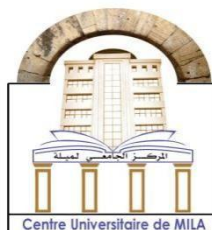


N° Ref :.....



## 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 :

**Activités antiagrégante et anticoagulante des  
polyphénols d'une plante médicinale de genre *Urtica***

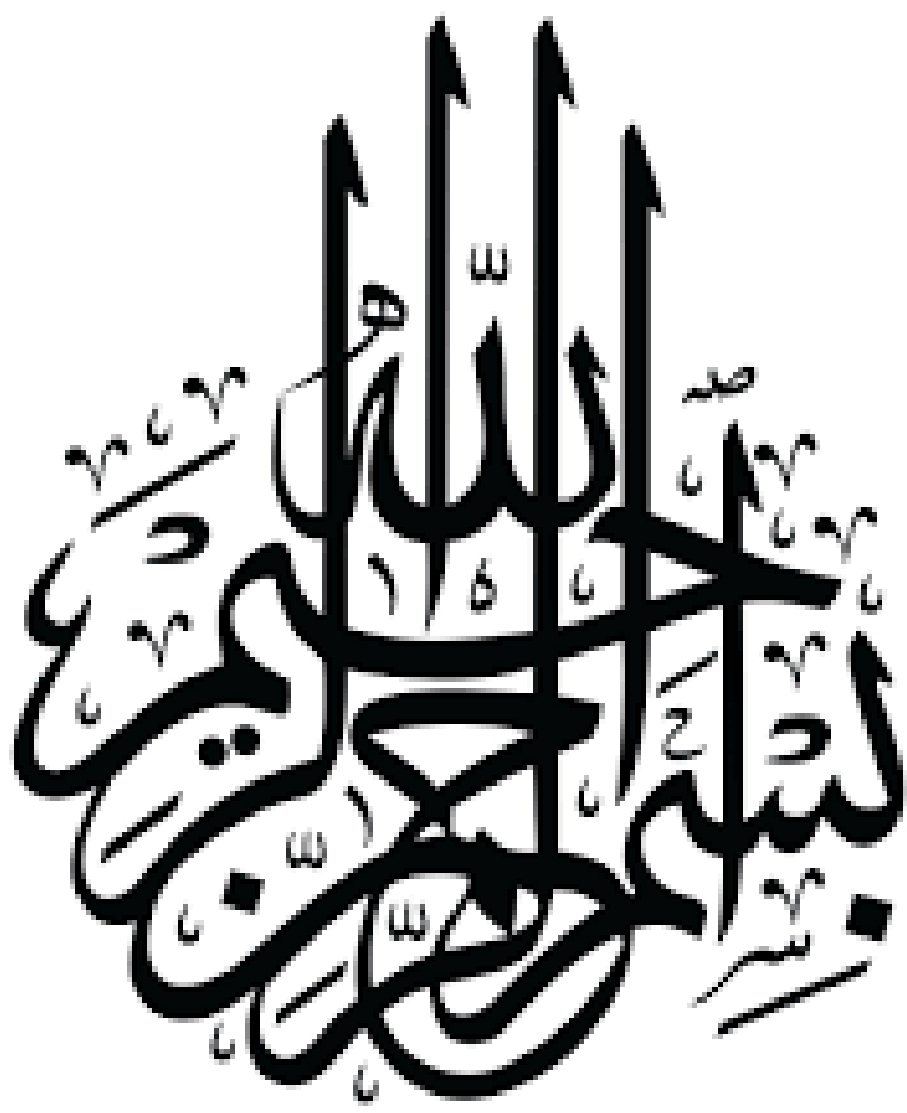
Présenté par :

- SAHLI Soufia
- DIB Noudjoud
- BIOUD Salma

Devant le jury composé de :

Président :	Dr. BOUTELAA Saber	M.C.A. Centre Universitaire de Mila.
Examinatrice :	Dr. NOUICHI Siham	M.C.B. Centre Universitaire de Mila.
Promotrice :	Dr. MANALAHE Ahlame	M.A.A. Centre Universitaire de Mila.

Année Universitaire : 2022/2023





## **Remerciements**

*Avant toute chose, Nous remercions **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné la volonté pour faire ce travail.*

*Nous tenons à remercier vivement **Mme Manalaha Ahlame** Vous nous avez accordé un immense honneur et un grand privilège en acceptant votre supervision pour préparer notre mémoire.*

*Nous vous remercions aussi pour la gentillesse et la spontanéité avec lesquelles vous avez bien voulu diriger ce travail. Nous vous prions, d'accepter dans ce travail le témoignage de notre haute considération, de notre profonde reconnaissance et de notre sincère respect.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de jury qui vont juger notre recherche :*

**Président : DR.BOUTALAA Saber**

**L'examinatrice : DR. NOUICHI**

*Nos vifs remerciements à tous nos enseignants, et les administrateurs du département des Sciences de la Nature et de la Vie.*

*Nous remercions également, toute l'équipe de laboratoire d'analyses médicales de l'hôpital de Freres Maghlaoui , pour ces conseils, ces efforts avec nous.*

*Nous remercions particulièrement Docteur **MIROUH** propriétaire du laboratoire d'analyse médicale pour l'aide qu'il nous a présenté .*

*Nous tenons à exprimer mes sincères gratitudes à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

**Merçi**



## ***Dédicace***

*Je dédie ce modeste travail :*

*À mon cher papa qui nous a quittés très tôt et qui est toujours présent dans nos cœurs. Je ne t'oublierai jamais, je t'aime infiniment .Que Dieu, le tout puissant, te garde dans son vaste paradis.*

*À ma mère, je te dis un grand merci, je te souhaite tout le bonheur, que Dieu te protège et te garde pour moi.*

*À mes frères **Abdelali** et **Omar** et mes sœur **Hadil** , **Sirine** , **bayane** et **loudjine** qui m'ont toujours entourée d'amour.*

*À mes chères binôme **Salma** et **Noudjoude** qui m'a toujours encouragé.*

*Je ne pourrai oublier d'exprimer ma gratitude à tous mes amies .*

*À tous mes collègues et amis.*

***Sahli Soufia***



## *Dédicace*

*Je dédie le fruit de 17 ans de mes études surtout à :*

*Avant tout je remercie Dieu qui me donne la sante, la volonté et le soutien pour achever ce travail*

*La prunelle de mes yeux, l'espoir de ma vie Cella qui m'a entourée de son amour et de sa tendresse à **ma chère mère Fatima** que dieu le garde*

*A mon cher père **Nouar**, Le plus grand amour dans mon cœur, le meilleur guide dans ma vie symbole de sacrifice, de courage et de générosité, que Dieu te protège et te garde pour nous.*

*Je dédie ce travail spécialement A mes sœur **Amel et Amira** et mes frères **Ammar, Hicham , Abd Elhak, Yassin et Hamza** et mes premier supporter de toute ma carrière, et pour m'avoir constamment soutenu moralement et m'encourager à aller de l'avant*

*A mon mari **Abd Elrahim** qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et*

*soutenir tout au long de mon mémoire.*

*A toute la famille DIB du coté de mon père*

*A mon trinôme **Soufia et Noudjoud** qui a partagé avec moi les bons et les durs moments*

***BILOUD SALMA***





## *Dédicaces*

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

*A mes chers parents, Ma Mère **RAHIMA** et Mon Père **MOUHAMED** 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.*

*À mes chers frères "**Fouad**" et "**Bilal**" et leurs et mes adorables sœurs "**Selma**" "**Kamar ezzamen**" et **Amel**, qui m'ont toujours soutenu et encouragé tout au long de mes études, qu'Allah les protègeait et les aide à réaliser tout ce qu'ils veulent et leur offre tout le bonheur.*

*A mon Mari **NASSER** qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mon mémoire.*

*A toute la famille **DIB** du côté de mon père*

*A mes meilleurs amis : **Dounia**, **Aicha**, **Nourhenne**, **Roumaissa**, **Lamise**, **Nessrinne**, **Takwa**, **Ahlem**, **Firdaous** et **Racha***

*A mon beau trinôme : **Soufia** et **Salma***

***DIB Noudjoud***

## Résumé

Le présent travail a pour but de valoriser deux plants de genre *Urtica* souvent méprisée et considérée comme mauvaises herbes par la population locale, Dans ce contexte, notre étude consiste à évaluer l'activité anti agrégeant et anti coagulante des extraits des deux plantes médicinales de le mêmes genre *Urtica dioica* L et *Urtica urens* L .

L'analyse qualitative et quantitative, a permis de constater la richesse des extraits aqueux et hydro-éthanoliques en principes actifs, en particulier Polyphénols et flavonoïdes dans les extraits de *U. dioica* et *U. urens* L et l'absence des saponines et l'alkaloïdes chez l'*U. urens* L. L'estimation quantitative par la méthode colorimétrique des polyphénols totaux auxquels a attribué les diverses activités biologiques ; a montré que nos extraits (éthanolique, méthanolique et aqueux) de deux *Urtica* sont riches en ces composés, mais en quantités différentes .

L'évaluation de l'activité anti-oxydante est mise en évidence par le test de DPPH sur les l'extraits hydro-méthanoliques d'*U. Urnes* L et de *U. dioica* L. Les résultats montrent des activités anti- oxydantes est important avec des valeurs de CI50 égale à (16,62mg/ml) pour l'*U. dioica* L et égale à (16,07mg/ml) pour *U. Urens* L.

Pour étudier l'activité anti thrombotique nous avons adopté un nouveau système modèle pour étudier la lyse des caillots de manière simple et simplifiée à l'aide d'un médicament thrombolytique, la streptokinase. Le résultat donne un pourcentage significatif de lyse de caillots a été observé lorsque la streptokinase été utilisée. D'autre part, avec l'extrait (volume de 100ul) de l'*U. dioica* L, une lyse maximal (94 %) du caillot a été observée. Là Il y avait une différence significative entre la lyse du caillot effectuée par la streptokinase et l'extrait.

L'activité anti-hémolytique *in vitro* des deux extraits à été mesurée par différents types d'inducteurs d'hémolyse. Les extrait ont démontré une effet anti-hémolytique dans les trois cas ou l'hémolyse est induite hypotoniquement par la température et par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> .

D'autre part on a étudié l'activité anticoagulante en faisant les test de coagulations suivantes TP, TCK de pool plasmatique traités précédemment par les deux extrais des plantes utilisées , les résultats de TP de plasma traités avec *U. dioica* L, *U. urens* L ont un taux élevé par rapport au témoin, alors que les résultats de TCK révèlent que *U. dioica* L possèdent une activité anticoagulante à la cocentration et ils ont capable d'allongé le TCK .

**Mots clés :** *Urtica dioica* L, *Urtica urens* L , Urticacées, Flavonoides, Activité biologique, Anticoagulant.

## ***Abstract***

The purpose of this work is to enhance two plants of the genus *Urtica* often despised and considered as weeds by the local population. In this context, our study consists in evaluating the anti-aggregation and anti-coagulant activity of the extracts of the two medicinal plants of the same genus *Urtica dioica* L and *Urtica urens* L .

The qualitative and quantitative analysis revealed the richness of the aqueous and ethanolic extracts in active ingredients, in particular polyphenols and flavonoids in the extracts of *U .dioica* and *U .urens* L and the absence of saponins and alkaloids in *U.urens* L . Quantitative estimation by the colorimetric method of total polyphenols attributed to various biological activities; showed that our extracts (ethanolic, methanolic and aqueous) of two *Urtica* are rich in these compounds, but in different amounts.

The evaluation of the antioxidant activity is highlighted by the DPPH test on the hydro-methanolic extracts of *U.urnes* L and *U.dioica* L. The results show significant antioxidant activities with IC50 values equal to (16.62mg/ml) for *U. dioica* L and equal to (16.07mg/ml) for *U .urens* L.

To study the anti-thrombotic activity we have adopted a new model system to study clot lysis in a simple and simplified way using a thrombolytic drug, streptokinase. The result gives a significant percentage of clot lysis was observed when streptokinase was used. observed. There was a significant difference between the clot lysis performed by streptokinase and the extract.

The in vitro anti-hemolytic activity of the two extracts was measured by different types of hemolysis inducers. The extracts demonstrated an anti-hemolytic effect in the three cases where hemolysis is induced hypotonically by temperature and by H2O2.

On the other hand, the anticoagulant activity was studied by performing the following coagulation tests TP, TCK of plasma pool previously treated with the two extracts of the plants used, the results of TP of plasma treated with *Urtica dioica* L, *Urtica urens* L have a rate high compared to the control, while the TCK results reveal that *Urtica dioica* L possess anticoagulant activity at cocentration and they were able to elongate the TCK.

**Keywords :** *Urtica dioica* L ,*Urtica urens* L, Urticaceae , Flavonoids, Biological study, Anticoagulant, Antiaggregating.



## ملخص

الغرض من هذا العمل هو تعزيز اثنتين من النباتات من جنس *Urtica* في كثير من الأحيان الاحتقار ويعتبرها السكان المحليون الأعشاب الضارة. في هذا السياق ، تتكون دراستنا في تقييم النشاط المضاد للتجلط والمضاد للتخثر لمقتطفات من النباتات الطبية من نفس جنس *Urtica dioica L* و *Urtica urens L*.

كشف التحليل النوعي والكمي عن ثراء المستخلصات المائية والإيثانولية في المكونات النشطة ، ولا سيما البوليفينول والفلافونويد في مستخلصات *U.dioica* و *U.urens L* وغياب الصابونين والقلويات في *U.urens L*. التقدير الكمي من خلال طريقة قياس اللون من البوليفينول الكلي المنسوبة إلى الأنشطة البيولوجية المختلفة ؛ أظهرت أن مستخلصاتنا (الإيثانوليك ، الميثانول والمائي) من اثنتين من أورتيكا غنية بهذه المركبات ، ولكن بكميات مختلفة.

يتم تسليط الضوء على تقييم النشاط المضاد للأكسدة من خلال اختبار DPPH على المستخلصات المائية الميثانولية من *U.urens L* و *U.dioica L*. تظهر النتائج أنشطة مضادة للأكسدة كبيرة مع قيم IC50 تساوي (16.62 مل/ملغ) ل *U. dioica L* وتساوي (16.07 مل/ملغ) ل *U. urens L*.

لدراسة النشاط المضاد للتخثر ، اعتمدنا نظاما نموذجيا جديدا لدراسة تحلل الجلطات بطريقة بسيطة ومبسطة باستخدام دواء تخثر ، ستربتوكيناز . النتيجة تعطي نسبة كبيرة من تحلل الجلطة لوحظ عند استخدام ستربتوكيناز . لاحظ. كان هناك فرق كبير بين تحلل الجلطة الذي يقوم به streptokinase والمستخلص.

تم قياس النشاط المضاد للانحلال الدموي في المختبر من المستخلصين من خلال أنواع مختلفة من محفزات انحلال الدم. أظهرت المستخلصات تأثيرا مضادا للانحلال الدموي في الحالات الثلاث التي يتم فيها تحفيز انحلال الدم عن طريق درجة الحرارة و  $H_2O_2$ .

من ناحية أخرى ، تمت دراسة النشاط المضاد للتخثر من خلال إجراء اختبارات التخثر التالية TCK ، TP ، من تجمع البلازما المعالجة سابقا مع مستخلصين من النباتات المستخدمة ، ونتائج TP من البلازما المعالجة مع *Urtica urens L* ، *Urtica dioica L* لديها معدل مرتفع مقارنة بالتحكم ، في حين أن نتائج TCK تكشف أن *Urtica dioica L* تمتلك نشاطا مضادا للتخثر في cocentration وكانوا قادرين على إطالة TCK.

الكلمات المفتاحية: *Urtica dioica L*, *Urtica urens L*, Urticaceae, Flavonoids, Biological study, anticoagulant , مكافحة الشيوخة.

## Table des matières

Remerciements

Dédicace

Dédicace

Dédicaces

Résumé

Abstract

مختصر

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale ..... 1

### Partie bibliographique

#### Chapitre I: Plantes médicinales

1. Origine et aire de répartition .....	6
2. Dénomination de l' <i>Urtica dioica</i> L.....	6
3. Classification botanique .....	6
4. Description de l'ortie dioïque.....	7
4.1. Feuille .....	7
4.2. Tiges .....	7
4.3. Fleurs .....	8
4.4. Fruits et graines .....	8
4.5. Racine et rhizomes.....	8
5. Composition nutritionnelle et chimique .....	9
6. Utilisation d' <i>Urtica dioica</i> L .....	12

---

6.1. En alimentation.....	12
6.2. En agriculture .....	12
6.3. En industrie.....	12
6.4. Usages médicaux .....	12
6.5. En pharmacie .....	13
7. Activités biologiques d' <i>Urtica dioica</i> L .....	14
7.1. Activité anti-inflammatoire .....	14
7.2. Activité antimicrobienne .....	15
7.3. Activité anti-diabétique .....	15
7.4. Autres activités .....	15

## **Chapitre II : Métabolites secondaires**

1. Généralité .....	17
2. Molécules issues du métabolisme secondaire .....	17
3. Les composés phénoliques .....	17
3.1. Les acides phénoliques .....	18
3.1.1. Acides hydroxybenzoïque .....	18
3.1.2. Acides hydroxycinnamique.....	18
3.2. Les tanins.....	18
3.2.1. Tannins hydrolysables .....	18
3.2.2. Tannins condensés .....	19
3.3. Les Coumarines .....	19
3.4. Les flavonoïdes .....	20
4. Les alcaloïdes .....	20
5. Les huiles essentielles .....	21

## **Chapitre III : Activité anticoagulante**

1. L'hémostase .....	23
2. Physiologie de l'hémostase .....	23

---

2.1. L'hémostase Primaire .....	23
2.1.1. Le temps vasculaire.....	24
2.1.2. Le temps plaquettaire .....	24
2.2. La coagulation .....	24
2.2.1. Voie extrinsèque .....	25
2.2.2. Voie intrinsèque .....	25
2.2.3. Voie commune.....	25
2.3. La fibrinolyse.....	27
3. La thrombose et sa physiopathologie .....	27
3.1. Les types de thrombose .....	27
3.1.1. La thrombose veineuse ou phlébite.....	27
3.1.2. La thrombose artérielle .....	28
3.1.3. La thrombose intracardiaque.....	28
3.1.4. La thrombose des surfaces artificielles .....	28
3.2. Traitement des maladies thrombotiques .....	28
3.2.1. Les antiagrégants.....	28
3.2.2. Les fibrinolytiques .....	28
3.2.3. Les anticoagulants.....	28
4. Exploration de l'hémostase .....	29
4.1. Taux de prothrombine TP.....	29
4.2. Temps de céphaline-Kaolin (TCK) .....	29
4.3. Fibrinogène.....	29

**Partie expérimentale**

**Chapitre I: Matériel et méthodes**

1. Description de la zone d'étude .....	32
2. Méthodes .....	32
2.1. Préparation du matériel végétal .....	32

---

2.2. Préparation des extraits végétaux .....	33
3. Analyse qualitative .....	35
3.1. Screening phytochimique .....	35
4. Rendement en extrait sec (Résidu sec).....	38
5. Analyse quantitative .....	38
5.1. Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie (méthode de FolinCiocalteu) .....	38
5.2. Dosage des flavonoïdes totaux par la méthode de trichlorure d'Aluminium .....	39
6. Évaluation de l'activité biologique in vitro.....	39
6.1. Activité antioxydant .....	39
6.1.1. Test de l'activité anti-radicalaire (DPPH) .....	39
6.2. L'activité thrombolytique .....	40
6.3. L'activité anti hémolytique.....	41
6.4. L'activité antiagrégant .....	42
6.5. L'activité anticoagulante .....	43
<b>Chapitre II: Résultats et discussion</b>	
1. Résultats et discussion.....	47
1.1. Screening phytochimiques .....	47
2. Rendement en Extrait brut.....	55
3. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïde totaux .....	56
4. Activités biologiques .....	58
4.1. Résultats de l'activité antioxydante .....	58
4.2. Activité antithrombotique .....	61
4.3. Activité anti-hémolytique sur des cellules sanguines humaines.....	62
4.4. Activité anti coagulante .....	65
4.4.1. Activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène.....	65
4.5. Activité antiagrégant.....	66
Conclusion .....	71



Références bibliographiques .....	74
<b>Annexes</b> .....	<b>89</b>

*Liste des abréviations*

**UD:** *Urtica dioica*.

**Cm:** Centimètre.

**°C :** Degré Celsius.

**VWF :** von willebrand Facteur.

**H :** Heure

**S:** Second

**g :** Gramme.

**mg :** Milligramme.

**ml :** Millilitre.

**NaCl :** Chloride sodium.

**HCl :** Acide chlorhydrique.

**NaOH :** Hydroxyde de sodium.

**CHCl<sub>3</sub> :** Chloroforme.

**FeCl<sub>3</sub> :** Chlorure ferrique.

**AlCl<sub>3</sub> :** Trichlorure d'aluminium.

**DPPH :** 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha,\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle)

**ASC :** Acide ascorbique

**MS :** Matière sèche.

**mg EAG/g :** Équivalents acide gallique par milligramme.

**NaCl :** Chloride sodium.

**HCl :** Acide chlorhydrique.

**TCK :** Temps de céphalin kaolin.

**TP :** Taux de prothrombine.

**TQ :** Temps De Quick.

**V :** Volume.

*Liste des figures*

<b>Figure 01</b> : les feuilles de l' <i>Urtica dioica</i> L.....	7
<b>Figure 02</b> : tige de l' <i>Urtica dioica</i> L.....	8
<b>Figure 03</b> : Fruites et graines de l' <i>Urtica dioica</i> L.....	8
<b>Figure 04</b> : partie racinaire de l' <i>Urtica dioica</i> L.....	9
<b>Figure 05</b> : Structures des principaux flavonoïdes et acides phénoliques rapportés des feuilles d' <i>Urticadioica</i> .....	10
<b>Figure 06</b> : médicaments à base d' <i>Urtica dioica</i> .....	13
<b>Figure 07</b> : tisane à base d' <i>Urtica dioica</i> .....	13
<b>Figure 08</b> : Diverses activités fonctionnelles alimentaires d'extraits et de composés bioactifs d' <i>Urticadioica</i> .....	14
<b>Figure 09</b> : La Structure de base des composé phénoliques .....	17
<b>Figure 10</b> : Structures chimiques des acides phénoliques.....	18
<b>Figure 11</b> : Structures générales des tanins condensés (A) et des tanins hydrolysables (B)....	19
<b>Figure 12</b> : Structure chimique des coumarines.....	19
<b>Figure 13</b> : Structure de base des flavonoïdes.....	20
<b>Figure 14</b> : Structure d'alcaloïdes .....	21
<b>Figure 15</b> : Brèche vasculaire et différentes étapes de l'hémostase (Brèche vasculaire).....	23
<b>Figure 16</b> : facteurs de coagulation et leurs demi-vies .....	26
<b>Figure 17</b> : Étapes de la coagulation .....	26
<b>Figure 18</b> : La localisation géographique du lieu de récolte.....	32
<b>Figure 19</b> : Broyage et tamisage de l' <i>Urtica dioica</i> L.....	33
<b>Figure 20</b> : Etapes de la macération éthanolique .....	34
<b>Figure 21</b> : Etapes de la macération aqueux .....	35
<b>Figure 22</b> : Etapes de préparation d'un pool de plasma.....	44
<b>Figure 23</b> : Matériel préparé pour l'évaluation de TP .....	45
<b>Figure 24</b> : Rendement des extraits bruts d' <i>Urtica urens</i> L.....	55
<b>Figure 25</b> : Rendement des extraits bruts d' <i>Urtica dioica</i> L.....	56

---

<b>Figure 26 :</b> Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits d' <i>Urtica dioica</i> (UD) et <i>Urtica urens</i> (UU).....	57
<b>Figure 27 :</b> Teneurs en flavonoïdes des différents extraits d' <i>Urtica dioica</i> (UD) et <i>Urtica urens</i> (UD).....	58
<b>Figure 28 :</b> Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait méthanoliques des deux plantes ( <i>Urtica dioica L</i> et <i>Urtica urens L</i> ).....	59
<b>Figure 29 :</b> Valeurs d'IC50 des extraits Met d' <i>Urtica dioica L</i> et <i>urtica urens L</i> avec les standards vit C et BHT .....	60
<b>Figure 30 :</b> Coagulation d'échantillons sanguins de sujets normaux (contrôle positif et négatif).....	61
<b>Figure 31 :</b> Effet thrombolytique in vitro exprimé en pourcentage de l'extrait urtica, de streptokinase et de l'eau (controle négatifs).....	62
<b>Figure 32 :</b> Taux d'hémolyse (%) des érythrocytes traités par le H2O2 en présence de différentes concentrations d'extrait aqueux des <i>Urtica dioica L</i> et <i>Urtica urens L</i> .....	63
<b>Figure 33 :</b> valeur EC50 d' <i>Urtica dioica L</i> .....	63
<b>Figure 34 :</b> valeur EC50 d' <i>Urtica urens L</i> .....	64
<b>Figure 35 :</b> Capacité anticoagulante de extrait aqueux d' <i>Urtica dioica</i> et urens vis-à-vis de la voie exogène.....	65
<b>Figure 36 :</b> Capacité anticoagulante de extrait aqueux d' <i>Urtica dioica</i> et <i>urens</i> vis-à-vis de la voie endogène .....	66
<b>Figure 37 :</b> Pourcentage de l'agrégation plaquettaire des extrait EUD, EUU et l'aspirine. ....	67

*Liste des tableaux*

<b>Tableau 01</b> : Constituants chimiques bioactifs des feuilles d' <i>Urtica dioica</i> .....	11
<b>Tableau 02</b> : Résultats d'analyse phytochimique des métabolites primaires et secondaires d'espèce <i>Urtica dioica L</i> .....	47
<b>Tableau 03</b> : Résultats d'analyse phytochimique des métabolites primaires et secondaires l'espèce <i>Urtica urens L</i> .....	51
<b>Tableau 04</b> : Rendement des extraits bruts <i>Urtica urens L</i> .....	55
<b>Tableau 05</b> : Rendement des extraits bruts <i>Urtica dioica L</i> .....	55
<b>Tableau 06</b> : Activité thrombolytique d'extrait de urtica .....	61
<b>Tableau 07</b> : absorbance des deux extraits d' <i>Urtica dioica L</i> et <i>urtica urens L</i> avant et après ajoute le collagène à 600nm. ....	68



# *Introduction*



## **Introduction générale**

La médecine traditionnelle ou les traitements à base de plantes médicinales étaient développés au monde, elle a fait appel à tous les traitements que la nature pouvait lui offrir. Les formes galéniques les plus diverses ont été employées dans les préparations à base de plantes : cataplasme, extraits aqueux, extraits alcooliques, extraits et macérats huileux, extraits vineux et vinaigrés, tisanes.....etc (**Babuca., 2007**).

Parmi eux L'ortie est également considérée comme une plante magique dans de nombreuses cultures. En effet d'après Leonard Buhner « L'ortie est associée aux sortilèges voués à la guérison, à la protection et à la purification » (**Buhner., 2006**).

L'ortie a le grand potentiel de fournir de nouvelles pistes médicamenteuses avec de nouveaux mécanismes d'action (**Singh et al., 2012**). Différents effets thérapeutiques de cette plante ont été rapportés dans de nombreuses études dont anti-inflammatoire et antirhumatismal (**Obertreis et al., 1996, Riehemann et al., 1999**), antioxydant, antimicrobien, antiulcéreux, analgésique (**Gulcin et al., 2004**), effets antiprolifératifs (**Konrad et al., 2000**) et cardiovasculaires (**Testai et al., 2002**). Les extraits d'ortie peuvent agir comme un stimulant de la prolifération des lymphocytes humains (**Wagner et al., 1989**). L'effet thérapeutique et inhibiteur de l'extrait d'ortie sur l'hyperplasie prostatique a été démontré dans différentes études (**Krzeski et al. 1993, Lichius et Muth, 1997**).

Le précurseur de la phytothérapie, Henri Leclerc, s'intéressa entre 1925 et 1931 aux vertus hémostatiques de l'ortie, dont il relate les observations dans son Précis de phytothérapie: « J'ai pu constater personnellement les bons effets du suc de grande ortie comme vasoconstricteur chez trois malades atteints de métrorragie. ». Il reconnaissait également à l'ortie des propriétés anti-diarrhéiques (**Fleurentin 2008; Bertrand 2010; Lerbet 2011; Tissier 2011**).

Les maladies cardiovasculaires sont responsables de nombreux problèmes de santé dans le monde. En effet, ces maladies constituent un ensemble de troubles qui touchent le coeur et la circulation sanguine. Ces maladies constituent la conséquence de la complication pathologique des maladies thrombotiques artérielles et veineuses,

C'est la raison pour laquelle plusieurs recherches sont focalisées sur la médecine traditionnelle ou le traitement à base de plantes médicinales dans le traitement de ces maladies. (**Alexandre et al., 2018**).

L'objectif de notre étude consiste à étudier l'activité antiagrégant et anticoagulant d'un extrait plantes médicinales *U. dioica* L. Notre travail sera réparti en deux parties :

- Une partie relative à l'étude bibliographique de plante, de l'activité anticoagulante et l'activité antiagrégant.
- Une autre partie réservée à l'étude expérimentale subdivisée en deux chapitres : l'un présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail et l'autre consacré à la présentation et la discussion des résultats obtenus.

# *Partie bibliographique*



[www.la-vie-naturelle.com](http://www.la-vie-naturelle.com)

*Chapitre I :*  
*Plantes médicinales*







## 1. Origine et aire de répartition

L'ortie est une plante herbacée vivace originaire des régions tempérées de l'Eurasie, Parmi les espèces du genre *Urtica*, *U. dioica* L. est la plus grande et la plus répandue (dhoubi et al., 2019). Elle se trouve dans le monde entier : l'Europe et l'Afrique du nord à l'Asie, ainsi qu'Amérique du nord et du sud (kargozar et al.,2019).

Madagascar et l'Afrique du Sud où l'ortie est quasiment absente (henning et al.,2014). En Algérie, elle est relativement commune dans les ravins des montagnes de Kabylie et dans les régions de Skikda et Annaba. Elle est moins fréquente dans l'Atlas Blidéen (Baba Aissa, 2000).

## 2. Dénomination de l'*Urtica dioica* L

Le nom latin (universel) de l'ortie est *U. dioica* L. L'ortie se disait *Urtica* en latin venant lui-même du verbe *Urere* signifier brûler par extension urticaire, se disent de toutes espèces démangeaisons similaires à celles provoquées par les piquantes d'orties. Le nom d'espèce *dioica* se disait dioïque en français, concerne un végétal dont les fleurs mâles et femelles sont portées par des pieds différents. ( Valnet, 1992;Bertrand, 2008) .Il appartient à la famille des Urticacées de l'ordre de Rosales qui contient environ 60 genres et plus de 700 espèces (Asgarpanah et Mohajeranial.,2012).

D'après Luna, T. (2001) *Urtica dioica* est appelé :

- **Français** : ortie, grande ortie
- **Anglais**: common nettle, stinging nettle,
- **Espagnol** : ortiga
- **Arabe** : حشوك, أمشاص

## 3. Classification botanique

Selon (Quézel et Santa, 1963). *U. dioica* L. appartient au :

**Règne** : plantae (plantes).

**Sous-règne** : Tracheobionta (plantes vasculaires).

**Embranchement** : Magnoliophyta (phanérogames).

**Sous-embranchement** : Magnoliophytina (angiospermes).

**Classe** : Rosidaeae.

**Sous-classe :** Rosidaeae dialycarpellées.

**Ordre :** Rosales.

**Famille :** Urticaceae.

**Genre :** *Urtica L*

Ce sont les espèces *U. dioica L* et *U.urens L* qui sont connues pour posséder des propriétés médicinales *U.dioica L* étant le sujet de cette étude, nous n'accorderons qu'une description sommaire *U.urens L* .

#### 4. Description de l'ortie dioïque

Elle a été décrite pour la première fois en **1753** par le naturaliste suédois Carl Von Linné. La plante d'ortie dioïque est couverte de poils urticants, c'est une herbacée vivace grâce à un rhizome jaune rampant, elle peut atteindre 1.50 mètre de haut. C'est une plante ayant des fleurs mâles et femelles portées par deux plants différents (**Chavoutier et al.,2000**).

##### 4.1. Feuille

Les feuilles fraîches sont vert vif mesurent 3 à 15 cm de long (**Asgarpanah et Mohajerani, 2012**) avec des bords dentelés et sont clairement visibles sur la face inférieure des feuilles. (**Upton, 2013**). Ils sont verts foncé dessus et plus pâles dessous, oblongues ou ovales, opposées, cordées à la base, finement dentées (**figure 1**) (**deveco et al., 2018**) .



**Figure 01 :** les feuilles de l'*Urtica dioica L* . (Asgarpanah et Mohajerani,2012)

##### 4.2. Tiges

Les tiges sont dressées, robustes, non ramifiées, et à section quadrangulaires et recouverte de poils urticants. Elles sont d'une couleur verte lorsque la plante est jeune, et rouge violet lorsqu'elle est plus âgée (**figure 2**)(**Bertrand, 2010**).



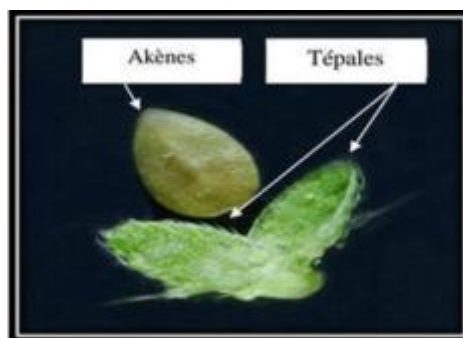
**Figure 02 :** tige de l'*Urtica dioica* L. (Moutsie, 2008).

#### 4.3. Fleurs

L'ortie a de nombreuses petites fleurs vertes ou brunes avec des inflorescences axillaires denses. Les fleurs mâles n'ont que des étamines, les fleurs femelles n'ont que des pistils ou des organes producteurs de graines. Généralement, les plantes ont des fleurs mâles ou femelles partout (Asgarpanah et Mohajerani, 2012)

#### 4.4. Fruits et graines

Le fruit d'ortie est constitué d'un akène ovale de couleur jaune-brun. Il est entouré d'un calice persistant et reste enveloppé dans deux gros sépales accrescents, larges et ovales. Il est formé d'une graine, albuminée, à embryon droit (**figure 3**) (Wichtl et Anton, 2003 et Ghedira et al., 2009).



**Figure 03 :** Fruits et graines de l'*Urtica dioica* L. (Reaume, 2010).

#### 4.5. Racine et rhizomes

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

vivent en symbiose avec l'ortie (moutsie., 2008). (Figure Moutsie, (2008)., L'ortie, une amie qui vous veut du bien, l'encyclopedie d'utovie, Edition d'utovie.



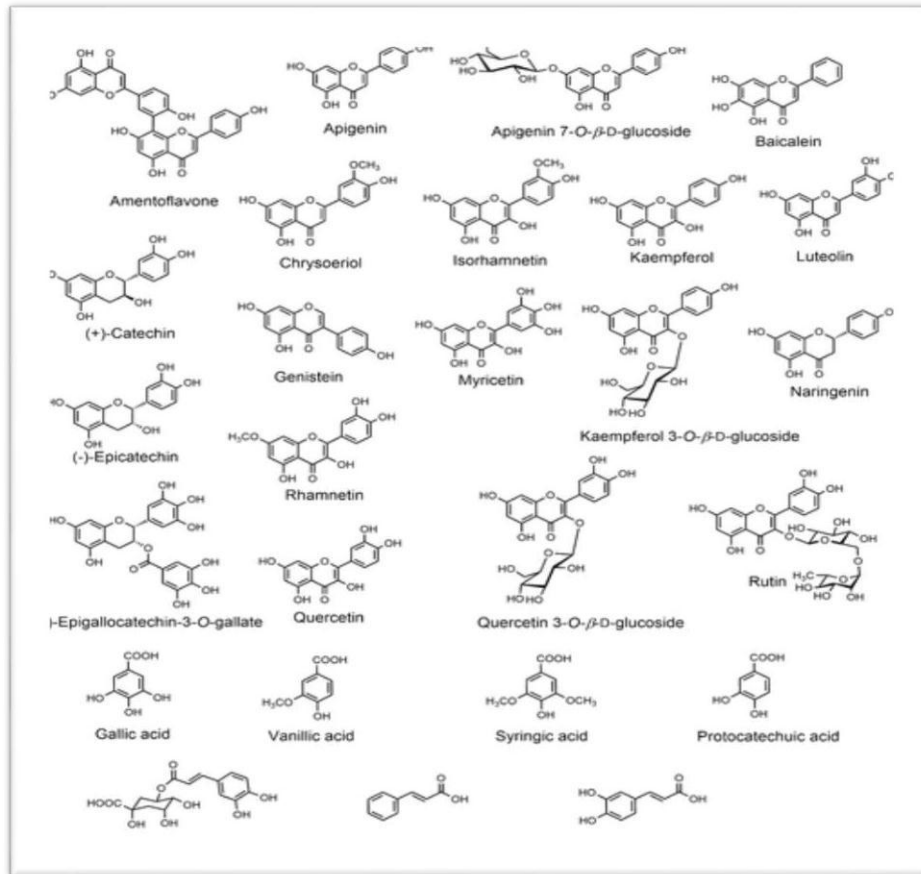
**Figure 04** : partie racinaire de l'*Urtica dioica* L. (Asgarpanah & Mohajerani,2012)

## 5. Composition nutritionnelle et chimique

Diverses espèces du genre *Urtica* seraient de riches sources de composants nutritionnels, tels que des acides aminés, des fibres, des composés phénoliques, des vitamines et des minéraux (Kregiel, D et al.,2018). Les feuilles d'*U. dioica* L sont riches en chlorophylles, glucides, caroténoïdes, graisses, vitamines et minéraux ( Paulauskienė, A et al.,2012;aheri, Yet al.,2020;Bhusal. K.Ket al.,2022). Paulauskiene et al. ont analysé l'influence du moment de la récolte sur la composition chimique des feuilles d'*U.dioica* L en collectant les feuilles tous les mois d'avril à septembre. Les résultats ont montré une variation de la teneur en chlorophylles, caroténoïdes, composés phénoliques et capacité antioxydante parmi les échantillons . (Adhikari, B.M et al.,2016;Kregiel, D et al.,2018) Adhikari et al ont comparé les propriétés nutritionnelles de la poudre de feuilles séchées d'*U .dioica* L à celles des farines d'orge et de blé. Ils ont rapporté que la poudre de feuilles d'*U. dioica* L avait un niveau plus élevé de protéines brutes (33,8%), de fibres brutes (9,1%), de matières grasses brutes (3,6%) et de glucides (37,4%).

Divers composés phytochimiques, y compris les flavonoïdes, les acides phénoliques (dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide cinnamique), les acides aminés, les caroténoïdes, les acides organiques et les acides gras (tableau 1) sont signalés dans les différentes parties de la plante d'*U.dioica* L, bien que la plupart des études se soient concentrées sur feuilles. Les structures de certains flavonoïdes et acides phénoliques sont données à la (figure 5). Plusieurs composés d'autres groupes, tels que les sucres (inositol, glucose, rhamnose et saccharose) (Grauso, L et al.,2016), les composés volatils (par

exemple, l'hexanal, le linalol, la carvone, l'aldéhyde de cumin, carvacrol et phytol) (Gül, S et al.,2012), la choline et l'indole-3-carboxaldéhyde (Grauso, L et al.,2016) ont également été signalés. Otles et Yalcin ont rendu compte des composés phénoliques des feuilles, des tiges et des racines de l'*U. dioica* L collectés dans différentes parties de la Turquie, où ils ont montré une variation de la teneur en ces composés en fonction de la partie de la plante et de la localité d'où ils ont été collectés. (Otles, S., Yalcin, B et al.,2012)



**Figure 05 :** Structures des principaux flavonoïdes et acides phénoliques rapportés des feuilles d'*Urtica dioica*. (Grauso, L et al.,2016).

**Tableau 01 :** Constituants chimiques bioactifs des feuilles d' Urticadioica.(Hari Prasad Devkota et al.,2022) .

Groupe chimique	Composés
<b>Flavonoïdes</b>	Amentoflavone, apiine, apigénine, apigénine 7- O - $\beta$ - d -glucoside, baicaline, baicaléine, catéchine, épicatechine, épigallocatechine gallate, chrysoeriol, genestein, isorhamnétine, kaempférol, keampférol 3- O - $\beta$ - d - glucoside , lutéoline, lutéoline 7- O - $\beta$ - d - glucoside, myricétine, naringénine, quercétine, quercétine 3- O - $\beta$ - d -glucoside, quercétine 3- O - $\beta$ - d -galactoside, rutine, vitexine
<b>Acides phénoliques</b>	Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque  Acide gallique, acide vanillique, acide syringique, acide protocatechuique, acide gentisique  Dérivés de l'acide cinnamique Acide  cinnamique, acide caféique, acide p -coumarique, acide férulique, acide chlorogénique, acide sinapique
<b>Acides aminés</b>	Alanine, acide $\gamma$ -aminobutyrique (GABA), acide glutamique, isoleucine, leucine, phénylalanine, proline, tyrosine, valine
<b>Caroténoïdes</b>	$\beta$ -carotène, isomères de lutéine, néoxanthine, violaxanthine
<b>Acides organiques</b>	Acide acétique, acide citrique, acide formique, acide malique, acide succinique
<b>Les acides gras</b>	Acide arachidique, acide arachidonique, acide béhénique, acide dodécendoïque, acide eurique, acide palmitique, acide palmitolique, acide stéarique, acide tricosanoïque, acide laurique, etc.

## 6. Utilisation d'*Urtica dioica* L

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

### 6.1. En alimentation

Depuis l'Antiquité, les romains et les grecs consommaient de l'ortie. Elle était généralement cuisinée comme les épinards ou sous forme de soupe, de thé (Boyrie, 2016).

Les feuilles d'ortie se mangent comme des épinards préparés en feuilles cuites, bouillies ou ajoutées aux feuilles Les soupes et les sauces sont consommées comme aliments de famine dans de nombreuses régions du monde (Davidson et Jaine, 2006 ; Khatiwada et al., 2011). Les feuilles d'ortie ont été utilisées, en particulier dans les zones rurales L'Afrique, comme herbe potagère, soupe et infusions (Kavalali, 2003 ; Moskovitz, 2009 ; Roberts, 2011). Au Népal, les feuilles d'ortie sont ajoutées aux soupes ou cuites comme herbe potagère (Adhikari et al., 2016). En Éthiopie, une sauce est préparée à partir de jeunes feuilles d'ortie et de poudre d'orge et servie avec injera (Shonte et WoldeTsadik, 2013). Les orties piquantes sont utilisées comme source sauvage de légumes en Afrique du Sud (Bhat et al., 2002 ; Jimoh et al., 2010 ; Maanda et Bhat, 2010). Infusion et Décoction à base de plantes médicinales (ex. lavande, camomille, thym, sauge, fenouil, feuilles d'ortie , etc.) les feuilles et la poudre de feuilles sont la forme de boisson la plus traditionnellement utilisée au Portugal (Gião et al., 2007).

### 6.2. En agriculture

Le dérivé agricole d'*Urtica dioica* est le purin qui est utilisé comme fertilisant ou bien en traitement préventif de certaines maladies ou invasions de parasites. Il sert de fongicide, d'insecticide (contre les acariens) (Draghi , 2005).

### 6.3. En industrie

Les tiges de l'ortie sont intégrées en industrie pour la fabrication du papier et de tissu, teinture, colorants grâce à leurs richesses en chlorophylles (Draghi, 2005).

### 6.4. Usages médicaux

Bref historique des utilisations médicales de l'ortie en occident, depuis l'antiquité, l'ortie est considérée comme un hémostatique puissant. En Grèce, Discorde (Ier siècle) prescrivait l'utilisation de feuilles fraîches pour les métrorragies, les blessures infectées et



l'application de son jus pour les saignements de nez. Au XVIIIe siècle, Chonel la considérait comme « l'un des plus assurés des remèdes pour le crachement de sang, et pour les hémorragies ». Elle était reconnue pour ses propriétés astringentes, anti-diarrhéiques, et dépuratives. Elle fut inscrite au Codex de la Pharmacopée française en 1818. Jusqu'au XIXe siècle, on considérait que les flagellations du corps avec une botte d'ortie étaient un moyen efficace de lutter contre les douleurs rhumatismales (Mekhibi, et al.,2013).

### 6.5. En pharmacia

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

Dans (figure 6) un exemple d'un produit ORTIE, Teinture biologique plantes fraîches, (*U. dioica* L) utilisé en phytothérapie comme tonique nutritif, comme thérapie de soutien pour aider à soulager les douleurs rhumatismales et pour aider à soulager les symptômes d'allergies saisonnières. Utilisé traditionnellement en phytothérapie comme diurétique. (1)



**Figure 06 :** médicaments à base d'*Urtica dioica*. (1)

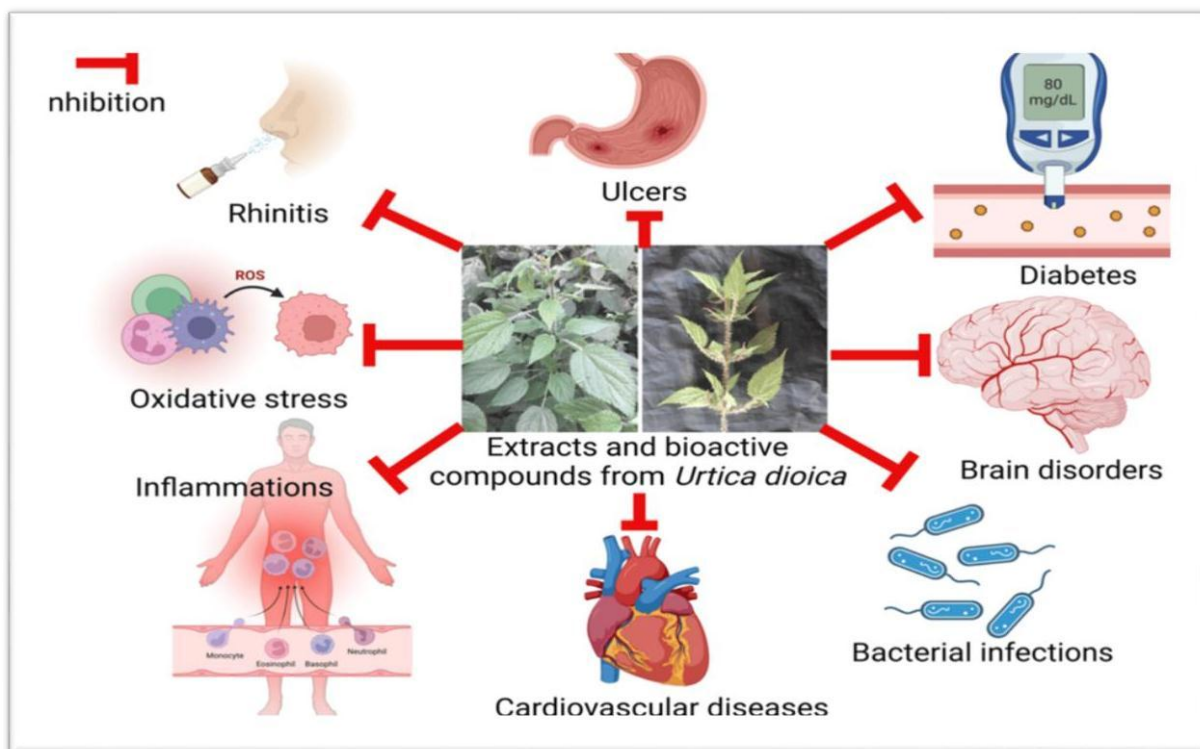
Le Figure 7 représente tisane fabriquée dans laboratoire Iphym, des Feuilles d'orties séchées et découpées en vrac pour faire des infusions (Boyrie, 2016).



**Figure 07 :** tisane à base d'*Urtica dioica* (Boyrie, 2016).

## 7. Activités biologiques d'*Urtica dioica* L.

Diverses activités fonctionnelles des extraits et des composés bioactifs d' *Urtica dioica* , telles que rapportées par une littérature considérable, ont été résumées dans (figure 8) .



**Figure 08 :** Diverses activités fonctionnelles alimentaires d'extraits et de composés bioactifs d'*Urtica dioica*.(2)

### 7.1. Activité anti-inflammatoire

Quelques études ont démontré les effets des feuilles d'*U. dioica* L. dans le processus inflammatoire parmi-eux :

- Inhibition des cyclo-oxygénases COX-1 et COX-2 dans la voie de l'inflammation par blocage de la formation de prostaglandines pro-inflammatoires. (**Roschek, B et al.,2009**).
- Diminution de l'inflammation dans la polyarthrite rhumatoïde en inhibant le TNF alpha (TNF- $\alpha$ ) et l'interleukine-1. ( **Yang CLH,2013**).
- Inhibition du PAF (Platelet activating factor) des neutrophiles et diminution de l'activation des voies de signalisation aboutissant à la production de cytokines pro-inflammatoires. (**Antonopoulou ,S., 1996**).

### 7.2. Activité antimicrobienne

Sur la base de ces résultats de **(Razzagh, M et al., 2014)**, on peut suggérer qu'*U.dioica* L et ses extraits d'eau et d'éthanol ont des effets antimicrobiens notables contre les champignons gram négatif, positif et *Candida albicans* et qu'il s'agit d'une source intéressante de composés biologiquement actifs et qu'il a le potentiel d'être utilisé dans le contrôle et le traitement des infections causées par certaines espèces bactériennes qui peuvent être appliquées pour la prophylaxie et la thérapie, à la fois chez les humains et les animaux.

### 7.3. Activité anti-diabétique

Étude de **(Mohammad Jafar, 2010)** a montré que l'administration des feuilles d'*U. dioica* avant l'induction du diabète chez les animaux peut augmenter la prolifération des lymphocytes b et diminuer la concentration de glucose dans le sang chez 60 % des rats.

### 7.4. Autres activités

Les racines d'*U. dioica* L. présentent des propriétés intéressantes pour améliorer les symptômes de l'hypertrophie bénigne de la prostate. Ce sont les extraits méthanoliques de racine d'ortie qui jouent principalement un rôle dans l'amélioration des symptômes de l'hypertrophie bénigne de la prostate. Cette plante agit sur différentes cibles et permet de diminuer la taille de la prostate et ainsi d'améliorer les troubles urinaires. **(Boyrie, 2016)**.

***Chapitre II :***  
***Métabolites secondaires***

## 1. Généralité

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes, ces produits sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies et sont d'une variété structurale extraordinaire.

Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, un genre ou une famille de plante, ils sont classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes, les alcaloïdes, et les composés phénoliques (Cuendet, 1999 ; Vermerris, 2006).

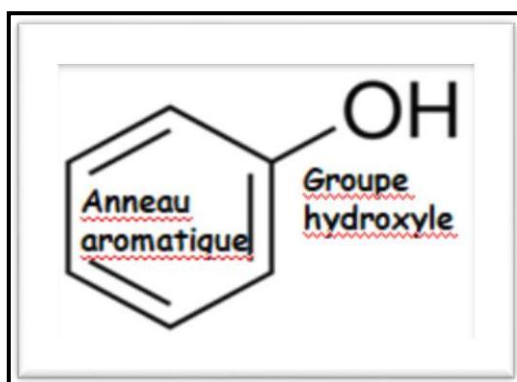
## 2. Molécules issues du métabolisme secondaire

Les plantes produisent un grand nombre de métabolites secondaires qui ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent de réactions chimiques ultérieures. Les métabolites secondaires à structures chimiques souvent complexes, sont très dispersés et très différents selon les espèces ( Cheriti A et al., 1995;Thomas M, 2011).

## 3. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont synthétisés par les plantes et appartiennent à leur métabolisme secondaire (Gee et Johnson, 2001). Ces corps jouent un rôle important dans la qualité sensorielle tel que : couleur des fruits, couleur des fleurs et des feuilles (El Gharras, 2009).

Cette appellation désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement. Cette structure (Figure 09) est caractérisée par la présence d'un ou plusieurs cycles aromatiques portant un ou plusieurs groupes hydroxyles, que ce soit libres ou liés avec une autre fonction chimique : ester, éther, ou hétéroside (Bruneton, 1993).



**Figure 09** : La Structure de base des composé phénoliques (Bruneton. 1993 ;Macheix et al., 2005).

### 3.1. Les acides phénoliques

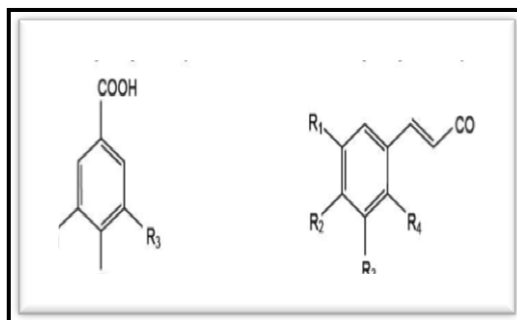
Acide-phénol est un composé organique qui dispose d'une ou plusieurs fonctions carboxyliques et un hydroxyle phénolique (Ignat *et al.*, 2011). Ils sont subdivisés en deux groupes :

#### 3.1.1. Acides hydroxybenzoïque

Sont des dérivés de l'acide benzoïque qui ont une structure générale de base de type(C6-C1).Ils existent sous forme d'esters ou de glucosides (Macheix *et al.*, 2005).

#### 3.1.2. Acides hydroxycinnamique

Sont des dérivés de l'acide cinnamique ayant une structure générale de base de type (C6-C3).Sont des produits sous forme d'esters simples glucose ou acides hydroxy carboxyliques (Harborne,1999).



**Figure 10** : Structures chimiques des acides phénoliques (Lopez-Giraldo, 2007).

### 3.2. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation(Hemingway, 1992). Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides(Cavin, 1999).

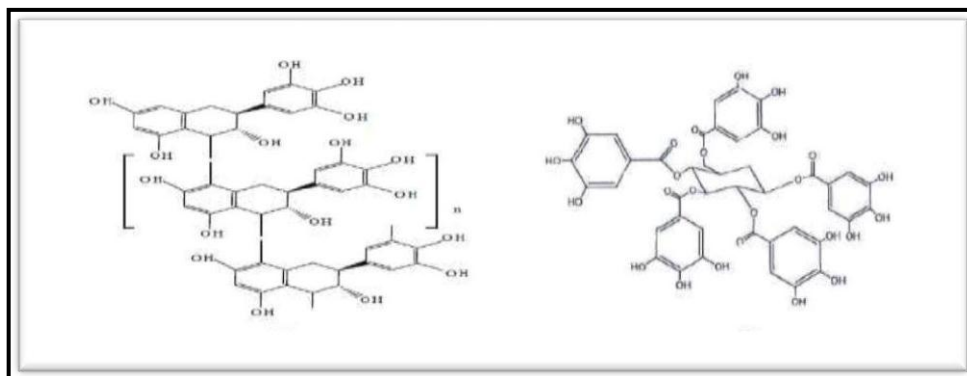
#### 3.2.1. Tannins hydrolysables

Ce sont des esters de D-glucose et d'acide gallique, ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique. Une partie phénolique qui peut être de

l'acide gallique et un autre non phénolique (souvent du glucose) ont été libérées de ces composés (Dupont et Guignard, 2007).

### 3.2.2. Tannins condensés

Connus aussi sous le nom de tannins catéchiques ou proanthocyanidines. Contrairement aux tannins hydrolysables, ils ne contiennent pas de sucre dans leur molécule et de structure chimique très voisine à celle des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

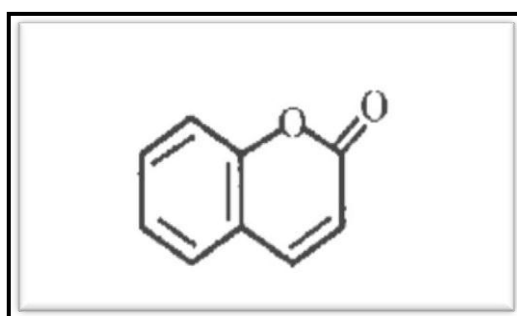


**Figure 11** : Structures générales des tanins condensés (A) et des tanins hydrolysables (B) (Cowan, 1999).

### 3.3. Les Coumarines

Les coumarines de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales, ils ont fréquemment un rôle écologique ou biologique, ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (Anderson C.M et al., 1996 ; Igor Passi L.B, 2002).

Les coumarines sont connues par leurs activités cytotoxiques, antivirales, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives ; elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées (Gonzalez A, Estevez-Braun A, 1997).

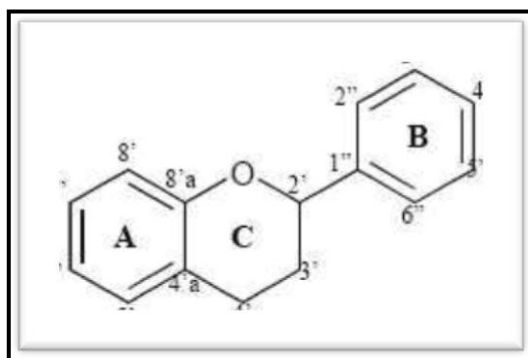


**Figure 12** : Structure chimique des coumarines (Cowan, 1999)

### 3.4. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes (de flavus, « jaune » en latin) constituent des pigments responsables des différentes colorations des constituants de plantes (fleurs, fruits, graines) qui peuvent participer dans les processus photosynthétiques. Le terme générique désigne des composés à base d'un squelette de quinze atomes de carbone (**Ralston et al., 2005**). D'après Hernández, les flavonoïdes représentent le principal groupe de polyphénols (**Hernández, 2012**)

Plus de 4000 flavonoïdes distincts ont été identifiés. Ils ont généralement une structure (**Figure 07**) composée de deux cycles aromatiques (anneaux A et B) liés avec un cycle hétérocycle oxygéné, ou cycle C (**Liu, 2004**).



**Figure 13** : Structure de base des flavonoïdes (**Liu, 2004**).

### 4. Les alcaloïdes

Le mot alcaloïde dérive du mot alcalin qui était utilisé pour décrire les bases de Lewis contenant les hétérocycles azotés. Le terme alcaloïdes a été introduit par W.Meisner au début du XIXe siècle pour désigner des substances réagissant comme des bases (figure 9). Il n'existe pas de définition précise des alcaloïdes et il est parfois difficile de situer les frontières qui séparent les alcaloïdes des autres métabolites azotés naturels (**Bruneton, 1999**), Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine), certains sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine), dans le cadre de protocoles de sédation (anesthésie, atropine) souvent accompagnés des hypnotiques, ou comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou agents anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine) (**Muanda, 2010**)



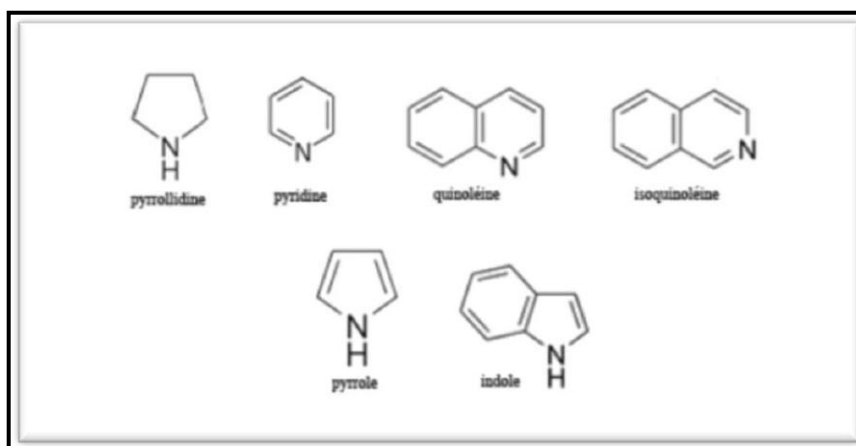


Figure 14 : Structure d'alkaloïdes (Maldonado, 2012)

### 5. 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)

***Chapitre III :***  
***Activité anticoagulante***

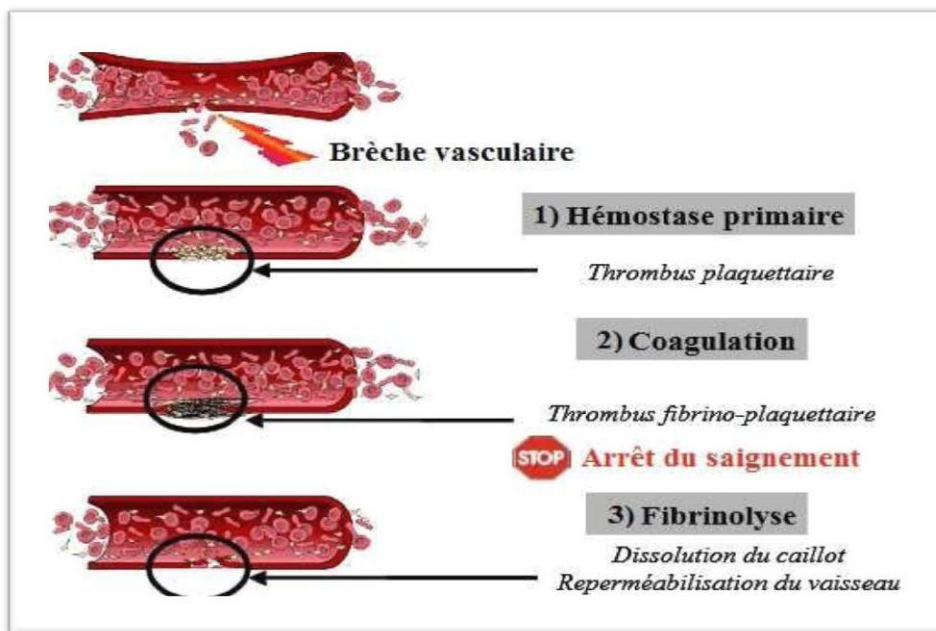
## 1. L'hémostase

L'hémostase est comprise comme un ensemble de mécanismes biochimiques et cellulaires qui assurent à la fois la prévention des hémorragies spontanées et la formation de thrombus pour arrêter les hémorragies qui surviennent lors de la rupture de la continuité de la paroi vasculaire. (Geurbaz, 2017 ; Wahbi, 2014).

## 2. Physiologie de l'hémostase

Classiquement, l'hémostase se déroule en trois étapes distinctes hémostase primaire,

Coagulation, fibrinolyse (Machri, 2008). La connaissance de la physiologie de l'hémostase est essentielle pour comprendre la pathogenèse de l'hémostase et les mécanismes d'action des anticoagulants, des anticoagulants, des procoagulants et des thrombolytiques. (Raphaël M, 2015).



**Figure 15** : Brèche vasculaire et différentes étapes de l'hémostase (Brèche vasculaire). (3)

### 2.1. L'hémostase Primaire

Cela correspond à l'ensemble des interactions entre la paroi vasculaire, les plaquettes et les protéines d'adhésion conduisant à la fermeture de la rupture vasculaire par la formation d'un thrombus blanc composé essentiellement de plaquettes (Meyer et al., 2008 ; Walabane, 2015; Boutgrine, 2019). Il se compose essentiellement de deux phases :

### 2.1.1. Le temps vasculaire

Il s'agit d'une réaction immédiate à toute lésion vasculaire. Lorsqu'un vaisseau se rompt, une contraction musculaire locale du vaisseau (vasoconstriction) se produit pour arrêter le saignement ou réduire le flux sanguin, entraînant un changement de forme (élargissement, expulsion des pseudopodes) (Meyer et *al.*, 2008 ; Bensalah, 2014; Nizamaldin et *al.*, 2012).

### 2.1.2. Le temps plaquettaire

Il comporte trois étapes :

#### ➤ L'adhésion plaquettaire

L'adhésion plaquettaire est un phénomène passif qui se produit par des interactions spécifiques entre les récepteurs plaquettaires et leurs ligands au niveau sous-endothélial (Pench, 2015). La liaison se produit principalement par FvW, formant des liaisons croisées entre la glycoprotéine plaquettaire 1b et le sous-endothélium (Boujaada, 2019).

#### ➤ L'activation plaquettaire

L'adhésion des plaquettes au sous-endothélium incitent leur activation exprimée par le relargage des facteurs de coagulation contenus dans les granules des plaquettes. Cette étape entraîne le recrutement des plaquettes circulantes qui vont grossir le clou plaquettaire (Meyer et *al.*, 2008 ; Bensalah, 2014 ; Martin, 2016).

#### ➤ L'agrégation plaquettaire

L'agrégation plaquettaire consiste en la première couche de plaquettes et la liaison d'autres plaquettes après activation de récepteurs d'agrégation spécifiques.

Complexe glycoprotéique GPIIb/IIIa. Ce complexe lie le fibrinogène soluble et forme des réticulations irréversibles entre les plaquettes (Perin, 2016 ; Wahbi, 2016 ; Boujaada, 2019). Ces agrégats, responsables de la fermeture des ruptures vasculaires, sont appelés « thrombus blancs » ou « bouchons plaquettaires » (Geurbaz, 2017).

## 2.2. La coagulation

La coagulation plasmatique est la deuxième étape de l'hémostase. Ceci est le résultat d'une activation en cascade de protéines synthétisées par le foie, circulant sous leur forme zymogène, mais à activité enzymatique (Facteur II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII (Meyer et *al.*, 2008) ). Boujada, 2019). Parmi ces facteurs figure la présence de vitamine K qui doit être synthétisée pour être active (facteurs vitamine K-dépendants : II, VII, IX, X) (Perrin, 2016).

### 2.2.1. Voie extrinsèque

La coagulation extrinsèque est initiée par le contact entre le facteur tissulaire (TF) libéré des cellules endothéliales et le facteur VII, qui est activé par le facteur VIIa (**Contant et al., 2015**). Le complexe FT-FVIIa peut activer FX directement en FXa ou via l'activation de FIX en FIXa et ensuite activer X (**Meyer et al., 2008 ; Wahbi, 2014**).

### 2.2.2. Voie intrinsèque

La voie intrinsèque exprime des voies d'activation distinctes pour FIX et FX. Ce sont les coefficients de phase de contact. H. FXII et FXI sont déclenchés par le contact entre le sang et les structures endothéliales en présence de prékallikréine (PK) et de kininogène de haut poids moléculaire (HPM) (**De Moerloose et Boehlen, 2006 ; Meyer et al., 2008 ; Boutgourin, 2019**)

### 2.2.3. Voie commune

La voie normale de coagulation passe par une série de réactions enzymatiques visant à convertir le fibrinogène en fibrine (**Boutgourin, 2019**). Le FXa lie les phospholipides, le FVa et le calcium pour former un complexe prothrombinase qui active la prothrombine (FII) en thrombine FIIa. La thrombine clive les liaisons peptidiques dans chacune des deux chaînes de fibrinogène, les convertissant en monomères de fibrine. La nouvelle extrémité amino-terminale de la chaîne se lie aux structures complémentaires des monomères de fibrine adjacents, entraînant une polymérisation instable de la fibrine (**Meyer et al., 2008**).

Dans une dernière étape, le polymère de fibrine est stabilisé par le FXIIIa (FXIII activé par la thrombine), en établissant des liaisons covalentes entre deux monomères de fibrine adjacents ; le caillot est alors formé (**Meyer et al., 2008 ; Nizamaldin et al., 2012**).

Les protéines plasmatiques de la coagulation.			
	Dénomination	Lieu de synthèse	Demi-vie (en heures)
<b>Facteurs</b>			
I	Fibrinogène	Foie	100-150
II	Prothrombine	Foie + vitamine K	50-120
V	Proaccélérine	Foie	12-36
VII	Proconvertine	Foie + vitamine K	4-6
VIII	Facteur anti-hémophilique A	Foie	10-16
IX	Facteur anti-hémophilique B	Foie + vitamine K	24
X	Facteur Stuart	Foie + vitamine K	36-48
XI	Facteur Rosenthal ou PTA	Foie	40-80
XII	Facteur Hageman	Foie	50-70
XIII	Facteur stabilisant de la fibrine	Foie	150-300
PK	Prékallicréine = facteur Fletcher		35
KHPM	Kininogène de haut poids moléculaire		150
<b>Inhibiteurs</b>			
ATIII	Antithrombine III	Foie	50-70
PC	Protéine C	Foie + vitamine K	6-8
PS	Protéine S	Foie + vitamine K	ND

ND = non déterminé

Figure 16 : facteurs de coagulation et leurs demi-vies (4).

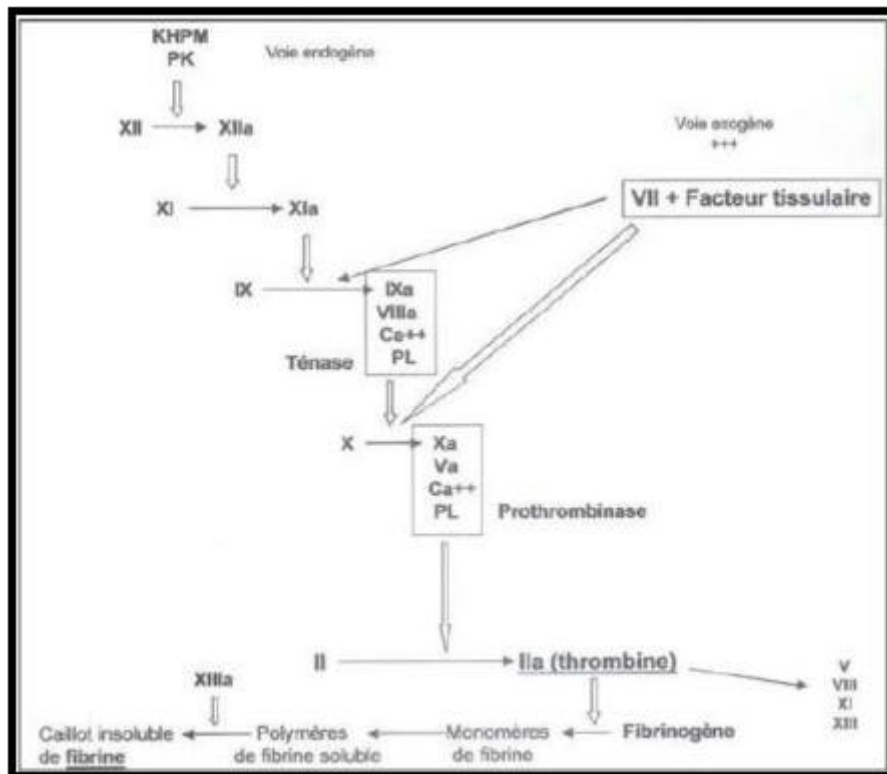


Figure 17 : Étapes de la coagulation (5)

### 2.3. La fibrinolyse

La fibrinolyse correspond à la dissolution des thrombus fibreux par la plasmine générée à partir du plasminogène lié et adsorbé à la fibrine. Le plasminogène synthétisé par le foie a une forte affinité pour la fibrine (**Meyer et al., 2008**). La plasmine est produite par l'action d'activateurs du plasminogène dont le plus important est le t-PA (activateur tissulaire du plasminogène), le second étant l'u-PA ou Urokinase (activateur urinaire du plasminogène) (**Meyer et al., 2008 ; Schaff, 2012 ; Penche, 2015**).

### 3. La thrombose et sa physiopathologie

**Boukilt (2008)** a défini la thrombose comme le processus pathologique conduisant à la coagulation du sang dans le système cardiovasculaire (veines, artères, cœur, capillaires).

Elle est définie par des lésions de la paroi vasculaire, une circulation sanguine altérée et des conditions thrombotiques excessives (**Janas, 2015**). Selon **Plewa (2016)**, trois facteurs sont impliqués dans la formation de thrombus :

- Congestion veineuse : Le repos au lit, le plâtre, les varices et la compression externe. (cancer) et la lymphadénopathie sont préférés.
- Changements dans les parois des vaisseaux sanguins.
- Hypercoagulabilité : Défaut d'hémostase acquis héréditaire, néoplasme.

Il existe deux types de caillots sanguins ou de thrombus sanguins. Les thrombus blancs ou les thrombus fibrinoplaquettaire sont composés principalement d'agrégats plaquettaire liés à la fibrine et caractérisent les vaisseaux à taux de cisaillement élevé tels que les artérioles, les artérioles et les artères sténosées (**Schaff, 2012**). Deuxième type. Les thrombus d'érythrocytes ou de fibrine sont composés de fibrine qui piège les globules rouges et d'autres cellules sanguines. Il se développe en cas de congestion veineuse, de blocage artériel et de cavités cardiaques souffrant d'arythmies cardiaques (**Schaff, 2012**).

#### 3.1. Les types de thrombose

La thrombose a des causes variées et peut toucher tout l'arbre circulatoire. On distingue:

##### 3.1.1. La thrombose veineuse ou phlébite

Elle consiste à former un blocage partiel ou total par un thrombus endoluminal, qui commence souvent aux niveaux de l'extrémité inférieure suite à la stagnation du sang (stase) au fond des pochettes valvulaire du réseau veineux profond (**Schaff, 2012 ; Bensaid, 2019**).

### 3.1.2. La thrombose artérielle

Le thrombus formé peut arrêter la circulation sanguine en se déposant dans une artère. Le blocage d'une artère du cœur ou du cerveau conduit à un infarctus du myocarde ou un accident vasculaire cérébral (AVC) comme conséquences essentielles de ce type de thrombose (Bensaid, 2019).

### 3.1.3. La thrombose intracardiaque

La thrombose intracardiaque, définie par la formation d'un caillot sanguin au niveau d'une ou de plusieurs cavités cardiaques. Elle est couramment associée à des affections différentes telles que les arythmies, les cardiomyopathies et les valvulopathies (Schaff, 2012; Nasser *et al.*, 2017).

### 3.1.4. La thrombose des surfaces artificielles

Les surfaces artificielles comme les prothèses valvulaires et les circuits de circulation extracorporelles, peuvent engendrer des interactions sang-matériau responsables pour partie de phénomènes thrombotiques secondaires à l'activation de la coagulation et des plaquettes (Schaff, 2012 ; Legrand et Journois, 2015)

## 3.2. Traitement des maladies thrombotiques

L'objectif du traitement pharmacologique des thromboses est la récanalisation du vaisseau occlus et l'évitement de son réocclusion précoce, afin de limiter les dommages qu'elles peuvent engendrer (Aubry *et al.*, 2010). Les trois classes d'agents pharmacologiques anti thrombotiques utilisables sont :

### 3.2.1. Les antiagrégants

Ils représentent à l'heure actuelle le traitement de référence des thromboses artérielles (aspirine, clopidogrel, ticagrelor...) (Aubry *et al.*, 2010). Ils agissent principalement par inhibition de l'activation et l'agrégation plaquettaire (Neu, 2011).

### 3.2.2. Les fibrinolytiques

Ils ont pour but de lyser le thrombus artériel ou veineux (streptokinase, urokinase, activateur tissulaire de plasminogène...) (Aubry *et al.*, 2010).

### 3.2.3. Les anticoagulants

Ils représentent le traitement principal de la maladie veineuse thrombo-embolique, où ils interviennent à différents niveaux de la cascade de la coagulation. On peut les répertorier en



deux classes d'anticoagulants classiques (les héparines, et l'anti vitamines k), et une classe de nouveaux anticoagulants (**Helft et al., 2009 ; Batty et al., 2010**).

#### **4. Exploration de l'hémostase**

##### **4.1. Taux de prothrombine TP**

Le taux de prothrombine (TP) explore la voie tissulaire (extrinsèque) et commune de la coagulation. Ce paramètre est basé sur la mesure du temps nécessaire au plasma pour coaguler lorsqu'il est exposé au facteur tissulaire (temps de Quick). Le résultat est exprimé en pourcentage et est considéré comme diminué en dessous de 70 %. L'interprétation du TP nécessite de prendre en compte le contexte clinique(**Saultierc P ,2021**).

##### **4.2. Temps de céphaline-Kaolin (TCK)**

Le TCA et le TCK est le temps de coagulation d'un plasma traité dans des conditions particulières. Il permet d'explorer globalement l'ensemble des facteurs de la coagulation dits de la voie intrinsèque. Un allongement du TCA peut révéler un déficit en un facteur de la coagulation (en particulier les facteurs anti-hémophiliques A et B, respectivement les facteurs VIII et IX), potentiellement responsable d'un risque hémorragique (**ODOU, 2002**).

##### **4.3. Fibrinogène**

Le fibrinogène est une protéine fabriquée par le foie qui est transformée en fibrine lors de la coagulation pour aboutir à la formation d'un caillot. La production de fibrinogène est augmentée dans les états inflammatoires. Il existe des défauts de production du fibrinogène (rares) ; son taux peut également être diminué en cas de défibrination (**ODOU, 2002**).

# *Partie expérimentale*



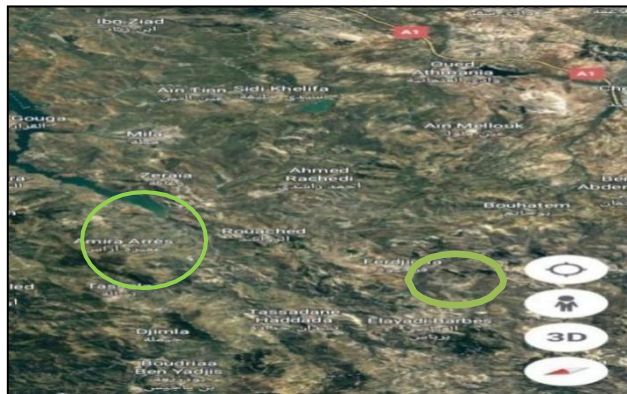
# *Chapitre I :*

## *Matériel et méthodes*



## 1. Description de la zone d'étude

Notre étude a été réalisée sur les feuilles d'*Urtica dioica* L. dont la cueillette a eu lieu en mois d'avril 2023 dans la région de Amira Arrés et Bouhatem (wilaya de Mila).



**Figure 18:** La localisation géographique du lieu de récolte. (Google Earth, 2023).

## 2. Méthodes

### 2.1. Préparation du matériel végétal

#### ➤ Lavage

Les deux types de plantes (*U. dioica* L et *U. urens* L.) a été lavée par l'eau de robinet pour éliminer les grosses particules (la poussière) présent dans cette plante récoltée, puis rincée à l'aide de l'eau distillée pour éviter la présence des impuretés.

#### ➤ Séchage

Le matériel végétal fraîchement collecté a été séché sur du papier à l'ombre, à température ambiante et dans un endroit sec à l'abri de l'humidité pendant quelques jours jusqu' au moment de préparation des extraits.

#### ➤ Broyage

Le broyage a été fait à l'aide d'un mixeur pour diminuer la taille de la matière végétale a pour objectif d'élever la surface du contact avec le solvant utilisé (**figure19**).

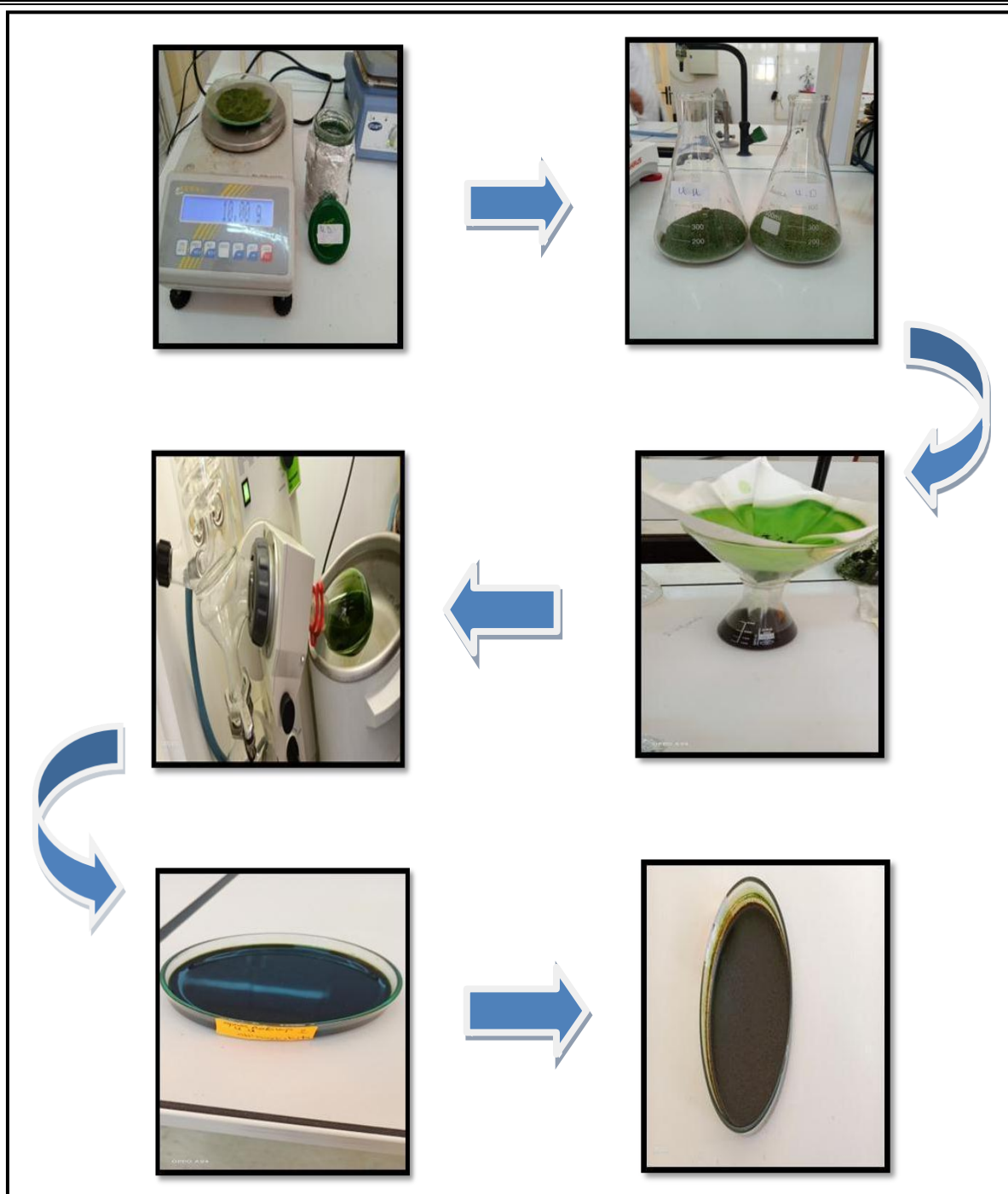


**Figure 19** : Broyage et tamisage de l'*Urtica dioica* L.

## 2.2. Préparation des extraits végétaux

### ➤ Préparation de l'extrait éthanolique

20g de chaque poudre végétale (broya) a été macéré dans 210ml d'éthanol et 90 ml eau sous agitation mécanique à une température ambiante pendant 24 heures. Après 1 jour ; le produit obtenu est filtré à l'aide d'un papier filtre de type Whatman, après ça ; le filtrat obtenu est conservé dans un flacon en verre fermé hermétiquement et stocké à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation. Le filtrat obtenu est soumis à une évaporation par rotavapeur. Enfin, le produit final est stocké dans une boîte de Pétri en verre fermée hermétiquement à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation (**figure 20**).



**Figure 20 :** Etapes de la macération hydro-éthanolique .

➤ **Préparation de l'extrait aqueux**

Pour préparer un extrait aqueux, une quantité de 10g de broya (*U. urens* L. et *U. dioïca* L). A été macéré dans 500 ml d'eau distillé sous agitation mécanique pendant une demi-heure et à une température ambiante. La solution obtenue est filtrée à L'aide d'un papier filtre de type wattman. Le filtrat est ensuite évaporé dans une étuve à une température de 40°C pour éliminer de l'eau. Le résidu sec obtenu est conservé dans un flacon opaque à basse températures jusqu'à leur utilisation. (**Figure 22**).

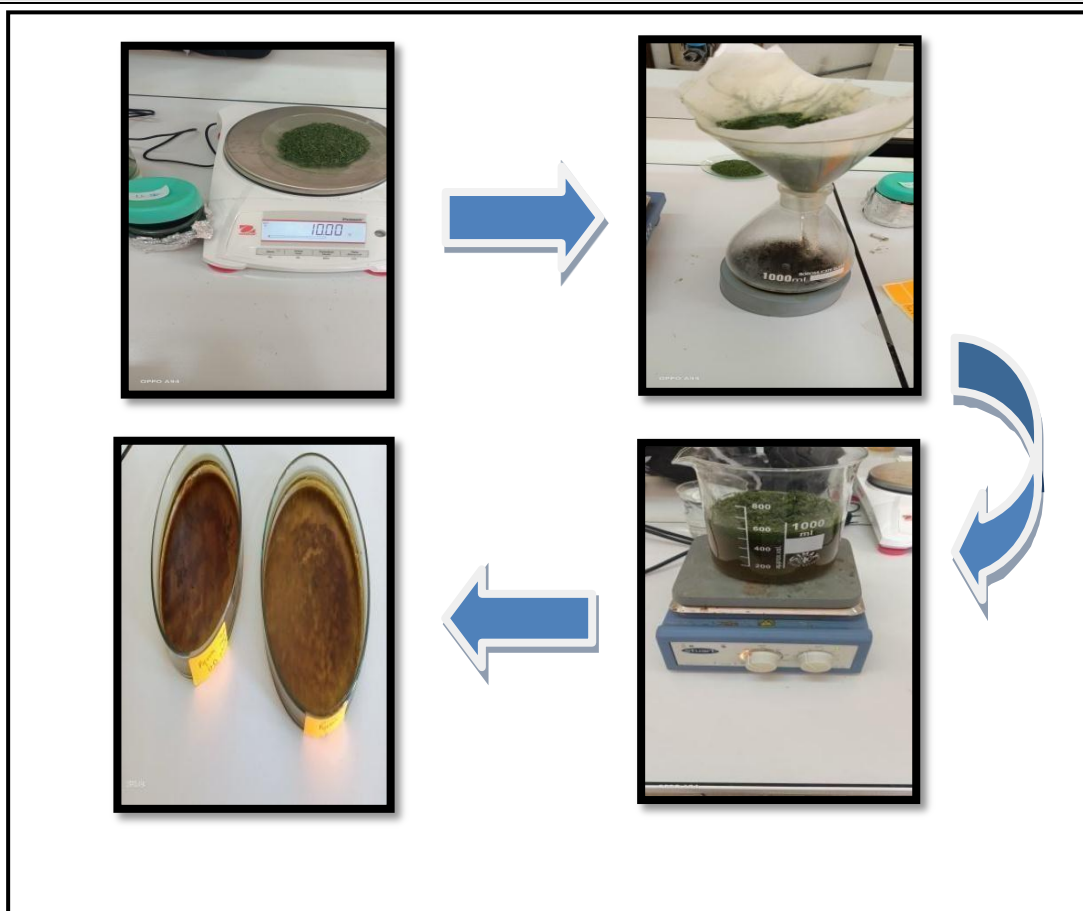


Figure 21 : Etapes de la macération aqueux .

### 3. Analyse qualitative

#### 3.1. Screening phytochimique

Les tests du screening phytochimiques sont réalisés sur deux différents types des plantes : *U .dioica* L et *U .urens* L, ces tests consistent à détecter les différents composés chimiques existants dans une partie quelconque de la plante par des réactions soit de précipitation ou de coloration.

➤ **Recherche de composés réducteurs**

Leur détection consiste à introduire 2ml de l'extrait aqueux dans un tube à essai puis 2ml de la liqueur de Fehling sont ajoutées. Ensuite, l'ensemble est porté au bain marie bouillant durant 8min. L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs. (Bentabet Lasga N. 2015).

➤ **Recherche des glycosides cardiaque**

2ml de chloroforme est ajouté à 1ml de l'extrait, l'apparition d'une coloration brun-rougeâtre après l'ajoute de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> indique la présence des glycosides cardiaque. (Yam MF et al, 2009)

➤ **Recherche de tannins :**

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 1ml de chaque extrait, 1ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl<sub>3</sub> diluée à 1%.

- L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu vert indique la présence des tannins.
- L'apparition d'une coloration verte foncée indique la présence des tannins catéchiques.
- L'apparition d'une coloration bleu vert indique la présence des tannins galliques.

(Bentabet Lasga, N. 2015).

➤ **Recherche de Mucilages**

Introduire 1 ml de décocté dans un tube à essai, puis 5ml d'alcool absolu est ajouté.

L'obtention d'un précipité floconneux après agitation indique la présence de mucilages. (Awore et Samseny R-R 2003)

➤ **Recherche des substances phénoliques**

La caractérisation des polyphénols est basée sur une réaction effectuée entre les substances phénoliques et le réactif de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>). 2ml de l'extrait végétale, une goutte de solution de chlorure ferrique à 2% est ajoutée. L'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou vert plus ou moins foncée fut le signe de la présence des polyphénols (Berko et al, 2007).

➤ **Recherche des Quinones libres**



Un volume de 2 ml de l'extrait est mis dans un tube à essai, puis y sont ajoutés quelques gouttes de NaOH a 1%, l'apparition d'une couleur jaune, rouge ou violette indique la présence des quinones libres (**Dohou, 2004 ; oloyede, 2005**).

➤ **Recherche des protéines**

Les protéines ont été mises en évidence par la réaction du biuret. 2ml de l'extrait ont été mis dans un tube à essai, puis 1ml de NaOH a 2% y a été ajoutée. Après homogénéisation, 2 à 3 gouttes d'une solution aqueuse de  $\text{CuSO}_4$  ont été ajoutées au mélange. L'apparition d'une coloration violette, quelque fois avec une teinte rougeâtre, indique une réaction positive (**Janat et al, 2007**).

➤ **Recherche des Anthraquinones**

Pour la détection des anthraquinones, à 10ml d'extrait ont été ajoutées 5ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  a 10%. après agitation, l'apparition d'un anneau rouge indique la présence des anthraquinones (**Oloyede, 2005**).

➤ **Recherche des Coumarines**

Les coumarines ont été mises en évidence par la réaction du cycle lactonique. 2ml de l'extrait végétale ont été mis dans un tube à essai. Ensuite 3ml NaOH (10%) sont ajoutées. Après l'agitation du mélange, l'apparition d'une couleur jaune indique la présence de coumarine (**Diallo, 2000 ; Daira et al, 2016**).

➤ **Recherche des Saponosides**

Leur présence est déterminée par la présence ou non de mousse persistante. Deux ml de l'extrait sont mis dans un tube à essai fermé, ensuite bien agiter verticalement pendant 30 secondes puis laisser reposer 15min. (**Siddique A et al., 2014**).

➤ **Recherche de l'Amidon**

Quelques gouttes de l'iode ( $\text{I}_2$ ) sont rajoutées à la décoction contenue dans un tube à essai, et on observe le changement de la couleur du vert au bleu, ce qui indique la présence d'amidon. (**Benzeggouta. N.2014**).

➤ **Recherche des flavonoïdes**

Quelques gouttes d HCL concentré en présence de trois ou quatre tournures de magnésium .le changement de coloration est observé : virage au rouge (flavones), virage au rouge pourpre (flavonols), rouge violacée (flavanols et flavanals).

➤ **Recherche des Alcaloïdes**

On met 3ml d'extrait méthanolique dans tubes à essai on ajoute 1ml HCL concentre, puis 2gouttes de réactif de Bouchardât.

La présence des alcaloïdes est révélée par l'apparition de précipite brun rougeâtre. (Diaby, 2019).

➤ **Recherche des anthocyanes**

Les anthocyanes sont détectés en plaçant 5ml d'extrait dans un tube auxquels on ajoute 15ml d'H2SO4 (10%) (Milieu acide).Après agitation, le mélange est additionne de 5ml de NH4OH (10%) (Milieu basique). La présence des anthocyanes est affirmée par une coloration bleu-violacée en milieu basique (Bruneton, 1999).

#### **4. Rendement en extrait sec (Résidu sec)**

Selon ( Harbone ,1998) . Le rendement en extrait sec est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$R\%=(Me/Mv) \times 100$$

**R%** : Rendement en %.

**Me** : Masse de l'extrait après évaporation du solvant.

**Mv** : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction.

#### **5. Analyse quantitative**

##### **5.1. Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie (méthode de FolinCiocalteu)**

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (Siangn et al, 2019).

### ➤ Principe

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau, 1968). La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006 ; Ghazi et Sahraoui, 2005).

### ➤ Mode opératoire

Le dosage a été déterminé en prélevant 200 µl d'extrait contenant 1 ml de Folin-Ciocalteu, en ajoutant 800 µl de carbonate de sodium (7,5 %) à la solution après 4 minutes, puis en ajustant le volume à 3 ml avec de l'eau distillée. Placer le tube dans un endroit sombre à une température de 37°C pendant 2 heures et mesurer l'absorbance à une longueur d'onde de 765 nm. (Siangn et al., 2019).

## 5.2. Dosage des flavonoïdes totaux par la méthode de trichlorure d'Aluminium

Les flavonoïdes totaux ont été mesurés à l'aide de la méthode du trichlorure Aluminium (AlCl<sub>3</sub>), dose consistant à ingérer 1 ml d'extrait méthanolique. Avec l'ajout de 1 ml d'AlCl<sub>3</sub> (2 %), l'absorbance après 10 min d'incubation à 37 °C dans l'obscurité est: Mesuré à une longueur d'onde de 430nm. Mesurer la concentration de flavonoïdes Déterminé à partir des gammes d'étalonnage établies pour la quercétine (Gueboudj, 2021).

- La teneur totale en flavonoïdes de chaque extrait est calculée en référence à : Équation de régression pour la plage d'étalonnage déterminée à l'aide d'étalons de référence Quercétine à différentes concentrations (5,15, 25, 35, 40,60 µg/ml) et à la même concentration Les conditions et les procédures de dosage sont les mêmes. Les résultats sont exprimés en microgrammes Équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ / mg d'extrait).

## 6. Évaluation de l'activité biologique in vitro

### 6.1. Activité antioxydant

#### 6.1.1. Test de l'activité anti-radicalaire (DPPH)

Le DPPH est un radical stable à température ambiante et de couleur bleue caractéristique. Il est un des premiers radicaux à avoir été utilisé pour étudier la relation structure/activité antioxydant des composés phénoliques. Il possède dans sa structure un

électron non apparié sur un atome du pont azote-azote. L'efficacité d'un antioxydant peut être mesurée par sa capacité à réduire le radical. Ceci s'observait par le changement de couleur allant de la bleu-violet forme oxydée au jaune forme réduite (**Desmier, 2016**).

➤ **Mode opératoire**

L'activité du radical DPPH est mesurée selon le protocole décrit par **Mansouri et al, 2005** La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100ml de méthanol. 50 µL de la solution d'extraits ou standard (acide ascorbique) sont ajoutés à 1950 µL de solution méthanolique de DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle contenant la solution de DPPH et d'éthanol est mesurée à 517 nm.

Le Contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard le BHT et acide ascorbique.

L'activité antioxydant de nos extraits est exprimée en IC50, ce paramètre est défini comme étant la concentration de l'antioxydant qui cause la perte de 50% du radical libre DPPH. Les valeurs d'IC50 moyennes ont été calculées par les régressions linéaires des trois essais séparés où l'abscisse est représentée par la concentration des composés testés et l'ordonnée par le pourcentage de réduction (PR) du radical DPPH, qui est calculé par la formule suivant :

$$I \% = [(Abs \text{ Control négatif} - Abs \text{ Echantillon}) / Abs \text{ Control négatif}] \times 100 \text{ Où :}$$

- I% : pourcentage de l'activité anti-radicalaire.
- Abs Echantillon : absorbance de l'échantillon.
- Abs Control négatif : absorbance du Control négatif.

## 6.2. L'activité thrombolytique

➤ **Préparation des caillots**

Du sang veineux prélevé sur des volontaires sains (n = 20) a été transféré dans plusieurs tubes de micro centrifugeuse stériles pré-pesés (500 µL/tube) et incubé à 37°C pendant 45 minutes.

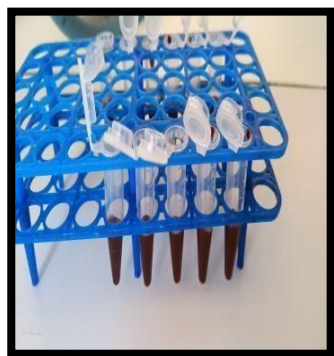
Après la formation du caillot, le sérum a été complètement éliminé (aspiré sans perturber le caillot formé) et chaque tube contenant un caillot a été pesé à nouveau pour

déterminer le poids du caillot (poids du caillot = poids du sang du tube - poids du tube uniquement)

➤ **La mise en évidence de l'activité thrombolytique**

Chaque tube de micro centrifugeuse contenant des caillots a été étiqueté de manière appropriée et rempli de 100  $\mu$ L de streptokinase et de diverses dilutions de l'extrait aqueux dans les trois micros centrifugeuse reste. De l'eau a également été ajoutée à l'un des tubes contenant le thrombus et utilisée comme témoin négatif pour la thrombolyse.

Tous les tubes ont ensuite été incubés à 37°C pendant 90 minutes et examinés pour la lyse des caillots. Après incubation, le liquide résultant a été retiré et les tubes ont été pesés à nouveau pour observer les différences de poids après la rupture du caillot. La différence de poids obtenue avant et après la lyse du caillot a été exprimée en pourcentage de lyse du caillot.



**Avant incubation**



**Après incubation**

### 6.3. L'activité anti hémolytique

L'hémolyse des globules rouges a été réalisée en utilisant H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comme initiateur de radicaux libres. Selon EBRAHIMZADE Het al., le protocole décrit. (2010). Ajouter 1 ml de suspension d'érythrocytes à 4 % et pré-incuber avec différentes concentrations (20, 40, 80, 100  $\mu$ g/ml) d'extrait pendant 5 min à température ambiante, puis réduire complètement le volume à 2,5 ml avec augmentation de NaCl 0,9%, Ensuite ajoutées 250  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10%. Le mélange placé dans un bain-marie à 37 °C pendant 2 heures.

Un contrôle positif (hémolyse totale) est préparé en mélangeant 2 ml de suspension de globules rouges avec 2 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

La lecture des densités optiques se fait au spectrophotomètre à 540nm contre un contrôle

Négatif (pas d'hémolyse). Le taux d'hémolyse est calculé en pourcentage de l'hémolyse totale à l'aide de la formule suivante :

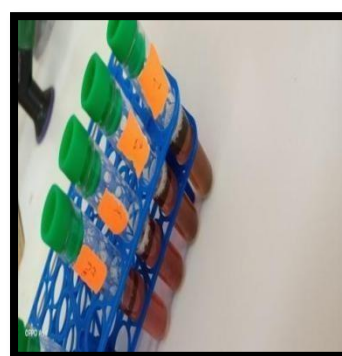
$$\% \text{Hémolyse} = (\text{DOe}/\text{Doc}) \times 100$$

DOe : densité optique en présence de l'extrait.

Doc : densité optique du contrôle positif (absence de l'extrait).



*Urtica dioica* L



*Urtica urens* L

#### 6.4. L'activité antiagrégant

##### ➤ Préparation de plasma riche en plaquette

Un homme adulte en bonne santé qui n'avait pris aucun médicament ou traitement au cours des deux dernières semaines, n'avait pas fumé ni bu d'alcool et était éligible à la chirurgie a été sélectionné. Le prélèvement sanguin a été réalisé par ponction veineuse sous vide. Les tubes utilisés pour le prélèvement sanguin contiennent 3,8 % de citrate de sodium (bouchon bleu).

Plasma pauvre en plaquettes (PPP) du sang frais a été prélevé dans des tubes contenant du citrate de sodium. Le sang a ensuite été lavé puis Centrifuger 15 min à 1000 rpm. La couche supérieure du tube est ensuite retirée.

Le plasma riche en plaquettes (PRP) a été centrifugé à 3000 rpm pendant 15 minutes. Le surnageant (PPP) a été utilisé comme blanc. (Erfani IA et al., 2016).

##### ➤ Dosage de l'activité antiagrégant

Préparé selon une méthode développée par **Born en 1963**. Ajouter différentes concentrations d'extraits aqueux UD et UU aux tubes secs, ajouter 100 µL de PRP, mesurer l'absorbance à 600 nm, ajouter également différentes concentrations de collagène Et

incuber à 37 °C ou 20 min. L'échantillon a ensuite été mesuré à nouveau en utilisant le Spèctro-I V à une longueur d'onde de 600 nm.<sup>2</sup>zs

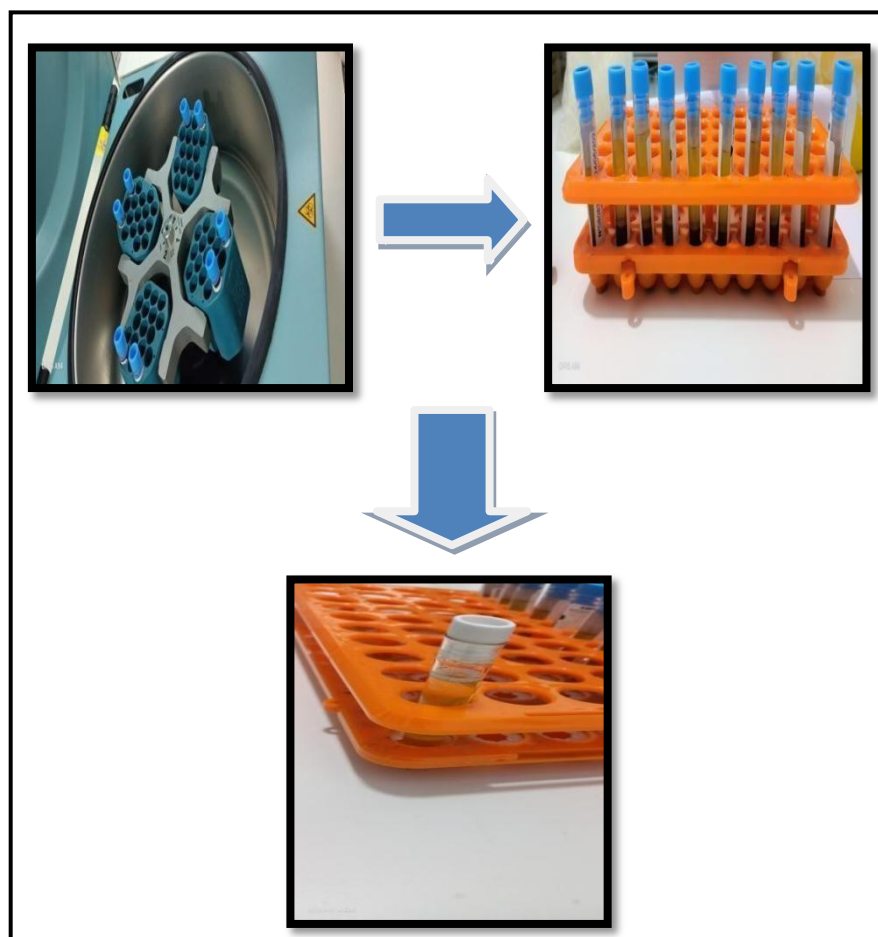
### **6.5. L'activité anticoagulante**

L'activité anticoagulante des deux extraits végétaux étudiés et de leurs principaux constituants son été réalisée aux Laboratoires d'Analyses Médicales de Mirouh à Ferdjioua. Cette activité a été évaluée in vitro en utilisant deux voies de coagulation (la voie endogène et la voie exogène). Dans un pool de plasma normal, Deux tests chronométriques globaux, le test de temps Cèphalin Kaolin (TCK) et Temps de prothrombine (TP).

#### ➤ **Préparation du pool plasmatique**

Plasma pauvre en plaquettes est généré à partir du sang de 10 volontaires sains Non traité, entre 24 et 26 ans avec TCK et TQ normaux et comparables (**Athukorala et al., 2007**), (figure 22).

Le sang de chaque volontaire est prélevé par ponction veineuse dans un tube en plastique contenant une solution anticoagulante de citrate de sodium à 3.2%. Le sang est ensuite centrifugé pendant 10 min à 3000 rpm pour obtenir le plasma pauvre en plaquettes (**Athukorala et al, 2007**).



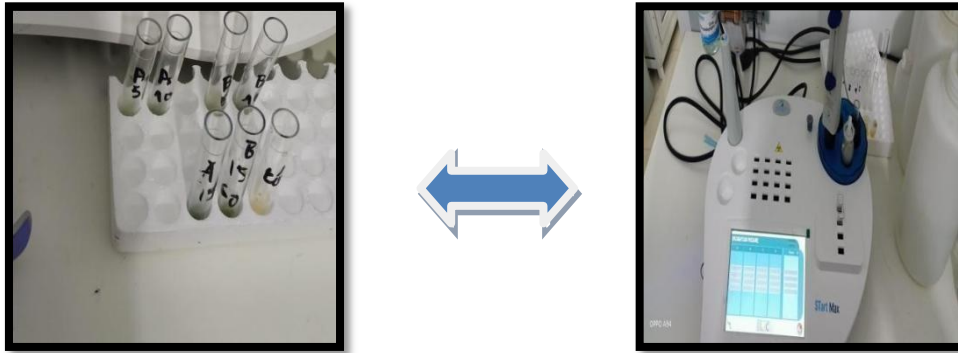
**Figure 19 :** Etapes de préparation d'un pool de plasma

➤ **Activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène (TP)**

Ce test, également appelé temps de Quick (TQ), estime l'influence des métabolites du nopal sur les facteurs de la voie extrinsèque de la coagulation. Elle a été déterminée selon le protocole décrit par **Gueboudji 2021**.

100  $\mu$ l de plasma pauvre en plaquettes préchauffé durant 2 min à 37°C est mélangé avec différents volumes des extraits et de certains de leurs composés (10, 20, 30  $\mu$ l) par modification, préparées à une concentration donnée. Après 15 min d'incubation à 37°C, 200  $\mu$ l de thromboplastine calcique (préchauffée au moins 15 minutes à 37°C) est additionné au mélange et le temps de la coagulation est alors enregistré à l'aide d'un coagulomètre (**Gueboudji ,2021**).





**Figure 20** : Matériel préparé pour l'évaluation de TP (Photo personnelle, 2023)

➤ **Activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène**

Évaluation de l'activité anticoagulante par rapport à la voie intrinsèque de la coagulation Elle a été réalisée à l'aide du test du temps céphaline-kaolin (TCK), test qui permet l'exploration de l'activité des facteurs plasmatiques de la voie de signalisation intrinsèque (intrinsèque) Coagulation (Caquet, 2004 ; Caen J et al., 1975) . Appelée aussi le temps de thromboplastine partielle activé (APTT : Activated partial thromboplastine time)

• **Modes opératoires**

L'activité des extraits et de certains de leurs composés est établie sur 100 µl de ce plasma qui est mélangé avec différents volumes de ces solutions (10, 20, 30 µl) préparées à une concentration donnée. Après 15 min. d'incubation à 37°C, 100 µl de céphaline-kaolin est additionné au mélange qui est réincubé durant exactement 3 min sous agitation à 37°C. Le temps de coagulation est alors déterminé à l'aide d'un coagulomètre par ajout de 100 µl de chlorure de calcium (0,025M) préchauffé . (Wang et al ., 2010).

# *Chapitre II :*

## *Résultats et discussion*



## 1. Résultats et discussion

### 1.1. Screening phytochimiques


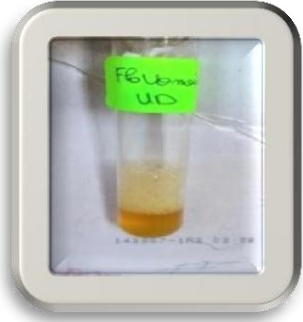
Les tests de screening phytochimique ont été réalisés sur deux différents extraits préparés à partir des *U.dioica* L. Et *U.urens* L. Ils sont réalisés dans le but de déterminer les différents groupes chimiques présents dans les deux espèces étudiées.

Les tests de caractérisation sont basés sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité ou encore un changement de couleur spécifique.





#### ➤ L'espèce *Urtica dioica* L :



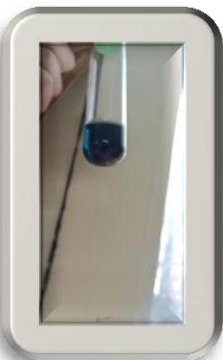
Les résultats des tests de screening photochimique de cette espèce sont représentés Dans le tableau suivant :

**Tableau 02 :** Résultats d'analyse phytochimique des métabolites primaires et secondaires d'espèce *Urtica dioica* L

Tests	Résultats	Description des résultats	Photo
<b>Lipides</b>	+++	La présence des lipides a été mise en évidence par l'apparition de taches translucides au niveau des gouttelettes.	
<b>Flavonoïdes</b>	+++	La coloration jaune confirme la présence des flavonoïdes dans le <i>Urtica dioica</i> L.	

<p><b>Alcaloïdes</b></p>	<p>++</p>	<p>La formation d'un précipité brun rougeâtre, confirme la présence des alcaloïdes.</p>	
<p><b>Coumarines</b></p>	<p>+++</p>	<p>Les coumarines sont présent dans le <i>Urtica dioica</i>L, leur présences est confirmé par l'apparition d'une couleur jaune.</p>	
<p><b>Glucosides cardiaques</b></p>	<p>+++</p>	<p>L'apparition d'une coloration brun rougeâtre confirmé la présence des glucosides cardiaque</p>	
<p><b>Saponosides</b></p>	<p>+++</p>	<p>La présence d'une mousse persistante confirme la présence des saponines dans l'extrait de cette espèce</p>	
<p><b>Tanins</b></p>	<p>++</p>	<p>l'apparition d'une coloration vert foncée ce qui prouve la présence des tanins catèchique.</p>	




<b>Anthraquinones</b>	---	Il n y a pas de formation d'un anneau rouge dans l'extrait de cette espèce ce qui confirme le résultat de ce test.	
<b>Quinons libre</b>	-	Il n y a pas de formation d'un coloration jaune dans l'extrait de cette espèce ce qui confirme le résultat de ce test.	
<b>Substance phénolique</b>	+++	L'apparition de la coloration bleu noirâtre ou vert plus ou moins foncée prouve la présence des polyphénols	
<b>Amidon</b>	---	Il n y a pas de formation d'un coloration bleu dans l'extrait de cette espèce ce qui confirme le résultat de ce test.	





<b>Mucilage</b>	++	L'obtention d'un précipité floconneux après agitation indique la présence de mucilages.	
<b>Triterpène</b>	++	La présence de la couleur rouge confirme le résultat de ce test.	
<b>Composés réducteurs</b>	+	L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.	

➤ L'espèce *Urtica urens L.*





Les résultats des tests de screening photochimique de cette espèce sont illustrés dans le tableau suivant :



**Tableau 03 :** Résultats d'analyse phytochimique des métabolites primaires et secondaires l'espèce *U. urens L.*

Tests	Résultats	Description des résultats	Photo
<b>Lipides</b>	+	La présence des lipides a été mise en évidence par l'apparition de taches translucides au niveau des gouttelettes.	
Tests	Résultats	Description des résultats	Photo
<b>Flavonoïdes</b>	+++	La coloration jaune confirme la présence des flavonoïdes dans l' <i>Urtica urens L</i>	
<b>Alcaloïdes</b>	-	Il n'y a pas la formation d'un précipité brun rougeâtre, qui confirme l'absence des alcaloïdes.	

<p><b>Coumarines</b></p>	<p>-</p>	<p>Les coumarines sont absent dans le <i>Urtica urens L,</i></p>	
<p><b>Glucosides cardiaques</b></p>	<p>+++</p>	<p>L'apparition d'une coloration brun rougeâtre confirmé la présence des glucosides cardiaque</p>	
<p><b>Saponosides</b></p>	<p>-</p>	<p>L absence d'une mousse persistante confirme l absence des saponines dans l'extrait de cette espèce</p>	
<p><b>Tanins</b></p>	<p>+</p>	<p>l'apparition d'une coloration vert foncée ce qui prouve la présence des tanins catèchique.</p>	



<p><b>Anthraquinones</b></p>	<p>-</p>	<p>Il n y a pas de formation d'un anneau rouge dans l'extrait de cette espèce ce qui confirme le résultat de ce test.</p>	
<p><b>Quinons libre</b></p>	<p>-</p>	<p>Il n y a pas de formation d'un coloration jaune dans l'extrait de cette espèce ce qui confirme le résultat de ce test.</p>	
<p><b>Substance phénolique</b></p>	<p>++</p>	<p>L'apparition de la coloration bleu noirâtre ou vert plus ou moins foncée prouve la présence des polyphénols</p>	
<p><b>Amidon</b></p>	<p>-</p>	<p>Il n y a pas de formation d'un coloration bleu dans l'extrait de cette espèce ce qui confirme le résultat de ce test.</p>	

<b>Mucilage</b>	++	L'obtention d'un précipité floconneux après agitation indique la présence de mucilages.	
<b>Triterpène</b>	+	La présence de la couleur rouge confirme le résultat de ce test.	

Les résultats sont interprétés comme suit :

- (-) : test négatif.
- (+) : test faiblement positif.
- (++) : Test positif.
- (+++) : Test fortement positif.

#### ➤ Discussion

Ce tableau montre que l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*U. dioica* L contient : des flavonoïdes, des tanins catéchiques, des alcaloïdes, des composés réducteurs, des saponosides, des mucilages aussi des triterpènes et des substances phénolique.

Cette plante est toutefois dépourvue des anthraquinones, des tanins condensés, des tanins vrais, des amidons et des quinones libres

Les résultats des tests phytochimique montrent que l'*U. urens* L est très riche en : flavonoïdes, tanins catéchiques, composés réducteurs, et mucilages aussi des triterpènes et des substances phénolique. Elle est toutefois dépourvue des anthraquinones, des tanins condensés, des tanins vrais, des amidons et des quinones libres des coumarines et des saponosides. Nos résultats de tous les tests de l'espèce *urtica urens* L s'accordent avec ceux obtenus par amine (Daoudi et al., 2015).

## 2. Rendement en Extrait brut

### ➤ Résultat

Les rendements d'extraction de «*U.dioica* L. » «*U.urens* L. » ont été déterminés par rapport au matériel végétal sec, et les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

### ➤ *Urtica urens* L

**Tableau 04** : Rendement des extraits bruts *Urtica urens* L

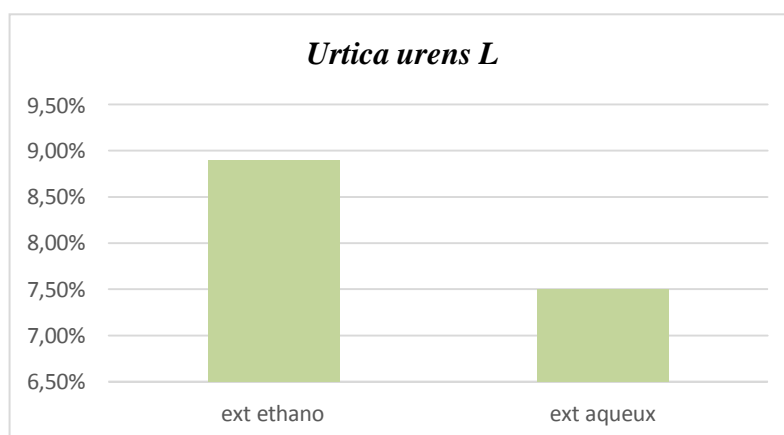
Extrait	Rendement %
Extrait aqueux	7,5%
Extrait éthanolique	8,9%

### ➤ *Urtica dioica* L

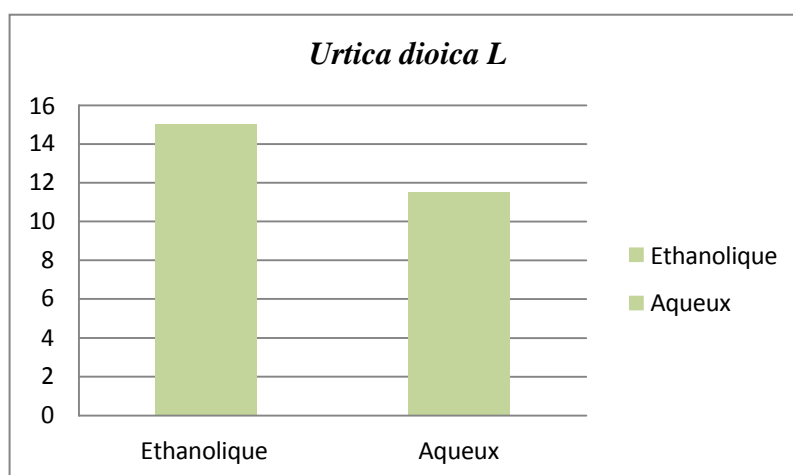
**Tableau 05** : Rendement des extraits bruts *Urtica dioica* L

Extrait	Rendement %
Extrait aqueux	11,5%
Extrait éthanolique	15%

- Les rendements d'extraction de *U.dioica* L et *U.urens* L ont été déterminés par rapport au matériel végétal sec, et les résultats obtenus sont représentés dans la (figure 24 et 25 ).



**Figure 21** : Rendement des extraits bruts d'*Urtica urens* L.



**Figure 22 :** Rendement des extraits bruts d'*Urtica dioica L.*

### ➤ Discussion

Au vu des résultats rapportés dans la (**Figure 21**) et (**Figure 22**). Il apparaît qu'il y a un grand écart entre le rendement des extraits hydro-éthanoliques d'*U. dioica L.* et *U. urens L.* Ces rendements sont estimés de 15% et de 8,9% respectivement.

Alors que les rendements des extraits aqueux des espèces d'*U. dioica L.* et *U. urens L.* appartiennent relativement moins faibles que ceux des extraits hydro-éthanoliques. Ils sont estimés de 11,5% et de 7,5% respectivement.

En comparaison avec d'autres études d'*Urtica dioica L.*, le rendement d'extraction pour l'extrait aqueux est supérieur à (9.62 %). celui mentionné par (**Cheyra et Zeyneb, 2019**) Pour l'extrait hydro-éthanolique, affirment que le rendement est de 16%, ce pourcentage est supérieur au pourcentage enregistré dans notre étude pour le même extrait (15 %). 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**).

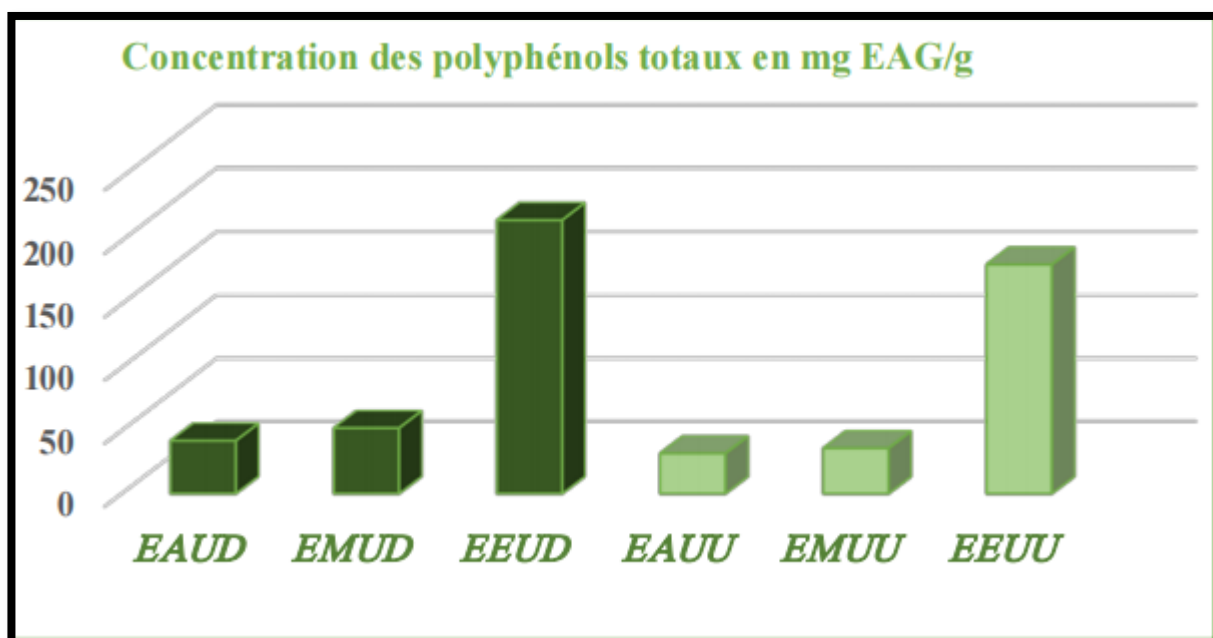
### 3. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïde totaux

Dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes : On constate d'après les **figures 23 et 24** que les taux en composés phénoliques et en flavonoïdes sont variables. Les extraits éthanoliques avaient une teneur en polyphénols totaux significativement plus élevée que les extraits aqueux et extraits méthanoliques chez les deux espèces *U. dioica L.* et *U. urens L.* ; le taux le plus élevé de composés phénoliques se rencontre dans l'extrait hydroéthanolique d'*U. dioica L.* (216,28 mgEAG/g) que dans *U. urens L.* (181,18 mgEAG/g), pour l'extrait méthanolique *U. urens L.* présente un taux faible (36 mgEAG/g) par rapport à *U. dioica L.*

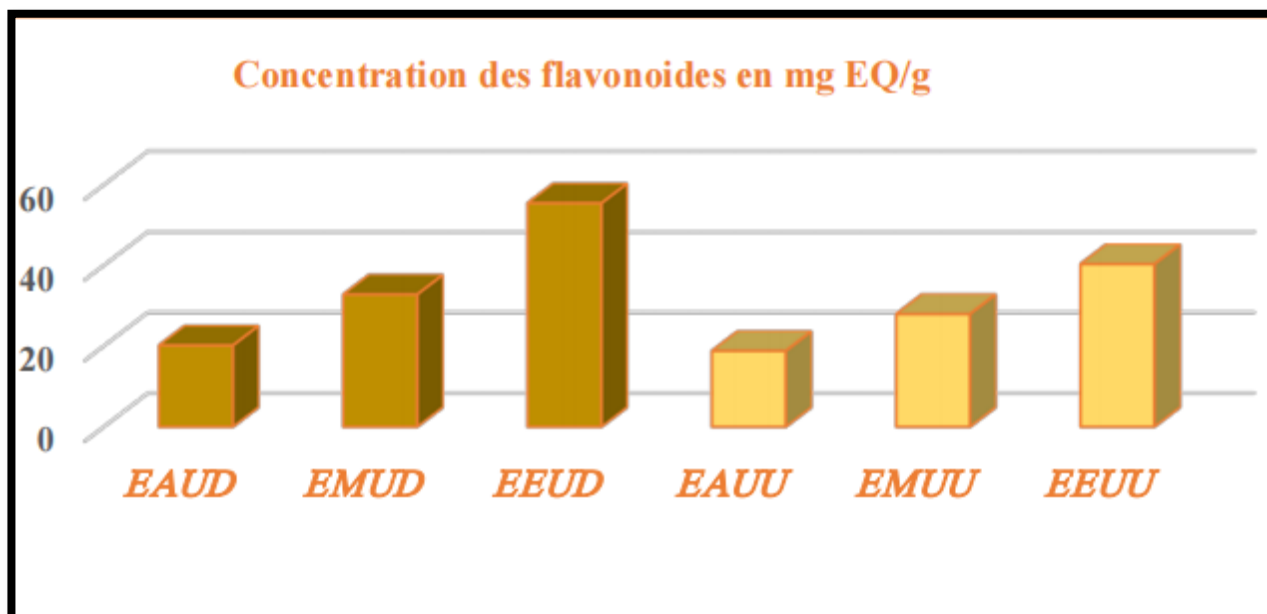
(52mg EAG/g), l'extraits aqueux donne des très faible taux chez les deux espèces *U. dioica L* (42mg EAG/g) et *U.urens L* (31 ,92mg EAG/g) . De leur côté, les flavonoïdes se concentrent aussi principalement au niveau de l'extrait hydroéthanolique d'*U.dioica L* (56mg EQ/g) suivi par l'extrait d' *U.urens L* (40mg EQ/g), tandis que l'extrait méthanolique d'*U.dioica L* un taux significable (32mg EQ/g) par rapport à *U.urens L* (29mg EQ/g) .l'extraits aqueux donne des très faible taux des flavonoïdes chez les deux espèces *Urtica dioica L* (20mg EQ/g) et *U .urens L* (19mg EQ/g).

Principalement les résultats du dosage montrent que l'essentiel des métabolites secondaire sont trouvés chez *U.dioica L*, avec un taux élevé dans extrait hydro-éthanolique bien pour les composés phénoliques que pour les flavonoïdes. Ces résultats sont presque similaires à ceux trouvés par( **Zoran Z , K et al. 2012**) qui à montrer que la teneur totale en composés phénoliques de l'extrait hydro-éthanolique de feuilles d'ortie est élevée (208,37 mg GAE/g), tandis que la teneur en flavonoïdes totaux est relativement faible (20,29mg QE/g).

De nombreuses études sur les composants phénoliques ont rapporté que les facteurs environnementaux, climatiques ou géographiques ainsi que les techniques d'extraction peuvent influencer de manière significative la qualité et la quantité des composants phénoliques présents dans l'ortie (**Ozkan, A et al., 2011 ; Pourmorad, F et al., 2006 ; Semih, O et al.,2012.**).



**Figure 23 :** Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits d'*Urtica dioica* (UD) et *Urtica urens* (UU).



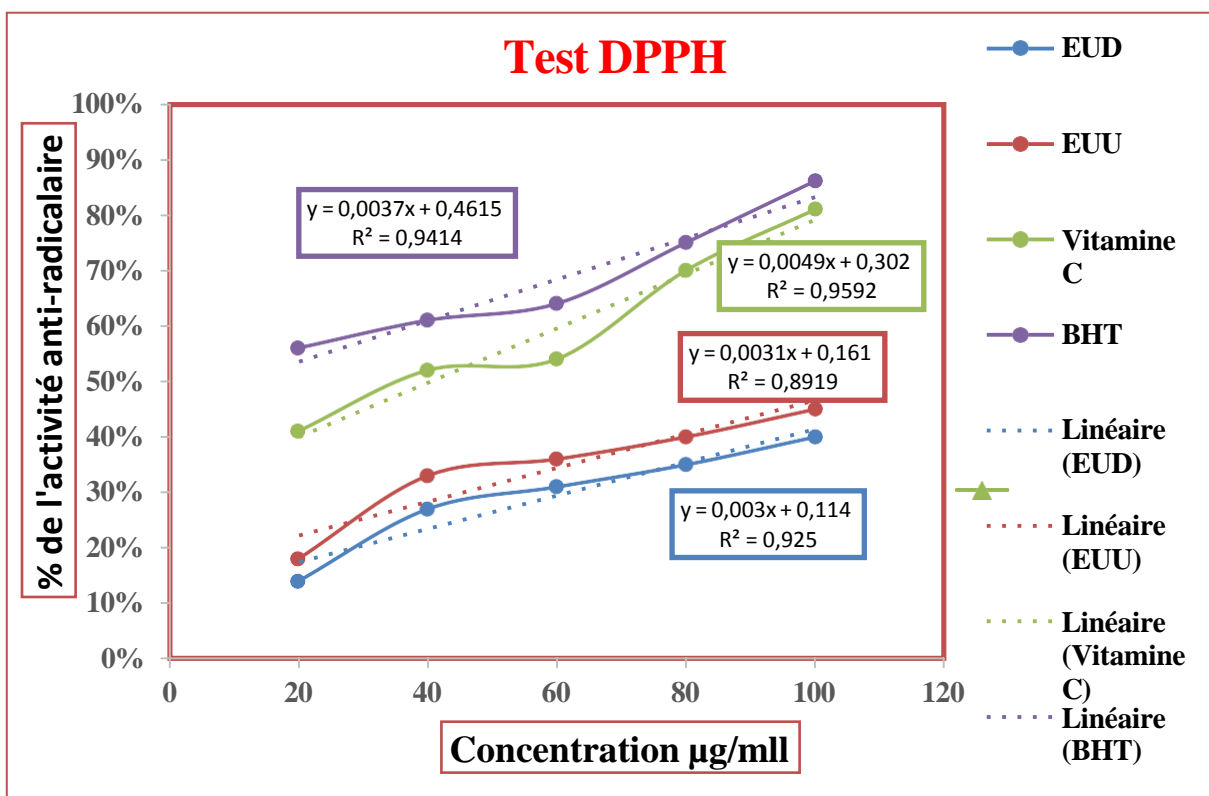
**Figure 24 :** Teneurs en flavonoïdes des différents extraits d'*Urtica dioica* (UD) et *Urtica urens* (UU).

#### 4. Activités biologiques

##### 4.1. Résultats de l'activité antioxydante

La mesure de l'absorbance a été effectuée par spectrophotométrie à 517 nm, à partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée. Les valeurs obtenues nous ont permis de tracer les courbes qui représentent les variations de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'extrait méthanolique et des valeurs obtenues pour le BHT et l'acide ascorbique comme antioxydants de référence.

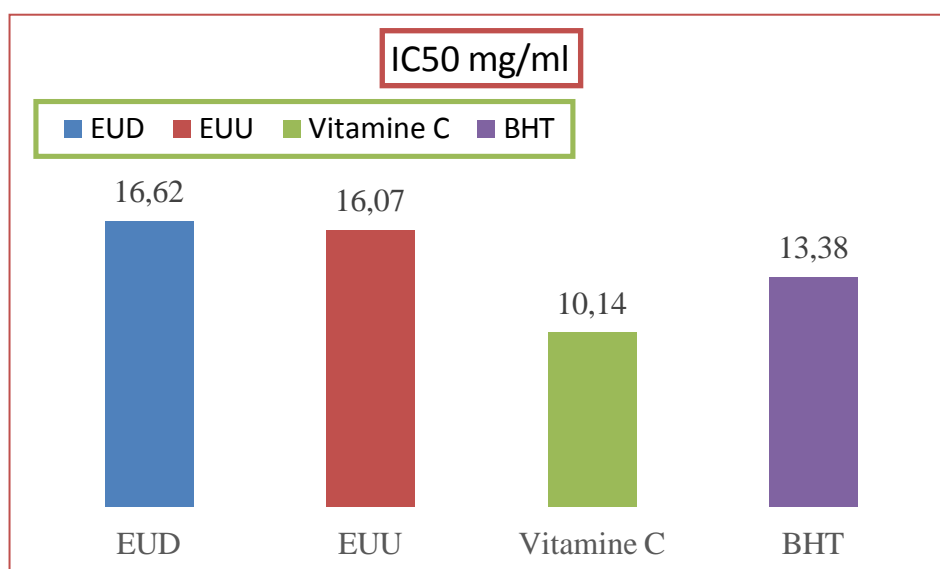
La détermination graphique d'IC<sub>50</sub> se fait à partir de la courbe, qui constitue l'activité anti-oxydante de l'extrait méthanolique d'*U.dioica L* et *U .urens L*.



**Figure 25 :** Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait méthanoliques des deux plantes (*Urtica dioica L* et *Urtica urens L*).

Le test de DPPH établie pour les antioxydants de référence (**figure 28**) a montré que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est très élevé pour les deux produits: BHT 86 ,12% et acide ascorbique 81% à la concentration de 100 µg/ml. La concentration inhibitrice piégeant 50 % du radical DPPH (IC50) a été trouvée de  $13,38 \pm 5,58$  µg/ml pour BHT et de  $10,14 \pm 2,02$  µg/ml pour l'acide ascorbique.

Les résultats obtenus de ce test (**Figure 28**) montre que les deux extraits ont une forte capacité pour piéger le radical hydroxyle, car les deux courbes sont proportionnelles à la concentration. L'extrait d'*U.dioica L* a un pouvoir d'inhibition égale 40% par une dose de 100µg/ml, tandis que, l'extrait d'*U.urens L* a un pouvoir d'inhibition égale 45 % par une dose 100µg/ml. Mais le pouvoir réducteur des deux extraits est inférieur à celle de Vit C et BHT.



**Figure 26 :** Valeurs d'IC50 des extraits Met d'*Urtica dioica* L et *urtica urens* L avec les standards vit C et BHT

L'extrait méthanolique d'*U.dioica* L et *U.urens* L est doté d'une activité antioxydant important, leur IC50 16,62 et 16,07 mg/ml mais relativement faible que celle d'acide ascorbique et BHT.

#### ➤ Discussion

Le stress oxydatif est le résultat d'un déséquilibre intracellulaire entre la génération et l'élimination des espèces réactives de l'oxygène (ROS). Elle pourrait être causée par une production intracellulaire accrue de ROS et / ou une diminution des défenses antioxydants cellulaires (**vajic et al., 2018**). Les ROS agissent principalement en attaquant les acides gras insaturés de la membrane biologique qui s'étendent à la peroxydation lipidique membranaire et enfin à l'inactivation ou à la mort cellulaire. Le mécanisme antioxydant consiste principalement à éliminer les radicaux libres. L'activité antioxydant est due à la présence de composés phénoliques et l'acide ascorbique. (**Ioana et al., 2013**)

L'étude réalisée par (**Güler., 2013**) sur deux types de macérations (aqueuse et acide) d'*U.dioica* de Turquie a révélé des IC50 plus importants que les notre avec 0,30 et 0,37mg/ml respectivement pour la macération aqueuse et acide de cette plante.

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



## 4.2. Activité antithrombotique

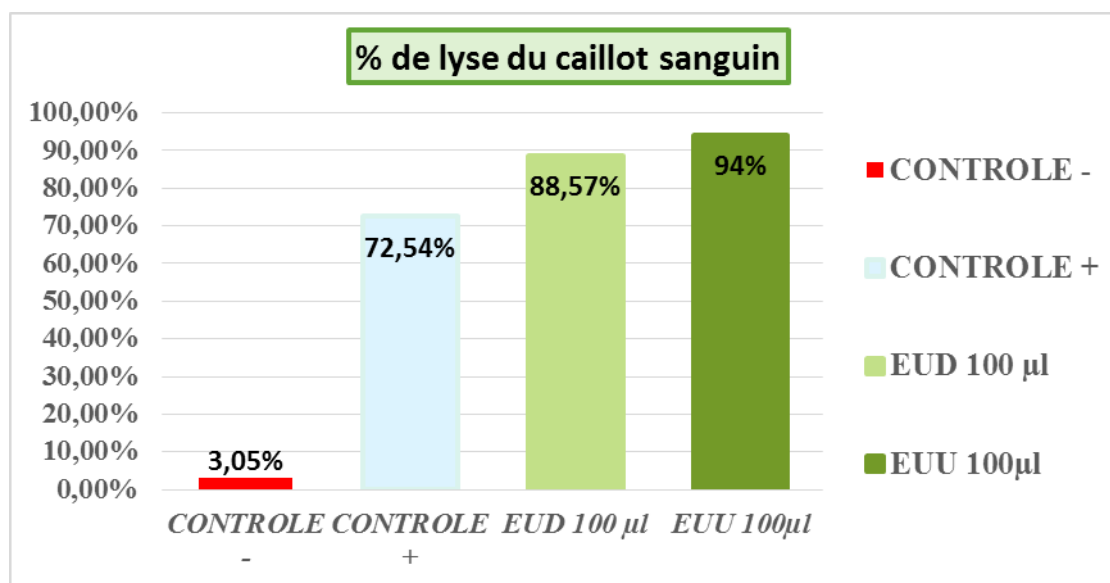
Dans le contexte de la recherche de médicaments cardioprotecteurs à partir de ressources naturelles, les extraits d'*U. dioica* et *U. urens* ont été testés contre la thrombose. Les résultats sont présentés dans le tableaux 3 et les figures 1 et 2. L'ajout de 100  $\mu$ l de streptokinase en tant que contrôle positif au caillot et une incubation ultérieure de 90 minutes à 37°C ont montré une lyse de caillot de 72.54% dans les extraits UU et les extrait UD. D'autre part, l'eau distillée a été utilisée comme contrôle négatif, montrant un pourcentage de lyse de caillot (3.05%), ce qui a clairement confirmé que la dissolution de caillot ne se produit pas lorsque de l'eau est ajoutée au caillot. Lorsque les caillots ont été traités avec différentes concentrations d'extrait (10,25,50,100) l'extrait concentré (contenant 100  $\mu$ l) auquel on n'a pas ajouté d'eau a présenté l'activité thrombolytique la plus élevée avec 94% de extraits urens et 88.57% dans extraits dioica, qui est supérieur à niveau de lyse de caillot avec le streptokinase.



**Figure 27 :** Coagulation d'échantillons sanguins de sujets normaux (contrôle positif et négatif).

**Tableau 06 :** Activité thrombolytique d'extrait de urtica .

Extrait/Médicament	% de lyse du caillot
H2O ( Contrôle négatif )	3.48± 0.84 %
Streptokinase (Contrôle positif)	72.54± 6.03%
EUD 100 $\mu$ l	88.57%
EUU 100 $\mu$ l	94%



**Figure 28 :** Effet thrombolytique in vitro exprimé en pourcentage de l'extrait urtica, de streptokinase et de l'eau (controle négatifs).

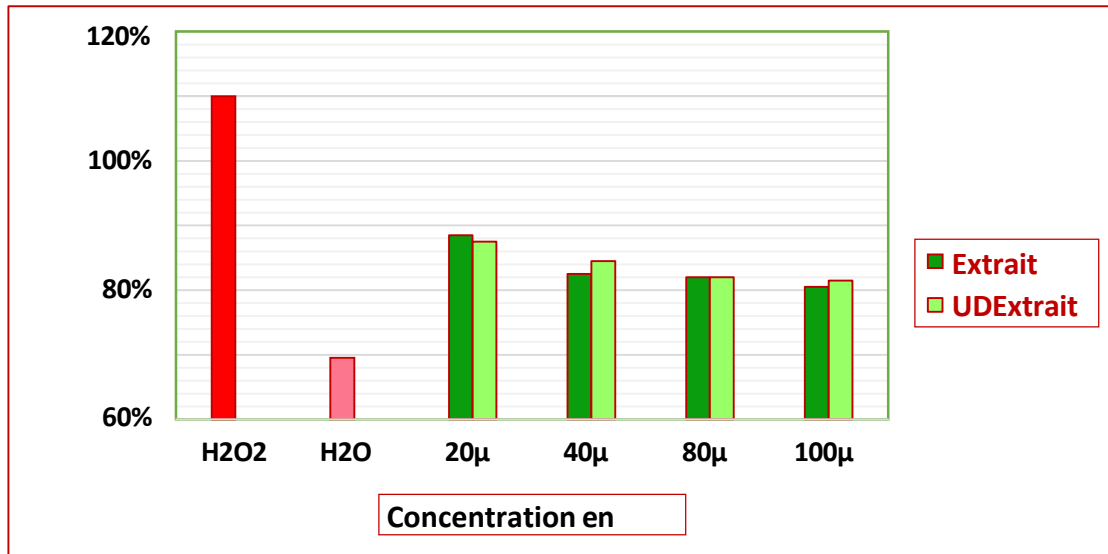
#### ➤ Discussion

En conclusion, sur la base des résultats ci-dessus, il est clair que les extrait urtica pourrait avoir des effets anticoagulants ou antiplaquettaires, il est nécessaire de mener davantage de recherches pour confirmer ces effets et d'obtenir des recommandations spécifiques auprès d'un professionnel de la santé.

### 4.3. Activité anti-hémolytique sur des cellules sanguines humaines

L'exposition des érythrocytes à un agent oxydant, en l'occurrence l' $H_2O_2$  provoque la peroxydation lipidique, la dégradation des protéines et la perte progressive de la déformabilité liée à l'oxydation des protéines du cytosquelette (SUBOH et al., 2004), ce qui termine par la destruction de la membrane plasmique avec libération du contenu Cellulaire (hémoglobine). Les résultats de l'effet de les extraits à différentes concentrations sur les érythrocytes en suspension traités par l' $H_2O_2$  sont représentés dans la figure 35 exprimés en pourcentage d'hémolyse.

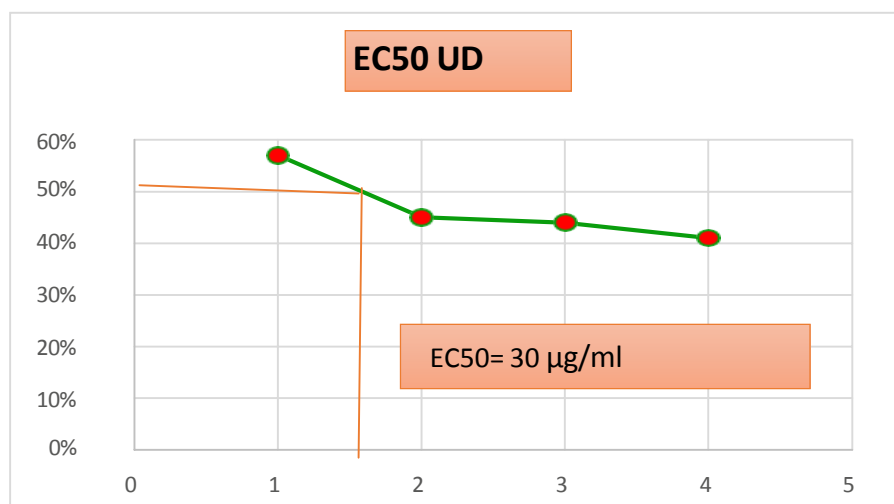
L'activité anti-hémolytique a été évaluée en utilisant des concentrations différentes de l'extrait des extraits hydro-éthanolique d'*U. dioica* L. (EUD) et d'*U. urens* L. (EUU). Les Pourcentage du potentiel anti hémolytique sont présentés dans le (figure 30) suivants :



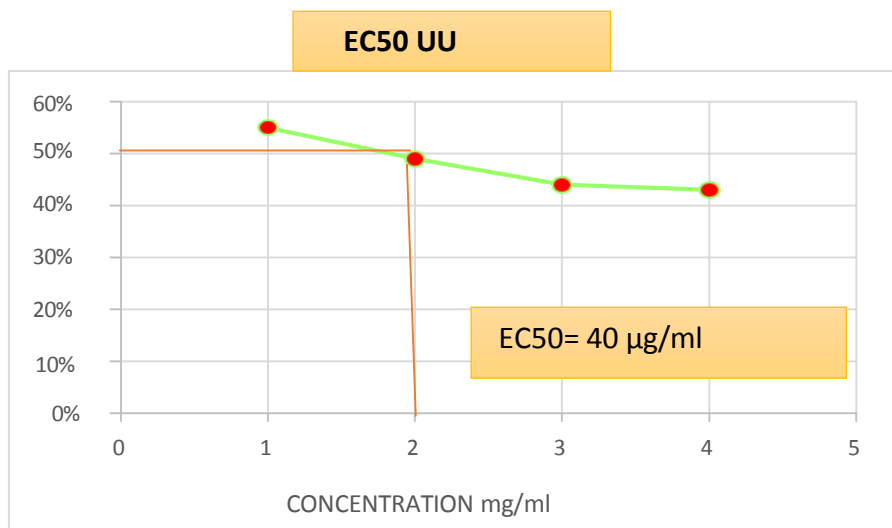
**Figure 29 :** Taux d'hémolyse (%) des érythrocytes traités par le H2O2 en présence de différentes concentrations d'extrait aqueux des *U. dioica L* et *U. urens L*.

La gamme de la variation du pourcentage de l'inhibition de l'hémolyse en fonction de la concentration de l'extrait était de 41% à 57% pour *U. dioica L* et de 43% à 55% pour *U. urens L*.

Pour les faibles concentrations en extrait (20 et 40 μg/ml), le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse le plus élevé est enregistré pour *U. dioica L* avec 57% et 45%; suivi par avec *U. urens L*. 55%- 49% respectivement, en comparaison avec le contrôle.



**Figure 30 :** valeur EC50 d'*Urtica dioica L*



**Figure 31** : valeur EC50 d'*Urtica urens L*

### ➤ Discussion

L'action de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sur les érythrocytes provoque l'épuisement des protéines membranaires, la déformation des membranes et la perturbation des micro-constituants ce qui conduit à leurs lyse et la libération de l'hémoglobine (Yasmeen et Hassnain, 2016).

Nous remarquons que l'extrait a révélé une activité anti hémolytique remarquable contre l'hémolyse induite par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

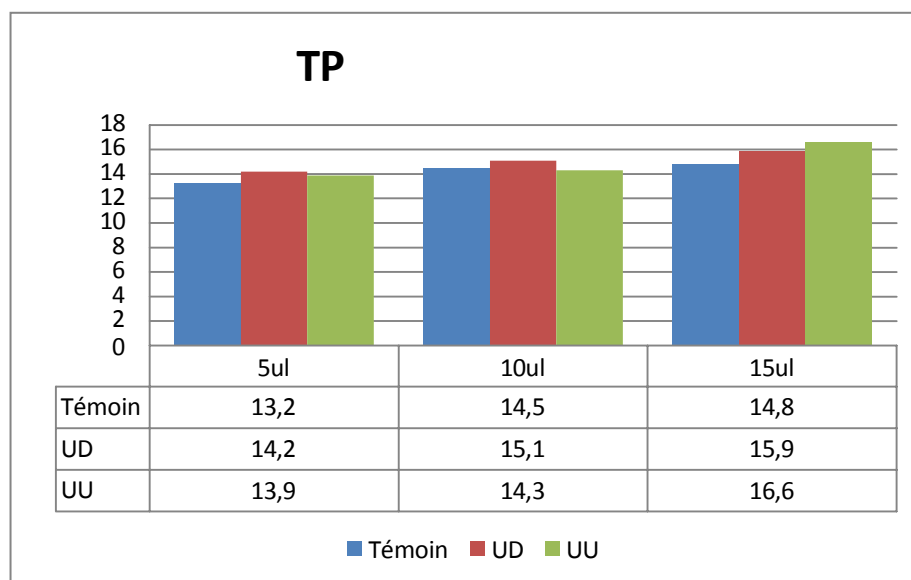
Les résultats obtenus montrent que les extraits hydro-éthanoliques présente une activité anti hémolytique à les concentrations élève [80 et 100µg/ml] contre l'hémolyse induite par l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> avec une concentration inhibitrice médiane CI<sub>50</sub> de 30µg/ml avec UD et 40µg avec UU.

L'effet anti-hémolytique peut être attribué aux métabolites secondaires présents dans ces extraits tel que les flavonoïdes et les polyphénols, En effet, plusieurs études ont prouvé que certains des composés phénoliques, notamment les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-radicalaires, en neutralisant ou en piégeant les radicaux libres (Hatia et al., 2014). De plus, les polyphénols sont connus comme chélateurs de métaux de transition tels que le Fe<sup>2+</sup>, réduisant ainsi la vitesse de réaction de Fenton. Ils peuvent aussi empêcher les oxydations causées par le radical hydroxyle (Tsao, 2010) et empêcher le passage de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à travers la membrane érythrocytaire et la génération des radicaux libres (Hapner et al., 2010).

#### 4.4. Activité anti coagulante

L'activité anticoagulante d'extraits aqueux d'*U.dioica* L. et d'*U.urens* L. a été évaluée in vitro en utilisant deux voies de coagulation : voies intrinsèque et extrinsèque non spécifique, TCK et TQ, respectivement.

##### 4.4.1. Activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène



**Figure 32 :** Capacité anticoagulante de extrait aqueux d'*Urtica dioica* et urens vis-à-vis de la voie exogène.

Le volume 5 µl d'extrait aqueux de deux espèces *U. dioica* L et *U.urens* L est capable d'allonger le taux de prothrombine avec des valeurs 14,2 S et de 13,9 S respectivement par rapport au témoin 13,2 S.

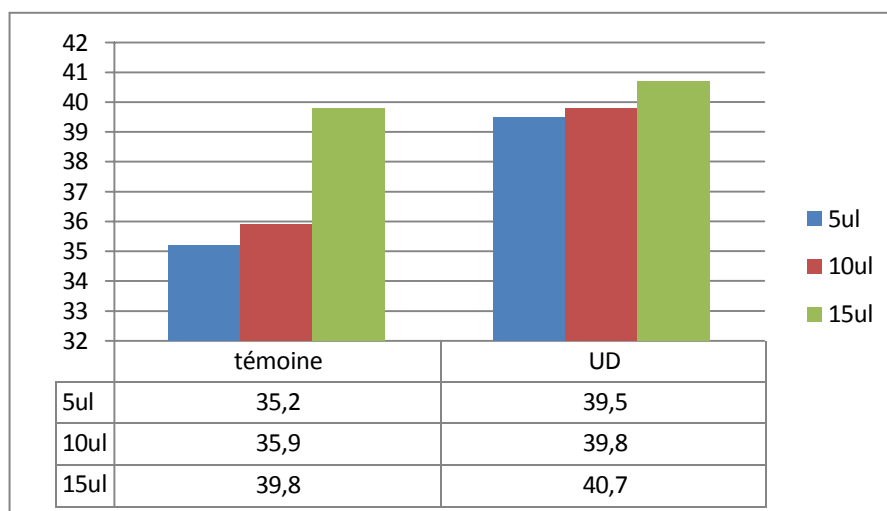
Le volume 10 µl est capable d'exercer une activité anticoagulante sur la voie exogène de la coagulation, estimée par TP de 15,1 S pour l'extrait aqueux d'*U.dioica* L et un TP de 14.9 pour l'extrait aqueux d'*U.urens* L. Alors que le volume 15 µl de extrait aqueux d'*U.Urens* L présente un TP de 16,6 S plus que le taux qui donne par l'extrait d'*Urtica dioica* L 15,9 S (**Figure 33**).

Cela nous a permis de déduire que il n'y a pas de différence significative entre le temps de coagulation de témoin et celui des deux extraits aqueux d'*U. dioica* L et *U.urens* L.

Malgré qu'il existe plusieurs projets de recherche axés sur l'activité anticoagulante de divers extraits végétaux, cette activité n'a pas été étudiée pour les extraits phénoliques d'*Urtica dioica* L, de ce fait le sujet de cette étude est considéré comme étant le premier étant le premier de son genre qui s'inscrit dans le cadre des études intéressées à la prévention et la

thérapie des maladies thrombotiques et cela par la recherche d'une éventuelle activité anticoagulante des polyphénols d'*U. dioica* L. Les résultats d'*U.urens* L s'accordent avec d'autres travaux parmi eux l'étude de **Ghadeer, O et al., (2017)** qui a montré que l'*U.urens* L présente une bonne activité anticoagulante.

#### 4.3.2. Activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène



**Figure 33** : Capacité anticoagulante de extrait aqueux d'*Urtica dioica* et *urens* vis-à-vis de la voie endogène.

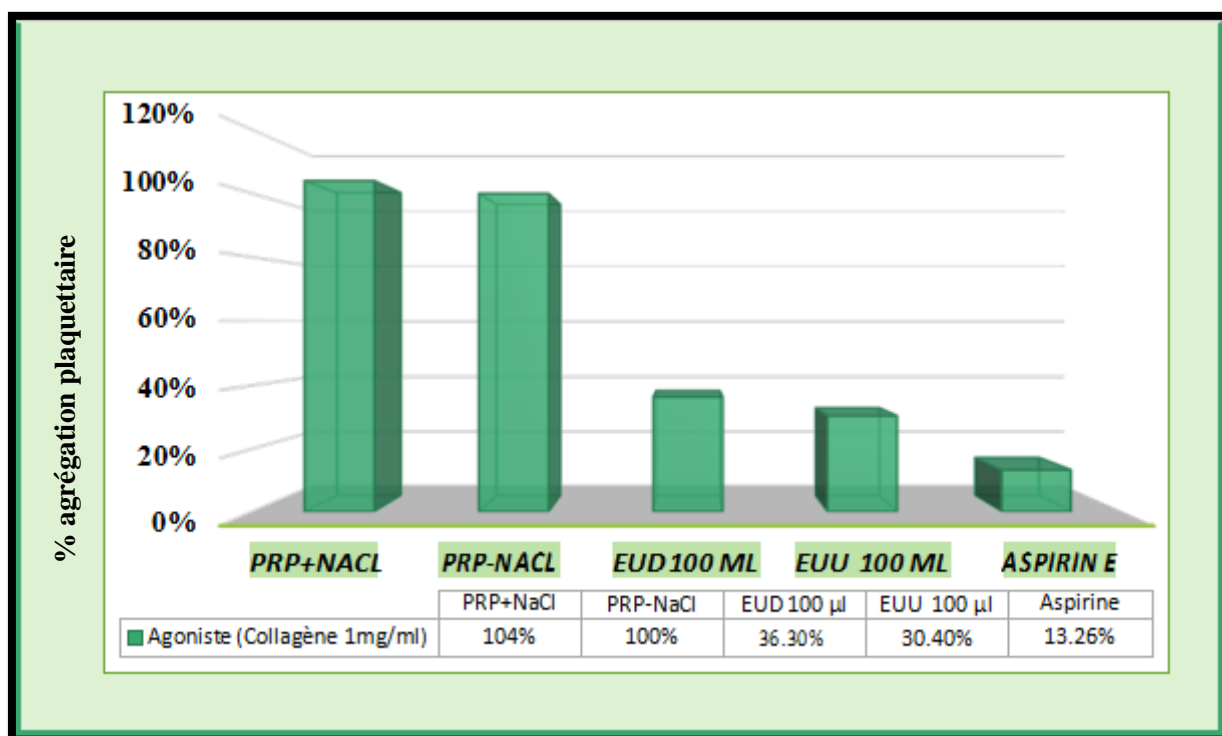
A la lumière des résultats obtenus, il ressort que l'extrait aqueux exerce une activité anticoagulante positivement corrélée avec le volume de l'extrait vis-à-vis de la voie endogène (figure2).

Le temps de TCK noter pour les déférentes concentrations du l'extrait testé sont de 39,5 S (5ul), 39,8 S (10ul), 40,7 S (15ul). D'après les résultats obtenus (**figure 36**).

#### 4.5. Activité antiagrégant

Nous avons d'examiner l'effet anti-agrégant in vitro de deux plantes médicinales.

Le test d'activité antiplaquettaire est un test pour quantifier la capacité d'une substance à inhiber l'agrégation plaquettaire qui pourrait provoquer une thrombose ou une occlusion des vaisseaux sanguins. Nous avons utilisé la méthode développée par Born (Platelet Aggregation and Deaggregation in Platelet-Rich Plasma). Le test a été réalisé avec un contrôle positif (aspirine), un extrait aqueux d'*U. dioica* L'un extrait aqueux d'*U. Urens* L et un agoniste puissant: le collagène en l'absence et en présence d'extrait végétal.



**Figure 34 :** Pourcentage de l'agrégation plaquettaire des extrait EUD, EUU et l'aspirine.

*U.dioica* L et *U.urens* L pourraient inhiber l'agrégation plaquettaire. L'effet de l'agrégation plaquettaire est de manière dose-dépendante. *U.dioica* L a une activité antiagrégant plus élevée que *Urens* L.

On note que le pourcentage d'inhibition plaquettaire pour les deux plantes étudiées est proche à l'aspirine.

**Tableau 07** : absorbance des deux extraits d'*Urtica dioica* L et *urtica urens* L avant et après ajoute le collagène à 600nm.

Extrait	DO Sans Collagène	DO Avec collagène
UD 25µL	0,735	0,571
50µL	0,286	0,200
100µL	0,275	0,175
UU 25µl	0 ,365	0,253
50µl	0,259	0,233
100µl	0,194	0,183

Lorsque la concentration des extraits est augmenté, il y a une diminution de l'absorbance.

#### ➤ Discussion

La diminution de l'agrégation plaquettaire dépend du type d'inducteur de l'agrégation plaquettaire car elle est associée à des dommages spécifiques à la fonction plaquettaire. L'inducteur de l'agrégation plaquettaire est classé en deux types, inducteur faible (ADP et épinéphrine) et fort (acide arachidonique, collagène et trombine). Le mécanisme d'inhibition plaquettaire pourrait également prédire à partir du type d'inducteur utilisé dans le test. L'ADP stimule l'agrégation par la voie des récepteurs spécifiques puriginiques (c'est-à-dire P2Y12). Le collagène stimule l'agrégation par la voie des récepteurs GPVI y qui induisent la libération de  $Ca^{2+}$  et augmentent l'agrégation plaquettaire°. Dans notre étude, nous avons utilisé le collagène comme inducteur de l'agrégation plaquettaire. Nous avons observé dans notre étude que le collagène pouvait induire l'agrégation plaquettaire à une concentration de 100 mg/mL.

Dans nous avons montré dans la présente étude que les plantes médicinales suivantes : *U. dioica* L, *U. urens* L provoquaient une inhibition de l'agrégation des plaquettes . Cette propriété anti-agrégante pourrait être attribuée à un certain nombre de composés phytochimiques présents dans les extraits aqueux tels que les polyphénols. Cette propriété renforce la suggestion de leur implication dans le traitement préventif et/ou thérapeutique du trouble ultérieur de l'agrégation plaquettaire lié aux maladies cardiovasculaires. une étude



montré que *U. dioica* L. a une activité antiagrégante (Hassane et al., 2004). Dans notre étude, elle confirme nos résultats.

# *Conclusion*

## Conclusion

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et est devenue aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs.

Deux Plante communément répandue, l'*Urtica dioica L* et *Urtica Urens l* sont en fait une plantes dotée de nombreuses qualités dont découlent plusieurs utilisations qui méritent d'être soulignées et vulgarisées auprès du grand public.

Dans un premier volet de ce travail, nous avons procédé à l'extraction des tests pour détecter les différents composés chimiques existants dans l'*Urtica dioica L* et *Urtica Urens L* par des réactions qualitatives de caractérisation.

Le screening phytochimique réalisé, a révélé la richesse de nos plantes en métabolites secondaires, nous avons constaté la richesse de l'*Urtica dioica L* et *Urtica Urens L* en : flavonoïdes, mucilage, glucosides cardiaques, tanins, polyphénols.

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folin –Ciocalteu a révèle la présence des quantités importantes en polyphénols dans les extraits méthanoliques et aqueux des deux plantes étudiées. La teneur en polyphénols totaux est variable selon la méthode et les solvants utilisée pour l'extraction.

L'évaluation de l'activité anti-oxydante est mise en évidence par le test de DPPH sur les l'extraits hydro-méthanoliques d'*Urtica Urnes L* et de *Urtica dioica L*. Les résultats montrent des activités anti- oxydantes est important avec des valeurs de CI50 égale à (16,62/ml) pour l'*Urtica dioica L* et égale à (16,07mg /ml) pour *Urtica Urens L*.

Le traitement de l'hémolyse induite par peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en appliquant les extrait de *Urtica dioica L* et *Urtica Urens L* a donné des résultats positifs cela confirme le pouvoir anti-hémolytique de cette espèce végétale.

L'activité anticoagulante de nos extraits a été évaluée in vitro en utilisant les tests du temps de céphaline-kaolin (TCK) et du temps de Quick (TQ). L'étude de l'effet des extraits sur l'allongement du temps de coagulation des deux voies a permis d'asseoir que ces extraits exercent une activité anticoagulante vis-à-vis les deux voies de la coagulation.

L'extrait aqueux brut inhibe l'agrégation plaquettaire induite par la thrombine d'une manière dépendante de la dose, ce qui signifie que l'ortie a une action antiplaquettaire dans laquelle les flavonoïdes sont principalement impliqués.

## *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

**Adhikari, B.M., Bajracharya, A., Shrestha, A.K.,** (2016). Comparison of nutritional properties of Stinging nettle ( *Urtica dioica* ) flour with wheat and barley flours. Food Science & Nutrition 4, 119–124.

**Alexandre. LB. Nguemo.D., Pierre Marie. M., Elysée. B.** (2018). Etude ethnobotanique et photochimique des médicinales utilisées dans le traitement dans des maladies cardiovasculaires à Moundou (Tchad). International Journal of Biological and Chemical Sciences; **12(1)** : 203-216.

**Anderson,C.M., Halleberg ,A.,et Hogberg ,T.**( 1996). Advances in the development of Pharmaceutical antioxydants. Adv. Drug. Res. 28, pp 65-180

**Angus S., Amstrong B., de Reuck K. M.,** (1976). "International thermodynamic table of the fluid state: carbon dioxide", vol. 3, IUPAC, Pergamon Press, Oxford.

**Antonopoulou ,S ., Demopoulos ,CA., Andrikopoulos NK.** (1996).Lipid Separation from *Urtica dioica* : Existence of Platelet-Activating Factor. Journal of Agricultural and Food Chemistry.;44(10):3052-3056.

**Asgarpanah, J., & Mohajerani, R.** (2012). Phytochemistry and pharmacologic properties of *Urtica dioica* L. J Med Plants Res, 6(46), 5714-5719.

**Athukorala .Y., Lee .KW., Kim .SK., et Jeon. YJ.** (2007) Anticoagulant activity of marine.

**Aubry, P., & du Fretay Halna, X.** (2010, December). Antithrombotic treatments in acute coronary syndromes with persistent ST-segment elevation. In Annales de cardiologie et d'angiologie (Vol. 59, No. 6, pp. 335-343).

**Awor et Samseny R-R.** (2003) Contribution à l'étude phytochimique d'une plante traditionnellement utilisée comme poison d'épreuve au Gabon : le strychnos Icaja Baillon (Mbundu), Loganiacée. Thèse, université de Bamako, Faculté de Médecine, de pharmacie Et d'Odonto -Stomatologie, Mali.

**Babulka. P.** (2007). Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales : de la médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne .5(3):137-145

- Batty, P., & Smith, G.** (2010). Anticoagulation. *Surgery (Oxford)*, 28(6), 243-247.
- Bensalah, M., Arslan, O., Hilly, J., Michelet, D., Bonnard, A., Nivoche, Y., & Dahmani, S.** (2014, September). Analyse des facteurs de l'hémostase associés à la survenue de saignement postopératoire suite à la chirurgie de la hernie inguinale chez le nourrisson. In *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation (Vol. 33, p. A57)*. Elsevier Masson.
- Bentabet lasгаа N.** (2015) Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes fredoliaaretioides et echiumvulgare de l'ouest algérien. Thèse de doctorat .
- Benzeggouta. N.** (2014) Evaluation des effets biologiques des extraits aqueux de plantes médicinales seules et combinées, Thèse de Doctorat en Sciences, Université de Constantine.
- Bertrand, B.** (2008). *Les secrets de l'ortie*. 10e édition, édition de Terran.médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne. *Phytothérapie ; 5 : 137-145*.
- Bertrand B.** (2010). *Les secrets de l'Ortie*.de Terran. Vol. 1. Le compagnon végétal.
- Bhat, R.B., Rubuluza, T., Jäger, A.K.,** (2002). The Bio-diversity of traditional vegetables of the Transkei region in the Eastern Cape of South Africa. *South African Journal of Botany* 68, 94–99.
- Bhusal. K.K., Magar. S.K., Thapa. R., Lamsal. A., Bhandar. S., Maharjan. R., Shrestha. S., Shrestha. J.**( 2022) Nutritional and Pharmacological Importance of Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.): A Review. *Heliyon* , 8, e09717.
- Boizot,N.et Charpentier,J.P.** (2006) . Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, INRA.p 79-82.
- Born GVR and Cross MJ.**(1963). The Agrégation of Blood platelet. *J physiol.*168(1) : 178-193.
- Boujaada, A.** (2019). Apport de la thrombolyse in situ dans le traitement de l'ischémie aiguë.
- Boukili, K.** (2008). Maladie thromboembolique veineuse. Expérience du service de cardiologie de l'hôpital militaire Moulay Ismail de Meknès étude rétrospective à propos de 100 cas (Doctoral dissertation).

- Boutgourine, M.** (2019). Guide d'hémostase à l'usage de l'étudiant en médecine. (Thèse du doctorat). Université Cadi Ayyad, Marrakech.
- Boyrie, J.** (2016). *Urtica dioica*: une plante aux usages multiples. n°109. Thèse du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de bordeaux.
- Bruneton J.** (1999). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. Paris. 3ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation.
- Bruneton, J.** (1993). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.
- Buhner, L.** 2ème éd. (2006). *Les herbes et les plantes antibiotiques*. Québecor éd.
- Caen, J., Larrieu, M. J., & Samama, M.** (1975). L'hémostase. Méthodes d'exploration et diagnostic pratique, 1, 315.
- Caquet R.** (2004). 250 examens de laboratoire : prescription et interprétation (9ème Ed), Masson (Paris)., pp :388-389.
- Cavin A.,** (1999). Investigation phytochimique de trios plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires: *Tinos poracispa* (Menispermacées), *Merremia emarginata* .
- Chavoutier , J.** (2000).La grande ortie : l'homme et le petit peuple de l'herbe , p. 11- 14.
- Cheriti .A., Rouissat. A., Sekkoum .K. et Balansard. G.** (1995). "Plantes de la pharmacopée traditionnelle dans la région d'El Bayadh (Algérie)". *Fitoterapia*. Vol. 66(6) :
- Cheyma Akrab, Mouhadi Zeyneb; sous la dir. de A. Guendouze .** (2019) . Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de feuilles d'*Urtica dioica* L. *Biochimie de la Nutrition*. : Constantine, Université Frères Mentouri .525-538.
- Contant, M.M., Martini, F.H., Ober, W.C., Bartholomew, E.F., Nath, J.L., Bélanger, H.,Mayrand, M.** (2015). *La biologie humaine : une approche visuelle* (Edition 2015). ERPI, 2015.
- Cowan, M. M.** (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*.



**Cuendet M.**,(1999). Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : *Fagraea blumei* » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : *Bartsia alpina* (Scrophulariaceae), *Loiseleuria procumbens* (Ericaceae) *Campanula barbata* (Campanulaceae).Thèse de doctorat .Université de Lausanne, p 24.

**Daiby,A** (2019).screening phytochimique et dosage des polyphénols et des flavonoïdes des feuilles de *dialium guineense* willd These de doctorat en pharmacie N°122.

**De Moerloose, P., & Boehlen, F.** (2006). Hémostase 2005–2006. Service d " angiologie et hémostase, hôpitaux universitaires et faculté de médecine de Genève.

**Desmier, T.** (2016). Les antioxydants de nos jours, définition et applications. Thèse pour l'obtention de docteur en pharmacie. Université de limoges faculté de pharmacie.

**De Vico, G., Guida, V., & Carella, F.** (2018). *Urtica dioica* (Stinging Nettle): a neglected plant with emerging growth promoter/immunostimulant properties for farmed fish. *Frontiers in physiology*, 9, 285.

**Dhouibi, R., Affes, H., Salem, M. B., Hammami, S., Sahnoun, Z., Zeghal, K. M., & Ksouda, K.** (2019). Screening of pharmacological uses of *Urtica dioica* and others benefits. *Progress in biophysics and molecular biology*, 150, 67-77.

**Draghi, F.** (2005). L'Ortie dioïque (*Urtica dioica* L.) : étude bibliographique. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Henri Poincare, Nancy, 89..

**Dupont, F., Guignard, J. L.** (2007). Abrèges Botanique Systématique Moléculaire. 14ème Ed., Masson, Paris ; in : Benhammou, N. (2011). Activité antioxydant des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouestet du Sud-Ouest Algérien.

**Ebrahimzadeh, M.A., S.F Nabavl., S.M Nabavl. Et B. Eslami.** (2010). Antioxidant and antihemolytic activities of mentha piperait. *Pharmacologyonline* .9: 744-52.  
DOI: 10.2478/s11535-010-0013-5.

**Eckert C. A., Knutson B. L** (1997). Electrochemical reduction of carbon dioxide on flat metallic.

**El Gharras, H.** (2009). Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(12), 2512-2518.

- El Haouari, M., Bnouham, M., Bendahou, M., Aziz, M., Ziyat, A., Legssyer, A., et Mekhfi, H.** (2006). Inhibition of rat platelet aggregation by *Urtica dioica* leaves extracts. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(7), 568-572.
- Erfani IA, et al.**,(2016) Uji aktivitas Antiplatelet Fraksi N-Heksana, Kloroform, dan ethanol Daun Belimbing Wuluh(*Averrhoa bilimbi* L) In vitro .prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development.
- Fleurentin, J.** (2008). *Plantes médicinales: traditions et thérapeutique*. Ouest France. Beau livre.
- Frishman, W. H., Beravol, P., & Carosella, C.** (2009). Alternative and complementary medicine for preventing and treating cardiovascular disease. *Disease-a-Month*, 3(55), 121-192.
- Grauso, L., Emrick, S., Bonanomi, G., Lanzotti, V.**(2019) Metabolomics of the Alimurgic Plants *Taraxacum Officinale*, *Papaver Rhoeas* and *Urtica dioica* by Combined NMR and GC–MS Analysis. *Phytochem. Anal*, 30, 535–546.
- Gee, J.M. et Johnson, I.T.** (2001). Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Current Medicinal Chemistry*, 8, 1-182.
- Geurbaz, F.E.** (2017). *Resistance Aux Anti Vitamine K.* (Thèse Doctorat). Université Mohammed V, Rabat.
- Ghadeer ,O., Lubna, A., Ahmad Abdal ,R., Rami O et Ali ,B .**(2017)Selected Wild Plants Ethanol Extracts Bioactivity on the Coagulation Cascade. 13(6): 1-10
- Ghazi F., et Sahraoui S.,**(2005).Evolution des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de datte communes Tantboucht et Hamraia. Mémoire d'ingénieur en agronomie, El Harrach.
- Ghedira, K., Goetz, P., & Le Jeune, R.** (2009). *Urtica dioica* L., *Urtica urens* et/ou hybrides (*Urticaceae*). *Phytothérapie*, 7(5), 279.
- Gião, M.S., González-Sanjósé, M.L., Rivero-Pérez, M.D., Pereira, C.I., Pintado, M.E.,**

**Malcata, F.X.**, (2007). Infusions of Portuguese medicinal plants: Dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87, 2638–2647.

**Gonzalez A.G et Estevez-Braun A.**,( 1997). Coumarins, *Nat. Prod. Reprod*, 14 : 465-475.

**Grauso, L., Emrick, S., Bonanomi, G., Lanzotti, V.**(2019) Metabolomics of the Alimurgic Plants *Taraxacum Officinale*, *Papaver Rhoëas* and *Urtica dioica* by Combined NMR and GC–MS Analysis. *Phytochem. Anal*, 30, 535–546.

**Gül, S., Emirci, B., Başer, K.H., Akpulat, H.A., Aksu, P.**(2012) Chemical Composition and in Vitro Cytotoxic, Genotoxic Effects of Essential Oil from *Urtica dioica* L. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, 88, 666–671

**Gulcin, I., Kufreviöglu, O. I., Oktay, M. et Buyukokuroglu, M. E.** (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *J Ethnopharmacol*.

**Guler E.** (2013). Investigation of Chemopreventif Properties of *Urtica dioica* L, in MCF-7 and MDA 231 Breast Cancer Cell Lines. *The New Journal of medicine*, 50-53.

**Hapner, C, D., P, Deuster., Y, Chene.** (2010). "Inhibition of oxidative hemolysis by quercetin, but not other antioxidants." *Chemico-Biological Interactions* 186(3): 275-279. 90, 205-15.

**Harborne, J.B.** (1999). An overview of antinutritional factors in higher plants. In: *Secondary plants products. Antinutritional and beneficial actions in animal feeding* (Caygill C. and Mueller-Harvey I., eds.). Nottingham Univ Press, UK, 7-16.

**Hssane, M., Mohammed, E., Abdelhaleq, L., Mohammed ,B., Mohammed, A., Fouad, A., Adnane ,R., Abderrahim, Z.**(2004). Platelet anti-agregant property of some Moroccan medicinal plants.

**Hatia, S., A. Septembre-Malaterre., F, Le Sage., A, Badiou-Bénéteau., P, Baret., B, Payet .,C, Lefebvre d'hellencourt., M, P, Gonthier.** (2014). "Evaluation of antioxidant properties of major dietary polyphenols and their protective effect on 3T3-L1 preadipocytes and red blood cells exposed to oxidative stress." *Free radical research* 48(4): 387-401.

**Hari Prasad , D., Keshav Raj, P .,Christi, K .,Ananda, B., Nisha, P., Anjana Adhikari, D., Niraj Kumar, J., Niranjan , D .,Sachin Kumar ,S., Dinesh Kumar, C., Kamal, D., et Philip, M. (2022).**Ortie piquante ( *Urtica dioica* L.) : composition nutritionnelle, composés bioactifs et propriétés fonctionnelles des aliments,27(16) : 5219.

**Helft, G., & Leger, P. (2009, August).** Que retenir de la littérature récente concernant les antithrombotiques ? In Annales de cardiologie et d'angiologie (Vol. 58, No. 4, pp. 230-235). Elsevier Masson

**Hemingway.R.W.(1992).** Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In: Lplant polyphenols: synthesis, proprieties, significande. Laks P.E, Hemingway R.W New - York.

**Henning, T., Quandt, D., Grosse-Veldmann, B., Monro, A. L. E. X. A. N. D. R. E., et Weigend, M. (2014).** Weeding the Nettles II: a delimitation of “*Urtica dioica* L.”(Urticaceae) based on morphological and molecular data, including a rehabilitation of *Urtica gracilis* Ait.

**Hernández-Navarro, M. D. et Osorio-Esquivel, O., Ortiz-Moreno, A., GarduñoSiciliano, L., Álvarez, V. B (2012).** Antihyperlipidemic effect of methanolic extract from *Opuntia ficus joconostle* seeds in mice fed a hypercholesterolemic diet. *Plant foods hum nutr.* 67: 365-370. *Phytotaxa*, 162(2), 61-83.

**Ignat, I., Volf, I., Popa, V.I. (2011).** A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables, *Food Chemistry*, 126, 1821-1835.

**Igor Passi L.B., (2002).** Etude des activités biologique de *Fagara zanthoxyloïdes* Lam (Rutaceae). Thèse doctorat en pharmacie, Bamako, p 133.

**Ioana, N., Viorica, I., Diana-Carolina, I. L. I. E. Ş et Valeria, R. (2013).** Preliminary research regarding the therapeutic uses of *Urtica dioica* l note ii. The dynamics of accumulation of total phenolic compounds and ascorbic acid. *Farmacia*, 61(2), 276-283.

**Janas, A. (2015).** Evaluation de la pratique clinique des médecins généralistes de la région de Midi Pyrénées concernant la prescription du bilan étiologique dans la maladie thromboembolique veineuse (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).

**Jimoh, F., Adedapo, A., Aliero, A., Afolayan, A.,** (2010). Polyphenolic and biological activities of leaves extracts of *Argemone subfusiformis* (Papaveraceae) and *Urtica urens* (Urticaceae). *Revista de Biologia Tropical* 58, 1517–1531.

**Kargozar, R., Salari, R., Jarahi, L., Yousefi, M., Pourhoseini, S. A., Sahebkar-Khorasani, M., & Azizi, H.** (2019). *Urtica dioica* in comparison with placebo and acupuncture: a new possibility for menopausal hot flashes: a randomized clinical trial. *Complementary therapies in medicine*, 44, 166-173.

**Kavalali, G.M.,** (2003). *Urtica: Therapeutic and nutritional aspects of stinging nettles.* Taylor & Francis Ltd, New York, USA. **Davidson, A., Jaime, T.,** (2006). *The Oxford companion to food.* Oxford University Press.

**Khatiwada, B.P., Choulagain, B., Osti, S.,**( 2011). Tragedy of the underutilized crops and people with changing climate: A case from Chepang Tribal Communities of Nepal, in: Dr Allam Ahmed, University of Sussex, U. and F.P. of the W.A. for S.D. (Ed.), *World Sustainable Development Outlook.* Greenleaf publishing, UK, pp. 327–345.

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

**Kregiel. D., Pawlikowska. E., Antolak. H.**(2018) *Urtica* spp.: Ordinary Plants with Extraordinary Properties. *Mol. J. Synth. Chem. Nat. Prod. Chem.*, 23, 1664.

**Krzeski, T., Kazon, M., Borkowski, A., Witeska, A. & Kuczera, J.** (1993). Combined extracts of *Urtica dioica* and *Pygeum africanum* in the treatment of benign prostatic hyperplasia: double-blind comparison of two doses. *Clin Ther*, 15, 1011-20.

**Legrand, M., & Journois, D.** (2015). Epuration extrarénale en réanimation. *Arnette.*

**Lerbet, B.** (2011). « L'ortie ».

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

**Liu, R.H.** (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *Journal of nutrition*, 134, 3479–3485.

- Lopez-Giraldo, L.J., Lecomte, J., Pina, M. et Villeneuve, P.** (2007). Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante. *Oilseeds and fats. Crops and lipids.* 14(5): 278-292.
- Luna, T.**(2001). Propagation protocol for stinging nettle (*Urtica dioica*). *Native Plants Journal*, 2(2), 110-111
- Maanda, M., Bhat, R.,** ( 2010). Wild vegetable use by Vhavenda in the Venda region of Limpopo Province, South Africa. *International Journal of Experimental Botany* 79, 189–194.
- Macheix, J.J., Fleuriot, A., Jay-allemant, C.,** (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, 1er Edition, Presses polytechniques et universitaires romandes (Italie), 192.
- Maldonado M.,** (2012). *Peumus boldus* M. De la botanique à la thérapeutique. Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état. Université Joseph Fourier, faculté de pharmacie de Grenoble. P 16-19.
- Martin, T.** (2016). Dosage de l'activité du facteur Willebrand : comparaison de la méthode de référence manuelle à deux techniques automatisées (Doctoral dissertation, éditeur inconnu).
- Mechri, A.** (2008). Etude de la mutation C677T de la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) dans les accidents thromboemboliques veineux (Mémoire). Université Mentouri, Constantine.
- Mohammad Jafar, G .,Soraya , G .,Vahid ,K ., et Abbas Ali Kestkar .**( 2010) Proliferación de las Células b del Páncreas en Ratas Diabéticas Tratadas con *Urtica dioica* 28(2):399-404.
- Mekhibi,A., Boudria,H.**(2013)contribution à l'étude des extraits brutes de la plante *Urtica dioica*. Mémoire mastre academique, Universite Kasdi marbah ouargla.
- Meyer, N., Oberegelsbacher, C., Dürr, T. D., Schäfer, A., & Huber, A.** (2008). An eGFP-based genetic screen for defects in light-triggered subcellular translocation of the Drosophila photoreceptor channel TRPL. *Fly*, 2(1), 36-46.
- Monfared M, Kamkar A, Khaligh S,G, Javan A,J, Asadi F, et Basti A, A.,** (2011) 'Antioxidative effects of Iranian *Urticadioica*L. extracts on the oxidation of sunflower oil. *Journal of Medicinal Plants Research*,5(18): 4438-4445.

- Moutsie**, (2008). L'ortie, une amie qui vous veut du bien, l'encyclopédie d'utovie, Edition d'utovie.
- Moskovitz, G.**,( 2009). Herbal medicinal teas from South Africa Tés de hierbas medicinales de Sudáfrica. Blood 67–73.
- Muanda. FN.** (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité. Lavoisier 4ème édition, Paris.
- Nasser, K. B., Chelly, F., Ali, E. B. H., Atig, A., Bouker, A., Bahri, F., & Ghannouchi, N.** (2017). Les thromboses intracardiaques en médecine interne. La Revue de Médecine Interne, 38, A124.
- Neu, C.** (2011). Les interactions entre les antithrombotiques et les plantes médicinales (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
- Nizamaldin, Y., Abi Najm, S., El Hage, M., & Samson, J.** (2012). Hémostase locale en chirurgie orale. 1ère partie : physiologie de l'hémostase. Médecine Buccale Chirurgie Buccale, 18(2), 119-127.
- Oakes R. S., Clifford A. A., Rayner C. M.**(2001); The use of supercritical fluids in synthetic organic chemistry , J. Chem. Soc., 1, 2001, 917-941.
- Obertreis, B., Giller, K., Teucher, T., Behnke, B. et Schmitz, H.** (1996). Anti-inflammatory effect of *Urtica dioica* folia extract in comparison to caffeic malic acid. *Arzneimittelforschung*, 46, 52-6.
- Odou FM.** (2002). Analyse médicale. Ed France, pp 335-401.
- Otles, S., Yalcin, B.**2012 Phenolic Compounds Analysis of Root, Stalk, and Leaves of Nettle. *Sci. World J*, 12.
- Ozkan, A., Yumrutas, O., Saygideger, S.D., Kulak, M.** (2011). Evaluation of Antioxidant Activities and Phenolic Contents of Some Edible and Medicinal Plants from Turkey's Flora. *Adv. Envir. Biol.* **5**, 2 231-236.
- Penche, L.** (2015). Peut-on prédire le risque hémorragique par le biais d'un interrogatoire médical ? (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- Paulauskienė, A., Tarasevičienė, Ž., Laukagalis, V.**(2021) Influence of Harvesting Time on

the Chemical Composition of Wild Stinging Nettle ( *Urtica dioica* L.). 10, 686.



- Perin, M., Ardillon, L., Delahousse, B., Denhaut, R., Salame, E., Remerand, F., & Gruel, Y.** (2015). Comparaison in vitro de l'effet du plasma frais congelé (PFC) et d'un concentré de complexe Prothrombinique (CCP) sur la génération de thrombine (TGT) en transplantation hépatique orthotopique (THO). *Anesthésie & Réanimation*, 1, A162-A163.
- Petti, S., & Scully, C.** (2009). Polyphenols, oral Health and disease: A review. *Journal of dentistry*, 37(6), 413-423.
- Plewa, G.** (2016). Thrombose veineuse profonde des membres inférieurs : anticoagulants oraux directs et pratique des médecins généralistes de Picardie (Doctoral dissertation, éditeur inconnu).
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., Shahabimajd, N .** (2006). Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian. Medicinal Plants African Journal of Biotechnology. **5**, 11 1142-1145.
- Razzagh, M., Kiumars ,A., Omid ,F.,et Mahsa ,A.** ( 2014) AROMA PROFILE AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF ALCOHOLIC AND AQUEOUS EXTRACTS FROM ROOT, LEAF AND STALK OF NETTLE (*Urtica dioica* L.) .15.4.3.220-224
- Ribéreau P.** (1968). Les composés phénoliques des végétaux. 2<sup>ème</sup> Edition. Dunod, Paris, p. 254.
- Riehemann, K., Behnke, B. & Schulze-Osthoff, K.** (1999). Plant extracts from stinging nettle (*Urtica dioica*), an antirheumatic remedy, inhibit the proinflammatory transcription factor NF- $\kappa$ B. *FEBS letters*, 442, 89-94.
- Reaume, T.** (2010). Stinging nettle *Urtica dioica* urticaceae-nettle family. Nature manitoba.
- Roschek, B., Fink RC., McMichael, M., Alberte RS.** (2009). Nettle extract (*Urtica dioica*) affects key receptors and enzymes associated with allergic rhinitis. *Phytotherapy Research*.23(7):920-926.
- Schaff, M.** (2012). Etude des mécanismes d'adhérence et d'activation des plaquettes sanguines appliquée à l'identification de nouvelles cibles antithrombotiques plus sûres (Doctoral dissertation, Strasbourg).
- Semih, O., Buket, Y.** (2012). Phenolic Compounds Analysis of Root, Stalk and Leaves of Nettle. *The Scientific World Journal*. Article ID564367 1-12.

**Shonte, T.T., WoldeTsadik, K.,** (2013). Consumers' perspectives, morphological and physicochemical characteristics of Stinging Nettle (*Urtica simensis*): Potentials for Improved Nutrition and Food Security. Dire Dawa, Ethiopia.

**SiddiqueA , Sayed M, Mizanur R, Amazad hossain M, Abdrachid M.**(2014) ; phytochemical screening and comparative antimicrobial potential of different extracts of SteviarebaudiansBertoni ;journal of Tropical Disease; 4 :220-280.

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

**SUBOH, S. M., BILTO, Y. Y.et ABURJAI, T. A.** (2004). Protective effects of selected medicinal plants against protein degradation, lipid peroxidation and deformability loss of oxidatively stressed human erythrocytes. *Phytotherapy Research*, 18(4), 280–284. DOI: 10.1002/ptr.1380.

**Taheri, Y., Quispe, C., Herrera-Bravo, J., Sharifi-Rad, J., Ezzat, S.M., Merghany, R.M.; Shaheen, S., Azmi, L., Prakash Mishra, A., Sener, B., et al.**(2022) *Urtica dioica* -Derived Phytochemicals for Pharmacological and Therapeutic Applications. *Evid.-Based Complement. Altern. Med.*, , 4024331.

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

**Thomas M.,** (2011). "Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*)". Thèse de doctorat.Université d'Orléans.

**Tissier, Y.** (2011). *Les vertus de l'Ortie*. Tredaniel. Le Courrier du Livre. France.

**Tsao, R.** (2010). "Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols." *Nutrients* 2(12): 1231-1246.

**Upton, R.** (2013). Stinging nettles leaf (*Urtica dioica* L.): Extraordinary vegetable medicine. *Journal of Herbal Medicine*, 3(1), 9-38.

**Vajic, U. J., Grujic-Milanovic, J., Miloradovic, Z., Jovovic, D., Ivanov, M., Karanovic, D et Mihailovic-Stanojevic, N.** (2018). *Urtica dioica* L. leaf extract modulates blood pressure and oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. *Phytomedicine*, 46, 39-45.

**Valnet J.** (1992). *Phytothérapies : traitement des maladies par les plantes. – 6ème édition Paris : Maloine, P. 617-625.*

**Vermerris W.** (2006). *Phenolic compound biochemistry.* Springer. Dordrecht. ISBN-1001-4020-5163-8 (HB).

**Vogel HG.** (2008). *Drug and Evaluation : pharmacological Assays.*

**Wagner, H., Willer, F. & Kreher, B.** (1989). Biologically active compounds from the aqueous extract of *Urtica dioica*. *Planta medica*, 55, 452-454.

**Wichtl, M., Anton, R.** (2003). *Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2 eme édition française.* Paris: éd. Tee & Doc; Cachan. Médicale Internationales : 692.

**Wahbi, M.** (2014). *Diagnostic biologique d'un syndrome hémorragique (Doctoral dissertation).*

**Walbane, M.** (2015). *La maladie thromboembolique veineuse en hospitalisation dans le service de cardiologie du CHU Gabriel TOURE.*

**Wang J., Wang F., Zhang Z.,et Shi X.,** (2009). Synthesized different derivatives of low molecular Fucoïdan extracted from *Laminaria japonica* and their potential antioxidant activity in vitro. *Int j boil Macromol*; 44(5): 379-84.

**Yam M., Ang L.F, Ameer O.Z, salman I.M, AzizH.A, Asmawi M.Z.**(2009).anti-inflammatory and analgesic effects of elephantopusmentosuse ethanolic extract journal of acupuncture and Meridian studies ; 280-287.

**Yang CLH, Or TCT, Ho MHK, Lau ASY.** (2013). Scientific basis of botanical medicine as alternative remedies for rheumatoid arthritis. *Clinical Reviews in Allergy Immunology*. 44(3):284-300. 142 .

**Zoran Z. K ., Ljiljana N. Topalić-T ., Biljana M. K., Snježana B. M., Svetlana S. P., Mirela M. B et Aleksandar V.** (2012) .CHARACTERIZATION OF ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIALACTIVITIES OF NETTLE LEAVES (*Urtica dioica* L.). 43, 1-342.

**Sites Web:**

(1). <https://lavalheureuse.com/boutique-web/fr/ortie-teinture-biologique-plantes-fraiches-urtica-dioica-p81>.

(2). Activité <https://www.biorender.com>.

(3). [http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/hemato05-hemostase\\_primaire.pdf](http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/hemato05-hemostase_primaire.pdf)).

(4). **Françoise Balédent.** <http://www.ledamed.org/IMG/html/doc-10934.html>.




(5). **Marc Zandecki.** [http://www.med.univangers.fr/discipline/lab\\_hema/PATHOL2007/HEMOST/h24avk.pdf](http://www.med.univangers.fr/discipline/lab_hema/PATHOL2007/HEMOST/h24avk.pdf).

# *Annexes*

## Annexes

## Annexe 01: Matériel de laboratoire

## ➤ Apparielage:

Nom	Photo
Balance	
Etuve	
Rotavapeur	

Plaque chauffante agitatrice



Agitateur mécanique







Spectrophotomètre



Bain mari



<p>Coagulomètre</p>	
<p>Vortex</p>	
<p>Balance de précision</p>	
<p>Centrifugeuse</p>	



➤ **Matériel et Verreries :**

Flacons ; béchers ; erlenmeyers ; entonnoirs ; tubes à essai ; Papier filtre ; barreau

Magnétique; spatules ; pipettes ; Portoirs ; verres de montre, micros pipettes, boites de Pétri en verre,

➤ **Produits chimique et réactifs :**

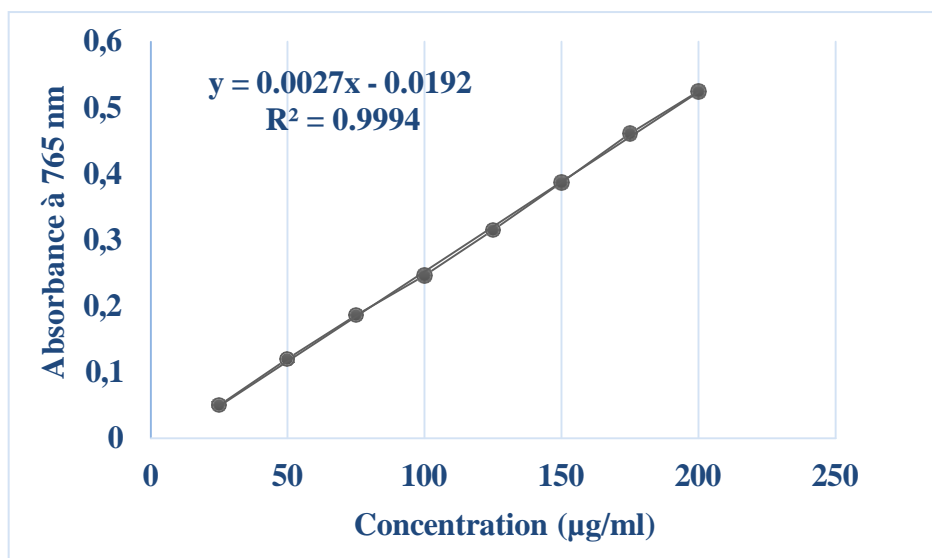
Méthanol ; Ethanol ; Acide gallique ; Folin Ciocalteu ; Iodure de potassium ;

Iode ; Acide chlorhydrique (HCL) ; Alcool chlorhydrique ; Copeaux de magnésium ; Chlorure ferrique (FECL<sub>3</sub>) ; Liqueur de Fehling ; KOH ; NAOH ; H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ; NH<sub>4</sub>OH ; Anhydride acétique ; Chloroforme ; Carbonate de sodium ; DPPH, Céphaline kaolin, Chlorure de calcium, Thromboplastine calcique,acide ascorbique

**Annexes 02 : pourcentage**

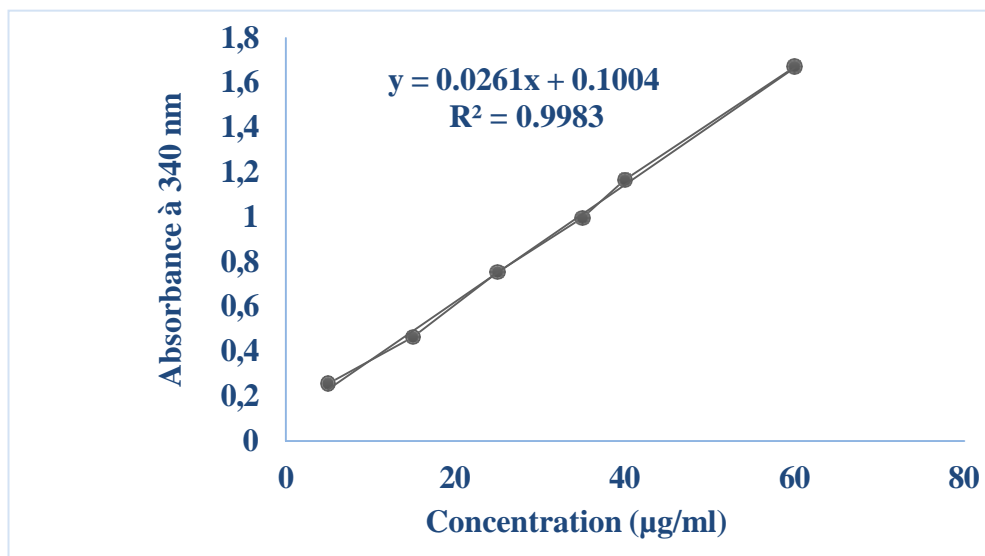
<b>Pourcentage du potentiel antihémolytique des extraits hydroéthanolique d'<i>Urtica dioica</i> L. (EUD) et d'<i>Urtica urens</i> L. (EUU).</b>		
<b>Concentration mg/ml</b>	<b>Extrait UD</b>	<b>Extrait UU</b>
<b>20</b>	<b>57%</b>	<b>55%</b>
<b>40</b>	<b>45%</b>	<b>49%</b>
<b>80</b>	<b>44%</b>	<b>44%</b>
<b>100</b>	<b>41%</b>	<b>43%</b>
<b>Control positive H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<b>100</b>	
<b>Controle négative H<sub>2</sub>O</b>	<b>%</b>	
<b>Physiologique Nacl</b>	<b>19%</b>	
	<b>-</b>	

## Annexes 03:



Courbe d'étalonnage de l'acide galique

## Annexes 04:



Courbe d'étalonnage de quercétine