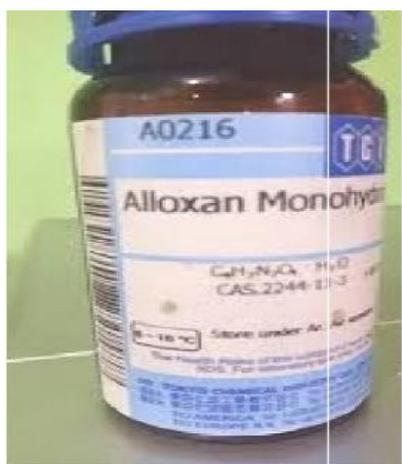


Figure 19 : Alloxane

II.3.2.1 Mécanisme d'action de l'alloxane

L'absorption de l'alloxane par les transporteurs GLUT2 sur les cellules bêta entraîne une destruction rapide des cellules. Lorsque l'alloxane pénètre dans la cellule bêta, les espèces réactives de l'oxygène réduisent l'alloxane en acide dialurique, qui peut ensuite se réoxyder en alloxane et générer des radicaux libres, tels que le superoxyde. Le superoxyde peut former de l'hydrogène peroxydase et réduire les ions Fe^{3+} pour produire des radicaux hydroxyles, qui endommagent tous deux l'ADN des cellules bêta, entraînant une fragmentation et la mort cellulaire finale.

Il a également été suggéré que l'hydrogène peroxydase joue un rôle dans l'augmentation du calcium intracellulaire qui entraîne le pic initial élevé des taux d'insuline après l'administration d'alloxane, ce qui peut en soi endommager les cellules bêta. (Szkudelski, 2001).

II.3.3 Méthode d'évaluation d'activité anti-hyperglycémiant d'extraits de *Urtica dioica* L.

II.3.3.1 Induction chimique du diabète

Après un jeûne d'une nuit, les lapins rendus diabétique par administration sub-cutanée d'une dose de 250mg/kg de poids vif soit un volume de 2ml/kg d'une solution d'alloxane monohydrate (détruit les cellules β) dilué dans une solution saline. Le groupe non traité par la solution diabéto-gène représente le groupe témoin, n'est pas traité.

Les aliments doivent être donnés ad-libitum ou selon le bon vouloir aux animaux, 30 minutes après l'administration du médicament. Alors que, la solution de sérum glucosé avec une concentration de 5% est ajoutée dans l'eau potable des lapins, pendant 24h, en vue de surmonter l'hyperglycémie provoquée par l'alloxane. Après la destruction des cellules β pancréatiques. Quelques heures plus tard, les lapins sont suivis par la mesure de la glycémie et du poids corporel.

II.3.3.2 Mesure de la glycémie

La glycémie de base (G0) de chaque lapin est constatée avec un lecteur glucomètre à bandelettes réactives (Vital-Check). Après nettoyage avec l'alcool, Une goutte de sang prélevée d'une veine marginale de l'oreille de chaque lapin, en utilisant des lames de bistouris, est placée sur la bandelette glucométrique pour lire le taux de glucose dans le sang.

Après 72h d'administration d'alloxane, l'induction du diabète est confirmée par la mesure du taux de glucose sanguin à jeûne. Seulement les lapins avec un taux de glucose au-dessus de 2g/l sont considérés diabétiques, et sont utilisés dans cette expérimentation.

En générale, le glucomètre est constitué d'une couche absorbante où la goutte est placé, elle retient les globules rouges et ne laisse diffuser que le plasma vers les couches inférieures, où se trouve le réactif (essentiellement glucose-oxydase) associé à un chromogène. La coloration obtenue est mesurée par réflectométrie dans la lecture.



Figure 20 : Mesure de la glycémie des lapins

II.3.3.3 Répartition des animaux

Afin d'estimer l'effet anti-hyperglycémiant d'*urtica dioica* L. les extraits sont testés sur les lapins, répartis sur cinq lots, après une période d'acclimatation. Les lapins de chaque lot ont presque le même poids de départ dont 20 sont rendus diabétiques mais 5 sont normaux.

Lot 01 : Lapins normaux (témoins T).

Lot 02 : Témoins malades non traités (MNT)

Lot 03 : Lapins malades traités avec l'extrait aqueux.

Lot 04 : Lapins malades traités avec l'extrait méthanolique.

Lot 05 : Lapins malades traités avec l'extrait éthanolique.

Les lapins sont mis à jeun de 16h à 9h du matin avant l'administration des extraits, la glycémie de base est mesurée au début de l'expérimentation

II.3.3.4 Gavage des extraits

Les lapins des différents lots sont soumis à un gavage intra-gastrique, à l'aide d'une sonde.

La glycémie est mesurée avec un lecteur glucomètre, sur une goutte du sang prélevée à partir des lapins à des temps réguliers. Le tableau suivant indique les doses, les extraits et les poids.

Tableau 10 : Doses administrées aux différents lots.

<i>Lots</i>	<i>Effectifs</i>	<i>Poids moyen (g)</i>	<i>Doses injectées (ml)</i>
<i>T</i>	5	1604	0
<i>MNT</i>	5	1609	402.35
<i>M T E ETHANOL</i>	5	1569	392.2
<i>M T E ETHANOL</i>	5	1674	418.5
<i>M T E AQUEUX</i>	5	1585	396.25

II.3.3.5 Evaluation du poids corporel

Pour mettre en évidence l'influence des extraits sur l'évolution de la glycémie chez les lapins témoins et traités l'évaluation continue des poids corporels est nécessaire. Les lapins sont pesés périodiquement au cours de l'expérimentation avec une balance.

II.3.3.6 Abattage et prélèvement sanguin

Les lapins, à jeun pendant une nuit, sont sacrifiés par dislocation cervicale après anesthésie avec le formol. Le sang est mis dans des tubes héparinés centrifugés pendant 10 minutes, le sérum est recueilli et conservé à -20°C pour les dosages biochimiques de la glycémie.

II.3.4 Méthodes des dosages biochimiques du sang

II.3.4.1 Dosage du glucose

1) Principe

Le glucose oxydase (GOD) catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique, le peroxyde d'hydrogène produit se détecte avec l'accepteur chromogène d'oxygène, phénol 4-animophénone (4-AF), en présence de la peroxydase (POD).

2) Préparation du réactif

Réactif 1 <i>Solution tampon</i>	Tampon tris phénol	PH =7 100mmol/l 0.3mmol/l
Réactif 2 <i>Enzyme</i>	Glucose oxydase Peroxydase amino 4- Antipyrine	10000 U/l 1000 U/l 2.6 mmol/l
Réactif 3 <i>Standard</i>	Glucose	100 mg/dl 1 g/l 5.56 mmol/l

On dissout le flacon R2 dans le flacon R1 avec agitation. Le réactif est stabilisé 8 semaines à 20 - 25 °C ou 8 mois à 2-8 °C.

3) Mode opératoire

Le tableau ci-dessous affiche les différentes quantités des mélanges

	<i>Blanc</i>	<i>Standard</i>	<i>Echantillon</i>
Standard	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	10 µl
Réactif	1000 µl	1000 µl	1000 µl

Après une incubation de 10 minutes à 37°C ou 30 minutes à 20°C, avec un spectrophotomètre à une longueur d'onde 505 nm les DO sont enregistrées.

Le taux de glycémie est calculé suivant la formule

$$\text{Glucose} = (\text{DO Echantillon} / \text{DO Standard}) \times n$$

n= 100g/l ; n=1mmol/l ; n=5.56mg/dl

Résultats et discussion

I. La détermination du rendement

Pour extraire les principes actifs présents dans les feuilles d'*Urtica dioica* L., on pratique une extraction de type macération. Les résultats du rendement des trois extraits de la plante obtenus sont représentés dans le tableau 11 et la figure 21.

Tableau 11 : Rendement d'extraction des différents extraits d'*Urtica dioica* L.

<i>Extrait</i>	<i>Aqueux</i>	<i>Ethanoïque</i>	<i>Méthanoïque</i>
<i>Rendements d'extraction %</i>	45	10	15.9

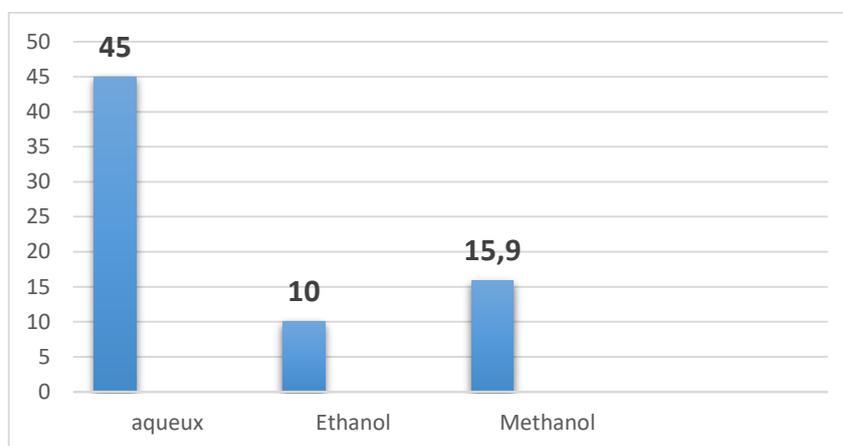


Figure 21 : Rendement d'extraction des trois extraits d'*Urtica dioica* L.

Selon les résultats enregistrés dans le tableau 11 et la figure 21, le rendement d'extraction le plus élevé est noté chez l'extrait aqueux dont le pourcentage atteint le maximum avec une valeur de 45 %, suivi par celui de l'extrait méthanolique avec un pourcentage de 15.9 % alors que le rendement le plus bas est enregistré chez l'extrait l'éthanolique avec une valeur de 10 %.

En comparaison avec d'autres études, le rendement d'extraction pour l'extrait aqueux est supérieur à celui mentionné par Cheyma et Zeyneb, (2019) (9.62 %). Soukko, et al, (2019) rapportent que le rendement de l'extrait méthanoïque est de 13.48%, ce pourcentage est légèrement inférieur au pourcentage enregistré dans notre étude (15.9 %). Pour l'extrait éthanoïque, Nadia et Zahira, (2016) affirment que le rendement est de 16%, ce pourcentage est

légèrement supérieur au pourcentage enregistré dans notre étude pour le même extrait (10 %). Cette différence dans le rendement d'extraction peut être expliquée par l'origine géographique de la plante, le choix du solvant d'extraction, la période de récolte, le stade de croissance et les conditions de séchage (Daudi et al., 2015).

II. Dosage des différentes substances phénoliques

II.1 Dosage des polyphénols totaux

Les résultats de la teneur en polyphénol totaux des différents extraits sont rapportés dans le tableau 12 et la figure 22

Tableau 12 : Teneur des polyphénols totaux d'extrait aqueux, méthanolique, éthanolique d'*Urtica dioica* L.

<i>Extrait de l'UDL</i>	<i>aqueux</i>	<i>Eth</i>	<i>meth</i>
<i>Teneur en phenols Mg GAE/g</i>	0.032	0.005	0.022

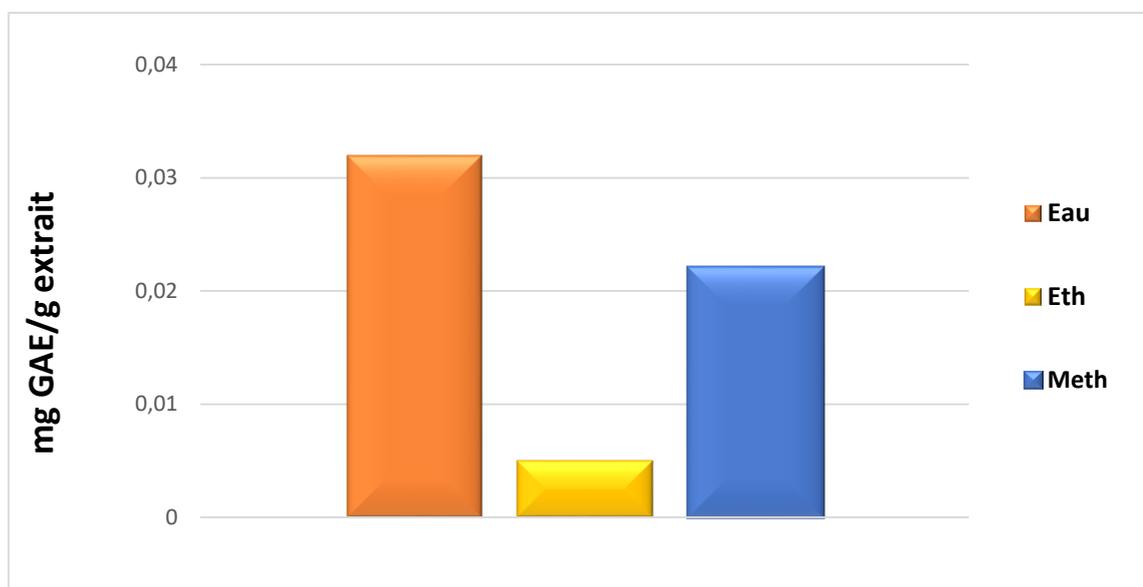


Figure 22 : comparaison de la teneur en phénols totaux dans les différents extraits d'*Urtica dioica* L.

Les résultats de la teneur en polyphénols totaux montrent que les valeurs maximales sont enregistrées dans l'extrait aqueux d'*Urtica dioica* L. (0.032 mg GAE/g) d'extrait, suivi par ceux de l'extrait éthanolique et méthanolique avec des valeurs de (0.005 et 0.022) mg GAE/g respectivement.

Des études antérieures menées par Josef Hudec et al., (2007) en utilisant l'extraction à l'éthanol de l'ortie ont rapporté une valeur similaire (7,62 mg GAE g⁻¹). Cependant, Pourmorad et al., (2006) mentionnent que les valeurs peuvent atteindre (24,1 mgGAE.g⁻¹) d'extrait méthanoïque de la même plante.

Kukric et al., (2012) rapportent qu'une teneur en composées phénoliques peut atteindre de (208.37 mg GAE/g) d'extrait d'ortie en utilisant l'éthanol 80% comme solvant d'extraction.

En effet, le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à l'autre. Cela est attribué aux facteurs climatiques et d'environnement, la zone géographique (Milianskas et al., 2004) et le patrimoine de la plante (Lee et al.,2003). La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent aussi influencer la teneur en phénols totaux (Marais et al., 2011).

II.2 Dosage des flavonoïdes

Les résultats de la teneur en flavonoïdes des différents extraits sont mentionnés dans le tableau 13 et la figure 23

Tableau 13 : Teneur des flavonoïdes d'extrait aqueux, éthanoliques et méthanoliques d'*Urtica dioica* L.

<i>Extraits de l'ortie</i>	<i>Aqueux</i>	<i>Éthanol</i>	<i>Méthanol</i>
<i>Teneur en flavonoïdes Mg EQ/mg</i>	0.603	1.912	0,299

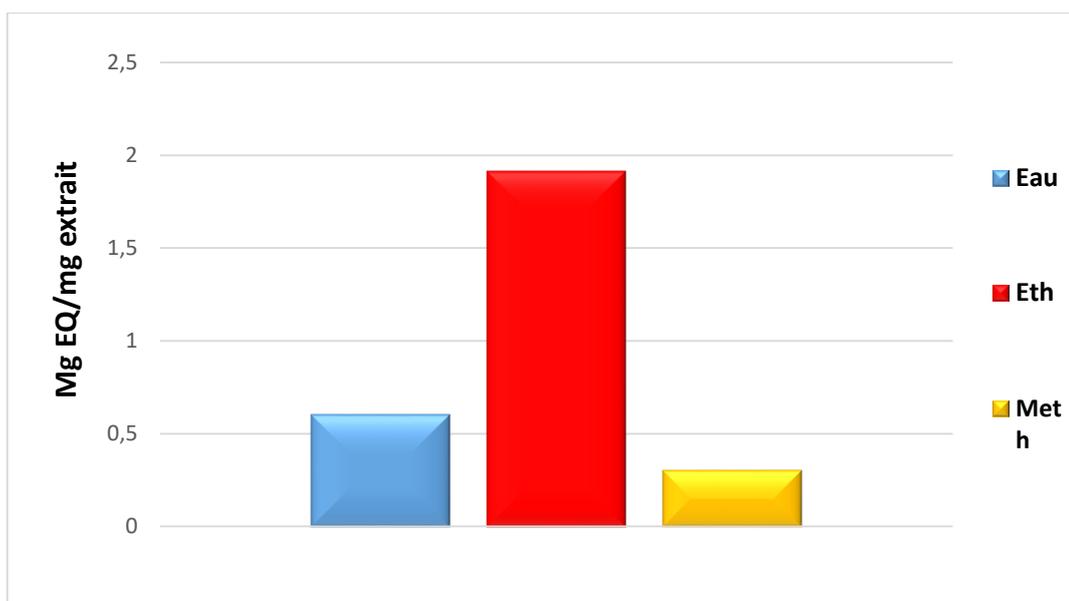


Figure 23 : comparaison de la teneur en flavonoïdes totaux dans les différents extraits d'*Urtica Dioica* L.

Selon ces résultats, la teneur en flavonoïdes dans l'extrait éthanolique de notre plante est la plus élevée dont la concentration atteint 1.912 d'extrait suivi par celle de l'extrait aqueux avec une moyenne de de 0.603. La teneur la plus faible est notée dans l'extrait méthanolique avec une concentration de 0.299

Mekhibi et Boudria, (2013) rapportent que la teneur totale en flavonoïdes est de (4,31 mg EQ/g) de la phase butanol de la plante *Urtica dioica* L. de la région de Jijel cette teneur est supérieure à celle de l'extrait d'acétate d'éthyle (0,278 mg EQ / g) et du chloroforme (0,24 mg EQ/g). Cette différence peut être expliquée par le fait que la méthode d'extraction et la durée de récolte sont différentes. Le deuxième paramètre qui peut être à l'origine de la différence de teneur en flavonoïdes est leur solubilité (Bruneton., 2008). La solubilisation des flavonoïdes dépend de leur glycosylation, les glycosides sont solubles dans l'eau et les alcools ou mélanges, et d'autres ont une très faible solubilité dans l'eau. Les flavonoïdes lipophiles tels que les aglycones sont extraits directement avec des solvants non polaires (Laurance, 2011).

III. Résultats des tests des effets biologique

III.1 Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits d'*Urtica dioica* L.

Moreira et al., (2005) ont classé le diamètre des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne comme suit :

- Non inhibitrice : $D \leq 8$ mm.
- Légèrement inhibitrice : $9 \text{ mm} \leq D \leq 14$ mm.
- Fortement inhibitrice : $15 \text{ mm} \leq D \leq 20$ mm.
- Très fortement inhibitrice : $D \geq 20$ mm

Les diamètres des zones d'inhibition observée autour les disques imprégnés dans les déférents extraits à tester vis-à-vis quatre bactéries (*E.coli*, *S.aureus*, *Bacillus*, *P.aeruginosa*) après 24h d'incubation à 37°C sont mentionnés dans le tableau 14.

Tableau 14 : Diamètres d'inhibition en (mm) des différents extraits d'*Urtica dioïca* L. sur les souches testées

<i>Extrait et Concentration</i>	<i>Zone d'inhibition (mm)</i>											
	<i>E.coli</i>			<i>S.aureus</i>			<i>Bacillus</i>			<i>P.aeruginosa</i>		
	<i>Eth</i>	<i>Meth</i>	<i>Eau</i>	<i>Eth</i>	<i>Meth</i>	<i>Eau</i>	<i>Eth</i>	<i>Meth</i>	<i>Eau</i>	<i>Eth</i>	<i>Meth</i>	<i>Eau</i>
SM	≤ 8	≤ 8	≤ 8	≤ 8	≤ 8	≤ 8	≤ 8	± 15	≤ 8	± 11	≤ 8	≤ 8
C1	≤ 8	≤ 8	≤ 8	≤ 8	≤ 8	≤ 8	± 9	± 9	≤ 8	≤ 8	± 11	≤ 8
C2	≤ 8	≤ 8	≤ 8	± 10	≤ 8	≤ 8	± 9	± 10	≤ 8	± 10	± 9	≤ 8
C3	± 10	± 11	≤ 8	≤ 8	≤ 8	≤ 8	± 10	± 9	≤ 8	≤ 8	± 10	≤ 8
C4	≤ 8	± 10	≤ 8	≤ 8	≤ 8	≤ 8	≤ 8	± 15	≤ 8	≤ 8	± 13	≤ 8

Le tableau 14 ci-dessus et les figures 24, 25, 26 et 27 montrent qu'il y a une grande diversité dans les résultats des différents extraits. Le pouvoir antibactérien est plus ou moins important selon la souche utilisée. Quelques souches testées montrent une sensibilité aux extraits méthanoïque et éthanoïque des feuilles d'*Urtica dioïca* L. avec des diamètres d'inhibition compris entre 9 et 15mm. Le pouvoir inhibiteur le plus élevé est enregistré chez la solution mère (SM) et la concentration (C4) de l'extrait éthanolique sur la souche *Bacillus* dont

le diamètre atteint 15mm. La même souche marque une légère sensibilité aux extraits méthanoïque et éthanolique avec les concentrations C1, C2 et C3 avec des diamètres d'inhibitions de (9, 10, 9, 9, 9 et 10) mm respectivement.

Les extraits méthanoïques avec les concentrations (C3 et C4) et éthanoliques avec la concentration (C3) montrent une faible activité sur la souche *E.coli*, cette activité se traduit par l'apparition des zones d'inhibitions au tour des disques imbibés d'extraits qui atteints (11, 10 et 10) mm respectivement.



Figure 24 : Diamètre d'inhibition des extraits éthanoliques et méthanoliques sur la souche *E. Coli*

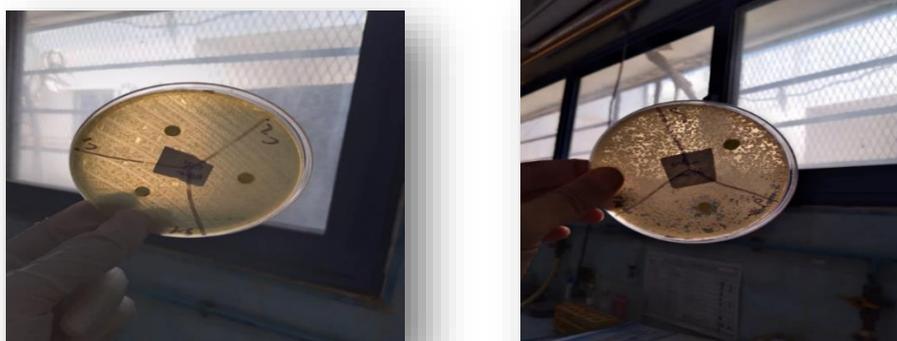




Figure 25 : Diamètre d'inhibition des extraits éthanoliques et méthanoliques sur la souche *Bacillus*

La souche *S.aureus* ne montre aucune sensibilité aux différents extraits sauf à l'extrait éthanolique avec la concentration (C2) ou le diamètre est de 10 mm.

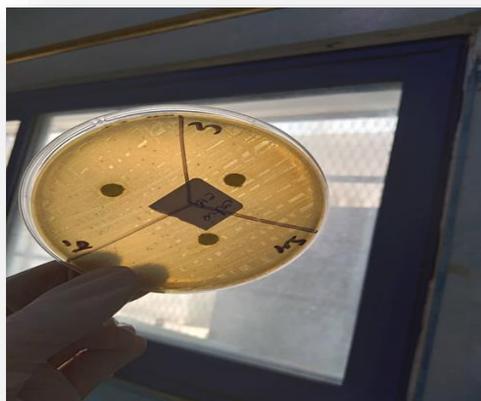


Figure 26 : Diamètre d'inhibition d'extrait éthanolique de la souche *S.aureus*.

Les résultats de test avec la souche *P.aeruginosa* montrent une activité antibactérienne légère avec les extraits méthanoliques et éthanoliques avec des diamètres d'inhibition compris entre 10 et 13 alors que les extraits aqueux ne présentent aucun pouvoir antibactérien.

Notons que l'extrait aqueux n'exerce aucun effet antibactérien sur toutes les souches testées.

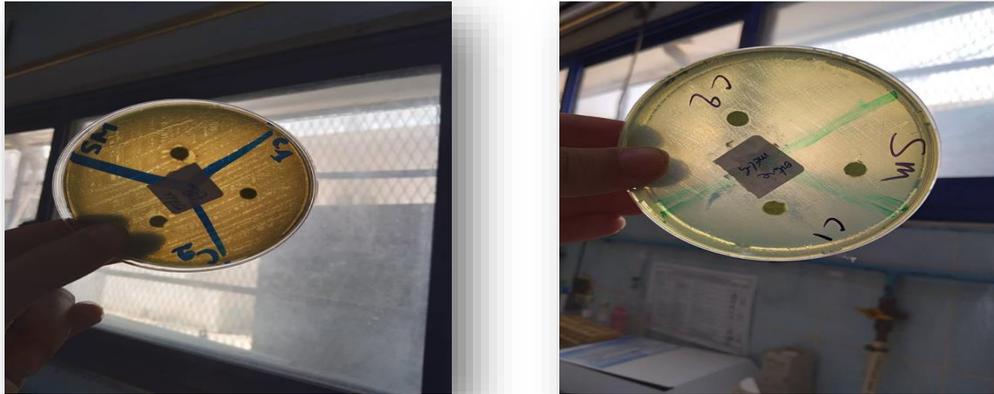


Figure 27 : Diamètre d'inhibition des extraits éthanoliques et méthanoliques sur la souche *P.aeruginosa*

Les propriétés antibactériennes des extraits de plantes dépendent de leur composition chimique (Bensassi et al, 2007; Naili et al, 2010).

Les résultats obtenus au cours de cette étude montrent que les extraits méthanoliques et éthanolique d'*Urtica dioïca* L., ont exercé un effet inhibiteur sur la croissance de toutes les souches testées avec des proportions différentes dont les diamètres des zones d'inhibition sont compris entre 9 et 15 mm. À l'exception, le cas de l'extrait méthanolique sur *S.aureus* où la zone d'inhibition est de 8 mm. Cela peut être expliqué par la mauvaise absorption du solvant par le disque et dans ce cas il n'y'a pas de contact entre l'extrait et la bactérie.

Les résultats obtenus confirment l'efficacité des extraits méthanolique et éthanolique d'*Urtica dioïca* L. et leur pouvoir antibactérien, Plusieurs études ont mis en évidence cet effet antibactérien. Salem et al., (2021) ont rapporté que les extraits éthanoliques et le méthanoliques, exercent une activité antibactérienne sur *E.coli*, *S.aureus* et *Bacillus*. En plus Bobis et al., (2015) ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de feuilles de l'*Urtica dioïca* L. Ils sont utilisé plusieurs souches dont *E.coli*, *S.aureus* et *P.aeruginosa*. Les résultats obtenus dans ces études confirment que les extraits éthanoliques de feuilles d'*Urtica dioïca* L. possèdent un effet inhibiteur sur toutes les souches testées. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenu avec ces deux études mentionnées. De plus, Mzid et al.,(2017) montrent que l'extrait éthanolique s'est avéré être le plus efficace.

Cette activité observée est due à la présence des métabolites secondaire dans les feuilles d'*Urtica dioïca* L. comme les polyphénols, les tannins, les alcaloïdes et les flavonoïdes dont les

propriétés antibactériennes ont déjà éprouvé (Ghedira et al., 2009 ; Bouzid, 2011 ; Mangambu et al., 2014; Bobis et al., 2015).

Toutefois, les extraits aqueux n'ont pas exercé un effet inhibiteur sur toutes les souches testées, nos résultats sont similaires à ceux de Salem et al., (2021). Ainsi Candan et ses collaborateurs, (2003). montrent que les substances hydrosolubles ont un effet plus faible comparativement aux substances non hydrosolubles, il s'agit probablement de la capacité des molécules liposolubles de s'insérer dans les membranes des cellules bactériennes et les endommager. Ceci peut expliquer l'absence de l'effet antibactérien dans les tests des extraits aqueux.

Cette divergence dans les résultats peut être attribuée à des facteurs influençant la composition chimique des plantes. Les travaux de nombreux auteurs ont démontré que les plantes réagissent à l'environnement ambiant et qu'au cours de leur vie, la composition chimique de leurs métabolites peut évoluer. La maturité ou le statut phénologique de la plante au moment de la récolte sont difficiles à vérifier et à contrôler (Dethier, 1996). Sur une même tige, les feuilles ou les fleurs n'apparaissent pas simultanément et suivant leur âge, n'ont pas la même composition (Touche, 1997).

Selon Rios et Recio, (2005), l'activité antibactérienne est en relation avec la composition de la plante en métabolites bioactives qui varie en fonction la zone géographique de la cueillette, le solvant utilisé et la méthode d'extraction.

III.2 Evaluation de l'effet antioxydante des extraits d'*Urtica dioica* L.

III.2.1 Test du piégeage du radical DPPH

Le DPPH est un radical libre stable avec une bande d'absorption à 517 nm. Elle perd cette absorption lorsqu'elle est réduite par un antioxydant.

La méthode DPPH est employée couramment pour déterminer l'activité antioxydant des composés phénoliques purifiés ainsi que des extraits de plantes naturels (Fukumoto et Mazza, 2000 ; Brand-Williams et al., 1995).

Les résultats obtenus (pourcentage d'inhibitions I%) sont représentés dans le tableau 15 suivant.

Tableau 15 : Le pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des différents extraits d'*Urtica dioica* L.

Concentration \ Extrait	0.5	1	2	3
Aqueux	0.695	0.646	0.623	0.588
Eth	0.681	0.663	0.714	0.689
Meth	0.682	0.686	0.676	0.638

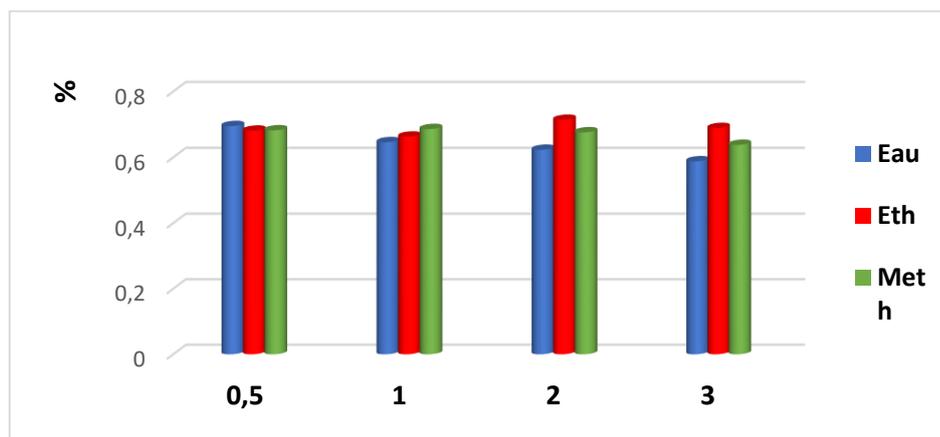


Figure 28 : d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différents extraits d'*Urtica dioica* L.

D'après les résultats du tableau 15 et la figure 28 on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différents extraits (aqueux, éthanolique et méthanolique) d'*Urtica dioica* L. est presque le même, le pourcentage d'inhibition est entre (0.588 et 0.714)%.

Le pourcentage d'extrait aqueux en différentes concentration est entre (0.695_0.588) %.

Le pourcentage d'extrait méthanoïque est entre (0.686_0.638) %.

Le pourcentage d'extrait éthanolique est entre (0.681_0.714) %.

Lors de l'étude des décoctions et des infusions d'ortie, Albayraketal., et al (2012) ont observé une inefficacité à un taux maximal d'inhibition de moins de 40 % des radicaux DPPH à des concentrations allant jusqu'à 2 mg/mL. Ces résultats correspondent aux résultats enregistrés. On note que l'extrait méthanolique de cette plante est également insuffisant et le taux d'inhibition radicalaire du DPPH est d'environ 21,18 %. Les mêmes observations ont été mentionnés par Deliorman et al., (2012).

Dall'Acqua et al., (2008). dans l'étude de l'extrait de méthanol d'*Urtica dioica* L. d'Italie, ont enregistré la plus faible activité au radical DPPH ($IC_{50} 419 \pm 10 \mu\text{g/ml}$) par rapport aux autres extraits de la même région ($IC_{50} 5,1 \pm 0,5 \mu\text{g/ml}$ *Rubusulmifolius*, et $IC_{50} 8,3 \pm 0,5\mu\text{g/ml}$ *Menthalegium*). Malgré cette faible activité rapportée pour *Urtica dioica* L., elle reste plus forte que celle enregistrée dans notre étude.

. De même, pour deux types d'infiltration d'*Urtica dioica* L. de Turquie (à base d'eau et acide), Güler., (2013) à constaté que les valeurs IC_{50} de 0,30 et 0,37 mg/ml, respectivement.

L'étude réalisée par Monfared et al., (2011) a montré une bonne efficacité inhibitrice du radical DPPH par l'extrait aqueux d'*Urtica dioica* L. de Turquie (en enregistrant des IC_{50} de l'ordre de $8,4 \pm 0, 1$ et $11, 7 \pm 0,2$) $\mu\text{g/ml}$ respectivement pour pré et post floraison comparée à l'extrait d'éther de la même plante (valeurs IC_{50} environ $12,4 \pm 0,1$ et $22,5 \pm 0,2 \mu\text{g/ml}$).

Hudec et al., (2007) aussi ont constaté une faible efficacité de l'extrait aqueux d'*Urtica dioica* L. en pré ou en post floraison. D'autre part, l'extrait d'éther a montré une forte efficacité en post ou en préfloraison.

III.3 Evaluation d'activité anti-hyperglycémiant d'extraits de d'*Urtica dioica* L.

III.3.1 Résultats des différents paramètres avant et après induction :

L'induction du diabète expérimental dans des modèles animaux est essentielle pour améliorer les connaissances et la compréhension des différents aspects de la maladie, dont le but ultime est de développer de nouveaux traitements

III.3.1.1 Avant induction

1) Mesure de la glycémie avant induction de diabète

La mesure du glucose dans le sang est effectuée avant l'induction du diabète pour avoir une signification des moyennes des résultats. Les résultats sont enregistrés dans le tableau 16 et figure 29

Tableau 16 : Résultats de la glycémie avant induction de diabète

<i>Lots</i>	<i>Lot 1 (T)</i>	<i>Lot 2 (M.N.T)</i>	<i>Lot 3</i>	<i>Lot 4</i>	<i>Lot 5</i>
<i>Glycémie (g / l)</i>	1.604	1.482	1.486	1.65	1.458

Lot 1 (T) : témoins

Lot 2 (M.N.T) : malades non-traités

Lot 3 : malades traités avec l'extrait aqueux

Lot 4 : malades traités avec l'extrait méthanolique.

Lot 5 : traités avec l'extrait éthanolique

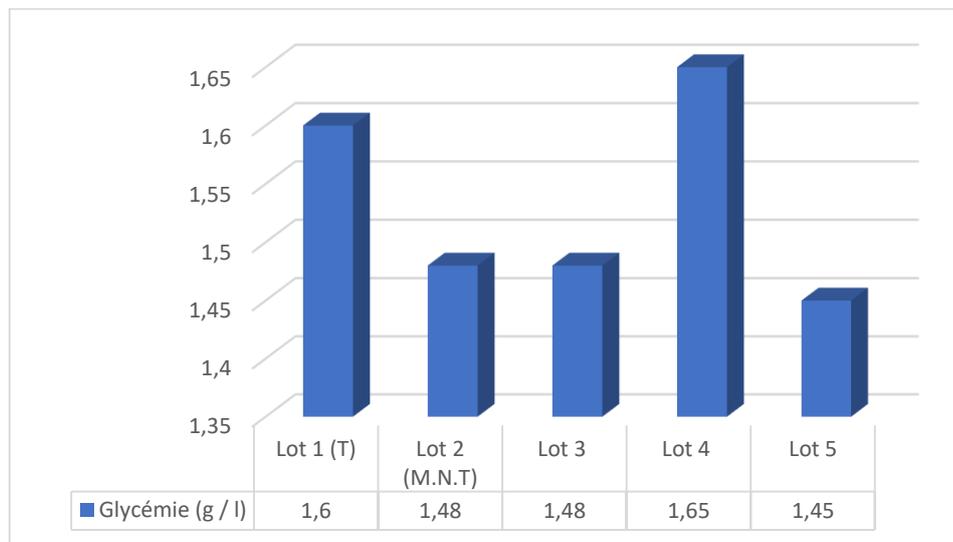


Figure 29 : Taux de la glycémie avant induction de diabète chez les lapins des différents lots.

Avant l'induction du diabète et l'injection d'alloxane, tous les lapins ont une glycémie post-prandiale normale comparative aux normes habituelles (0.8–1.7 g/l) (Carpenter, 2012). Par conséquent, les animaux chez lesquels l'étude a été réalisée n'étaient pas diabétiques (ni hypoglycémie, ni hyperglycémie). Ces résultats ont été obtenus grâce à une bonne gestion de l'élevage dans des conditions favorables.

2) Résultats des pesés et estimation des doses administrés

Les doses d'alloxane pour l'induction du diabète sont estimées en fonction du poids corporel des lapins. Les résultats sont mentionnés dans le tableau 17.

Tableau 17 : Moyennes des doses par rapport au poids corporel moyen

<i>Lots</i>	<i>Lot 1 (T)</i>	<i>Lot 2 (M.N.T)</i>	<i>Lot 3</i>	<i>Lot 4</i>	<i>Lot 5</i>
<i>Poids moyen avant induction (g)</i>	1604	1609	1569	1674	1585
<i>Doses (mg)</i>	0	402.35	392.2	418.5	396.25

III.3.1.2 Après induction

1) Variation de poids corporel

Le poids corporel des lapins testés est pris avant et après induction du diabète, les valeurs sont rapportées dans le tableau 18

Tableau 18 : Poids corporel moyen des lapins témoins et traités en (g) avant et après induction du diabète.

<i>Lots</i>	<i>Lot 1 (T)</i>	<i>Lot 2 (M.N.T)</i>	<i>Lot 3</i>	<i>Lot 4</i>	<i>Lot 5</i>
<i>Poids avant induction (g)</i>	1604	1609	1569	1674	1585
<i>Poids après induction (g)</i>	1641.2	1618	1566.2	1666	1572

Après injection de l'alloxane, on remarque une légère diminution du poids corporel pour les lots 3, 4 et 5 par rapport au témoin et M.N.T

2) Evaluation de la glycémie après induction de diabète

L'évaluation de l'effet hyperglycémiant des différents extraits est réalisée afin de suivre l'efficacité des traitements. Les résultats sont enregistrés dans le tableau 19 et la figure 30.

Tableau 19 : résultats de la glycémie après 7, 14, 28 et 35 jours de l'induction du diabète

	<i>Lots</i>	<i>Lot 1 (T)</i>	<i>Lot 2 (M.N.T)</i>	<i>Lot 3</i>	<i>Lot 4</i>	<i>Lot 5</i>
<i>Glycémie (g/l)</i>	<i>Après 7 jours</i>	1.522	2.148	2.212	2.062	2.108
	<i>Après 14 jours</i>	1.592	2.35	2.532	2.498	2.456
	<i>Après 28 jours</i>	1.618	2.47	2.06	2.2	2.096
	<i>Après 35 jours</i>	1.386	2.062	2.178	2.036	2.072

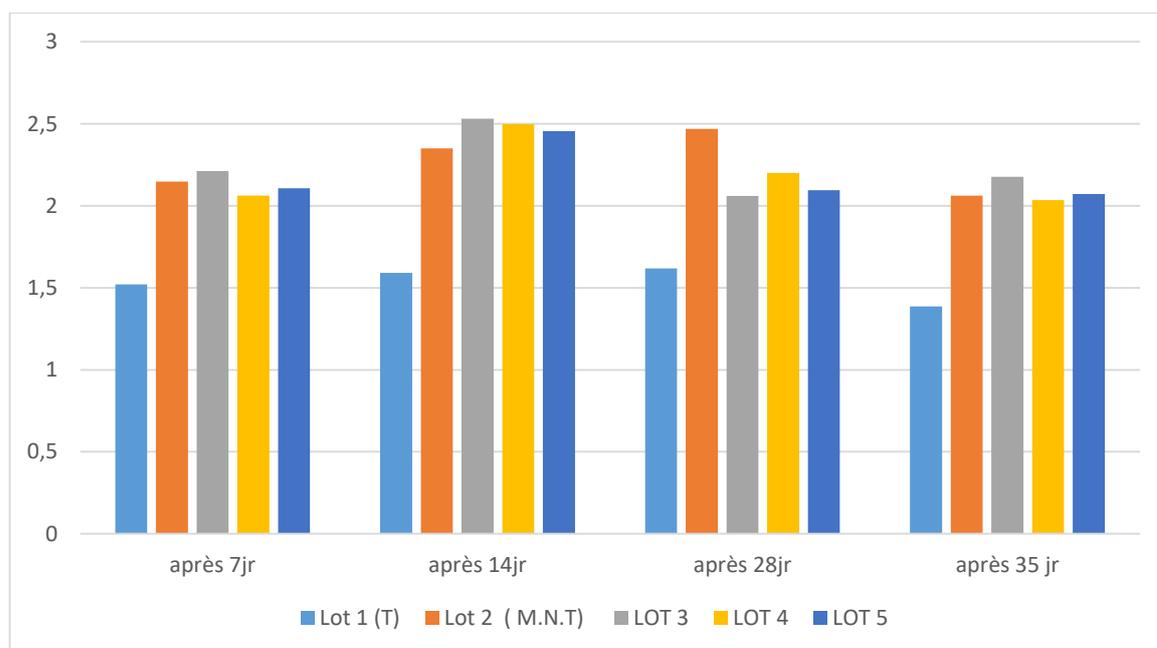


Figure 30 : Evaluation de la glycémie après l'induction du diabète.

Selon le tableau 19 et la Figure 30, les résultats du taux de la glycémie chez les lapins après l'induction du diabète par l'injection de la substance diabétique (alloxane), on remarque qu'il y'a une augmentation significative du taux de la glycémie pour tous les lots à l'exception le lot témoin où il reste dans les normes après 28 jour. Après 35 jours on remarque qu'il y a une diminution légère pour tous les lots.

III.3.2 Effet des traitements sur les différents paramètres biochimiques

Après mise en place de l'hyperglycémie, nous commençons le traitement par gavage de nos extraits obtenus pour les lapins diabétiques traités (MT). Pendant la période d'expérimentation les lapins sont pesés régulièrement et la glycémie est également mesurée.

III.3.2.1 Les paramètres biochimiques

III.3.2.1.1 Le glucose

Les essais d'évaluation de l'activité antidiabétique des différents extraits, ont été réalisés afin de suivre l'efficacité des traitements

Les taux de glycémie sont représentés par la figure 31 ci-dessus.

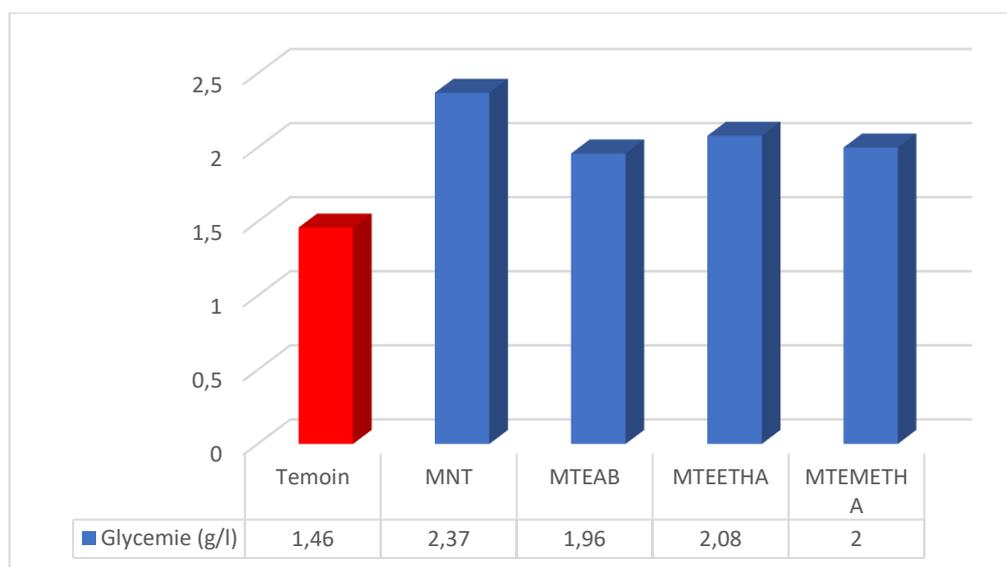


Figure 31 : Effets des traitements par les différents extraits sur la glycémie

L'effet de l'abaissement de la glycémie de d'*Urtica dioica* L. en tant que plante médicinale a été rapporté dans des manuscrits datant du temps d'Avicenne, des études récentes ont démontré l'effet hypoglycémique de d'*Urtica dioica* L. Cependant, jusqu'à présent, le mécanisme n'a pas encore été expliqué (Draghi, 2005).

Selon les résultats mentionnés dans la figure 31, les trois extraits ont permis la diminution du taux de la glycémie chez les lapins diabétiques par rapport aux lapins malades non traités dont les meilleurs diminutions sont enregistrés après traitement par l'extrait aqueux avec une moyenne de 1.96 g/l, cette valeur demeure proche à celle du témoin malgré la courte durée du traitement. Les résultats obtenus confirment l'efficacité des extraits d'*Urtica dioica* L. dans la diminution du taux de la glycémie. Plusieurs études ont mis évidence cet effet anti-hyperglycémiant, Ahangarpour, et al., (2012) montrent que l'extrait aqueux d'*Urtica dioica* L. peut diminuer significativement le taux de glucose sanguin et l'insuline et peut ainsi améliorer le syndrome métabolique du diabète. Ainsi Dar et al., (2013) rapportent que la prise d'extrait de feuille d'*Urtica dioica* L. combiné avec des médicaments anti-hyperglycémiques exerce un effet bénéfique, car une réduction des taux de glucose dans le sang à jeun et 2h après le repas est observée. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus avec ces deux études mentionnées.

Ces changements des valeurs de glycémie résultent des modifications morphologiques des cellules β des îlots de Langerhans de pancréas, ainsi la baisse de la glycémie par l'extrait aqueux d'*urtica dioica* L. est peut être due à la présence de dérivés flavonoïdes et d'acide hydroxycinnamique contenus dans la plante (Dar et al., 2013).

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales présentes toujours une source essentielle de substances naturelles bioactives d'intérêt thérapeutique. Ces molécules sont actuellement pour plusieurs chercheurs en raison de leurs bienfaits pour la santé humaine.

D'après l'enquête ethnopharmacologie effectuée par plusieurs chercheurs sur les plantes médicinales, l'ortie ou l'*Urtica dioica* L. reste parmi les plantes les moins utilisées dans la médecine alternative.

Pour cela l'objectif assigné à cette étude est de mieux valoriser cette plante et son intérêt dans les différents domaines thérapeutiques, ainsi que donner des résultats satisfaisants pour pouvoir l'utiliser.

Nous nous sommes intéressés dans ce travail à étudier l'activité anti diabétique, anti bactérienne, anti oxydante, ainsi qu'au dosage des polyphénols et flavonoïdes des extraits aqueux, éthanolique et méthanoliques des feuilles de la plante *Urtica dioica* L.

Les dosages de polyphénol et flavonoïde révèle que l'extrait aqueux est le plus abondant en composés phénoliques, tandis que l'extrait éthanolique enregistre les teneurs les plus élevés en flavonoïdes par rapport aux deux autres extraits.

L'étude de l'activité antibactérienne de ses substances bioactives sur multiples souches bactériennes (gram positive et négatif) montre la sensibilité de toutes les souches utilisées vis-à-vis les extraits éthanolique et méthanolique, avec différents diamètres. Alors que l'extrait aqueux ne montre aucun un effet inhibiteur.

L'étude du pouvoir antioxydant a été réalisées par des tests in vitro et ont montré que les trois extraits possèdent le même pouvoir antioxydant, et ceci dénote une faible activité de l'*Urtica dioica* L.

Nous avons trouvé que, les trois extraits testés possèdent un effet antidiabétique, voir que l'extrait aqueux a une meilleure diminution de la glycémie que les extraits éthanoliques et méthanoïques.

Ce travail reste superficiel et préliminaire, donc il nécessite d'autres études approfondies pour mieux se concentrer sur les effets révélés. Nous suggérons la réalisation d'autres méthodes, explorer la composition chimique des extraits et de tester l'effet isolé et synergique des différents constituants des différents extraits de cette espèce.

Références bibliographique

A

- **Afif chaouche, T., (2015).** Etude ethno-pharmacologique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydant de quelques plantes médicinales de la région de Tizi Ouzou. Algérie [en ligne]. Thèse de Doctorat. Université de Tlemcen, 122.
- **Ahangarpour A., Mohammadian M., et Dianat M., (2012).** « Antidiabetic Effect of Hydroalcoholic Urticadioica Leaf Extract in Male Rats with Fructose-Induced Insulin Resistance ». Iranian Journal of Medical Sciences 37 (3) : 181-86
- **Akrab Cheyma, Mouhadi Zeyneb, (2019).** Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de feuilles d'*Urtica dioica* L.
- **Akbay P, Basaran A A, Undeger U, Basaran N., (2003).** In vitro immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from *Urtica dioica* L. Phytother. Res. 17: 34–37.
- **Albayrak S, Aksoy A, Sagdic O, &Albayrak S, (2012).** Antioxidant and antimicrobial activities of different extracts of some medicinal herbs consumed as tea and spices in turkey. Journal of Food Biochemistry 36: 547–554
- **Algeciras, S. A, Cook, W. J, Milz, T. C, Saenger, A. K, Karon, B. S., (2007).** Evaluation of hemoglobin interference in capillary heel-Stick samples collected for determination of neonatal bilirubin. Clinical Biochemistry, 40: 1311-1316.
- **Alilou H., (2012).** Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du Sud du Maroc :*Asteriscus graveolens subsp. Odorus (Schousb.) Greuter et Asteriscus imbricatus (Cav.) DC.P.*
- **Alioua MA., (2015).** Les Staphylocoques: sensibility aux antibiotiques et profile molecular de Staphylococcus aureus Résistant à la Méthicilline. Thèse de Doctorat, UniversitéBadjiMokhtar- Annaba (Algérie). p 20.
- **Alwash, M. S, Ibrahim, N, Ahmad, W. Y., (2013).** Identification and mode of action of antibacterial components from *Melastoma malabathricum linn* leaves. American Journal of Infectious Diseases, 9(2): 46-58.
- **Angus S, Amstrong B, de Reuck K. M., (1976).** "International thermodynamic table of the fluid state: carbon dioxide", vol. 3, IUPAC, Pergamon Press, Oxford.
- **Avril j l, Dabernat h., Denis f., Monteil h., (1992).** Bactériologie clinique. 2ème édition. Paris: ellipses marketing.

B

- **Baliere C., (2016).** Les Escherichia coli potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral: cas des stec et des epec. Thèse de Doctorat, université de Bretagne occidentale. p23.
- **Belaïch, R, Boujraf, S., (2016).** Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. Médecine des maladies Métaboliques, 10(1) : 38-42.
- **Bensassi, A., Harzallah, S., Aounil, M., (2007).** Investigation of some medicinals plants from Tunisia for antimicrobial activities. Journal of Pharmacology Biochemical, 45 (5), 421–428.
- **Berger, M. M., (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. Nutrition Clinique et Métabolisme, 20: 48-53.
- **Bertrand B., (2010).** Les secrets de l'Ortie.- 7ème édition. Editions de Terran (Collection LeCompagnon Végétal ; N : 01) : 128.
- **Bertrand, B. (2002).** Les secrets de l'Ortie. 7ème édition Editions de TerraPinelli, p, Ieri, F, Vignolini, P, Bacci.
- **Bertrand B, Jeanne A. (2000).** « Saveurs d'ortie », légume de demain, 2 ème Ed. Editions de Terran : 61-97.
- **Bertrand B., Jeanne A., (2008) :** “Les secrets de l’Ortie”,10 ème Ed. DuTerran : 45-95.
- **Beloued, A., (1998).** Plantes médicinales d’Algérie. Ed. Entreprise nationale du livre, Alger, 359.
- **Billings, J, Sherman, P. W., (1998).** Antimicrobial functions of spices: why some like it hot. The Quarterly review of biology, 73(1): 3-49.
- **Blumenthal M, Godberg A, Brinkman J., (2000).** Editors herbal Medicine expanded commission E monographs. Boston MA: intragative medicine communication.
- **Bobisa O., Dezmireana D. S., Tomosa L., Chirilab F. et Al. Marghitasl. (2015).** Influence of Phytochemical Profile on Antibacterial Activityof Different Medicinal Plants against Gram_Positiveand Gram_Negative Bacteria1. Applied Biochemistry and Microbiology, , Vol. 51, No. 1, pp. 113–118.
- **Bounoua M.D., (2008).** Essais d’utilisation des Pseudomonas sp et Bacillus sp. Dans le biocontrôle de Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici sur tomate et verticillim dahliae sur l’olivier. Thèse de Magister. Biotechnologie. Université d’Oran. Algérie.

- **Bougar Nadia et Belkacem Kourmi Zahira, (2016).** Contribution à la caractérisation physico-chimique et anti-bactérienne de l'extrait de la plante *urtica dioica* L (ortie dioïque).
- **Bonnefont, R. D, Peynet, J, Beaudoux, J, Thérond,P, Legrand,A, Delattre, J., (2002).** Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16: 260-267.
- **Bonnefont, R. D., (2006).** Stress oxydant Conclusions, perspectives et recommandations. *AnnPharm Fr*, 64: 402-405.
- **Boudjouref, M., (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister. Université Ferhat Abbes Sétif, Algérie.
- **Boudiaf, K., (2006)** Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister .Setif.
- **Boyrie, J., (2016).** *urtica dioica*: une plante aux usages multiples. n°109. Thèse du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de bordeaux.
- **Brand-Williams W., Cuvelier M.E.Et Bersetc. (1995).** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmwisstechnol*, 28, 25-30.
- **Broer J, Behnke B., (2002).** Immunosuppressant effect of IDS30, a stinging nettle leaf extract, on myeloid dendritic cells in vitro. *J Rheumatol* 29(4) : 659-666.
- **Broncano F.J, et al., (1983).** Etude de l'effet sur le centre cardiovasculaire de quelques préparations de *l'Urtica dioica* L. *Planta Med.*17 : 222-229.
- **Brown D., (1995).** Encyclopedia of Herbs and Their Uses. Dorling Kindersley, London,. p. 106 L'ortie.
- **Bruneton J., (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Tec & Doc, Editions médicales internationales. 3ème Edition. p.1120.
- **Bruneton Jean, (2008)** ,Pharmacognosie , phytochimie , plantes médicinales . Tec et Doc. Pp 199-339.
- **Buettner, G.R., (1993).** The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys*, 300: 535-543.

C

- **Candan F., Unlu M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sökmen A.Et Akpulat H A., (2003).** Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and

methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 87, 215-220.

- **Capasso F, et al., (2003)**. *Phytotherapy: a quick reference to herbal medicine*. Berlin: 48 Springer.
- **Capasso, A., (2013)**. Antioxidant action and therapeutic efficacy of *Allium sativum* L. *Molecules*, 18: 690-700.
- **Carange, J., (2010)**. Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection. Thèse de doctorat. Université du Québec Trois-Rivières, Québec.
- **Chaker H., (2012)**. Régulation de l'expression ; adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte : implication des métabolites du tryptophane. Thèse de doctorat, université Grenoble France, 291 p.
- **Collectif (1981)**. *Secrets et vertus des plantes médicinales. Sélection du Reader's Digest* éd. Paris, Montreal, Zurich.
- **Camille, D, Christine, O., (2009)**. L'ortie dioïque *Urtica dioica*. Guide de production sous régie biologique. Filière des plantes médicinales biologiques du Québec.
- **Carra, A, Frei, B., (1999)**. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions. *The FASEB Journal* 13, (9): 1007-1024.
- **Crémer S, Knoden D, Stilmant D. & Luxen P., (2008)** - Le contrôle des populations indéfrisables de rumex, chardon et ortie dans les prairies permanentes. *Les livres de l'agriculture*. N° 17, p. 58.
- **Cooke, M.S, Evans, M.D, Dizdaroglu, M, Lunec, J., (2003)**. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J*, 17(10): 1195-1214.
- **Cotelle, N., (2001)** .Role of flavonoids in oxidative stress. *Current topics in medicinal chemistry*, 1: 569-590.
- **Couplan, F., (2011)**. *Guide nutritionnel des plantes sauvages et cultivées*. Paris : Delachaux et Niestlé;256.
- **Couplan F., (2013)** - *Remèdes et recettes à l'ortie, les bonnes plantes de nos grands mères*. Ed. Sang de la terre. 300 P.
- **Cox, P-A et Balick, M-J., (1994)**. "The Ethnobotanical Approach to drug Discovery". *Scientific American*, 82-87.
- **Cuvelier, C, Dotreppe, O, Istasse, L., (2003)**. Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann.Méd .Véte*, 147: 315-324.

D

- **Dall'Acqua S, Cervellati R, Loi M, C, Innocenti G., (2008)**. Evaluation of in vitro antioxidant properties of some traditional Sardinian medicinal plants: Investigation of the high antioxidant capacity of *Rubus ulmifolius*. *Food Chemistry*, 106: 745–749.
- **Davies, M.J., (2003)**. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochem Biophys Res Commun*, 305(3): 761-770.
- **Davis P H., (1982)**. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh Univ Press.
- **Dar, S. Ahmad, F. A. Ganai, A. R. Yousuf, M.U.H. Balkhi, T. M. Bhat, et P. Sharma., (2013)**. « Pharmacological and Toxicological Evaluation of *Urtica Dioica* ». *Pharmaceutical Biology* 51 (2): 80-170
- **Delahaye, J. Utilisations de l'ortie- *Urtica dioica* L., (2015)**. These de Doctorat en Pharmacie, Université de Rouen UFR de médecine et de pharmacie, pp 227.
- **Delattre, J, Beaudoux, JL, Bonnefont, R., (2005)**. Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales, Paris.
- **Deliorman-Orhan D, Ozcelik B, Hoşbaş S, Vural M., (2012)** « Assessment of antioxidant, antibacterial, antimycobacterial, and antifungal activities of some plants used as folk remedies in Turkey against dermatophytes and yeast-like fungi. *Turk. J. Biol.*, 36: 672686.
- **Djeridane A, Yousif M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N., (2006)**. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compound. *Food Chem.* 97:654-660.
- **Dethier M., (1996)**. Contribution à l'étude des plantes aromatiques du Burundi, Thèse de doctorat, Université de Montpellier II, 275 p.
- **Diallo AA, (2013)**. *Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse 3-Paul Sabatier – Toulouse (France). pp : 13-14.
- **Di Virgilio N., Papazoglou P.E., Jankauskiene Z., Di Lonardo S., Praczyk M., Wielgusz K., (2015)**. The potential of stinging nettle (*Urtica dioica* L.) as a crop with multiple uses. *Industrial Crops and Product*, 68: 42-49.

- **Doughari J H., PUKUMA M S., and DE N., (2007).** Antibacterialeffects of *Balanitesaegyptiaca*L. Drel. et *Moringaoleifera*Lam. on *Salmonella typhi*. African Journal of biotechnology, 19, 2212 - 2215
- **Draghi F., (2005).** L'Ortie dioique (*Urtica dioica* L.) étude bibliographique. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincare Nancy1. Faculté de Pharmacie.
- **Durak I, Biri H, Devrim E, Sözen S, Avci A., (2004).** Aqueous extract of *Urtica dioica* makes significant inhibition on adenosine deaminase activity in prostate tissue from patients with prostate cancer. Cancer Biol. Ther. 3: 855–85.

E

- **Eboh, A. S., (2014).** Biochemistry of free radicals and oxidants scholars. Academic journal of biosciences (SAJB), 2(2): 110-118.
- **Eckert C. A, Knutson B. L., (1997).** Electrochemical reduction of carbon dioxide on flat metallic cathodes, Journal of Applied Electrochemistry, 27, 1997, 875-989.
- **El Haouari M, Bnouham M, Bendahou M, Aziz M, Ziyat A, Legssyer A, Mekhfi H., (2006).** Inhibition of rat platelet aggregation by *Urtica dioica* leaves extracts. Phytother. Res. 20:568–572.
- **Eloff A., (2005).-** L'ortie : ses propriétés alimentaires médicales, agricoles, et industrielles. Ed. Albessard et Bérard, France, p. 14.
- **Epifano F, Genovese S, Menghini L, Curini M., (2007).** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry* 68:939 – 953.
- **Etuk E.U., (2010).** Animals models for studying diabetes mellitus. Agric. Biol. J. N. Am, 1(2): p.130-134.

F

- **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique, 108-115.
- **Favier, A., (2006),** Stress oxydant et pathologies humaines , Annal of pharmacotherapy SAGE Journal Vol 64 , pp , 390-396.
- **Fleurentin, J, Hayon, J-C., (2008).** Plantes médicinales : traditions et thérapeutique. Rennes Éd. Ouest-France, 104-105.

- **Fuhrman, B, Lavy, A, Aviram, M., (1995).** Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am. J. Clin Nutr*, 6: 549-554.

G

- **Garait, B., (2006).** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la Glisodin. Thèse pour obtenir le grade de docteur. Université Joseph Fourier-Grenoble., France.
- **Ghestem A, Seguin E, Paris M, and Orecchioni A.M., (2001).** Le préparateur en pharmacie dossier 2èmeEd TEC&DOC. Paris. pp275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- **Ghedira, K, Goetz, P, et Le Jeune, R., (2009).** *Urtica dioica* L, *Urtica urens* et/ou hybrides (Urticaceae). *Phytothérapie*, 7(5), 279.
- **Glusker J.P, Rossi M., (1986) :** Molecular aspects of chemical carcinogens and bio-flavonoids. *Progress in Clinical and Biological Research* 21: 95–410.
- **Grassi, D, Desideri, G, Ferri, C., (2010).** Flavonoids: antioxidants against atherosclerosis. *Nutrients*, 2: 889-902.
- **Gül, S, Demirci, B, Başer, K. H. C, Akpulat, H. A, et Aksu, P., (2012).** Chemical composition and *in vitro* cytotoxic, genotoxic effects of essential oil from *Urtica dioica* L. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 88(5), 666-671.
- **Gulcin I, 'oKufreviöglu OI, Oktay M, Buyukokuroglu ME., (2004).** Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica Dioica* L.). *J Ethnopharmacol* 90 (2-3) : 205-215.
- **Güler E, R., (2013)** Investigation of Chemopreventif Properties of *UrticaDioica* L., in MCF7 and MDA 231 Breast Cancer Cell Lines. *The New Journal of Medicine*, 30(1): 50-53.
- **Gupta VK., Roy A., Nigam V.K., Mukherjee K., (2010).** Antimicrobial Activity of *Spondias Pinnata* Resin. *J. Med. Plants Res* : Vol. 4, 1656- 1661
- **Guy Baudoin j., (2004).** - Les fibres végétales en Région Wallonne. Les potentialités du chanvre et ses utilisations. *Valorisation de la biomasse*, p. 12.

H

- **Haleng, J., Pinecemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P., (2007).** Le stressoxydant. *Revue Medicale de Liege*, 62(10): 628-638.

- **Hardalo, C., & Edberg, S. C., (1997).** Pseudomonas aeruginosa: Assessment of risk from drinking water. *Critical Reviews in Microbiology*, 23(1), 47-75.
- **Haton, C., (2005).** Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat. Université de Paris VI., France.
- **Houda Soukko, Ilhem Derdour, Selma Lebsir, (2019)** Évaluation de l'activité Antioxydant et anti inflammatoire de l'extrait méthanolique d'Urtica dioica L.
- **Hoffman D., (2006).** Medical Herbalism. Rochester (VT): Healing Arts Press.
- **Horde P., (2014).** « Ortie - Vertus » issu de Sante-Medecine (sante-medecine.comment ca marche.net), « Health On the Net » (HONcode) destinée aux sites Web médicaux et de santé juin2014).
- **HORDÉ, P., (2014).** Acétylcholine–Définition.. Santé medecine. net.
- **Hudec J, Burdova M, Kobida L, Komora L, Macho V, Kogan G, Turianica I, Kochanova R, Lozek O, Haban M,&Chlebo P., (2007)** ‘Antioxidant capacity changes and phenolic profile of Echinacea purpurea, nettle (Urticadioica L.), and dandelion (Taraxacumofficinale) after application of polyamine and phenolic biosynthesis regulators. *J. Agric. Food Chem.*, 55: 5689-5696.

I

- **Ilhami G, Irfran O.K, Mehmet E.b., (2004).** Antioxydant, antimicrobial antiulcer et analgesic activities of nettle (Urtica dioica) Egthnopharmacol. Vol 90. *Journal of Ethnopharmacology*: 205–215.

J

- **Jean, L. B, Genevève, D., (2008).** Biochimie médicale marqueurs actuels et perspectives. 2e édition: Chantal Arpino., Paris.
- **Juma, K. K, David, M. N, & Joseph, J. N. N., (2015).** A Review of the Biochemical. *Hematological and Histological Modulations in Acetaminophen*.

K

- **Kerr, K. G., & Snelling, A. M., (2009).** Pseudomonas aeruginosa: A formidable and ever- present adversary. *Journal of Hospital Infection*, 73(4), 338-344.
- **King A, and Young G., (1999).** Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals *Jof the American dietetic association*.99:213-218. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008.

- **Koechlin, R.C., (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments anti-oxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20: 165-177.
- **Krief, S., (2003)** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, surveillancesanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzés(*Pan troglodytes schweinfurthii*) en ouganda activités biologiques et étude chimique de plantes consommées P343.
- **Konrad, L, Muller H.H, Lenz C, Laubinger H, Aumuller G, Lichius J.J. , (2000.);** Antiproliférative effect on human prostate cancer cells by a stinging nettle root (*Urtica dioica*) extract. *Planta Med.* 66 : 44–47.

L

- **Langlade, V., (2010).** L'Ortie dioïque, *Urtica dioica* L. Thèse de Doctorat en pharmacie, Université de Nante.
- **Laurance L., (2011)** ‘Caractérisation des composés phénoliques présents dans deux espèces du genre *Alchemilla* . Thèse de doctorat en chimie analytique. Université de Louis Pasteur. Pp04.
- **Lee, A,T, Proenc, C, Ferreira, A,R, Serralheiro, M,L,M, Nogueira, J,M,F, Araujo, M·E·M., (2003).** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chem*, 103: 778-786.
- **Legssyer A, Ziyat A, Mekhfi H, Bnouham M, Tahri A, Serhrouchni M., (2002).** Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. in isolated rat heart and aorta. *Phytother. Res.* 16: 503–507.

M

- **Mekhibi, A, Boudria, H., (2013).** Contribution à l'étude des extraits bruts de la plante *urtica dioica* . Mémoire master académique , Université kasdi marbah ouargla .
- **Mena, K. D., & Gerba, C. P., (2009).** Risk assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in water. In D. M. Whitacre (Ed.), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* (Vol. 201, pp. 71-115): Springer US.
- **Miliauskas, G, Venskutonis, P, R, Van Beek, T, A., (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*, 85: 231237.
- **Mittman P., (1990).** Randomized, double-blind study of freeze-dried *Urtica dioica* in the treatment of allergie rhinitis. *Planta Med.* 56 : 44-47.

- **Monfared M, Kamkar A, Khaligh S,G, Javan A,J, Asadi F, & Basti A, A., (2011)** 'Antioxidative effects of Iranian Urticadioical. extracts on the oxidation of sunflower oil. *Journal of Medicinal Plants Research*,5(18): 4438-4445.
- **Morais, M, Moreira, L, Feàs, X, Estevinho, L,M., (2011).** Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Food and Chemical Toxicology*, 10:1-6.
- **Mostad J. P., (2015)** . L'ortie et ses mille secrets. Ed. The Book Edition, France, p.9.
- **Moutsie, (2003).** L'ortie, une amie qui vous veut du bien. *Encyclopédie d'Urovie*; 56p.
- **Moutsie, (2008).** L'ortie, une amie qui vous veut du bien. l'encyclopedie d'utovie, Edition d'utovie.
- **Moreira, M.R., Ponce, A.G., Del Valle, C.E., Roura, S.I., (2005)** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *Leaving Water Temperature*, 38: 565-570.

N

- **Nauciel, C, Vildé, J.L., (2005).** Bactériologie médicale. 2ème Ed. Masson, Paris.
- **Newall, C.A, Anderson, L.A, Phillipson, J.D., (1996).** Herbal Medicines: A Guide for Health-Care Professionals. The Pharmaceutical Press, London, 263.
- **Niki, L, Reynaert, S.W, Aesif, T.M, Amy, B, Emiel, F.M, Wouters, C.G, Irvin, G, Yvonne, M.W, Janssen, H., (2007).** Catalase over expression fails to attenuate allergic airways disease in the mouse. *The journal of Immunology*, 178: 3814-3821.
- **Nidavani, R. B., & Mahalakshmi, A. M., (2014).** Pharmacology of *Tectona grandis* Linn. Short Review. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6(1), 86-90.

O

- **Oakes R. S, Clifford A. A, Rayner C. M., (2001);** The use of supercritical fluids in syntheticorganic chemistry , *J. Chem. Soc*, 1, 2001, 917-941.

P

- **Pechere j c., Acar, j., Armengaud m., Grenier b., Moellering r., Sande m., Waldvogel f., Zinner s., (1991).** Les infections (chapitre 20 : infections urinaires).3ème édition. Paris edisem, pp 334-338.

- **Piquet, M.A, Hébuterne, X., (2007).** Nutrition en pathologie digestive. Ed : DOIN, France.
- **Pincemail, J, Heusele, C, Bonté, F, Limet, R, Defraigne, J.O., (2001).** Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. Act. Méd. Int. - Métabolismes - Hormones –Nutrition, 4: 158-164 .
- **Pinelli, p, Ieri, F, Vignolini, P, Bacci, L, Baronti, S, Romani, A., (2008).** Extraction and HPLC analysis of phenolic compounds in leaves, stalks, and textile fibers of *Urtica dioica*L. Journal of agricultural and food chemistry,56 (19).
- **Prakash D., Upadhyay G., Brahma N., et Singh H.B., (2007).** Singh antioxidant and free radical scavenging activities of seeds and agri-wstes of somesvatietes of soybean (*glycine max*). Foodchemistry, 104:783-790

R

- **Raman, A.V, Berry, M.J., (2012).** Selenoproteins in Cellular Redox Regulation and Signaling. Oxidative Stress in Vertebrates and Invertebrates: Molecular Aspects of Cell Signaling, 195-208. Edited by Tahira Farooqui and Akhlaq A. Farooqui. Hawaii.
- **Reaume, T., (2010).** Stinging nettle *Urtica dioica*urticaceae-nettle family. Nature manitoba.
- **Ribeiro, V. P., Arruda, C., Abd El-Salam, M., & Bastos, J. K., (2018).** Brazilianmedicinal plants withcorroborated anti-inflammatoryactivities: A review. Pharmaceutical biology, 56(1), 253-268.
- **Ribéreau, G., (1970)** Journal international des sciences de la vigne et du vin.
- **RIOS J. et RECIO M., (2005).** Medicinal plants and antimicrobial activity. Journal of Ethnopharmacology 100 : 80-84.
- **Roschek B Jr, Fink RC, Mc Michael M, Alberte RS., (2009).** Nette extract (*Urtica Dioica*) affects key receptors and enzymes associated with allergic rhinitis. Phytother Res 23(7): 920-926.

S

- **Safarinejad, M.R., (2005).** *Urtica dioica* for treatment of benign prostatic hyperplasia: a prospective, randomized, doubleblind, placebo-controlled, crossover study. J. Herb. Pharmacother. 5 : 1–11.
- **Salem et al.** South Asian J Exp Biol; 11 (3): 327-336; 2021

- **Sanchez-Moreno C., (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *The international journal of foodscience and technology*,8, 121-137.
- **Scalbert et Faradet., (2006) ,** stress oxydant et antioxydant a la recherche dun nouveau . paradigme NAFAS, 4(1), 3-10.
- **Schaffner, W., (1992).** Les plantes médicinales et leurs propriétés. Manuel d'herboristerie. Delachaux et Niestlé. 215.
- **Semalty, M., Adhikari, L., Semwal, D., Chauhan, A., Mishra, A., Kotiyal, R., &Semalty, A., (2017).** A ComprehensiveReview on Phytochemistry and Pharmacological Effects of Stinging Nettle (*Urticadioica*).*CurrentTraditionalMedicine*, 3(3), 156-167.
- **Smith, A.J. Jackson, MS., Bagg, J., (2001).** The ecology of staphylococcus species in the oral cavity. *J Med Microbiol.*; 50, p940-946.
- **Szkudelski T., (2001).** The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res*, 50 : p.536-546.

T

- **Tahri A., Yamani S. Legssyer A. et al., (2000).** Acute diuretic, natriuretic and hypotensive effects of a continuous perfusion of aqueous extract of *Urtica dioica* in the rat. *J Ethnopharmacology* .Vol.73: 95-100.
- **Tapiero H, Tew K.D, Nguyen B.G, and Mathé G., (2002).** Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? *Biomed.pharmacother.* 56:200-207.(cited in DjemaiZoueglache S, 2008).
- **Tayel A. et El- Tras W., (2012).** Plant extracts as potent biopreservatives for salmonella typhimurium control and quality enhancement in ground beef. *Journal of Food Safety*, 32(1), 115–121.
- **Testai L, et al., (2002).** Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) root extracts: *in vitro* and *in vivo* pharmacological studies *.J Ethnopharmacol.* 81: 105-109.
- **Tita, I, Mogusam, G.D., (2009).** Ethnobotanical inventory of medicinal plants from the south-west of Romania, *Farmacia*, 57 (2): 1416156.
- **TOUCHE J., (1997).** Représentativité et reproductibilité des extraits de végétaux aromatiques

- **Toldy, A, Stadler, K, Sasvari, M, Jacus, J, Jung-Kung, J, ChungHay, Y, Berkes,I, Nyakas, C, Radak, Z., (2005).** The effect of exercise and nettle supplementation on oxidative stress markers in the rat brain research bulletin 65, 487-493.
- **Turkdogan M.K, Ozbek H, Yener Z, Tuncer I, Uygan I, Ceylan E., (2003):** The role of *Urtica dioica* and *Nigella sativa* in the prevention of carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *Phytotherapy Research* 17: 942–946.

U

- **Upton Roy (R.H. DAYU), (2013).** Stinging nettles leaf (*Urtica dioica*L.): Extraordinary vegetable medicine *Journal of herbal medicine*, 3, 9–38.
- **Uttara, B, Singh, A.V, Zamboni, P, Mahajan, R.T., (2009).** Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Curr. Neuropharmacol*, 7(1) : 65-74.

V

- **Valérie, Langlade, (2010).** L'Ortie dioïque, *Urtica Dioica* L, Etude bibliographique. Thèse de doctorat en Pharmacie. Université de Nante- France., France
- **Valko, M, Leibfritz, D, Moncol, J, Cronin, M.T.D, Mazur, M, Telser, J., (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological function and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell biology*, 39: 44-84.
- **Van, B. F, Tulkens P., (2008).** Pharmacologie et Pharmacothérapie. Anti-infectieuse (Antibiotiques, Antifongiques), pp 199.
- **Vajic U-J., Grujic-Milanovica J., Miloradovic Z., Jovovic D., Ivanov M.,Danijela K., Katarina S., Bugarski B., Mihailovic-Stanojevic N., (2018).** *Urtica dioica* L. leaf extract modulates blood pressure and oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. *Phytomedicine*. 46: 39-45.

W

- **Wang, M, Wei, Y, Huang, X., (2001).** Advances in the study on medicinal herbs of *Urtica*L. *J. Chin. Med. Mater.* 25: 58–60.
- **Wagner H. (1994);** Search for the antiprostatic principle of stinging nettle (*Urtica dioica*) roots. *Phytomedicine* : 213-224.
- **Wichtl, M. et Anton, R. (1999).** Plantes médicinales thérapeutiques. Tec et Doc, 451.

Y

- **Yener Za, Celik I, Ilhan F, Bal R.**(2008); Effects of *Urtica dioica* L. seed on lipid peroxidation, antioxidants and liver pathology in aflatoxin-induced tissue injury in rats. Food and Chemical Toxicology 47: 418–424.

Z

- **Zhar H,** (2011). L 'infection a Escherichia coli entero-hémorragique. Thèse de Doctorat, Université Mohammed 5, Rabat (Maroc). p 5.
- (Anonyme 06)** <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-70396-synthese>, Tela Botanica