

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Alimentaires  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Sciences alimentaires  
Option : Bioprocédés et technologies alimentaires



Réf : .....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

***Thème***

**Propriétés antioxydantes d'extraits  
d'une plante médicinale : *Urtica dioica* L.**

Présenté par :

**AIT BRAHAM Sabrina et BELHAMEL Chiraz**

Soutenu le : **15 Juin 2016**

Devant le jury composé de :

Mme TAMENDJARI S.  
Melle LOUAILECHE H.  
M MOUSSI K.

MCB  
Professeur  
MAA

Présidente  
Encadreur  
Examineur

**Année universitaire : 2015 / 2016**

## Remerciements

*Nos remerciements vont tout d'abord à Dieu le tout puissant qui nous a donné la force et la patience tout au long de ce travail.*

*Les travaux présentés dans ce mémoire ont été effectués au Laboratoire de Biochimie Appliquée (LBA), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abderrahmane Mira de Béjaia.*

*L'encadrement scientifique de ce travail a été assuré par Melle LOUAILECHE H., Professeur à l'Université de Béjaia. Nous tenons vivement à lui exprimer notre profonde reconnaissance et notre gratitude pour nous avoir proposé une thématique pour laquelle nous sommes passionnées, et aussi pour sa patience, et sa compréhension.*

*Nous tenons à remercier Madame TAMENDJARI S., Maitre de Conférences à l'Université de Béjaia de nous faire l'honneur de présider le jury de notre mémoire. C'est avec la plus grande considération que nous lui exprimons toute notre estime et notre respect.*

*Nous voudrions remercier également Monsieur MOUSSI K., Maitre assistant à l'Université de Bejaia de nous honorer de son savoir et de sa présence en tant qu'examineur.*

*Nous adressons nos vifs et sincères remerciements au D<sup>r</sup> BACHIR-BAY M., Melle BENKERROU F., Melle AMRANE M et M<sup>me</sup> SAADI-AHMED L. pour leur aide précieuse ;*

*En bref, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail ; un grand merci à tous.*

*Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds,*

*Je dédie ce modeste travail*

*A DIEU le Tout Puissant le Tout Miséricordieux. Je me prosterne devant ta  
Grandeur pour te remercier de m'avoir comblée de ta grâce et de m'avoir assistée  
tout au long de ce voyage dans le jardin du savoir, j'implore ta bénédiction et que  
ta lumière guide mes pas. Que toute la gloire te revienne.*

*A mon très cher mari Yacincon, en signe d'amour et de gratitude pour m'avoir  
supporté, soutenu et surtout compris en permanence, pour ces sacrifices, ces  
encouragements, sa fidélité et sa gentillesse.*

*A mes très chers parents Yazid et Ourida, sans eux je ne suis pas pu être ce que  
je suis, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs encouragements  
durant toutes mes études.*

*A mes chers frères Juba, Koussaila, Aghiles et ma petite sœur Iman.*

*A mes grand-mères Dahbia et Baya.*

*A mes beaux parents.*

*A mes beaux frères et mes belles sœurs, ainsi qu'à leurs petites familles.*

*A toute ma famille, à mes amis et à tous ceux qui m'aiment.*

*Sabrina*





# Dédicace

*À l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :*

*À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie mes chers parents qui m'ont apporté leur appui durant toutes mes années d'étude, pour leur sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.*

*À ma très chère grand-mère que je lui souhaite une longue vie.*

*À la mémoire de mes très chers grands parents*

*ALLAWA, AMOR et NOUARA que dieu le tout puissant les reçoivent dans son plus grand paradis.*

*À mes très chères sœurs Nour el Houda et Nouara Yasmine.*

*À toute la famille BERCHI et BELHAMEL.*

*À toutes mes amies.*

*Chiraz*



**Liste des tableaux**

<b>N° du Tableau</b>	<b>Le titre du tableau</b>	<b>page</b>
<b>Tableau I</b>	Quelques constituants chimiques de l'espèce <i>Urtica dioica</i>	<b>08</b>
<b>Tableau II</b>	Solvants et réactifs utilisés	<b>16</b>
<b>Tableau III</b>	Matériel utilisé	<b>17</b>
<b>Tableau IV</b>	Teneur en chlorophylle <b>a</b> (chlo <b>a</b> ), chlorophylle <b>b</b> (chlo <b>b</b> ) et caroténoïdes des feuilles d' <i>Urtica dioica</i> .	<b>23</b>
<b>Tableau V</b>	Corrélations entre les activités antioxydantes et les différents antioxydants dosés	<b>28</b>

## Liste des figures

N° de Figure	Le titre	pages
<b>Figure 1</b>	<i>Urtica dioica</i> L., photo prise à l'intérieur de l'Université de Béjaia, en Avril 2016.	<b>02</b>
<b>Figure 2</b>	Les feuilles d' <i>Urtica dioica</i>	<b>03</b>
<b>Figure 3</b>	Les poiles d' <i>Urtica dioica</i>	<b>03</b>
<b>Figure 4</b>	Squelette de base des flavonoïdes	<b>06</b>
<b>Figure 5</b>	Structure générale des tannins hydrolysables	<b>07</b>
<b>Figure 6</b>	Structure chimiques de proanthocyanidines	<b>07</b>
<b>Figure 7</b>	Séchage et broyage des feuilles d' <i>Urtica dioica</i>	<b>11</b>
<b>Figure 8</b>	Réduction du radical DPPH <sup>•</sup> par un antioxydant.	<b>14</b>
<b>Figure 9</b>	Teneur en composés phénoliques des extraits des feuilles d' <i>Urtica dioica</i>	<b>18</b>
<b>Figure 10</b>	Teneur en flavonoïdes des extraits des feuilles d' <i>Urtica dioica</i>	<b>21</b>
<b>Figure 11</b>	Teneur en proanthocyanidines des extraits des feuilles d' <i>Urtica dioica</i>	<b>22</b>
<b>Figure 12</b>	Pouvoir réducteur des différents extraits d' <i>Urtica dioica</i> .	<b>24</b>
<b>Figure 13</b>	Activité antiradicalaire des extraits d' <i>Urtica dioica</i>	<b>26</b>
<b>Figure 14</b>	Pouvoir chélateur du Fe <sup>2+</sup> des différents extraits d' <i>Urtica dioica</i>	<b>27</b>

# Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ..... 1

## Synthèse bibliographique

1.1. Noms vernaculaires ..... 2

1.2. Taxonomie..... 2

1.3. Description botanique ..... 3

1.4. Localisation de l'Ortie..... 4

1.5. Recherches phytochimiques sur l'Ortie ..... 4

1.5.1. Les composés chimiques des poils urticants ..... 4

1.5.2. Les composés chimiques des feuilles ..... 4

1.5.2.1. Les acides phénoliques ..... 5

1.5.2.2. Les flavonoïdes..... 5

1.5.2.3. Les tanins..... 6

1.5.2.3.1. Les tanins hydrolysables..... 6

1.5.2.3.2. Les tanins condensés ..... 7

1.5.3. Autres constituants d'intérêt..... 7

2. Domaines d'utilisation de l'Ortie ..... 8

2.1. Utilisation médical de l'Ortie ..... 8

2.2. Utilisation de l'Ortie dans l'industrie cosmétique ..... 9

2.3. En alimentation..... 9

2.4. En agriculture ..... 9

3. Les antioxydants..... 10

## Matériel et méthodes

1. Matériel végétal ..... 11

2. Préparation des extraits ..... 11

3. Dosage des composés phénoliques ..... 11

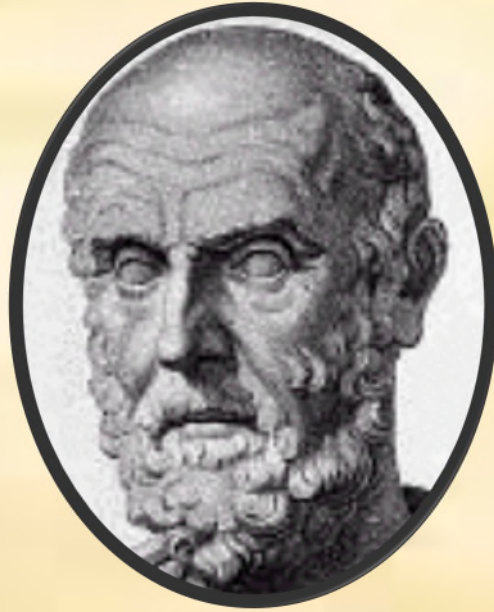
4. Dosage des flavonoïdes .....	12
5. Dosage des tanins condensés (proanthocyanidines).....	12
6. Dosages des chlorophylles et des caroténoïdes .....	13
7. Mesure de l'activité antioxydante .....	14
7.1. Pouvoir réducteur .....	14
7.2. Pouvoir chélateur de Fer .....	15
7.3. Analyse statistique.....	15
8. Matériel, solvants et réactifs utilisés .....	16

## **Résultats et discussion**

1. Teneurs en composés phénoliques .....	18
2. Teneurs en Flavonoïdes.....	20
3. Teneurs en tannins condensés (proanthocyanidines) .....	21
4. Teneurs des chlorophylles et caroténoïdes .....	23
4. 1. Chlorophylles.....	23
4. 2. Caroténoïdes .....	23
5. Activité antioxydante des extraits des feuilles d' <i>Urtica dioica</i> .....	24
5.1. Pouvoir réducteur .....	24
5.2. Activité antiradicalaire .....	25
5.3. Pouvoir chélateur.....	26
Conclusion.....	29
Références bibliographiques .....	31

Annexes





*« Que ton Aliment  
Soit ta seule médecine »*

*Hippocrate*

## Introduction

Les radicaux libres sont des molécules produites essentiellement par notre organisme dans le processus de transformation des nutriments en énergie (Tsao et Deng, 2004). La grande majorité des radicaux libres sont impliqués dans l'entretien et le fonctionnement de l'organisme, mais l'excès de production de ces molécules est à l'origine de plusieurs altérations au niveau des composants cellulaires qui provoquent ainsi plusieurs maladies telles que les maladies cardiovasculaires et le cancer. Face à ces agressions, notre organisme est muni d'un système de défense antioxydant endogène, un déséquilibre entre antioxydants et oxydants favorise le stress oxydatif. Afin de maintenir cet équilibre, un autre système antioxydant exogène est apporté par l'alimentation. En effet les fruits, les végétaux, les épices et les herbes ont un effet protecteur, non seulement contre les cancers, mais aussi contre d'autres maladies chroniques, telles que les maladies cardiovasculaires. Les plantes contiennent plusieurs variétés de molécules anti-radicalaires: composés phénoliques, composés azotés, vitamines, terpénoïdes, qui possèdent une forte activité antioxydante (Samarth *et al.*, 2008). Les composés phénoliques sont des antioxydants qui ont des fonctions multiples telles que le piégeage de l'oxygène singulet, la chélation des métaux et le piégeage des radicaux libres (Dorman *et al.*, 2003). Ils constituent une classe diversifiée de molécules phytochimiques de structures variées, et souvent combinées à d'autres substances telles que les protéines, polysaccharides et lipides (Monpon *et al.*, 1996).

L'Ortie est une plante que l'on peut reconnaître les yeux fermés grâce à son pouvoir urticant. Considérée comme une «mauvaise herbe », l'Ortie « *Urtica dioica* » est en réalité une plante riche en vitamines et minéraux et antioxydants telles que les composés phénoliques. Elle possède de nombreuses vertus médicinales qui remontent à l'Antiquité, ses vertus sont utilisées en phytothérapie: fortifiantes, anti-inflammatoires, astringentes ou anti-histaminiques. Sa richesse en minéraux et vitamines fait d'elle une excellente plante nutritionnelle. Elle est utilisée dans plusieurs autres domaines comme l'alimentation animale l'horticulture et l'agriculture, l'art culinaire (Draghi, 2005).

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressées à la détermination de la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes, tannins condensés, caroténoïdes et chlorophylle des extraits bruts de l'Ortie, ainsi que la mesure de l'activité antioxydante. Cinq solvants d'extraction de polarités différentes : Ethanol 90%, Ethanol 50%, Méthanol 90%, Méthanol 50% et l'eau, ont été utilisés dans le but d'évaluer l'effet de la nature du solvant d'extraction sur l'activité antioxydante de cette plante et sa teneur en antioxydants.

## **L'ortie**

### **1.1. Noms vernaculaires**

L'Ortie est connue sous différentes appellations. Dans les pays du Maghreb, nommée en dialecte Arabe Algérien et Tunisien « heureïgue », en Marocain « El hurriga » et en Kabyle « azeytof ». C'est une plante qui irrite la peau au toucher (**Beloued, 2012**).

### **1.2. Taxonomie**

L'Ortie (*Urtica dioica*) appartient à la famille des Urticacées qui regroupe une trentaine d'espèces de plantes herbacées à feuilles velues. Selon la nouvelle classification publiée par **Ghedira, (2005)** *Urtica dioica* L. possède la position systématique suivante :

Règne : Plantae.

Sous règne : Tracheobionta (plante vasculaire).

Embranchement : magnoliophyta (Phanérogames).

Classe : Magnoliopsida.

Sous classe : Rosidae.

Ordre : Urticales.

Famille : Urticaceae.

Genre : *Urtica*.

Nom binominal : *Urtica dioica* L.



**Figure 1.** *Urtica dioica* L., photo prise à l'intérieur de l'Université de Béjaia, en Avril 2016.

### 1.3. Description botanique

*Urtica dioica* L. est une plante vivace, herbacée qui peut dépasser 1,2 mètre de haut, à tiges robustes dressées, non ramifiées et à section carrée. Elle se propage rapidement grâce à ses longs rhizomes traçants de 1 à 5 mm d'épaisseur et de couleur jaune caractéristique. Elle est dioïque, présente des pieds mâles et des pieds femelles (**Hailemeskell et Fullas, 2015**), et porte des fleurs staminées et des fleurs pastillées. Ses très petites fleurs unisexuées ou parfois bisexuées verdâtres sont disposées à l'aisselle des feuilles et réunies en grappes allongées et rameuses. Les fleurs comprennent quatre sépales, quatre étamines ou un pistil presque réduit à l'ovaire, ovoïde et surmonté d'un stigmate en pinceau. La floraison est étalée de mai à octobre (**Bassett, 1976**). Elle se déclenche en fonction de la luminosité et de la richesse du sol, et donne un akène comme fruit (**Ghedira et al., 2009**).



*Figure 2 : Les feuilles d'Urtica Dioica*



*Figure 3 : Les poiles d'Urtica Dioica*

Les feuilles sont bien plus longues que larges, opposées, ovoïdes, acuminées et hérissées, ont un bord pourvu de dents aiguës. Elles répandent une faible odeur herbacée, leur saveur est aigrelette et astringente recouverte de trois sortes de poils: poils urticants, poils tecteurs non urticants, longs, coniques, unicellulaires, dont la partie basilaire fortement renflée contient des cristaux de carbonate de calcium et poils glandulaires courts, constitués par un court pédicelle supportant une glande quadricellulaire. Ces poils tecteurs et glandulaires sont surtout localisés à la face supérieure du limbe, la pointe de ces poils durs et coniques se brise lors d'un contact et injecte des substances urticantes contenues dans un massif cellulaire situé à la base. Ces

nervures sont très proéminentes sur la face inférieure des feuilles (**Draghi, 2005; Ghedira et al., 2009**).

## 1.4. Localisation de l'ortie

Parmi les espèces du genre *Urtica*, *Urtica dioica* L. est la plus répandue, elle est très commune en région méditerranéenne. Elle est présente dans presque toutes les régions du monde: de l'Europe et l'Afrique du Nord à l'Asie, ainsi qu'en Amérique du Nord et du Sud et en Afrique du Sud. Elle est présente jusqu'à 2400 mètres d'altitude, dans les régions montagneuses (**Draghi, 2005**). On la trouve donc près des habitations, jardins, ruines, décombres, haies, fossés ou encore à la lisière des bois (**Bassett, 1976**). Elle pousse sur tous les terrains, argileux ou sablonneux, calcaires ou siliceux, surtout ceux contenant des matières organiques fraîches mais toujours riches en azote (elle fait partie des plantes nitrophiles) et de préférence avec une certaine humidité (plante hygrophile) surtout lors de son implantation. *Urtica dioica* L. est très résistante à la sécheresse, on la trouve aussi bien en plein soleil à l'abri d'une façade qu'au fond d'un vallon ombragé. Symbole de milieux riches et fertiles, l'Ortie ne pousse jamais seule, mais en grands massifs compacts (**Draghi, 2005**).

## 1.5. Recherches phytochimiques sur l'Ortie

### 1.5.1. Les composés chimiques des poils urticants

L'action urticante est due au liquide contenu dans les poils. Ce liquide est libéré au moindre choc après rupture de l'extrémité des poils, qui deviennent ainsi une véritable aiguille hypodermique. En **1927, Flury** a mis en évidence la présence d'une petite quantité d'acide formique dans le poil. Cependant, bien que cette molécule puisse jouer un rôle dans l'effet de sensation de brûlure, des travaux de recherche sur l'ortie ont été effectués en 1947 par **Emmelin** ainsi que **Feldberg** et ses collaborateurs ont montré que le liquide des poils contenait au moins trois composés qui pourraient être à l'origine des réactions de muscle lisse. Les composés chimiques trouvés sont : (l'acétylcholine, l'histamine et 5-hydroxy-tryptamine connue sous le nom de sérotonine). Il ya également une faible quantité de leucotriènes (**Draghi, 2005**).

### 1.5.2. Les composés chimiques des feuilles

Les feuilles d'Ortie contiennent une assez large variété de constituants chimiques tels que les composés phénoliques (**Budzianowski, 1991; Schomakers et al., 1995**). D'autres études confirment la présence des flavonoïdes, acides gras, des terpènes, protéines, vitamines, et



minéraux (**Kudritsata et al., 1986; Ellnain-Wojtaszek et al., 1986; Rafajlovska et al., 2001**).

### **1.5.2.1. Les acides phénoliques**

Parmi les constituants chimiques des feuilles d'Ortie, on trouve une assez large gamme d'acides phénoliques tels que l'acide Shikimique et ses dérivés phénylpropanes, l'acide caféique et ses dérivés esters, l'acide chlorogénique, l'acide caffeoylmaline, scopolitine (coumarine) ont été identifiés par **Budzianowski, (1991) et Schomakers et al (1995)**. Les concentrations en acides chlorogénique et caffeoylmalique ont été rapportés à 76,5% dans l'échantillons sauvages des feuilles d'ortie (**Pinelli et al., 2008**).

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des végétaux, L'élément structural de base est un noyau benzénique auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou liés à une autre fonction chimique (éther méthylique, ester, sucre,...) (**Verneris et Ralph, 2007 ; Drioli et Giorno, 2015**). Ils sont présents sous forme d'hétérosides (lignines, tanins) dans la nature (**Ribereau-Gayon, 1968**). Ces composés contiennent exclusivement du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène (**Richter, 1993**). Les composés phénoliques sont produits par les végétaux pour se protéger contre la lumière UV, insectes, virus et bactéries. (**Sandrina et al., 2015**). Ils jouent un rôle d'antioxydants naturels et suscitent de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires (**Talbi et al., 2015**), et assurent aussi la protection de la cellule vivante, vu leur large diversité biologique conférant des activités anti-inflammatoires et chimio-prévention (**Benayahoum et al., 2013**).

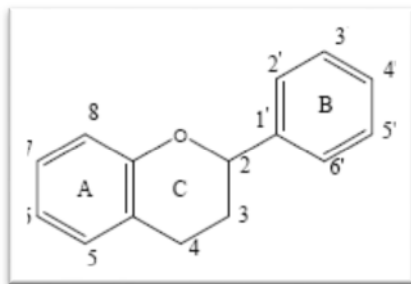
### **1.5.2.2. Les Flavonoïdes**

Les flavonoïdes présents dans les feuilles fraîches sont principalement le kaempférol, l'isorhamnétine, avec les rutinosides et glucosides de la quercétine. Le patuletine a été identifié comme le principal composé d'intérêt (**Ellnain-Wojtaszek et al., 1986; Bucar et al., 2006**).

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (**Ghedira, 2005**). Ces composés ont un poids moléculaire faible, partageant tous une même structure de base de 15



atomes de carbone arrangés en 3 cycles C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> : A, B et C avec un ou plusieurs substituant hydroxyle (Kelly, 2002).



**Figure 4:** Squelette de base des flavonoïdes (Krishna et al., 2001).

A l'état naturel, les flavonoïdes sont fréquemment rencontrés sous forme glycosylée. La présence d'un sucre modifie les propriétés de la molécule par rapport à son analogue non glycosylé en particulier sa solubilité et son hydrophobicité. La liaison entre l'aglycone et l'ose se fait généralement par l'un des hydroxyles phénoliques, en particulier ceux en position 3 (pour les flavonols) ou en 7 (pour les flavones) et parfois en 6 ou 8 si ces positions sont hydroxylées (Cook et Samman, 1996).

### 1.5.2.3. Les tanins

Les tanins sont un groupe de polyphénols à haut poids moléculaire et qui existent dans presque chaque partie de la plante : écorce, bois, feuilles et racines (Cowan, 1999). Ces composés sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Les tanins naturels sont subdivisés selon leur structure chimique en deux groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Machenix et al., 2005).

### 1.5.2.1. Les tanins hydrolysables

Ces tanins sont des dimères d'acide gallique condensés sur un dérivé glycosylé, Ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique. Ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude (Vermerris, 2009).

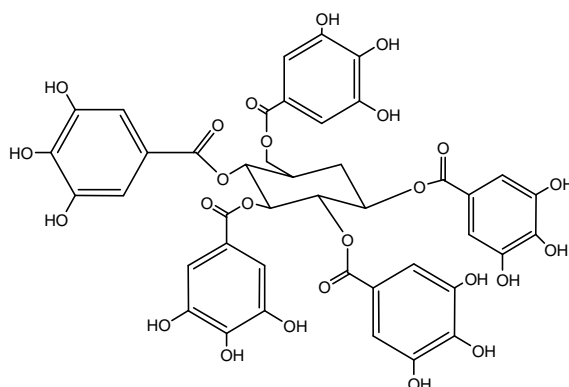


Figure 5: Structure générale des tannins hydrolysables (Munuda, 2010).

### 1.5.2.2. Les tanins condensés

Appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines, les tanins condensés, sont des polyphénols de masse molaire élevées. Ils résultent de la polymérisation autooxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et nommé ainsi proanthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de types A

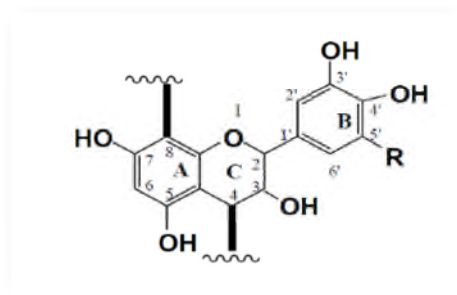


Figure 6: Structure chimique de proanthocyanidines (Pizzi, 1993)

### 1.5.3. Autres constituants d'intérêt

L'Ortie est considérée comme une plante nutritive qui peut contribuer à l'équilibre de l'organisme, surtout en ce qui concerne son apport en protéines, minéraux, et antioxydants (Tableau I) (Upton et Dayu, 2013).

Tableau I: quelques constituants chimiques de l'espèce *Urtica dioica* (Upton et Dayu , 2013).

Constituants chimiques		Teneurs
<b>Vitamines</b>	Vitamine C	20-60mg / 100 g matière sèche
	Vitamine K	0.16-0.64mg/100g matière sèche
<b>Les minéraux</b>	Fer	2-200mg / 100 g matière sèche
	Calcium	853-1050mg / 100 g matière sèche
	Magnésium	175 mg / 100 g matière sèche
	Phosphore	50-265mg / 100 g matière sèche
	Sodium	16-58mg / 100 g matière sèche
	Potassium	532-613mg / 100 g matière sèche
<b>Chlorophylle</b>		0,6 à 1% feuilles sèche
<b>Huiles essentielles</b>	Esters	14,7%
	alcools	2%
	cétones	38,5 %
	substances azotées des phénols et des aldéhydes	Traces
<b>Caroténoïdes</b>	Carotènes	20.2 mg / 100 g matière sèche

## 2. Domaines d'utilisation de l'Ortie

### 2.1. Usage médical

Les propriétés médicinales de l'Ortie sont nombreuses et connues, et sont vantées depuis l'antiquité, tel que les propriétés: nutritive, astringente, tonique, anti-asthmatique, stimulante dépurative et antidiabétique (Cetinus *et al.*, 2005; Hailemeskel1 *et al.*, 2015). Elle est conseillé en usage interne, soit en infusion, en capsules ou sous forme de jus frais pour tonifier et redonner de l'énergie, et agir contre l'inflammation des voies urinaires (Orčica *et al.*, 2014), contre l'anémie (Filières des plantes médicinales biologiques du Québec, 2010; Kukrića *et al.*, 2012), en traitement ou en prévention des calculs rénaux, l'insuffisance cardiaque et le rhume des foins (Gülçin *et al.*, 2004).

L'ortie est aussi utilisée par voie externe pour traiter les entorses, la tendinite et la névralgie, ainsi que pour soulager les douleurs arthritiques et rhumatismales. On la retrouve dans certains produits pour traiter les maladies de la peau comme l'eczéma, le psoriasis, l'acné et les infections (**Orčica et al., 2014**). L'Ortie seule ou en association avec d'autres plantes entre dans la composition de plusieurs produits pharmaceutiques. L'usage des parties aériennes de l'ortie est recommandé pour irriguer les reins, la vessie et les voies urinaires en cas d'inflammation, pour prévenir et traiter les calculs rénaux et comme traitement complémentaire pour soulager les rhumatismes (**Filières des plantes médicinales biologiques du Québec, 2010 ; Dizaye, 2013**).

## **2.2. Usage de l'ortie dans l'industrie cosmétique**

L'Ortie est également utilisée dans plusieurs produits cosmétiques comme les shampoings, car on lui attribue la capacité de stimuler la croissance des cheveux et un pouvoir de lutter contre la chute, les pellicules, et les cheveux gras (**Kukrića et al., 2012**).

## **2.3. En alimentation**

L'Ortie est comestible mais il est important de la récolter loin des routes, des champs cultivés et plus généralement de toute source supposée de contamination car des études ont révélé qu'elle peut accumuler des métaux lourds et des pesticides. En cuisine, les jeunes feuilles sont excellentes cuites, en potage, en salade ou comme légume (**Vajica et al., 2015**). Elles perdent d'ailleurs leurs propriétés urticantes lorsqu'elles sont cuites, séchées ou transformées. L'ortie constitue une source industrielle de chlorophylle mise à profit dans l'industrie agroalimentaire (E140) (**Allais, 2009 ; Ebrahimzadeh et al., 2015**). Elle peut aussi être utilisée pour améliorer la conservation et la qualité organoleptique de certains aliments tels que le chocolat (**Belščak et al., 2015**).

## **2.4. En agriculture**

L'Ortie est utilisée en purin comme tonique universel, en pulvérisation foliaire sur les plantes. Le purin d'ortie a aussi l'avantage de renforcer les défenses naturelles des plantes et d'avoir un certain effet répulsif sur les insectes (**Filières des plantes médicinales biologiques du Québec, 2010**). Elle est aussi utilisée comme facteur de croissance dans l'alimentation de bétail, des volailles, des poissons et fruits de mer tels que les truites et pour l'amélioration de leur immunité innée (**Humphries et Reynolds, 2014; Ngugi et al., 2015 ; Şandru et al., 2016**).

### **3. Les antioxydants**

Les antioxydants sont des composés qui peuvent inhiber ou retarder les dommages oxydatifs et protègent contre de nombreuses maladies (**Akshatha et al., 2015**). Ce sont des molécules capables d'interagir avec les radicaux libres en empêchant la propagation des réactions en chaîne d'oxydation (**Charles, 2013**). Les principaux antioxydants sont : la vitamine C et E, les caroténoïdes, les polyphénols et les enzymes endogènes (superoxyde dismutase et la catalase). Chez les individus en bonne santé, il existe un équilibre entre le système de défense anti-oxydant naturel et les espèces réactives de l'oxygène (R.O.S) produites par le corps. Lorsque cet équilibre est perturbé, les R.O.S peuvent causer des lésions cellulaires et induire des dommages oxydatifs au niveau des protéines, lipides, ADN et ARN (**Park, 2011**). L'activité antioxydante multi-fonctionnelle des composés phénoliques est fortement liée aux cycles de phénols qui agissent en tant que piègeurs d'électrons. Ils possèdent également des propriétés redox, qui leur permettent d'agir comme des agents réducteurs et donateurs d'hydrogène (**Charles, 2013**).

## **1. Matériel végétal**

Les feuilles d'*Urtica dioica* ont été récoltées durant le mois de septembre 2015 dans la région de Tazmelt, wilaya de Bejaia dans un endroit loin de toute pollution. Les coordonnées géographiques sont : 36°23'14'' N 4°24'6''E. Elles ont été identifiées par Mr Mahdaoui Djamel, Herboriste à Tazmelt.



**Figure 7 :** Séchage et broyage des feuilles *Urtica dioica*.

Les feuilles récoltées ont été séchées au laboratoire à l'air libre à l'abri de la lumière pendant 7 jours. Après séchage, les feuilles ont été broyées jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Cette dernière a été tamisée, à travers un tamis de granulométrie de 200  $\mu\text{m}$ . La poudre obtenue a été conservée dans des flacons en verre ferme et stockés à l'abri de la lumière.

## **2. Préparation des extraits**

Les extraits méthanoliques (90% et 50%), éthanoliques (90% et 50%) et aqueux ont été préparés en utilisant 50 mg de poudre de feuille d'*Urtica dioica* et les additionnés à 10 ml de solvant. Après agitation, pendant 15 minutes à température ambiante, le mélange est centrifugé à 4000 tours par minute pendant 10 minutes. Le surnageant est conservé au réfrigérateur pour des analyses ultérieures.

## **3. Dosage des composés phénoliques**

La teneur en composés phénoliques des extraits est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu. Ce réactif, mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, est



réduit lors de l'oxydation des polyphénols en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et d'oxyde de molybdène (**Ribereau-Gayon, 1968**).

Le dosage des composés phénoliques a été effectué selon la méthode décrite par **Chan et al. (2005)**. A chaque 100 µl d'extrait, on ajoute 750 µl d'une solution du réactif de Folin-Ciocalteu et 750 µl de carbonate de sodium (6 %), puis on réalise une incubation pendant 30 min à l'abri de la lumière. Les absorbances ont été mesurées à 760 nm.

Les courbes d'étalonnages (**Annexe I**) ont été obtenues en utilisant comme étalon l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en mg Equivalent en acide gallique par rapport à la matière sèche (mg Eq AG/g M.S).

#### **4. Dosage des flavonoïdes**

La formation des complexes jaunâtres, lors de l'ajout du chlorure d'aluminium, est due à la fixation des ions  $Al^{3+}$  sur les atomes d'oxygène présents sur les atomes de carbone 4 et 5 des flavonoïdes (**Ribereau-Gayon, 1968**).

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode décrite par **Djeridane et al. (2006)**. Un volume de la solution de chlorure d'aluminium à 2 % (1 ml) est additionné d'un même volume d'extrait. L'absorbance est lue à 430 nm, après un temps de contact de 15 minutes à température ambiante.

Les courbes d'étalonnages (**Annexe II**) ont été obtenues en utilisant comme étalon la quercétine. Les quantités de flavonoïdes sont exprimées en mg Equivalent en quercétine par g de matière sèche (mg Eq Q/g M.S).

#### **5. Dosage des tanins condensés (proanthocyanidines)**

Les tannins condensés ou proanthocyanidines sont des composés phénoliques hétérogènes. Ils se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères de flavan-3-ols. Une particularité des tanins condensés, qui explique leur appellation de proanthocyanidines, est qu'ils libèrent, à chaud et en présence d'acide, des anthocyanes. Il s'agit de molécules de la famille des flavonoïdes qui réagissent avec l'ion  $Fe^{+3}$  pour donner des pigments colorés (**Mamadou, 2002**).

La teneur en proanthocyanidines des extraits est déterminée en utilisant la méthode de Škerget *et al.* (2005). 0.5 ml d'extrait ont été mélangés avec 2 ml du réactif butanol-HCl [77 mg de FeSO<sub>4</sub> dissouts dans 500 ml butanol-HCl (2 :3)]. Le mélange est incubé à 95°C pendant 15 mn et l'absorbance est lue à 530 nm. Les résultats sont déterminés selon la loi de Beer-Lambert et se calcule à l'aide de l'équation suivante : 
$$\left( \frac{Abs \times PM \times 1000}{\epsilon \times l} \right) \times 1000$$

En utilisant la poids moléculaire (PM) de la cyanidine (PM = 287,24 g/mol;  $\epsilon = 34700 \text{ l. mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  l=1cm) et les concentrations sont exprimées en mg équivalent de cyanidine par g de matière sèche ( $\mu\text{g Eq C /g M.S.}$ ).

## 6. Dosages des chlorophylles et des caroténoïdes

Les chlorophylles « a » et « b » ainsi que les caroténoïdes sont des pigments colorés qui ont la capacité d'absorber la lumière dans le domaine UV-Visible et de donner plusieurs bandes d'absorbance :

- La chlorophylle « a » absorbe dans des longueurs d'ondes spécifiques l'une entre 350nm - 450 nm et l'autre entre 650nm - 690nm.
- La chlorophylle « b » présente une absorbance entre 400nm - 480nm et 620nm - 670nm.
- Les caroténoïdes ( $\beta$ -carotène) absorbent à 250nm - 350nm et à 400nm – 500nm (Nodin *et al*, 2014).

Les teneurs en chlorophylles «a» et «b» et en caroténoïdes d'*Urtica dioica* sont déterminées selon la méthode de Hartmut *et al.* (1983) ; 400 $\mu\text{g}$  d'échantillon sont mélangés avec 10 ml d'éther diéthylique, le mélange est agité pendant 30 minutes à l'abri de la lumière. L'extrait obtenu est centrifugé à 5000 g pendant 10 minutes. Enfin le surnageant est récupéré. Il fera l'objet d'une lecture à 644 nm, 662 nm et 470 nm.

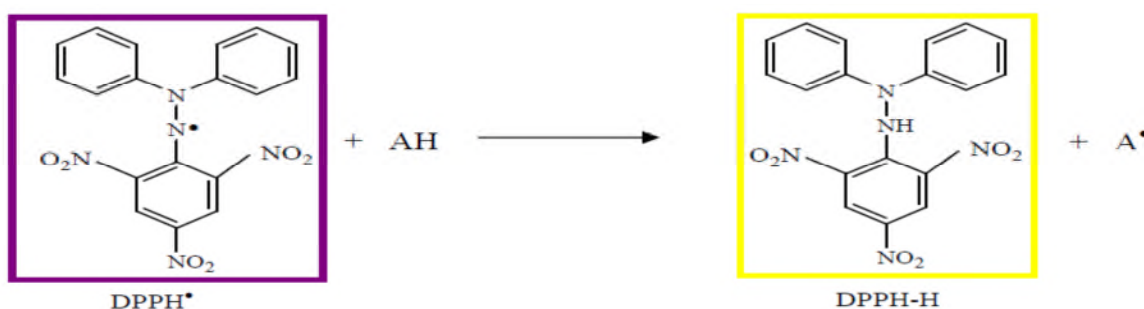
Les teneurs sont exprimées en mg/g de matière sèche et elles sont calculées selon les équations suivantes :

- Teneur en Chlorophylle « a » ; (Chlo **a**,  $\mu\text{g/ml}$ ) = (10,05.Abs<sub>662</sub> – 0,766.Abs<sub>644</sub>).
- Teneur en Chlorophylle « b » (Chlo **b**,  $\mu\text{g/ml}$ ) = (16,37.Abs<sub>644</sub> – 3,14.Abs<sub>662</sub>).
- Teneur en Caroténoïdes (g/ml) = (1000.Abs<sub>470</sub>.1.28.Chlo **a**-56,7.Chlo **b**)/230.

## 7. Mesure de l'activité antioxydante

### 7.1. Effet scavenger du radical DPPH

La méthode de DPPH $\cdot$  est basée sur la mesure spectrophotométrique de changement de la concentration du radical DPPH résultant de la réaction de DPPH $\cdot$  avec un antioxydant. Au cours de la réaction, les antioxydants (donneurs de H) réagissent avec le DPPH $\cdot$ , qui sera réduit au DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) (**Figure 6**). Par conséquent, la couleur de la solution change allant du violet au jaune pâle l'absorbance diminue, en passant de la forme radical DPPH $\cdot$  à la forme DPPH-H. Le degré de décoloration indique le potentiel de l'activité antioxydante des extraits en termes de capacité de donneur d'hydrogène (**Brand-Williams et al., 1995**)



**Figure 8** : Réduction du radical DPPH par un antioxydant. (**Endo et al., 2006**).

Un volume de 1 ml de DPPH $\cdot$  est ajoutée à 100 $\mu$ l de chaque extrait. Après 30 min d'incubation dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517 nm. L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition de radical DPPH $\cdot$ , et calculée à partir de l'équation suivante:

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(\text{Abs Témoin} - \text{Abs échantillon})}{\text{Abs Témoin}} \times 100.$$

#### Expression des résultats

Inhibition % : Pourcentage d'inhibition des radicaux libres.

Abs Témoin : Absorbance du Témoin

Abs échantillon : Absorbance de l'échantillon

### 7.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux est mesuré par la réduction directe des électrons de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$  en  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-4}$ . La formation du

complexe  $[(Fe^{3+})_4[Fe^{2+}(CN)^{-6}]_3]$  coloré en bleu, est obtenu par l'addition des ions  $Fe^{3+}$  libres après la réaction de réduction. Ce complexe est quantifié par la mesure de l'absorbance à 700 nm (**Ribeiro et al., 2008**).

Le dosage du pouvoir réducteur est effectué selon la méthode décrite par **Gülçin et al.(2002)**. 1ml d'extrait est additionné dans un tube à essai avec 2,5 ml d'un tampon phosphate à (pH 6,6 ; 0,2 M) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium  $[K_3Fe(CN)_6]$  à (1%). On met le mélange au bain marie à 50°C/20 min, puis on lui ajoute 2,5 ml d'acide trichloracétique à 10 % et on centrifuge à 3000 g pendant 10 min. 2,5 ml du surnageant sont prélevés puis additionnés à 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure ferrique ( $FeCl_3$ ) à (0,1 %), enfin on mesure l'absorbance à 700 nm.

Les courbes d'étalonnages (**Annexe III**) ont été obtenues, en utilisant comme étalon l'acide ascorbique. Les résultats sont exprimés en mg Equivalent en acide ascorbique par g de la matière sèche (mg Eq AA/g MS).

### **7.3. Effets de chélation de Fer**

Le pouvoir chélateur du fer est évalué par l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrosine après le traitement des échantillons avec les ions  $Fe^{2+}$ .

Un volume de 250  $\mu$ l d'extrait est additionné de 25  $\mu$ l de  $FeCl_2$  (2 mM) et 800  $\mu$ l d'eau distillée. Après 5 minutes de réaction, 50  $\mu$ l de ferrozine (5 mM) sont ajoutés au mélange et l'absorbance est mesurée à 562 nm après 5 min de réaction. L'activité de chélation des ions a été estimée en pourcentage et calculé selon l'équation suivante.

$$\% \text{ de chélation} = \left(1 - \frac{Abs \text{ échan} - Abs \text{ bl ech}}{Abs \text{ Tém}}\right) \times 100$$

Expression des résultats :

Abs échan : Absorbance échantillon.

Abs blech : Absorbance blanc échantillon

Abs Tém : Absorbance témoin.

### **7.4. Analyse statistique**

Les données représentent la moyenne de trois essais pour chaque extraction, on a pris trois extractions différentes pour chaque solvant. Les paramètres de la statistique descriptive

(moyennes et écartypes) ont été calculés à l'aide du programme microsoft excel 2007 et l'analyse statistique des résultats est effectuée avec l'application ANOVA (STATISTICA 5.5) et la comparaison des données est prise à la probabilité ( $P < 0,05$ ).

## 8. Matériel, solvants et réactifs utilisés

*Tableau II : Solvants et réactifs utilisés.*

<b>Solvants et Réactifs</b>	<b>Marque</b>	<b>Origine de production</b>
Ethanol	GPR RECTAPUR	Communauté Européen
Méthanol	SIGMA-ALDRICH	Allemagne
Ether diéthylique	PROLABO chemopharm	Communauté Européen
3-Methyl-1-butanol		Communauté Européen
Chlorure ferreux		Montréal, Québec
Carbonate de Sodium		Montréal, Québec
Trichlorure d'aluminium		Georgia-USA
2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH <sup>•</sup> )		Communauté Européen
acide trichloracétique (TCA)	BIOCHEM chemopharm	Montréal, Québec
ferricyanure de potassium		
Ferrosine		
Chlorure ferrique	PROLABO chemopharm	
Le réactif de Folin-Ciocalteu		
Acide chlorhydrique	SIGMA-ALDRICH	Allemagne
Sulfate de Fer	CHIM-OZA	
Tampon phosphate (Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	Fluka	Allemagne
acide ascorbique		
acide gallique		
Quercétine		

**Tableau III : Matériel utilisé.**

<b>Matériel</b>	<b>Marque</b>	<b>Origine de production</b>
Spectrophotomètre (Vis)	VIS-7220G	Royaume Unie
Spectrophotomètre ( UV-Vis)	Uvline 9400	Communauté européen
Balance	RADWAG	Pologne
Plaque d'agitation	VELP Scientifica	Italie
Centrifugeuse	NF 200	Turquie
Bain-marie	Memment	Allemagne
Vortex	VELP Scientifica	Europe
Etuve	WTE binder	Allemagne
Balance analytique	RADWAG	Pologne
Distillateur	GFL	Allemagne
pH mètre	pH 211-HANNA instruments	Romani
Micropipette 100µl	GASY 40	Finlande
Micropipette 50 µl	Soul Finnpipette Step	Finlande
Micropipette 1000 µl	GASY 40	Finlande
Réfrigérateur	Condor	Algérie

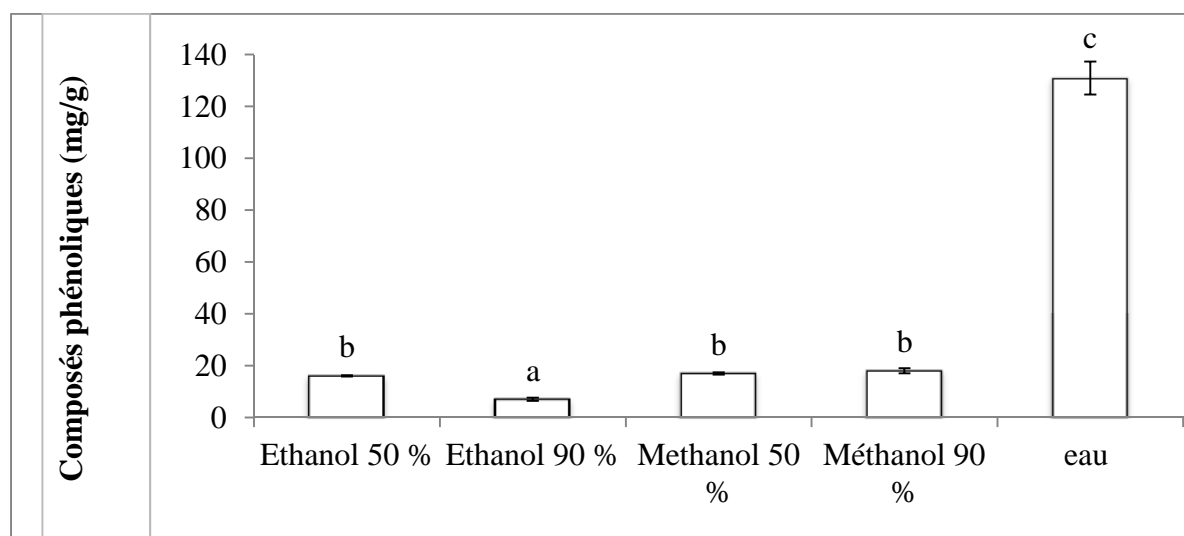


## Teneurs en composés phénoliques

L'extraction des composés phénoliques d'un tissu végétal pose plusieurs contraintes, notamment, la présence dans les cellules végétales de plusieurs types d'enzymes susceptibles de modifier les composés phénoliques, en particulier les polyphénols oxydases et les glycosidases. Le séchage de la plante permet d'éliminer les activités enzymatiques. Cependant, la température de séchage peut être un facteur destructeur des polyphénols (**Ribéreau-Gayon, 1968**). D'autres paramètres peuvent influencer significativement le taux et la nature des composés phénoliques à savoir le type de solvant, la taille des particules et le temps d'extraction (**William *et al*, 2006**).

Dans notre travail, la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été déterminée par la méthode de réactif de Folin-Ciocalteu. Mais, elle s'avère peu spécifique car beaucoup de composés réducteurs non phénoliques peuvent interférer, tels que les caroténoïdes et quelques sucres et acides aminés.

Les teneurs en composés phénoliques totaux des différents extraits sont représentées dans la **figure 7**. L'étude statistique effectuée en utilisant le test de Différence Significative Minimale (LSD) montre que les extraits des feuilles obtenus avec l'éthanol 50 %, méthanol 50 % et le méthanol 90 % ne présentent pas de différence significative ( $P < 0,05$ ). Cependant, les extraits aqueux, éthanol 90 %, le méthanol 50% et 90 % présentent des différences significatives ( $P < 0,05$ ).



**Figure 9 : Teneur en composés phénoliques des extraits des feuilles d'*Urtica dioica*.**

Les Résultats portant des lettres différentes sont significativement différents ( $a < b < c$ ). Les valeurs sont exprimées par la moyenne de trois extractions. Les barres verticales représentent les écarts types

La **figure 7** révèle que la teneur la plus élevée en composés phénoliques  $130,91 \pm 6,36$  mg Eq AG/g M.S est obtenue avec eau, cependant, la teneur la plus faible en composés phénoliques  $7,05 \pm 0,2$  mg Eq AG/g M.S est obtenue en utilisant l'éthanol 90%. L'efficacité des solvants utilisés pour l'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles d'*Urtica dioica* présente l'ordre croissant suivant : eau > méthanol 90 % = méthanol 50% = éthanol 50% > éthanol 90%.

Selon **Albu et al. (2004)**, le choix d'un solvant d'extraction dépend de plusieurs paramètres incluant sa polarité et sa nature chimique, la composition des extraits et les propriétés physiques de ces composés telles que la densité et la viscosité qui, à leur tour, peuvent influencer sur la diffusion et le taux d'extraction. La polarité représente l'ensemble des propriétés moléculaires responsables des forces d'interactions entre le solvant et le soluté. En effet, l'eau est le solvant universel utilisé pour l'extraction (**Scalbert, 1992 ; Cowan, 1999**). L'ajout d'une certaine quantité d'eau aux différents solvants organiques améliore l'efficacité d'extraction.

Les teneurs en polyphénols totaux obtenues avec les extraits (acétone-eau, éthanol-eau, méthanol-eau) sont nettement plus élevées que celles des solvants purs. Cette combinaison permet de créer un milieu modérément polaire qui assure l'extraction des polyphénols (**Lapornik et al., 2005 ; Pathirana et shahid, 2005**).

Selon l'étude menée par **Vaji et al. (2015)**, dans la région de Serbie, sur l'espèce *Urtica dioica*, où plusieurs solvants ont été utilisés : le méthanol 50 %, méthanol 75%, éthanol 50%, éthanol 96 % et l'eau, les teneurs en composés phénoliques totaux obtenus sont respectivement  $9,1 \pm 0,9$  ;  $6,9 \pm 0,9$  ;  $7,4 \pm 0,6$  ;  $0,4 \pm 0,1$  et  $7,3 \pm 1,1$  mg Eq AG/g M.S.

Ces valeurs sont largement inférieures à celles obtenues dans notre étude. Ces différences peuvent être en relation avec la période et le lieu de récolte, le climat, les conditions géographiques. La méthode et le temps d'extraction peuvent également influencer les teneurs en composés phénoliques. D'autres paramètres peuvent également influencer sur la teneur en composés phénoliques, il s'agit de la solubilité, le type du solvant utilisé et le degré de polymérisation des composés phénoliques (**Naczy et Shahidi, 2004**). Les solvants organiques polaires purs tels que le méthanol et l'éthanol ne peuvent pas extraire complètement les composés glycosylés très polaires tels que les acides benzoïques et cinnamiques. Par contre l'addition d'un pourcentage en eau entre 40-60% aux solvants organiques purs permet d'obtenir des extraits avec une teneur élevée en composés phénoliques (**Zhao et Hall, 2008**).

La faible solubilité des composés phénoliques dans les solvants à 90 % de nos extraits peut être expliquée par le fait que les acides phénoliques peuvent exister sous forme de complexes insolubles couplés aux polymères de la paroi cellulaire par le biais de liaisons ester. Ces derniers ne sont pas extractibles par solvants organiques purs polaires et sont généralement libérés par hydrolyse alcalin, hydrolyse acide ou les deux. Cette liaison est affaiblie en présence des solutions aqueuses (Sripad *et al.*, 1982).

L'utilisation de l'eau comme solvant d'extraction permet une meilleure extraction des composés phénoliques d'autant plus qu'elle peut entraîner d'autres composés non phénoliques. Le réactif de Folin-Ciocalteu est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006). l'extraction par l'eau élu des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique (Djeridane *et al.*, 2007).

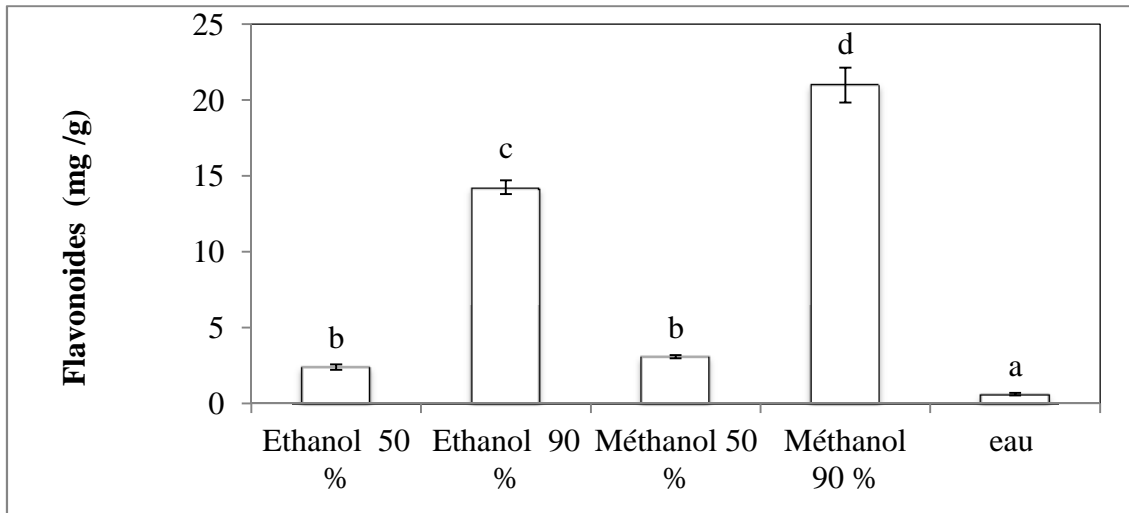
Le dosage par le réactif de Folin-Ciocalteu donne donc une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé (Tawaha *et al.*, 2007).

Plusieurs études ont montré que les différences des teneurs en composés phénoliques obtenues avec les différents extraits peuvent être dues à la complexité de ce groupe de composé, aux méthodes d'extractions et à la concentration du solvant (Siriwoharn *et al.*, 2004 ; Balasundram *et al.*, 2005).

## 2. Teneurs en Flavonoïdes

La **figure 11** représente les teneurs en flavonoïdes des extraits des feuilles d'*Urtica dioica*. L'étude statistique montre que les solvants utilisés pour l'extraction des flavonoïdes présentent des différences significatives ( $P < 0,05$ ), par contre, les extraits obtenus avec éthanol 50% et méthanol 50% ne présente pas de différence significative ( $p < 0,05$ ).

Les teneurs en flavonoïdes représentées dans la **figure 8** sont de  $20,98 \pm 1,15$  mg équivalent de quercétine /g de matière sèche (mg Eq Q/g M.S) dans l'extrait méthanol 90% suivie de celles d'extraits éthanol 90%, méthanol 50% et éthanol 50% avec  $14,25 \pm 0,45$  ;  $3,08 \pm 1,1$  et  $2,4 \pm 0,17$  mg Eq Q /g M.S respectivement et enfin celle de l'extrait aqueux avec  $0,62 \pm 0,081$  mg Eq Q/g M.S.



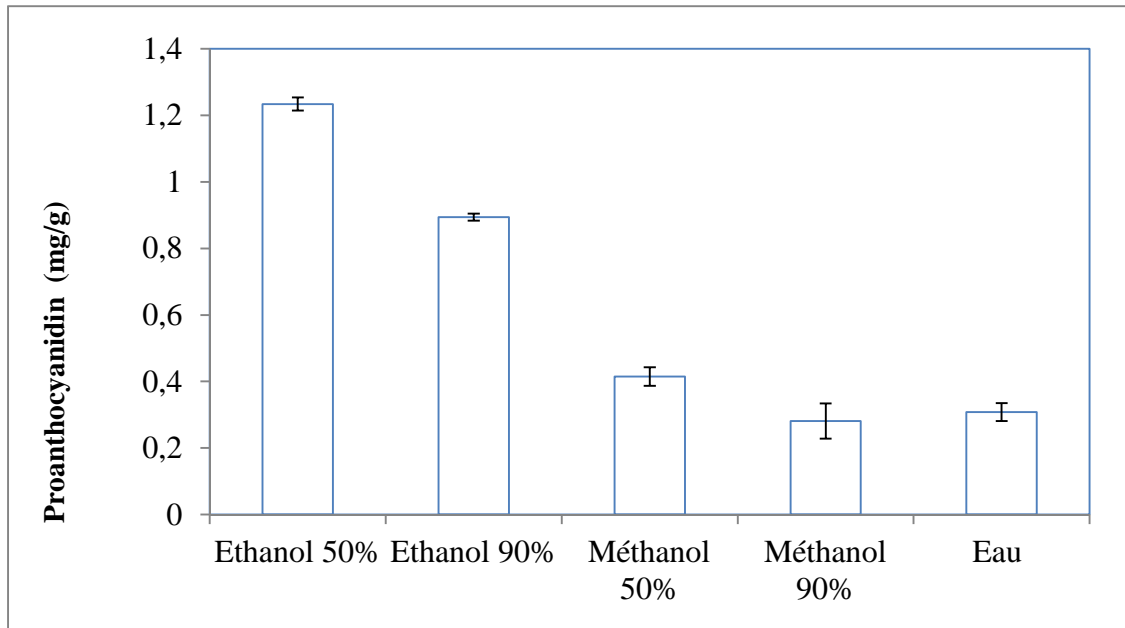
**Figure10 : Teneur en flavonoïdes des extraits des feuilles *Urtica dioica*.**

Les Résultats qui portent de différente lettres sont significativement différents ( $a < b < c$ ). Les valeurs sont exprimées par la moyenne de trois extractions. Les barres verticales représentent les écartypes

Les résultats obtenus avec l'extrait méthanolique à 90% est de  $20,98 \pm 1,15$  mg Eq Q/g M.S et l'extrait aqueux  $0,62 \pm 0,081$  mg Eq Q/g de M.S sont inférieurs à ceux obtenus par **Ebrahimzadeh et al. (2015)**, qui ont déterminé la teneur en flavonoïdes des extrais aqueux des feuilles d'*Urtica dioica* est de  $40,84 \pm 0,21$  mg Eq Q/g M.S, ainsi que les travaux de **Pourmorad et al. (2006)** qui ont utilisé comme solvant d'extraction le méthanol pur et ont montré que la teneur en flavonoïdes dans les feuilles d'*Urtica dioica* est de  $43,3 \pm 0,37$  mg Eq Q/g M.S. Cette différence peut être expliquée par le fait que la méthode d'extraction ainsi que la région et la période de la récolte sont différentes. Un second paramètre pourrait être à l'origine de la différence de la teneur en flavonoïdes, c'est leur solubilité. Selon **Bruneton (2008)**, la solubilisation des flavonoïdes dépend de leur glycosylation, les hétérosides sont solubles dans l'eau et l'alcool ou le mélange, et d'autres ont des propriétés hydrosolubles extrêmement faibles. Les flavonoïdes lipophiles tel que les aglycones sont directement extraits par des solvants apolaires (**Laurance lachat, 2011**).

### 3. Teneurs en tannins condensés (proanthocyanidines) :

Les tannins condensés (TCs) sont présents sous différentes formes : libres ou liés dans les feuilles d'*Urtica dioica* (**Schofield et al., 2001**). L'existence de ces deux formes rend le dosage des TCs plus délicat. La méthode du butanol-HCl, développée par **Porter et al. (1986)** est basée sur la réaction de dépolymérisation des TCs en milieu acide. Cette réaction conduit à la libération des anthocyanidins (molécules colorées) correspondants aux monomères clivés (**Blain-Jean, 1998**).



**Figure 11 : Teneur en proanthocyanidin des extraits des feuilles d'*Urtica dioica*.**

Les Résultats qui portent de différente lettres sont significativement différents ( $a < b < c$ ). Les valeurs sont exprimées par la moyenne de trois extractions. Les barres verticales représentent les écartypes

L'étude statistique montre que les différents solvants utilisés pour l'extraction des proanthocyanidins présentent des différences significatives ( $p < 0,05$ ) (**figure 9**). Nous remarquons que l'extrait éthanoliques à 50% enregistre la teneur la plus élevée en proanthocyanidin avec une valeur égale à 1,2  $\mu\text{g}$  équivalent de Cyanidine /g de matière sèche ( $\mu\text{g}$  Eq C/g M.S), suivi par l'extrait éthanolique 90% et l'extrait méthanolique 50% avec une valeur égale à 0,8  $\mu\text{g}$  Eq C /g M.S. En revanche, la teneur la plus faible a été obtenue avec l'extrait aqueux et le méthanol 90% avec une valeur de 0,3  $\mu\text{g}$  Eq C/g M.S.

La teneur la plus élevée en tanins condensés est observée dans l'extrait éthanolique à 50%. Elle peut être expliquée par le fait que le solvant éthanol 50% nous a permis d'extraire des tanins de poids moléculaires élevés qui sont solubles dans les solvants moyennement polaires.

Les faibles teneurs en proanthocyanidin obtenues peuvent être dues à la méthode de dosage utilisé. Cette dernière permet un dosage semi-quantitatif des TCs car les monomères terminaux libérés ne donnent pas les anthocyanidines correspondants et par conséquent, ils ne sont pas dosés (**Schofield et al., 2001**). Cependant, la méthode au butanol-HCl reste la méthode la plus utilisée (**Makkar, 2000; Hagerman, 2002; Lazarus et al., 2003**).

Selon **Bruneton et al. (2009)**, l'extraction des tanins condensés est en règle générale, réalisée par un mélange d'eau et d'acétone. Les solvants moyennement polaires tels que

l'acétone, et l'éthanol sont recommandés pour récupérer sélectivement les acides tanniques de haut poids moléculaire tel que les proanthocyanidines (Collin et crouzet, 2011).

L'inconvénient est que l'eau extrait des substances indésirables comme les protéines et les colorants non phénoliques qui provoquent des interférences lors du dosage des tanins. L'extraction des tanins condensés dépend de leur nature chimique, du solvant utilisés et des conditions opératoires (Chavan *et al.*, 2001).

## 4. Teneurs en chlorophylles et caroténoïdes

### 4. 1. Chlorophylles

La chlorophylle est le principal pigment photosynthétique. Elle est présente chez tous les organismes photosynthétiques, elle est à l'origine de leur couleur verte car elle absorbe fortement la lumière visible. Il existe différentes formes de chlorophylles, dont les seules présentes chez les végétaux supérieurs sont la chlorophylle **a** et la chlorophylle **b**. la chlorophylle **a** est le pigment majoritaire qui converti l'énergie lumineuse en énergie chimique. La chlorophylle **b** participe directement dans la photosynthèse en transférant l'énergie absorbée à la chlorophylle **a**<sup>3</sup> (Féret, 2009 ; Nayek *et al.*, 2014).

### 4. 2. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des antioxydants puissants et ont un effet scavenger des radicaux libres (Grassmann *et al.*, 2002).

**Tableau IV:** Teneur en chlorophylle **a** (chlo **a**), chlorophylle **b** (chlo **b**) et caroténoïdes des feuilles d'*Urtica dioca*.

	Chlo <b>a</b>	Chlo <b>b</b>	Caroténoïdes
Résultats de la présente étude (mg/g de matières sèches)	13,55	15,19	24,07
Résultats obtenus par Kukrića <i>et al.</i> , (2012) (mg/g de matière fraîche)	0,882±0,002	0,285±0,001	0,323±0,001

La comparaison des valeurs citées dans le *tableau IV* avec nos résultats permet de constater une grande différence. Cette différence est peut être due à la méthode d'extraction à l'aide de l'acétone utilisé par Kukrića *et al.* (2012) sur les feuilles fraîches d'*Urtica dioca*.

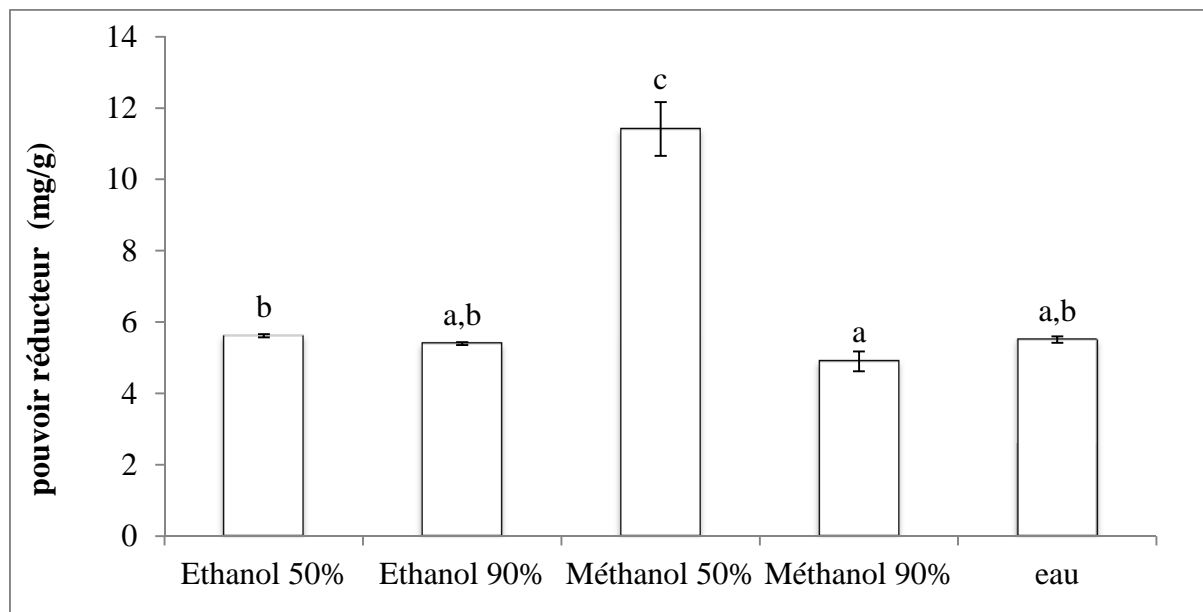
Récemment, **Nayek et al. (2014)** ont utilisé plusieurs solvants pour extraire les chlorophylles **a** et **b** ainsi que les caroténoïdes. Ils ont constaté que l'éther diéthylique a un haut pouvoir d'extraction de la chlorophylle **a** et **b** ainsi que les caroténoïdes. Ceci peut s'expliquer par le fait que la chlorophylle, dans la nature, se trouve sous forme apolaire. Néanmoins, elle est plus soluble dans les solvants moins polaires tels que l'éther diéthylique. Ceci concorde avec nos résultats.

La différence des teneurs en chlorophylles d'*Urtica dioica* peut être expliquée par les différences de concentrations du sol en métaux tels que  $Mg^{2+}$  et  $Cu^{2+}$ . En effet le magnésium participe aux propriétés optiques de la molécule de la chlorophylle (**Féret, 2009**). Les différences des teneurs en caroténoïdes peuvent être en relation avec le climat et la période de récolte (**Raju et al., 2007**).

## 5. Activité antioxydante des extraits des feuilles d'*Urtica dioica*

### 5.1. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est la capacité d'une substance à transférer un électron ou à libérer un atome d'hydrogène (**Sousa et al., 2008**). Il a été utilisé comme un test important pour mesurer l'activité antioxydante des plantes médicinales et des fruits et légumes.



**Figure 12 : Pouvoir réducteur des différents extraits d'*Urtica dioica* L.**

Les Résultats qui portent de différente lettres sont significativement différents ( $a < b < c$ ). Les valeurs sont exprimées par la moyenne de trois extractions. Les barres verticales représentent les écarts types

Les résultats ainsi obtenus montrent clairement que l'extrait méthanol 50% présente l'activité la plus élevée, soit une valeur de 11,41mg équivalent en acide ascorbique par

gramme de matière sèche (Eq AA/g M.S), alors que l'activité la plus faible à été obtenue avec le méthanol 90% soit de 4,89 mg Eq AA/g M.S. L'éthanol 50% et 90%, le méthanol 90% ainsi que l'extrait aqueux ont présenté des activités très proches qui varient entre 4,89 et 5,61mg Eq AA/g M.S. L'étude statistique montre que les solvants utilisés pour estimer le pouvoir réducteur présentent des différences significatives ( $p < 0,05$ ), leurs efficacités présentent l'ordre décroissant suivant : Méthanol 50% > Ethanol 50% > eau = Ethanol 90% > Méthanol 90%. La différence dans l'activité antioxydante des extraits des feuilles d'*Urtica dioica* L. en utilisant différents solvants peut être expliquée par le fait que les polarités des composés bioactifs dans chaque extrait peuvent être différentes, et le type de solvants peuvent influencer sur leur solubilité et leur pouvoir réducteur (**Turkman et al., 2006 ; Jayaprakasha et Patil, 2007**). Selon **Gülçin et al. (2004)** et **Kataki et al. (2012)**, *Urtica dioica* L. est très riche en composés bioactifs qui manifestent un pouvoir réducteur important, ce qui concorde avec nos résultats.

## 5.2. Activité antiradicalaire

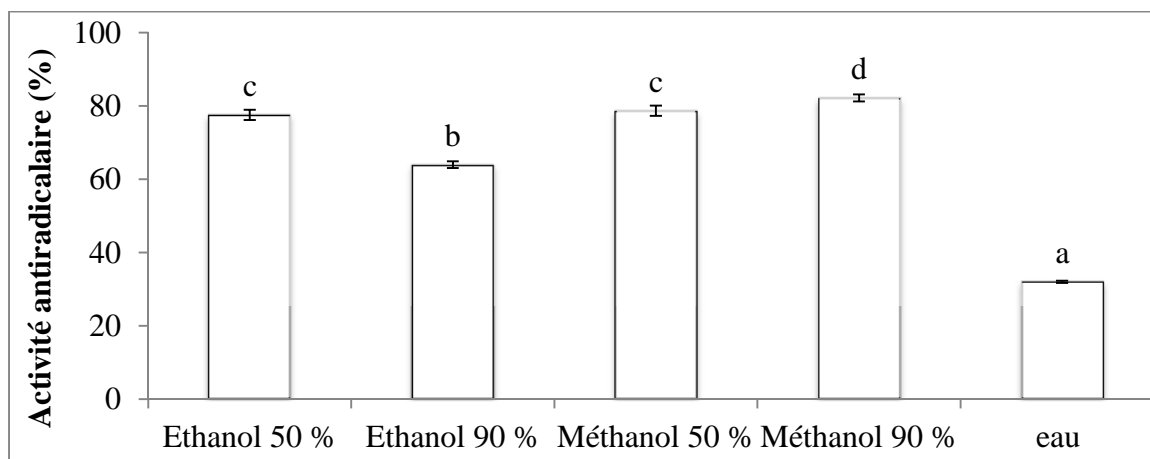
La technique du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est l'une des méthodes la plus couramment employée. Elle est rapide, facile à mettre en œuvre et s'effectue à température ambiante, ce qui permet l'élimination de tous risques de dégradation thermique des molécules testées (**Katalinic et al., 2006**). Une diminution de l'absorbance pour un mélange est due à la décoloration des réactifs impliqués dans la réaction en indiquant une activité élevée de l'effet scavenger du radical DPPH par les antioxydants mis en réaction. L'efficacité d'un antioxydant peut être définie comme sa capacité à fixer des radicaux libres, donc à arrêter la propagation de la réaction en chaîne et prévenir le stress oxydatif (**Molyneux, 2004**).

Dans la présente étude, il apparaît que les extraits d'*Urtica dioica* L. possèdent des capacités importantes à céder des atomes d'hydrogène pour agir comme antioxydants puissants et les résultats de l'activité antiradicalaire des extraits analysés sont illustrés dans la **figure 11**.

L'analyse statistique montre que les solvants utilisés présentent des différences significatives ( $p < 0,05$ ). Ainsi, les extraits au méthanol 90% présentent l'activité antiradicalaire la plus élevée 82,2%, alors que l'activité antiradicalaire la plus faible 31,99% est obtenue avec l'extrait aqueux. Des résultats meilleurs (98,35%) sont présentés par **Kataki et al. (2012)** cette différence est peut être due à la différence de protocole de dosage suivie ainsi qu'à la méthode d'extraction utilisée (Soxhlet) et la polarité du solvant utilisé (méthanol



100%). En effet, la réactivité des composés phénoliques contre le DPPH dans le méthanol est plus efficace que leur réactivité dans d'autres solvants non alcooliques (Tsimogiannis et Oreopoulou, 2004). Les activités antiradicalaires des extraits obtenus avec l'éthanol 50% et le méthanol 50% sont d'environ 78% et ne présentent pas des différences significatives. L'efficacité des extraits présente l'ordre décroissant suivant : Méthanol 90% > Méthanol 50% = Ethanol 50% > Ethanol 90% > Eau.



**Figure 13:** % Activité antiradicalaire des extraits d'*Urtica dioica*.L

Les Résultats qui portent de différente lettres sont significativement différents ( $a < b < c$ ). Les valeurs sont exprimées par la moyenne de trois extractions. Les barres verticales représentent les écarts types

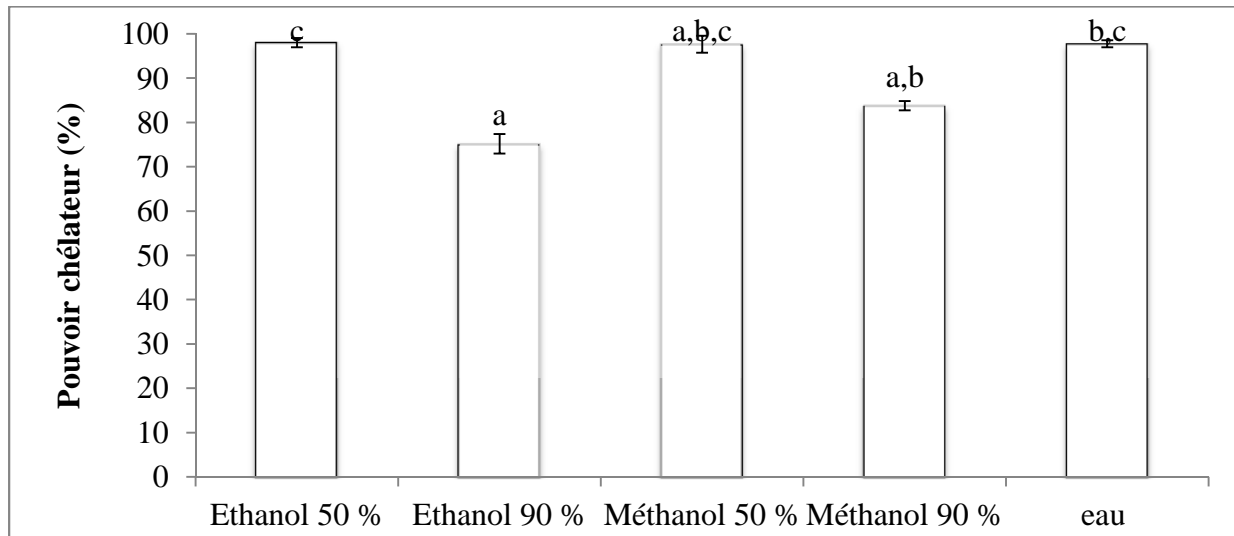
La faible activité antiradicalaire de l'extrait aqueux peut être expliquée par le fait que ce solvant ne soit pas adéquat pour l'extraction des composés qui ont une bonne activité antiradicalaire d'*Urtica dioica* L, ceci confirme que la polarité du solvant affecte sa capacité à dissoudre un groupe de composés antioxydants et influence ainsi l'estimation de l'activité antioxydante. Les résultats de la présente étude sont similaires à ceux obtenus par Monfared *et al.* (2011) et Kukrića *et al.* (2012).

### 5.3. Le pouvoir chélateur

Les métaux de transition comme le fer sont des catalyseurs importants pour la génération des radicaux et peuvent ainsi stimuler la peroxydation lipidique, donc tous les ions des métaux de transition ayant deux ou plusieurs états de valence sont de puissants pro-oxydants (Pitchaon, 2011).

La capacité chélatrice des extraits d'*Urtica dioica* est mesurée en suivant l'inhibition de la formation d'un complexe entre l'ion ferreux ( $Fe^{2+}$ ) libéré après ionisation du  $FeCl_2$  et la Ferrozine, cette inhibition dépend de la concentration et du type de composés antioxydants

présents dans chaque extrait (Bourgou *et al.*, 2008). Les résultats et illustrés dans la **figure 12**.



**Figure 14:** Pouvoir de chélation du  $Fe^{2+}$  des différents extraits d'*Urtica dioica* L

Les Résultats qui portent de différentes lettres sont significativement différents ( $a < b < c$ ). Les valeurs sont exprimées par la moyenne de trois extractions. Les barres verticales représentent les écarts types

Les résultats montrent que les extraits d'*Urtica dioica*.L présentent une grande activité chélatrice des ions de fer. Les extraits d'éthanol 50%, méthanol 50% et eau considérés comme plus polaires présentent une grande capacité chélatrice avec des pourcentages de 98,03%, 97,66% et 97,75% respectivement, suivi par les deux derniers extraits méthanol 90% et éthanol 90% moins polaires et l'activité la plus faible revient à l'éthanol 90% avec un pourcentage de 75,17%. L'étude statistique montre une différence significative entre les extraits éthanoliqes 50% et 90% ( $p < 0,05$ ), tandis que les autres présentent des pourcentages de chélation très proches et l'ordre d'efficacité des extraits est le suivant : Ethanol 50% > eau > Méthanol 50% > Méthanol 90% > Ethanol 90%.

Selon **Schinella *et al.* (2010)**, la capacité des antioxydants à chélater des ions de métaux de transition est fortement dépendante du nombre de composés antioxydants mis en réaction, et que la capacité à chélater ces métaux réduit leurs concentration, entraînant la réduction de la peroxydation lipidique. Ce qui implique que la plante est très riche en antioxydants polaires. Le pouvoir chélateur que possèdent nos extraits est important, il permet d'inhiber la peroxydation. Nous pouvons conclure que les résultats obtenues sont similaires à ceux de **Gülçin *et al.* (2004)**.

**Tableau V** : les corrélations entre les activités antioxydantes et les antioxydants dosés.

	EXTRAIT	CP	FLV	DPPH	P_CHELA	P_RED	TCs
EXTRAIT	1.00						
CP	0.73*	1.00					
FLV	0.06	0.49*	1.00				
DPPH	0.56*	0.91***	0.43	1.00			
P-CHELA	0.09	0.45*	0.61*	0.25	1.00		
P-RED	0.04	0.19	0.40	0.27	0.05	1.00	
TCs	0.21	0.29	0.16	0.48*	0.15	0.64**	1.00

\* : Une corrélation significative. ( $P < 0.05$ ) \*\* : Une corrélation moyennement significative. ( $p < 0.01$ ) \*\*\* : Une corrélation hautement significative. ( $p < 0.001$ )

L'analyse statistique nous a révélé l'existence d'une corrélation significative positive entre l'activité antiradicalaire et les tannins condensés ( $r=0.48$ ), et entre les composés phénoliques et les flavonoïdes ( $r=0.49$ ). Une bonne corrélation significative positive est obtenue entre le pouvoir réducteur et les teneurs en tannins condensés ( $r= 0.64$ ), entre la teneur en flavonoïdes et le pouvoir chélateur ( $r=0.61$ ), des extraits des feuilles d'*Urtica dioica*. En outre une très bonne corrélation a été constatée entre l'activité antiradicalaire et les composés phénoliques ( $r = 0.91$ ) Les résultats de cette étude montrent que les composés phénoliques contribuent à l'activité antioxydante des feuilles d'*Urtica dioica*. Selon **Popovici et al. (2009)**, les groupements fonctionnels présents dans les composés phénoliques en général peuvent céder facilement un électron ou un proton pour neutraliser les radicaux libres.

## Conclusion

Le présent travail est axé sur le dosage des composés phénoliques, flavonoïdes ainsi que les tannins en vue d'évaluer les potentiels actifs (activité antioxydante) dans différents extraits obtenus à partir des feuilles d'*Urtica dioica* récoltées à Tazmalt.

Cette étude a également permis de montrer l'effet du solvant d'extraction (le type et la concentration) sur la teneur des composés dosés ainsi que l'activité antioxydante des feuilles d'*Urtica dioica*.

L'analyse de la variance (ANOVA) et le test post-hoc (LSD) ont montré que l'extrait aqueux est le plus efficace pour l'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles d'*Urtica dioica*. Le méthanol à 90% permet d'extraire un taux plus important en flavonoïdes. L'éthanol 50% permet d'obtenir une teneur élevée en Tannins condensés.

Les propriétés antioxydants des extraits obtenus à partir des feuilles d'*Urtica dioica* à différentes concentrations ont été déterminées par trois techniques (activité anti-radicalaire, pouvoir chélateur et le pouvoir réducteur).

L'extrait méthanolique à 50% est doté d'un pouvoir réducteur fort. Le pouvoir chélateur s'est révélé proche pour les différents extraits des feuilles d'*Urtica dioica* obtenus à l'aide des solvants utilisés. Les résultats de piégeage du DPPH indiquent que l'extrait méthanolique à 90% des feuilles d'*Urtica dioica* possède une forte activité inhibitrice.

L'étude réalisée sur les corrélations entre les teneurs en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes, et en tanins condensés, et les différents tests de l'activité antioxydante testés, nous a permis d'aboutir à ces résultats suivants :

- L'existence d'une très bonne corrélation entre l'activité antiradicalaire et les composés phénoliques des extraits des feuilles *Urtica dioica*, témoignant ainsi que les teneurs en composés phénoliques modules l'activité antioxydante.

Les résultats de notre étude confirment l'intérêt de la consommation autant qu'un légume, qui constitue une excellente source d'antioxydants qui piègent les radicaux libres, afin de lutter contre le stress oxydatif.

Les résultats obtenus restent incomplets. Il est souhaitable

- ✚ D'élargir la gamme des solvants utilisés pour l'extraction des composés bioactifs d'*Urtica dioica* ainsi que leur concentration.

- ✚ D'isoler et de caractériser les composés bioactifs d'*Urtica dioica* par des méthodes spécifiques telles que l'HPLC et GC/MS.
- ✚ D'orienter la recherche scientifique sur d'autres espèces d'*Urtica* afin d'évaluer leur potentiel antioxydant.
- ✚ D'élargir l'échantillonnage sur tout le territoire national et d'augmenter le nombre d'échantillons de la plante étudié afin de montrer l'effet de l'origine géographique.
- ✚ De valoriser l'utilisation d'*Urtica dioica* dans l'industrie agro-alimentaire et pharmaceutique.

## A

Ait Haj Said A., Sbal El Otmani I., Derfouf S., and Benmoussa A. (2015). Highlights on nutritional and therapeutic value of stinging nettle. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 7: 0975-1491.

Akshatha S., Anbarasu K., and Vijayalashim G. (2015). Resveratrol content and antioxidant properties of underutilized fruits. *Food Science Technology* 52:383-390.

Albu S., Joyce E., Paniwnyk L., Lorimer J.P., and Mason T.J. (2004). Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry* 11:261-265.

Allais D. (2009). La partenelle (grande camomille). *Actualités pharmaceutiques* 47 : 58-59.

Apak R., Güçlü K., Demirata B., Özyürek M., Esin Çelik S., Bekta B., Berker K., and Özyurt D (2007). Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules*, 12: 1496-1547.

## B

Balasundram N., Sundram K., and Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agro-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99: 191-203.

Bassett L. J., Crompton C. W., and Woodland D. W. (1976). The biology of Canadian weeds. 21. *Urtica dioica* L. *Canadian Journal Plant Science* 57: 491-498.

Beloued A. (2012). Plantes médicinales d'Algérie. 6<sup>ème</sup> Ed. Office des publications Universitaires pp152.

Belščak-Cvitanović A., Komes D., Durgo K., Vojvodić A., and Bušić A. (2015). Nettle (*Urtica dioica* L.) extracts as functional ingredients for production of chocolates with improved bioactive composition and sensory properties. *Journal Food Science Technology* 52:7723-7734.

Benayahoum A., Guebailia H.A., and Houache O. (2013). A DFT method for the study of the antioxidant action mechanism of resveratrol derivatives, *Springer-Verlag Berlin Heidelberg* 19:2285-2298.

Blain J.C (1998). Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins. *Revue de Médecine Vétérinaire* 149: 911-920.

Bourgou S., Ksouri R., Bellila A., Skandrani I., Fellah. H and Marzouk B. (2008). Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella stiva* L. shoots and roots. *Carnet de Recherche Biologies* 331:48-55.

Brand-Williams., Cuvelier M.E., and Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology* 28: 25–30.

Bruneton Jean. (2008). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales .*Tec et Doc*. pp 199-339.

Bruneton Jean.(2009).pharmacognosie, phytochimie plante médicinale.4<sup>ème</sup> édition tec et doc.pp 441.

Bucar F., Britzmann B., Streit B., and Weigend M. (2006).LC-PDA-MS-profiles of phenolic compounds in extracts aerial parts of *Urtica* species.*Planta Medica* 72:1028.

Budzianowski J. (1991).Caffeic acid ester from *Urtica dioica* and *U. urens*. *Planta Medica* 57:507.

### C

Cetinus E., Kilinc M., Inanc F., Kurutas. E.B., and Buzkan N. (2005).The role of *Urtica dioica* (Urticaceae) in the prevention of oxidative stress caused by tourniquet application in rats, *Tohoku Journal Experimental Medecine* 205: 215-221.

Charles Denys J. (2013). antioxidant proprieties of spices herbs and other sources. Library of Congress Control Number 201246741. pp 3-39.

Chan K.W., and Ismail M. (2009). Supercritical carbon dioxide fluid extraction of *Hibiscus cannabinus* L. seed oil: A potential solvent-free and high antioxidative. Edible oil.Food and chemistry 114:970-975.

Chavan, U.D., Shahidi, F. and Naczki, M. ( 2001). Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathrus maritimus* L.) as affected by different solvents. *Journal Food and Chemistry* 75: 509-512.

Collin, S., and Crouzet, J. (2011). Polyphénols et procédés : Transformation des polyphenols au travers des procédés appliqués à l'agro- alimentation. Ed.Tec&Doc Lavoisier. pp 337.

Cook N., and Samman S. (1996). Flavonoids-chemistry, metabolism,cardioprotective effects, and dietary source. *Journal of Nutrition and Biochemistry* 7: 66-76.

Cowan M.M . (1999).Plant products as antimicrobial agents .*Clinical Microbiology Review* 12:564-582.

### D

Dizaye K.F., Alberzingi B.O and Sulaiman S.R. (2013). Renal and vascular studies of aqueous extract of *Urtica dioica* in rats and rabbits, *Iraqi Journal of Veterinary Science* 27: 25-31.

Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., and Vidal N. (2006).Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 97: 654–660.

Draghi F. (2005). L'ortie dioïque (*Urtica dioica* L.) : Etude bibliographique. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Henri Poincaré Nancy. pp 1- 89.

Dorman H.J.D., Peltoketo A., Hiltunen R., and Tikkanen M.J. (2003). Characterisation of the antioxidant properties of deodorized aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry* 83: 255–262.

Drioli E and Giorno L. (2015). Phenolics Compounds. , *Encyclopedia of Membranes*.

#### E

Ebrahimzadeh M.A., Gharekhani M., Ghorbani M., and Dargany P. (2015). Effect of Extract of Aerial Parts of *Urtica dioica* (Urticaceae) on the Stability of Soybean Oil, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research Journal* 14: 125-131.

Ellnain-Wojtaszek M., Bylka W., and Kowalewski Z. (1986) .Flavanoid compounds in *Urtica dioica* L. *Herbal Pol* 32:131–7.

Endo T., Fukunaga T., Yoshimura T., and Esumi K. (2006) . Scavenging DPPH radicals catalysed by binary noble metal-denderimer nanocomposites. *Journal colloid interf. Science* 302:516-21.

#### F

Férat M., et Baptiste Jean. (2009). Apport de la modélisation pour l'estimation de la teneur en pigments foliaires par télédétection. Thèse de doctorat Physique en Télédétection École doctorale des Sciences de l'Environnement.l'université de Marie Curie. Ile de France. pp 11-25.

Filière des plantes médicinale biologiques du Québec *L'ortie dioïque*.(2010). Guide de production sous régie biologique. Québec pp 6.

#### G

Ghedira K. (2005). Les flavonoides : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* 4:162 -169.

Ghedira K., Goetz P., et Lejeune R. (2009). *Urtica dioica* L., *Urtica urens* et/ou hybrides (Urticaceae), *Phytothérapie* 7 :279-285.

Gomez-Caravaca A.M., Gomez-Romero M., Arraez-Roman D., Segura-Carretero A. and Fernandez-Gutierrez A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compound in products derived from bees. *Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41:1220-1234.

Grassmann J., Hippeli S., and Elstner E.F. (2002) . Plant's defence and its benefits for animals and medicine: role of phenolics and terpenoids in avoiding oxygen stress *Plant Physiology and Biochemistry* 40:471–478.

Gülçin I., Ö.I.Küfrevioğlu., and Aslan A. (2002) .determination of antioxydant activity of lichens *Cetria islandica* L. Ach. *Journal of Ethnopharmacology* 79:325-329.



Gülçin I., Ö.I.Küfrevioğlu., M.Oktay., and M.E.Büyükokuroğlu. (2004) . Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacology* 90: 205-215.

Gutowska I., Jakubczyk K., Dec K., Baranowska-Bosiacka I., Drozd A., Janda K., Wolska J., Łukomska A., Dębia K., and Chlubek D. (2014) . Effet of the extract from nettle (*Urtica dioica*) fruit cluster on the synthesis of proinflammatory agent in hepatocyte treated with fluoride. *Research report Fluoride* 47:109–118.

## H

Hailemeskel B., and Fullas F. (2015) . The Use of *Urtica dioica* (Stinging Nettle) as a Blood Sugar Lowering Herb: A Case Report and a Review of the Literature, *Diabetes Researche Open Journal* 1: 123-127.

Harman D. (1956) . Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal Gerontology* 11:298-300.

Hagerman, A.E. (2002). Tannin Chemistry ([www.users.muohio.edu/hagermae](http://www.users.muohio.edu/hagermae)).

Hartmut K., Lichtenthaler A., and R Wellburn. (1983) . Determinations of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. *Biochemical society transactions* 603:591-592.

Humphries D.J., and Reynolds C.K. (2014). The effect of adding stinging nettle (*Urtica dioica*) haylage to a total mixed ration on performance and rumen function of lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 189:72-81.

## J

Jayaprakasha G.K., and Patil B.S. (2007). In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orang. *Food Chemistry* 101: 410-418.

## K

Kataki M.S., Murugamani V., Rajkumari A., Mehra P.S., Awasthi D., and Yadav R.S. (2012). Antioxidant, Hepatoprotective, and Anthelmintic Activities of Methanol Extract of *Urtica dioica* L. Leaves, *Pharmaceutical Crops* 3: 38-46.

Katalinic V., Milos M., Kulisic T., and Jukic M. (2006) . Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*.94: 550-557.

Kelly E.H., Anthony R.T., and Dennis J.B. (2002) . Flavonoid antioxidants: chemistry metabolism and structure-activity Relationships, *Journal of Nutritional Biochemistry* 13: 572–584.

Krishna D., Chaluvadi M., Raj N. and Sripal R. (2001) . Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal Pharmacology* 33: 2-16.

Kudritsata SE, Filman GM, Zagorodskaya LM, and Chikovanii DM. (1986). Carotenoids of *Urtica dioica*. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii* 5:640-1.

Kukrića Z.Z., Topalić-Trivunovića L.N., Kukavica B.M., Matoša S.B., Pavičića S.S., Borjaj M.M., and Savića A.V.(2012). Characterisation of antioxidant and antimicrobial activity of nettle leaves (*Urtica dioica* L.), *APTEFF* 43: 1-342.

## L

Lapornique B., Prošek M., and Wondra A.G. (2005) . Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of food engineering* 71:214-222.

Laurance L. (2011) . Caractérisation des composés phénoliques présents dans deux espèces du genre *Alchemilla*. Thèse de doctorat en chimie analytique. Université de Louis Pasteur. pp04

Lazarus S.A., Kelm M.A., Wachter G.A., Hammerstone J.F. and Schmitz H.H. (2003) . Analysis and purification of proanthocyanidin oligomers. In: *Methods in polyphenol analysis*, Santos-Buelga et Williamson (Eds.) pp. 267-283.

Loetscher Y., M. Kreuzer., and R.E. Messikommer. (2013) . Utility of nettle (*Urtica dioica*) in layer diets as a natural yellow colorant for egg yolk. *Animal Feed Science and Technology* 186: 158-168.

## M

Machenix J., Jack-Fleurit A., and Jay-allemmand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. presses polytechnique et universitaire romands pp 11.

Makkar H.P.S. (2000). Quantification of tannins in tree foliage: Working document. In: FAO/IAEA, Vienna.

Mamadou Biay. (2002) .actions pharmacologiques des tannins. Thèse de doctorat en pharmacie. université de Cheikh anta diop de dakar pp 3-10

Molyneux P., (2004) . The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarinn Journal of Science.Technologie* 26: 211-219.

Monfared M., Kamkar A., Khaligh S.G., Javan A.J., Asadi F., and Basti A.A. (2011). Antioxidative effects of Iranian *Urtica dioica* L. extracts on the oxidation of sunflower oil. *Journal of Medicinal Plants Research* 5: 4438-4445.

Monpon B., Lemaire B., Mengal P., and Surbled M. (1996) . Extraction des polyphénols: du laboratoire à la production industrielle, In « polyphénols 96 ». Edition : Inra.Bordeaux (France).

Muanda F.N . (2010) .Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leur propriété biologique. Thèse de Doctorat en Chimie organique. Université Paul Verlaine-Metz pp 71-73.

#### N

Naczy M., and Shahidi F. (2004) . Extraction and analysis of phenolic in food. *Journal Chromatography* 95-111.

Naczka M., and Shahidi F. (2006) . Phenolic in cereals, fruits and vegetables : occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceuticals and biomedical analysis* 41: 1523-1542.

Nayek S., Haque C.I., Jaishee N., and Suprakash R. (2014) . Spectrophotometric Analysis of Chlorophylls and Carotenoids from Commonly Grown Fern Species by Using Various Extracting Solvents. *Research Journal of Chemical Sciences* 4:63-69.

Ngugi C.C., Oyoo-Okoth E., Mugo-Bundi J., Orina P.S., Chemoiwa E.J., and Aloo P.A. (2015) . Effects of dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*) on the growth performance, biochemical, hematological and immunological parameters in juvenile and adult Victoria Labeo (*Labeo victorinus*) challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology* 44: 533–541.

Nodin L., Meallet-Renault R., et Piard J. (2014) .Séparation et étude des pigments des épinards par spectrofluorimétrie, Union des professeurs de physique et de chimie,108 : 293-309.

#### O

Orčić D., Francišković M., Bekvalac K., Svirčev E., Beara I., Lesjak M., and Mimica-Dukić N. (2014) . Quantitative determination of plant phenolics in *Urtica dioica* extracts by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection. *Food Chemistry* 143: 48–53.

#### P

Park S., Yang S., Ahn D., Heon Y.J and Kim D.K . (2011) . Antioxidative Phenolic Compounds from the Whole Plant of *Juncus diastrophanthus*. *Journal Korean Society for Applied Biological Chemistry* 54: 685-692.

Pathirana –Liyana C and Shahidi. (2005) . Optimisation of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodolog. *Food chemistry* 93:47-56.

Pinelli P., Ieri F., Bignolini P., Bacci L., Baronti S., and Romani A. (2008) .Extraction and HPLC analysis of phenolic compounds in Leaves, stalks, and textile fibers of *Urtica dioica* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56:9127-32.

Pitchaon M. (2011) .Antioxidant capacity of extracts and fractions from mango (*Mangifera indica* Linn.) seed kernels.*International Food Research Journal* 18:520-525.

Pizzi, A. (1993) . Wood Adhesives Chemistry and Technology. Marcel Dekker, New York. 5: 149-165.

Porter L.J., Hrstich L.N. and Chan B.G. (1986). The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidins and delphinidin. *Phytochemistry* 1: 223-230.

Popovici C., Saykova I., et Tylkowski B. (2009) . Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel* 4 : 25-39

Pourmorad F., Hosseinimehr S. J., and Shahabimajd N. (2006) . Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 5 (11): 1142-1145.

### R

Rafajlovska V., Rizova V., Djarmati Z., Tesevic V., and Cvetkov L. (2001) .Contents of fatty acids in stinging nettle extracts (*Urtica dioica* L.) obtained with supercritical carbon dioxide. *International Journal of Green Pharmacy* 51:45-51.

Ribeiro S.M.R., Barbosa L.C.A., Queiroz J.H., Knodler M., and Schieber A. (2008) . Phenolics compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango varieties (*Mangifera indica* L.). *Food Chemistry* 110: 620–626.

Raju M., Varakumar S., Lakshminarayana R., Krishnakantha T.P., and Baskaran V. (2007) . Carotenoid composition and vitamin A activity of medicinally important green leafy vegetables. *Food Chemistry* 101: 1598–1605.

Ribereau-Gayon P. (1968) . Les composés phénoliques des végétaux. Paris: Dunod.

Richter G. (1993) . Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie. Lausanne. Ed. Tec et Doc. pp 87.

### S

Samarth R.M., Panwar M., Kumar M., Soni A., Kumar M., and Kumar A. (2008) . Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extracts. *Food Chemistry* 106:868–873.

Sandrina A. Heleno., Anabela Martins., Maria João R.P. Queiroz., and Isabel C.F.R. Ferreira. (2015) . Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds:A review. *Food Chemistry* 173: 501–513.

Şandru C.D., Niculae M., Popescu S., Paştiu A.I., Páll E., and Spînu M. (2016) . *Urtica dioica* alcoholic extract increases the cell-mediated innate immune potential in chickens. *Industrial Crops and Products*. 88:44-50

Scalbert A. (2004) . Fruits et légumes, polyphénols et santé. *American Journal of Clinical Nutrition* 2058s.

Scalzo R. Lo. (2008) . Organic acids influence on DPPH scavenging by ascorbic acid. *Food Chemistry* 107: 40-43.

Schinella G., Mosca S., Cienfuegos-Jovellanos E., Pasamar A.M., Muguerza B., Ramon D., and Rios J. (2010) . Antioxydant properties of polyphénol-rich cocoa production industrially processed. *Food Research International* 43: 1614-1623.

Schofield, P., Mbugua, D.M. and Pell, A.N. (2001) . Analysis of condensed tannins: a review of *Animal Feed Science and Technology* 91 :21-40.

Schomakers J., Bollbach FD ., and Hagels H. (1995) . Brennesselkraut –Phytochemische und anatomische Unterscheidung der Herba-Drogen von *Urtica dioica* und *U. urens*. In: DAZ 135:578-584.

Siriwoharn T., Wrolstad R.E., Finn C.E., and Pereira C.B. (2004) .Influence of cultivar,Maturity, and sampling on blackberry( *Rubus* L. Hybrids) Antocyanins, polyphenolics,and Antioxydant properties. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 52:8021-8030

Škerget M., Kotnik P., Hadolin M., Rižner Hraš A., Simonič M., and Knez Z . (2005) . Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities, *Food Chemistry* 89:191-198.

Sousa A., Ferreira I.C.F.R., Barros L., Bento A., and Pereira J.A. (2008) .Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives “alcaparras”, *LWT*, 41: 739-745.

Sripad G., Prakash V., and Rao M.S.N. (1982) . Extrability of polyphénols of sunflower seed in various solvents .*Journal of Biological science* 4 :145-152.

Šrůtek M. (1995) . The factors affecting growth and development of populations of *Urtica dioica* L. in river flooplain, ed České Budějovice pp19-28.

## T

Talbi H., Boumaza A., El-mostafa K., Talbi J., and Hilali A. (2015) .Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L. *Mater. Environ. Sci* 6:1111-1117.

Tawaha K., Alali F.Q., Gharaibeh M., Mohammad M. and El-Elimat T. (2007) . Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry* 104: 1372-1378.

Tsao R., and Z. Deng. (2004) . Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography B* 812:85–99.

Turkman N., Sari F., and Sedat-Velioglu Y. (2006) . Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphénols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods, *Food Chemistry* 99: 835-841.

Tsimogiannis D.I., and Oreopoulou V. (2004) . Free radical scavenging and antioxidant activity of 5,7,3',4'-hydroxy-substituted flavonoids. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 5:523 -528.

#### U

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

#### V

Vajić U-J., Milanović J.G., Živković J., Šavikin K., evacc D.G., Miloradović Z., Bugarski B., et Mihailović-Stanojević N. (2015) .Optimization of extraction of stinging nettle leaf phenolic compounds using response surface methodology. *Industrial Crops and Products* 74: 912-917.

Verneris W., and Ralph N. (2007) . Phenolic compound biochemistry. ed springer pp 23-29.

Vogl C.R., and Hartl A. (2003) . Production and processing of organically grown fiber nettle (*Urtica dioica* L.) and its potential use in the natural textile industry: A review, *American Journal of Alternative Agriculture*. 18:119-228.

#### W

Wang T., Jonsdottir R., and Olafsdottir G. (2009) . Total phenolique compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food Chemistry* 116: 240-248.

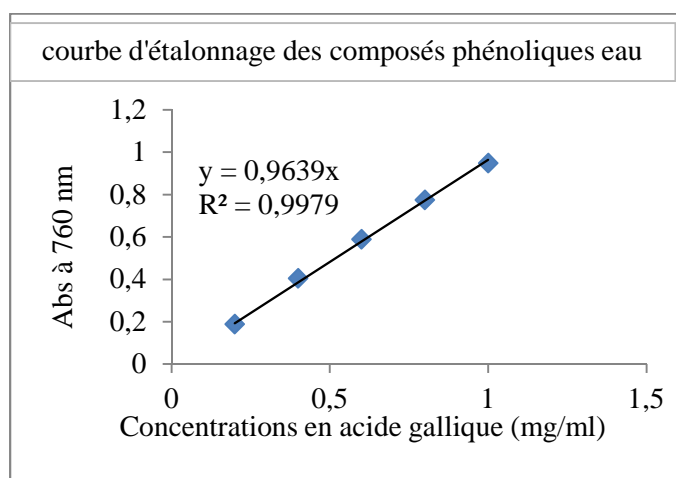
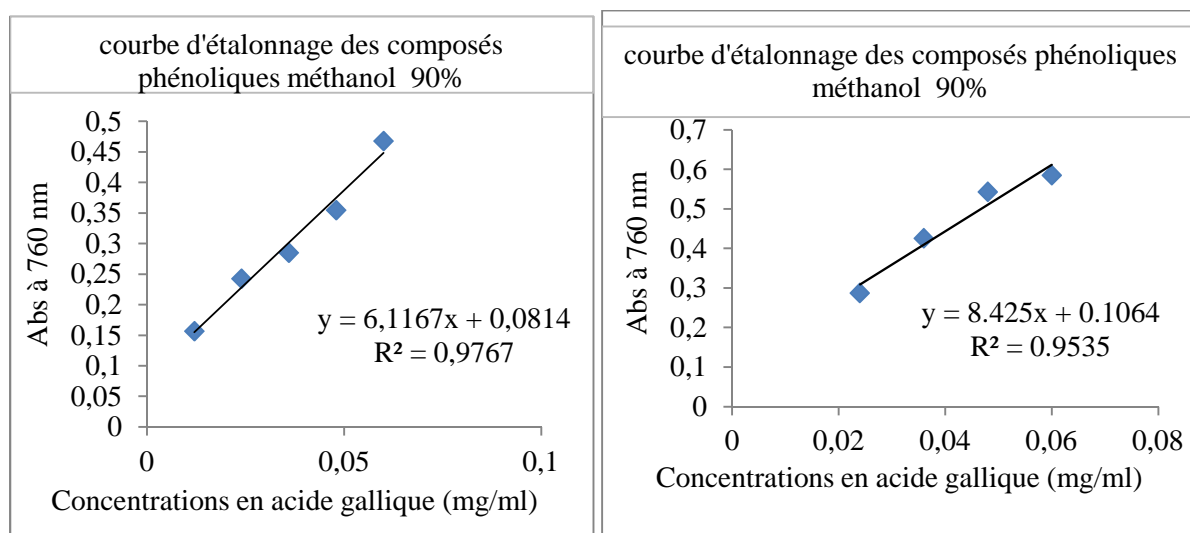
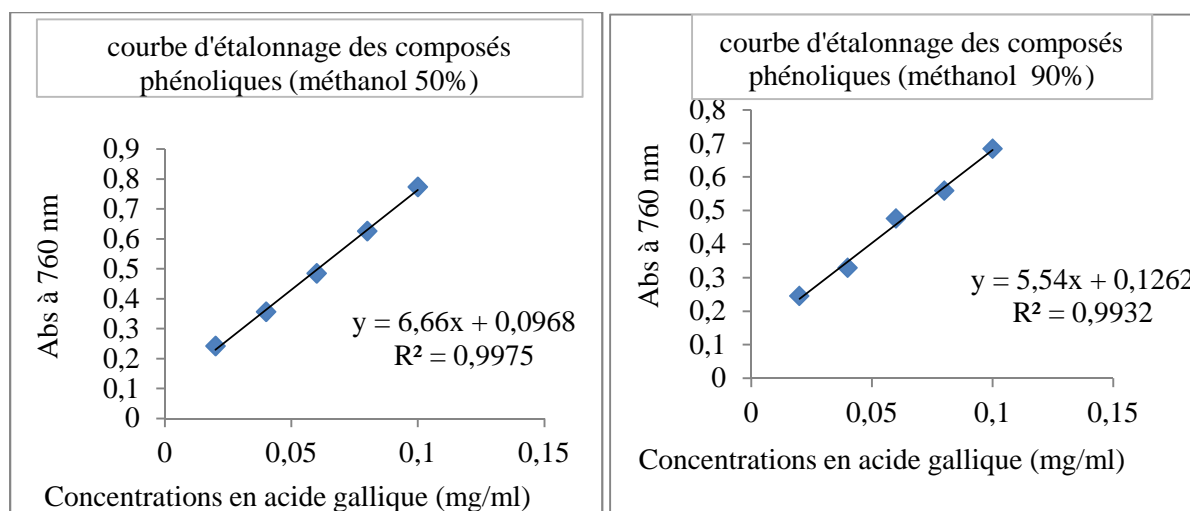
Wetherilt H. (1992) .Evaluation of *Urtica* species as potential sources of important nutrients. *Development in Food Science* 29:15-25.

William P. J and A. Douglas Kinghorn. (2006). Extraction of plant secondary metabolites. In Satyajit D. S., Alexander I. G., et Zahid L.(Eds).Humana press Totowa, New Jersey pp 323-335.

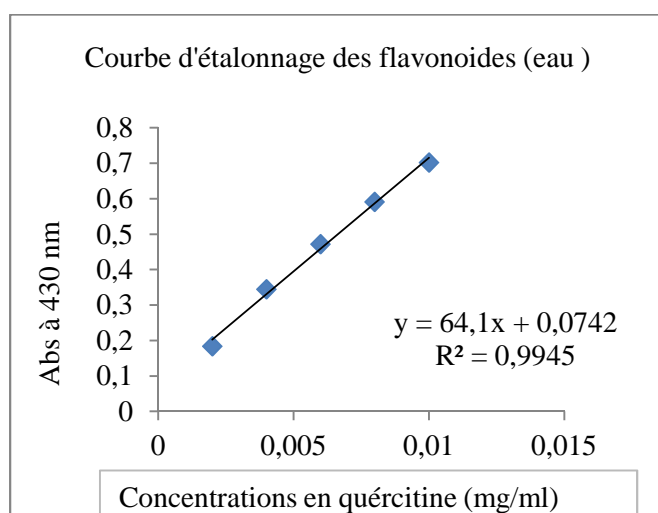
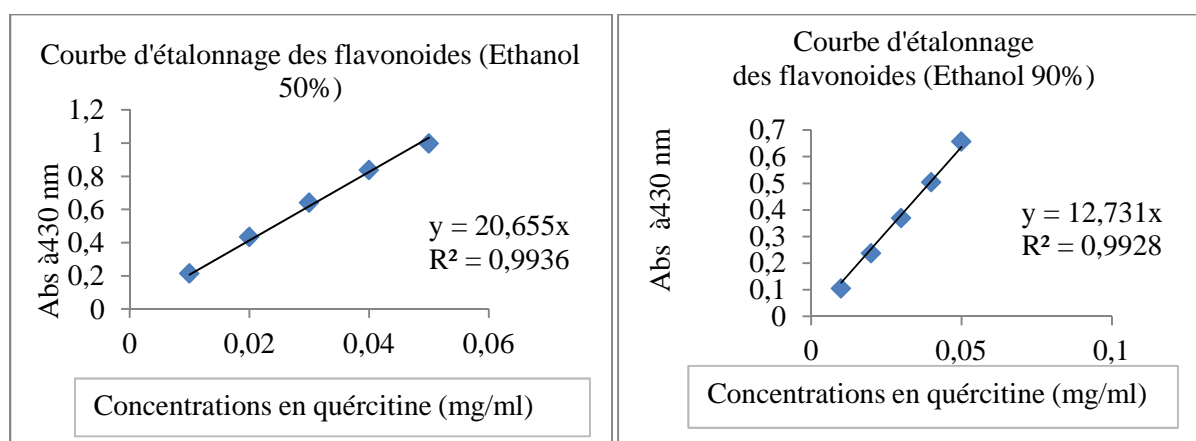
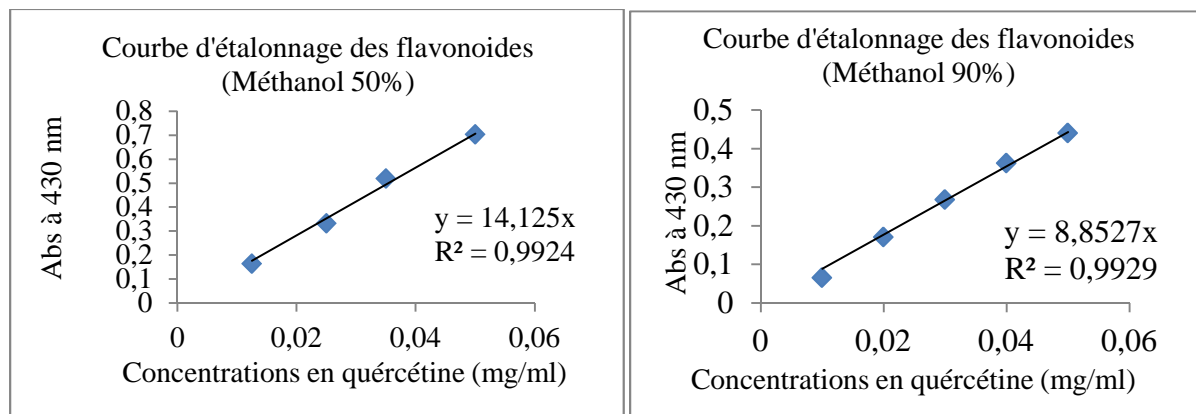
#### Z

Zhao B and Hall C.A. (2008) . Composition and antioxidant activity of raisin extracts obtained from various solvants. *Food chemistry* 108:511-518.

## Annexes I : courbes d'étalonnages des composés phénoliques.

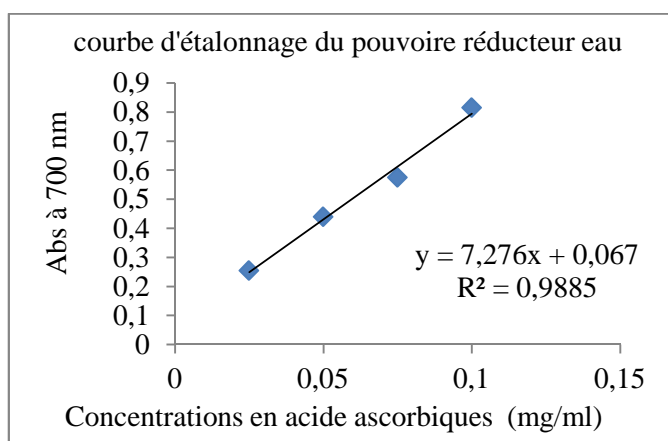
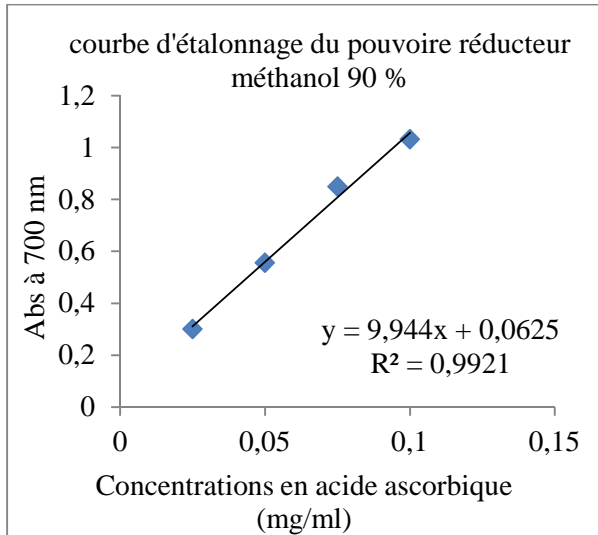
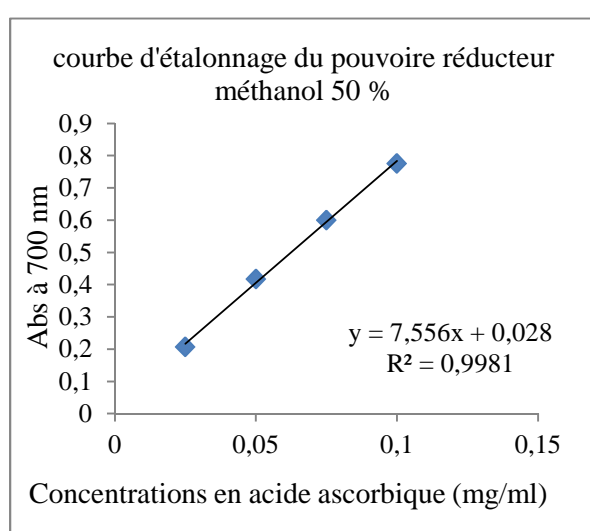
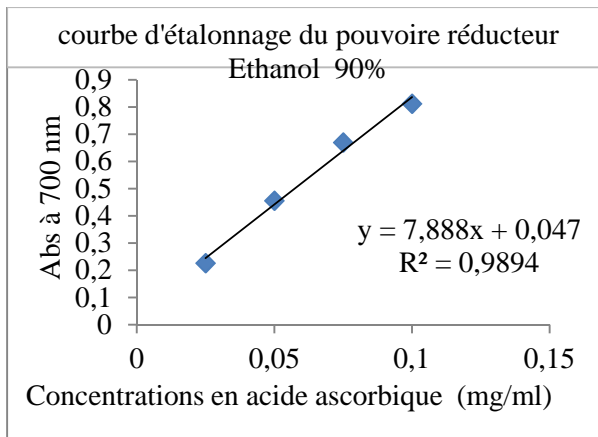
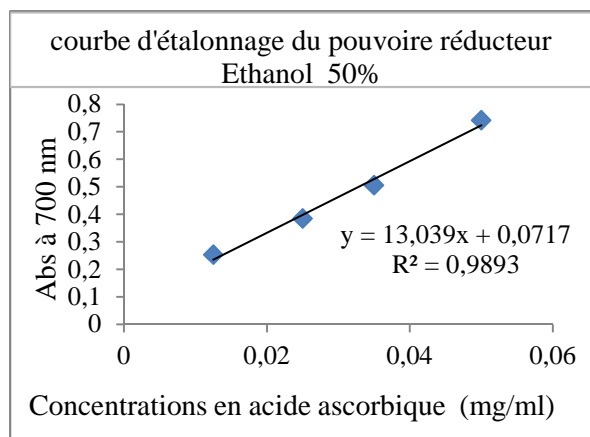


## Annexe II : Courbes d'étalonnages des flavonoïdes.





## Annexes III : courbes d'étalonnages du pouvoir réducteur



## **Résumé**

Le but de la présente étude est d'évaluer l'effet de la nature du solvant d'extraction eau, éthanol (50%, 90%), méthanol (50%, 90%) sur l'extraction des substances bioactives et l'estimation de l'activité antioxydante de l'ortie « *Urtica dioica* L. ». Les différents extraits ont été testés pour leur teneur en composés phénoliques totaux, flavonoïdes, tannins condensés, chlorophylle **a** et **b**, et caroténoïdes ainsi que leur activité antioxydante (pouvoirs réducteur, chélateur, et antiradicalaire). Les résultats obtenus montrent que le solvant d'extraction affecte significativement la teneur en antioxydants ainsi que l'activité antioxydante, l'eau est plus efficace pour l'extraction des composés phénoliques totaux (131 mg Eq AG/g MS), alors que les flavonoïdes sont mieux extraits par le méthanol 90% (21mg Eq quercetine/g de MS), l'éthanol 50% extrait les tanins avec une valeur de (1,2 µg Eq C/g MS); concernant les chlorophylles **a** et **b** et les caroténoïdes, la plante est très riche (13,55mg/g ; 15,19mg/g ; 24,07mg/g de MS respectivement). L'étude révèle que l'extrait au méthanol 90% est le plus efficace pour inhiber le radical DPPH, l'extrait au méthanol 50% montre le pouvoir réducteur le plus élevé alors que le pouvoir chélateur présente des valeurs comparables pour tous les extraits. Des teneurs élevées en antioxydants ainsi qu'une activité antioxydante importante ont été détectées, par conséquent *Urtica dioica* L. peut être considéré comme une excellente source d'antioxydants naturels pour la prévention de diverses maladies.

**Mots clés :** Activité antioxydante, antioxydants, *Urtica dioica* L., Solvants, Extraits.

## **Abstract**

The purpose of this study is to evaluate the effect of five selected solvent (water, ethanol 50%, 90%, 50% methanol, 90%) on the antioxidant activity measurements of nettle "*Urtica dioica* L." sample and know the importance of this plant as a source of bioactive substances. The various extracts were tested for their total phenolics content, flavonoids, nonhydrolyzable tannins, chlorophyll a and b, and carotenoids and antioxidant activity (reducing, chelating and antiradicalair power). The results showed that the extracting solvent significantly affects the antioxidant content and antioxidant property estimation and water is the most efficient for the extraction of total phenolic compounds (130,91 mg AG Eq / g DM), whereas the flavonoids were well extracted by methanol 90% (20,98mg Q Eq / g DM), tannins were extracted by ethanol 50% (1,2 µg C Eq / g DM); for chlorophyll **a** and **b** and carotenoids, our plant proved that its very rich (13,55mg /g ; 15, 19mg /g ; 24,07mg / g DM, respectively). The study reveals that methanol 90% extract is the most efficient for radical DPPH inhibition, the methanol 50% extract showed the highest reducer power, while the chelating power presented almost comparable values for all extracts. High antioxidant levels as well as a significant antioxidant activity have been detected in *Urtica dioica* L., indicating that it may serve as an excellent dietary source of natural antioxidants for disease prevention and health promotion.

**Keywords:** Antioxidant activity, antioxidants, *Urtica dioica* L., Solvents, Extracts .

## *Synthèse bibliographique*

## *Partie expérimentale*

## *Matériel et méthodes*

## *Résultats et discussions*

# *Introduction*

## *Conclusion*



# *Annexes*

## *Références bibliographiques*