

*République Algérienne Démocratique et Populaire* Ministère de  
*l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
Université A. MIRA – Béjaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-chimique  
Filière : Sciences biologiques  
Spécialité : Pharmacotoxicologie



جامعة بجاية  
Tasdawit n Bgayet  
Université de Béjaïa

Réf :.....

## MÉMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme **MASTER**

### Thème

**Évaluation de l'activité biologique de l'Ortie  
(*Urtica dioica L.*)**

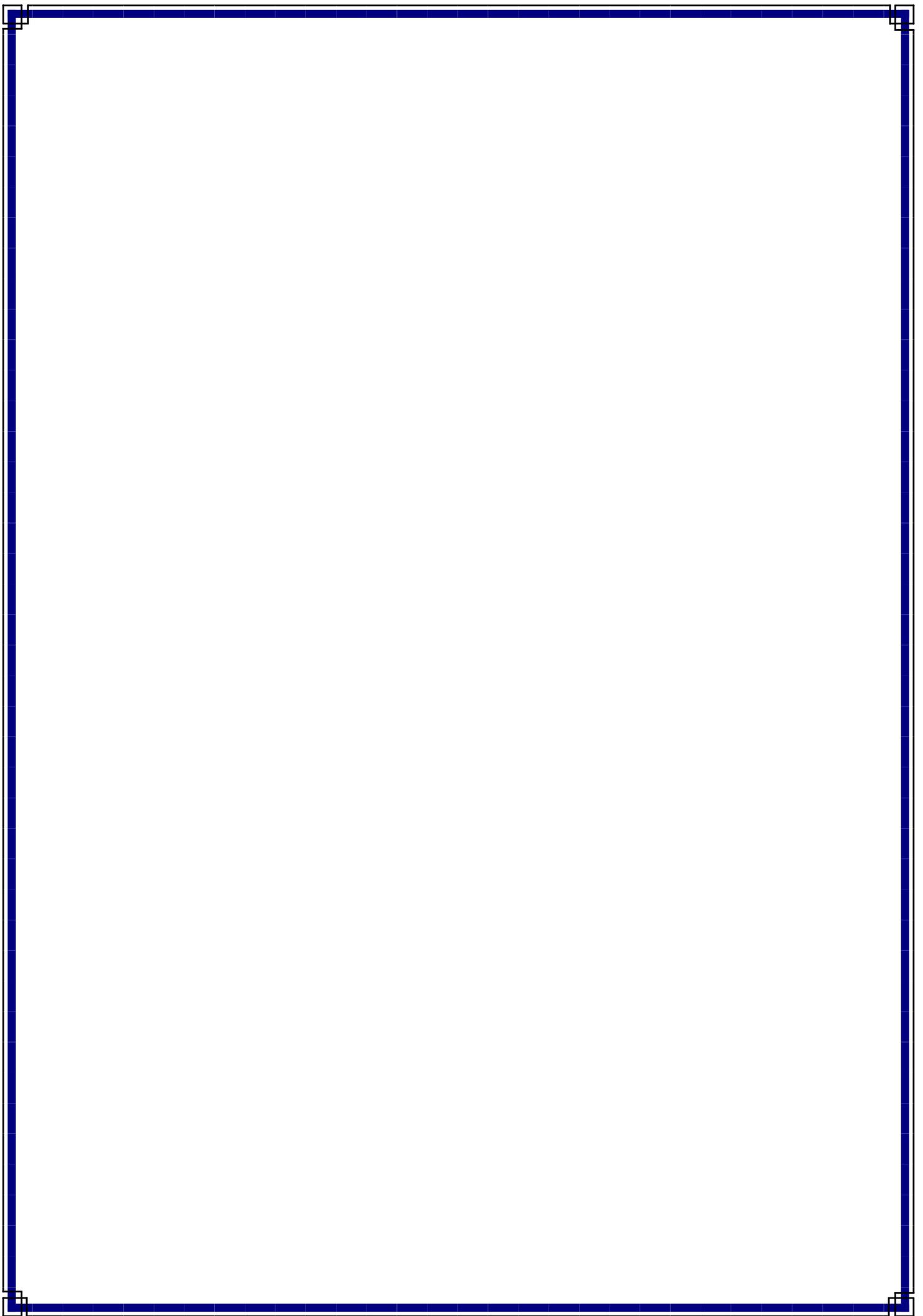
**Présenté par :**

**IRID Assia & IRID Katia**

**Devant le jury composé de :**

<b>Promoteur :</b>	M BELKACEM .N	MCB
<b>Président :</b>	M AMIROUCHE .A	MCA
<b>Examineur :</b>	M BOUDJOUAN .F	MCA

**Année universitaire: 2022 /2023**



*République Algérienne Démocratique et Populaire* Ministère de  
*l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
Université A. MIRA – Béjaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-chimique  
Filière : Sciences biologiques  
Spécialité : Pharmacotoxicologie



جامعة بجاية  
Tasdawit n Bgayet  
Université de Béjaïa

Réf : .....

## MÉMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme **MASTER**

### Thème

**Évaluation de l'activité biologique de l'Ortie**  
*(Urtica dioica L).*

**Présenté par :**

**IRID Assia & IRID Katia**

**Devant le jury composé de :**

<b>Promoteur :</b>	M BELKACEM .N	MCB
<b>Président :</b>	M AMIROUCHE .A	MCA
<b>Examineur :</b>	M BOUDJOUAN .F	MCA

**Année universitaire: 2022 /2023**



## *Dédicaces*



*Nous dédions ce modeste travail aux deux êtres les plus chers au monde, qui ont donné sens à notre existence :*

*Nos chers parents : Hania et Malek*

*Aucune dédicace ne serait exprimer notre respect, notre amour éternel et notre considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour notre instruction.*

*A nos chers frères : Hamza, Hanafi et Abdenour*

*A nos chères sœurs : Zakia et Saida*

*Ainsi qu'à toute la famille : Nabila, Billal, Madjid.*

*A nos amies*

*A tous nos collègues de la promotion de Master 2 Pharmacotoxicologie de la faculté de science de la nature et devie de l'université de Bejaïa.*

*A toutes les personnes qui ont contribué à notre éducation, notre enseignement et à notre formation.*



*Katia & Assia*





# *Remerciements*

*Nous tenons à remercier d'abord et avant tout Dieu de nous avoir donné le courage et la volonté pour bien mener ce modeste travail.*

Nos vifs remerciements s'adresseront :

*A notre encadrant monsieur BELKACEM Nassim, pour son aide, notamment pour ses conseils judicieux, ses orientations, et sa disponibilité durant la période de réalisation et de mise au point de ce mémoire.*

*Aux enseignants qui ont accepté de faire partie du jury de soutenance et ont jugé ce travail.*

*Aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette année universitaire.*

***Merci à tous et à toutes***

# ***SOMMAIRE***

**Dédicaces**

**Remerciements**

*Liste des tableaux*

*Liste des figures*

*Liste des schémas*

*Liste des abréviations*

**Introduction ..... 1**

## **Chapitre I: Synthèse bibliographique**

**1. Généralités sur *Urtica dioica* .....3**

**1.1 Origine de l'ortie et sa répartition dans le monde ..... 3**

**1.2 Étymologie ..... 3**

**1.3 Position systématique ..... 3**

**1.4 Description botanique et écologique ..... 3**

1.4.1 Appareil végétatif ..... 4

1.4.2 Appareil reproducteur ..... 5

**1.5 Utilisation thérapeutique ..... 5**

**1.6 Composition chimique ..... 6**

**2. Métabolites secondaires ..... 7**

**2.1 Composés phénoliques ..... 7**

2.1.1 Coumarines ..... 7

2.1.2 Acides phénoliques ou phénols simples ..... 7

2.1.3 Flavonoïdes ..... 7

2.1.4 Tanins ..... 8

2.1.5 Alcaloïdes ..... 8

**2.2 Rôles biologiques des métabolites secondaires ..... 8**

**3. Activité antioxydante ..... 8**

**3.1 Radicaux libres ..... 8**

3.1.1 Stress oxydant ..... 9

3.1.2 Origine des radicaux libres ..... 9

<b>3.2</b>	<b>Antioxydants</b> .....	<b>9</b>
3.2.1	Antioxydants endogènes.....	9
3.2.2	Antioxydants exogènes.....	10
<b>3.3</b>	<b>Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant</b> .....	<b>11</b>
<b>3.4</b>	<b>Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante</b> .....	<b>12</b>
<b>4.</b>	<b>Activité antibactérienne</b> .....	<b>12</b>
4.1	Les antibiotiques.....	13
4.2	L'aromatogramme .....	13
4.3	Description des bactéries étudiées.....	13
4.4	Méthodes pratiques de mesures de l'activité antibactérienne : .....	13
 <b>Chapitre II : Matériel et méthodes</b>		
<b>1.</b>	<b>Matériel</b> .....	<b>16</b>
1.1	Plante étudiée .....	16
<b>2 .</b>	<b>Méthodes</b> .....	<b>17</b>
2.1	Extraction solide-liquide.....	17
2.1.1	Rendement de l'extraction des composés phénoliques.....	17
2.2	Etude phytochimique .....	18
2.2.1	Dosage des composés polyphénoliques totaux (TPC).....	18
2.2.2	Dosage du contenu total en flavonoïdes (TFC).....	19
2.2.3	Dosage des tanins condensés .....	20
2.3	Détermination de l'activité antioxydants .....	20
2.3.1	Méthode de réduction des radicaux libres DPPH' .....	20
2.3.2	Méthode de réduction des radicaux-cation ABTS <sup>+</sup> .....	21
2.3.3	Méthode de réduction du fer (FRAP) .....	23
<b>3.</b>	<b>Évaluation de l'activité antibactérienne</b> .....	<b>24</b>
3.1	Souches bactériennes .....	24
3.2	Préparation des inocula bactériens .....	24
3.3	Préparation des milieux de culture .....	24
3.4	Isolement des souches .....	24
3.5	Préparation des solutions mères.....	24
3.6	Ensemencement .....	25
3.7	Mise en test.....	25
<b>4.</b>	<b>Analyse statistique</b> .....	<b>26</b>

## **Chapitre III : Résultats et Discussion**

<b>1. Résultat et discussion .....</b>	<b>28</b>
<b>1.1 Rendement d'extraction d'Urtica dioica L .....</b>	<b>28</b>
<b>1.2 Analyses phytochimiques .....</b>	<b>29</b>
1.2.1 Teneur en polyphénols .....	29
1.2.2 Teneur en flavonoïdes .....	30
1.2.3 Teneur en tanins .....	31
<b>1.3 Activité antioxydante .....</b>	<b>33</b>
1.3.1 Piégeage du radical libre DPPH• .....	33
1.3.2 Activité Scavenger du radical ABTS•+ .....	35
1.3.3 Pouvoir réducteur .....	38
<b>1.4 Activité antibactérienne.....</b>	<b>39</b>
1.4.1 Résultats des CMI et CMB.....	39
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>43</b>

## **Références bibliographiques**

## **Annexe**

## **Résumé**

## *Liste des tableaux*

<i>N°</i>	<i>Titre de tableau</i>	<i>Page</i>
<b>01</b>	Composants chimiques des différentes parties de l'ortie dioïque.	<b>6</b>

## *Liste des figures*

<b>N°</b>	<b>Titre de la figure</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	<i>Urtica dioica</i> Linn.	<b>3</b>
<b>02</b>	Photos originales de l'appareil végétatif d' <i>Urtica dioica</i> .	<b>5</b>
<b>03</b>	Effet de synergie entre quelques vitamine et oligoéléments.	<b>11</b>
<b>04</b>	Préparation de la poudre à partir des feuilles d'ortie.	<b>16</b>
<b>05</b>	Photo originale d'extraction solide-liquide.	<b>17</b>
<b>06</b>	Rendement d'extraction des extraits des feuilles d' <i>Urtica dioica</i> .	<b>28</b>
<b>07</b>	Teneur totale en polyphénols dans les extraits d' <i>Urtica dioica</i> .	<b>29</b>
<b>08</b>	Teneur en flavonoïdes dans les extraits d' <i>Urtica dioica</i> L.	<b>30</b>
<b>09</b>	Teneur en tanins condensés dans les extraits d' <i>Urtica dioica</i> L.	<b>32</b>
<b>10</b>	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH <sup>•</sup> en fonction de la concentration des standards, BHA et Vit C.	<b>33</b>
<b>11</b>	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH <sup>•</sup> en fonction de la concentration des extraits.	<b>34</b>
<b>12</b>	Valeurs des IC50 des extraits acétonique, méthanolique et éthanolique d' <i>Urtica dioica</i> du radical DPPH <sup>•</sup> .	<b>34</b>
<b>13</b>	Pourcentage d'inhibition du radical ABTS <sup>•+</sup> des extraits d' <i>urtica dioica</i> .	<b>36</b>
<b>14</b>	Pourcentage d'inhibition du radical ABTS <sup>•+</sup>	<b>36</b>

<b>15</b>	Valeurs des IC50 des extraits acétonique, méthanolique et éthanolique d' <i>Urtica dioica</i> du radical ABTS <sup>•+</sup> .	<b>37</b>
<b>16</b>	Pouvoir réducteur des différents extraits d' <i>Urtica dioica</i> L.	<b>38</b>
<b>17</b>	Effet d'extrait d' <i>Urtica dioica</i> sur les bactéries étudiées ( <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> )	<b>39</b>
<b>18</b>	Effet de l'extrait acétonique des feuilles d' <i>Urtica dioica</i> sur A) <i>S. aureus</i> et B) <i>E. coli</i> .	<b>40</b>

## *Liste des schémas*

<i>N°</i>	<i>Titre de schéma</i>	<i>Page</i>
<b>01</b>	Protocole de dosage des polyphénols	<b>18</b>
<b>02</b>	Protocole de dosage des flavonoïdes	<b>19</b>
<b>03</b>	Protocole de dosage des tanins condensés	<b>20</b>
<b>04</b>	Protocole d'étude de l'activité du DPPH	<b>21</b>
<b>05</b>	Protocole de préparation de la solution ABTS <sup>•+</sup>	<b>22</b>
<b>06</b>	Protocole d'étude de l'activité de l'ABTS <sup>•+</sup>	<b>22</b>
<b>07</b>	Protocole de Préparation de la solution de	<b>23</b>
<b>08</b>	Protocole de FRAP	<b>23</b>
<b>09</b>	Test antibactérien lancé sur microplaque	<b>25</b>

## *Liste des abréviations*

- **Abs** : *Absorbance.*
- **ABTS**: *Acide 2, 2'-azino-bis-3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique.*
- **BHA**: *Butyl Hydroxy Anisol.*
- **Da** : *Dalton.*
- **DPPH**: *Diphenyl picryl- hydrazyle.*
- **FRAP**: *Ferricion Reducing Antioxidant power.*
- **GPx** : *Glutathion peroxydase.*
- **IC50** : *Concentration inhibitrice à 50%.*
- **OMS** : *Organisation mondiale de la santé .*
- **RL**: *Radical libre.*
- **SOD** : *Superoxyde dismutase.*
- **TFC** : *Contenu total en flavonoïdes.*
- **TPC** : *Contenu en polyphénols totaux.*
- **TPTZ**: *2.4.6-Tri (2-pyridyl)-s-triazine.*
- **UV** : *Ultra Violet.*

# *Introduction*

## ***Introduction:***

Actuellement, l’OMS estime qu'environ 80% des habitants de la terre ont recours aux préparations traditionnelles à base des plantes qui ont été consacrées pour traiter différentes maladies chez l'Homme, ceci est dû à la présence des molécules bioactives. Parmi-elles, on trouve les composés phénoliques qui constituent le principal groupe des métabolites secondaires ayant une forte capacité antioxydante en tant que soins de santé primaire (**Lhuillier, 2007**). Ces derniers, empêchent l'oxydation des molécules biologiques par les radicaux libres (**Berger, 2006**), responsables du vieillissement cellulaire et des maladies qui l'accompagnent comme le cancer, le diabète et l'arthrose (**Delville, 2013**).

Les maladies infectieuses causées par les micro-organismes affectent la santé des gens, et causent de lourds dégâts au niveau économique ceci est dû à la résistance aux antibiotiques. Cette résistance chez les micro-organismes pathogènes et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse délicat (**Eloff, 1998**).

L’Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve l’espèce *Urtica dioica* L, appartenant à la famille des urticacées.

Dans l’objectif d’évaluer l’activité biologique des feuilles d’*Urtica dioica*, on a fixé les objectifs suivants :

- Extraction des substances actives par différents solvants (méthanol, éthanol, acétone)
- Etude phytochimique des composés phénoliques des deux plantes (Polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins).
- Evaluation de l’activité antioxydante de cette plante avec trois tests : DPPH, ABTS et FRAP.
- Evaluation de l’activité antibactérienne contre deux souches bactériennes (*E. coli* et *S. aureus*).

Notre travail est scindé en trois chapitres principaux. Initié par une étude bibliographique qui nous a permis d’apporter des données générales sur l’espèce étudiée, des généralités sur le stress oxydatif ainsi que sur les antioxydants et les l’activité antibactérienne. Le deuxième chapitre est consacré à la partie expérimentale et porte sur l’analyse qualitative et quantitative des métabolites secondaires, l’activité antioxydante et antibactérienne. Et en dernier lieu le troisième chapitre, résultats et discussion, suivi par une conclusion et des perspectives.

*Chapitre I :*  
*Synthèse bibliographique*

## 1 Généralités sur *Urtica dioica*

### 1.1 Origine de l'ortie et sa répartition dans le monde

Originnaire d'Eurasie, l'ortie s'est répandue dans toutes les régions tempérées du monde. On la rencontre plus en Europe du Nord qu'en Europe du Sud, en Afrique du nord, en Asie et en Amérique du Nord et du Sud où elle est largement distribuée (Said *et al*, 2016).

### 1.2 Étymologie

Le nom latin de la grande ortie est *Urtica dioica* Linn, dérivé des mots "Uro" signifiant brûler ou "Urere" signifiant piquer, en référence à ses piquants, très irritants au toucher. Le terme dioïque signifie que les fleurs mâles et femelles sont sur des poils séparés. "L" fait référence à la classification de Carl Von LINNE (Draghi, 2005).

### 1.3 Position systématique

Selon (Ghedira *et al.*, 2009), la plante

*Urtica dioica* est classée dans :

**Règne :** Végétale.

**Embranchement :** Magnoliophyta.

**Sous-embranchement :** Magnoliophytina.

**Classes :** Magnoliopsida.

**Sous-classe :** Rosidae.

**Ordre :** Urticales.

**Famille :** Urticaceae.

**Genre :** *Urtica*.

**Espèce:** *Urtica dioica* L.



Figure 01: *Urtica dioica* Linn (Draghi, 2005).

### 1.4 Description botanique et écologique

L'Ortie dioïque, également appelée Grande ortie, Ortie commune ou Ortie vivace, est une plante herbacée élançée appartenant à familles des urticacées qui peut mesurer de

60 à 90 cm de hauteur et, dans des conditions exceptionnelles, jusqu'à 1,5 m. Elle est caractérisée par ses feuilles opposées et ses fleurs en grappes ou en boules de couleur verdâtre (**Draghi, 2005**).

Les différentes parties de la plante sont illustrées ci-dessous :

#### **1.4.1 Appareil végétatif**

- **Feuilles**

Les feuilles d'*Urtica dioica* sont grandes ovoïdes, disposées par paires opposées, avec des bords dentelés triangulaires aux extrémités. Comme les tiges, elles sont couvertes de poils urticants et non urticants qui provoquent une sensation de brûlure. Les feuilles sont de couleur verte et dégagent une légère odeur comme décrit par **Draghi (2005)**.

- **Tige**

La tige d'*Urtica dioica* présente une morphologie caractérisée par une section quadrangulaire avec une couleur vert-brun, une absence de ramifications et une surface pubescente une épaisseur de 3 mm ou moins, couverte de poils urticants, tout comme les feuilles de la plante (**Upton, 2013**).

- **Poils urticants**

La grande ortie se caractérise par leur action piquante, qui est due à la présence de poils sur les feuilles et sur les tiges, et plus précisément au liquide contenu dans ces poils. Ils sont constitués de deux parties : à la base, un bulbe gonflé contenant un liquide urticant, puis une longue cellule creuse qui se termine par une pointe recourbée. Ce fluide est facilement excrété du corps au moindre contact (**Draghi, 2005**).

Les poils urticants contiennent un véritable cocktail chimique riche en histamine, acide formique, acide acétique, acétylcholine, acide butyrique, leucotriènes, sérotonine et autres irritants (**Fleurentin, 2008**).

- **Racines**

L'ortie a un long rhizome jaune caractéristique. Il possède de grosses racines « coniques » qui pénètrent profondément dans le sol, soutenues par de fines racines (**Bertrand, 2008**). Leur tâche est de fixer l'azote de l'air grâce à l'action du microorganisme *Rhizobium Francia* (**Toubal, 2018**).



Figure 02 : Photos originales d'appareil végétatif d'*Urtica dioica*.

#### 1.4.2 Appareil reproducteur

- **Fleurs**

Les fleurs de la Grande Ortie sont de petite taille et unisexuées. Les grappes femelles sont pendantes, tandis que les grappes mâles sont dressées (Fennane, 1999). Ces fleurs se manifestent de juin à septembre et se présentent sous forme de grappes ramifiées, qui se trouvent dans toute la partie supérieure de la plante (Said *et al*, 2016).

- **Fruits et graines**

Le fruit d'ortie est constitué d'une graine, albuminée, à embryon droit, composée d'un akène ovale de couleur sable à jaune-brun qui est entouré d'un calice persistant et reste enveloppé dans deux gros sépales accrescents (Ghedira *et al*, 2009).

#### 1.5 Utilisation thérapeutique

En médecine l'*Urtica dioica* L est en fait un meilleur légume plein de vitamines et de minéraux qui est utilisé pour ses propriétés thérapeutiques diverses :

**-Anti-inflammatoire** : La Grande Ortie est également utilisée pour sa capacité de diminuer la réaction inflammatoire, via de multiples mécanismes d'action dont les

conséquences sont la réduction de synthèse de médiateurs lipidiques et de cytokines pro inflammatoires. En effet, les extraits de feuilles inhibent la biosynthese des enzymes de la cascade arachidonique, notamment les cyclo-oxygénases COX-1 et COX-2, et bloquent ainsi la biosynthèse des prostaglandines et thromboxane . D'autre part, plusieurs études ont révélé que l'extrait des feuilles diminue la libération des interleukines IL-2 et IL-1 $\beta$ , de l'interféron  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) et des facteurs TNF- $\alpha$  et TNF- $\kappa$  (TNF : Tumor necrosis factor) (**Said et al, 2016**).

**-Antianémique** : La chlorophylle présente dans les feuilles de la plante est une source de fer. La consommation régulière de Grande Ortie peut donc aider à prévenir et à traiter l'anémie ferriprive (**Hurrell et al, 2010**).

**1.6 Composition chimique**

En effet, les différentes parties de la Grande Ortie ont fait l'objet de nombreuses études chimiques pour déterminer leur composition et leur potentiel thérapeutique. Les feuilles et les racines de cette plante sont particulièrement riches en composés bioactifs qui ont des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, analgésiques, antibactériennes et antitumorales (**Kregiel et al,2018**).

Feuilles	Fleurs	Racines	Poils urticants
-Flavonoïdes	-Protéines	-Lectine.	- Acides : formique, acétique.
-Vitamines : A, E....	-Caroténoïdes.	-Coumarines	- Neuromédiateurs :
-Acides-alcool.	-Vitamine E.	-Phytostérols et stéroïdes.	Acétylcholine,
-Glycoprotéines.		-Composés Phénoliques.	sérotonine et
-Chlorophylle.		- Sels minéraux.	histamine
-Huile essentielle.		- Acides gras.	-Catécholamines
-Éléments minéraux		- Polysaccharides.	

**Tableau 01** : Composants chimiques des différentes parties de l'ortie dioïque (**Ait Haj said et al, 2016**).

## 2 Métabolites secondaires

Les plantes médicinales sont connues pour leurs propriétés antioxydantes car elles contiennent de nombreux métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins, les acides phénoliques, les caroténoïdes et les vitamines. Ces composés aident à neutraliser les radicaux libres dans le corps et à réduire les dommages oxydatifs pouvant entraîner des maladies chroniques telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et le vieillissement.

### 2.1 Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont une famille de molécules très répandue dans le règne végétal. On les trouve dans toutes les parties de la plante. Ce sont des molécules caractérisées par la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques avec une ou plusieurs fonctions hydroxyles (**Richter *et al*, 1993**).

Ils sont divisés en plusieurs classes : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines

#### 2.1.1 Coumarines

Les coumarines est une classe de composés phénoliques qu'on trouve soit à l'état libre au bien en association avec différents sucres comme : le glycoside ou l'hétéroside. Ces composés sont dérivés d'acides cinnamiques (**Kuresh *et al*, 2022**).

#### 2.1.2 Acides phénoliques ou phénols simples

Ce sont des petites molécules composées d'un noyau benzénique et d'au moins un groupe hydroxyle. Ils peuvent être estérifiés et fixés aux sucres sous forme de glycosides (**Toubal, 2018**). Structurellement, il existe deux grandes classes d'acides phénoliques :

-Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1) présents dans les plantes, algues, bactéries et champignons.

-Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C6-C3). Composé d'acide coumarique, d'acide caféique et d'acide férulique.

#### 2.1.3 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont parmi les composés les plus bioactifs. On les trouve généralement en grande quantité dans les aliments tels que les légumes et les fruits (ils jouent un rôle dans la coloration des fleurs et des fruits). Ils présentent un squelette phényl-

benzopyrane composé d'un cycle pyrane hétérocyclique désigné par la lettre C, reliant deux noyaux aromatiques désignés par les lettres A et B (**Delarosa et al, 2019**).

#### **2.1.4 Tanins**

C'est la classe des polyphénols la plus répandue dans le règne végétal avec un poids moléculaire de 500 à 3000 Dalton (Da). Ce sont des structures polyphénoliques non-azotées solubles dans l'eau, l'alcool, l'acétone et peu soluble dans l'éther. Ils ont la capacité de se lier aux protéines. Il existe deux types de tanins :

-Tanins hydrolysables : Ce sont des hétéropolymères avec un noyau central de D-glucose qui s'hydrolysent dans les milieux acides et alcalins en glucides (glucose) et en acides phénoliques (**Leinmuller et al, 1991**).

-Tanins condensés (non hydrolysables) : Ce sont des tanins plus complexes que les tanins hydrolysables (**Alilou, 2012**).

#### **2.1.5 Alcaloïdes**

Sont des substances organiques naturelles très majoritairement d'origine végétale, localisées dans toutes les parties de la plante, elles sont caractérisées d'une structure complexe où leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique (**Ziegler et Facchini, 2008**).

### **2.2 Rôles biologiques des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires jouent un rôle très important dans la défense contre : Les herbivores, les bactéries et les virus se protègent également des rayons UV et d'autres stress physiques (**Wink, 2010**).

## **3 Activité antioxydante**

### **3.1 Radicaux libres**

Les radicaux libres (RL) sont des espèces chimiques qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés dans la couche électronique externe et présentent une instabilité importante avec une réactivité « temporaire » élevée (**Carange, 2010**). Pour se stabiliser, ils volent des électrons à d'autres molécules proches pour compléter la couche externe. Ce processus est appelé stress oxydatif et est impliqué dans le développement de nombreuses maladies (**Capasso, 2013**).

### **3.1.1 Stress oxydant**

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre les défenses radicalaires et antioxydantes, provoquant des dommages structurels et fonctionnels (**Berger, 2006**). En fait, le stress oxydatif est impliqué dans le développement de nombreuses conditions médicales, notamment : Vieillesse, cancer, maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, diabète et arthrose (**Scalbert *et al.*, 2006**).

### **3.1.2 Origine des radicaux libres**

Les radicaux libres sont produits dans le corps lors de réactions métaboliques normales, mais aussi à partir de sources exogènes telles que la pollution de l'air, les cigarettes et les rayons UV. Les métaux toxiques peuvent également contribuer à la production de radicaux libres. Ces sources peuvent entraîner une production excessive de radicaux libres et favoriser le stress oxydant (**Uttara *et al.*, 2009**).

## **3.2 Antioxydants**

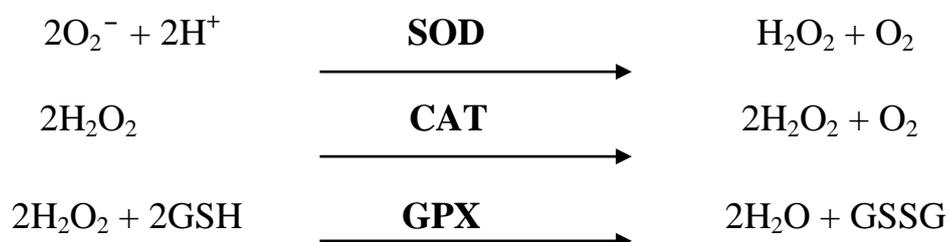
Le terme antioxydant fait référence à toute molécule capable de ralentir ou d'empêcher l'oxydation des substrats cellulaires, protégeant ainsi les cellules des dommages des radicaux libres (**Rahman, 2007**). Les antioxydants agissent en neutralisant les radicaux libres avant qu'ils ne puissent endommager les cellules. Les antioxydants peuvent être produits par le corps ou obtenus à partir d'aliments tels que les fruits, les légumes et certaines plantes médicinales riches en polyphénols, flavonoïdes et autres composés antioxydants. Le corps humain possède de multiples systèmes de défense pour protéger les cellules des radicaux libres. Ces systèmes peuvent être exogènes, comme l'apport d'antioxydants par l'alimentation, ou endogènes, comme les enzymes antioxydantes produites par les cellules. Ils agissent en synergie pour maintenir l'équilibre des radicaux libres et des antioxydants et prévenir les dommages du stress oxydatif (**Pham-Huy *et al.*, 2008**).

### **3.2.1 Antioxydants endogènes**

Il existe deux voies pour les antioxydants endogènes (**Liguori *et al.*, 2018**).

**-Voies non enzymatiques :** Tels que les protéines (ferritine, transferrine, céruloplasmine, albumine) et les systèmes de réparation des dommages oxydatifs tels que les endonucléases(**Haleng *et al.*, 2007**).

**-Voies enzymatiques :** Le corps humain possède un système enzymatique composé principalement de trois enzymes antioxydantes. Superoxyde dismutase (SOD), catalase et glutathion peroxydase (GPx) (Avisar *et al*, 1989). Ces enzymes permettent de piéger les radicaux libres primaires selon les réactions suivantes.



En effet, des enzymes antioxydantes endogènes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) empêchent la formation de radicaux libres organiques à partir de divers substrats, dont les lipides membranaires. En neutralisant ces radicaux libres, les enzymes antioxydantes protègent les membranes cellulaires de la peroxydation lipidique, qui peut causer des dommages importants aux cellules et aux tissus. Ce processus enzymatique conduit finalement à la production des composants inoffensifs eau et oxygène moléculaire (Avisar *et al*, 1989 ; Dacosta, 2003).

### 3.2.2 Antioxydants exogènes

En plus des substances propres à l'organisme, de nombreux antioxydants naturels et exogènes se trouvent dans les aliments et les plantes. Ces substances jouent un rôle important contre le stress oxydatif. Parmi eux se trouvent: vitamines (E et C), caroténoïdes, polyphénols, acides gras et métaux traces (sélénium, manganèse, zinc) (Pham-Huy *et al*, 2008).

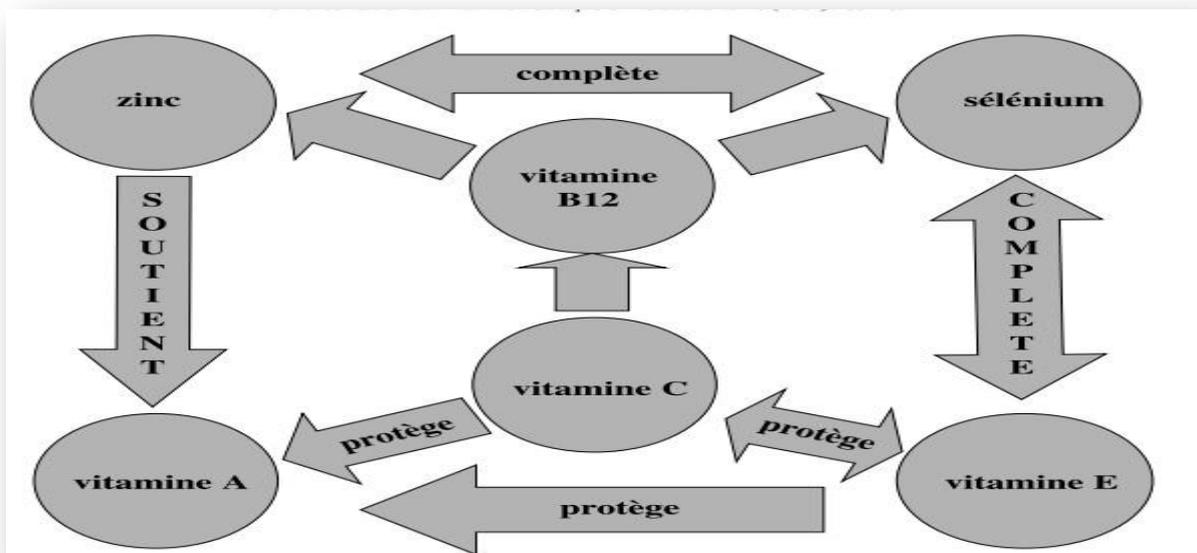
#### ➤ Vitamine E

La vitamine E est un antioxydant liposoluble qui joue un rôle important dans la protection des membranes cellulaires, en particulier celles des globules rouges, des cellules nerveuses et des cellules musculaires. Elle peut empêcher la propagation de la peroxydation lipidique en capturant les radicaux libres de la chaîne réactionnelle. De plus, il peut moduler l'expression de gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire, l'apoptose et l'inflammation. Les sources alimentaires riches en vitamine E comprennent les noix, les graines, les huiles végétales et les légumes verts à feuilles (Brigelius-Flohé and Traber, 2019).

### ➤ Vitamine C

La vitamine C est un antioxydant important dans la lutte contre le stress oxydatif et la prévention de certaines maladies chroniques. Il agit également en synergie avec la vitamine E pour protéger les membranes cellulaires et favoriser la régénération de la vitamine E oxydée. Par conséquent, le maintien d'un apport adéquat en vitamine C est important pour le bon fonctionnement du système de défense antioxydant (**Carr & Frei, 1999 ; Padayatty et al, 2003**).

En fait, des études ont montré que le tabagisme et les maladies respiratoires telles que l'asthme peuvent entraîner une baisse des niveaux de vitamine C dans le corps, ce qui peut entraîner une augmentation du stress oxydatif et une sensibilité accrue aux maladies connexes. avec l'âge (**Carr et Frei, 1999**). Par conséquent, maintenir une alimentation riche en vitamine C et éviter les facteurs de risque tels que le tabagisme sont importants pour maintenir un système antioxydant efficace dans le corps.



**Figure 03 :** Effet de synergie entre quelques vitamines et oligoéléments (Pincemail *et al*, 2020)

### 3.3 Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant

À de faibles concentrations, les espèces réactives de l'oxygène agissent pour réguler les réponses biologiques, la transduction du signal et d'autres voies de signalisation (**Favier, 2003**). Les défenses antioxydantes de nos tissus sains sont capables de combattre

et de détruire les radicaux libres en excès. Bien que les oxydants et les antioxydants soient dits en équilibre, un déséquilibre entre la production de radicaux libres et le système de défense peut entraîner des radicaux libres (tabac, alcool, pollution, etc.) ou une diminution de la capacité antioxydante (capacité antioxydante) (Sohal, 2002).

### **3.4 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante**

Plusieurs tests ont été réalisés pour évaluer l'activité antioxydante de ces composés phénoliques. Test DPPH, test de réduction radicale ABTS, performance de réduction FRAP.

- **Test DPPH**

Le test DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) est une méthode basée sur l'utilisation de radicaux libres stables dont la solution est violette. Lorsqu'une solution de DPPH est mélangée avec des antioxydants (substances qui donnent des atomes d'hydrogène), la forme réduite est formée. En conséquence, une couleur jaune est apparue (Brand-Williams, 1995).

- **Test ABTS**

Le test ABTS (acide 2,2'-azino-bis-3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique) est l'un des tests de mesure des taux d'antioxydants. Ceci est basé sur la capacité des antioxydants à stabiliser le radical cationique ABTS. En présence d'antioxydants, le radical ABTS est converti en sa forme non radicalaire et perd sa couleur bleu-vert (Chen et al, 1997).

- **Test FRAP**

En raison de la présence d'antioxydants capables de donner des électrons, Réduction de  $Fe^{3+}$  présent dans le complexe  $(K_3Fe(CN)_6)$  en  $Fe^{2+}$ . Mesurer l'absorbance du milieu à 700 nm. Une absorption accrue correspond à un pouvoir réducteur accru de ces extraits. Cette réduction produit une couleur bleue lorsqu'elle est mesurée à 593 nm (Thaipong et al, 2006).

## **4 Activité antibactérienne**

L'activité antibactérienne se caractérise par la capacité de la molécule à inhiber la croissance des micro-organismes (bactéries, parasites, champignons) (Nauciel et Vildé, 2005).

## 4.1 Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances synthétisées par les organismes pour inhiber la croissance des bactéries (effet bactériostatique) ou pour les tuer (effet bactéricide) (Chaussade *et al*, 2013).

## 4.2 L'aromatogramme

Il s'agit d'une méthode *in vitro* qui mesure la capacité des extraits de plantes à inhiber la croissance bactérienne. Cette méthode renseigne sur la sensibilité bactérienne aux anti-infectieux (Benouda et Tagajdid, 2008).

## 4.3 Description des bactéries étudiées

Les principales caractéristiques des bactéries examinées dans cette étude sont les suivants :

**-*Escherichia coli* :** Ce sont des bâtonnets à Gram négatif, non sporulés, éventuellement anaérobies, généralement mobiles grâce aux flagelles, et de 2 à 6  $\mu\text{m}$  de long. Tandis que sa largeur est de 1,1 à 1,5  $\mu\text{m}$  (Steven *et al*, 2004).

**-*Staphylococcus aureus* :** Ces espèces sont des cocci à Gram positif sphériques et de 0,8 à 1  $\mu\text{m}$  de diamètre (Steven *et al*, 2004).

## 4.4 Méthodes pratiques de mesures de l'activité antibactérienne :

### a) Méthode de diffusion des disques :

La méthode de diffusion sur gélose, également appelée aromatoigramme ou méthode des disques, . Elle consiste à déposer Des disques de papier Wattman avec précaution sur la surface de la gélose inoculée . Les boîtes de culture sont placées dans un incubateur réglé à une température appropriée. Après l'incubation, les boîtes de culture sont examinées pour détecter la présence ou l'absence de croissance microbienne. des zones d'inhibition de croissance se formeront autour des disques de papier caractérisées par une absence de croissance microbienne, sont mesurées en millimètres (Zaika, 1988).

### b) Méthode des puits ou cylindre ou diffusion en milieu solide :

Elle implique l'ensemencement de l'inoculum à la surface d'un milieu de culture gélosé solidifié préalablement dans des boîtes de Pétri. Après la solidification, plusieurs puits de 5 mm de diamètre sont créés à l'aide d'une pipette Pasteur. Ces puits sont ensuite remplis avec l'extrait à tester. Les cultures sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures, les zones d'inhibition sont mesurées ensuite en mm. (Benzohra, 2019).

**C) Méthode de dilution en milieu liquide :**

La méthode en milieu liquide peut se faire en microplaque à 96 puits fond en « U », appelée « micro méthode en milieu liquide ». La gamme de concentrations est réalisée par dilution sériée dans l'eau et/ou le dispersant. Après cette dilution, l'inoculum bactérien est ajouté dans les puits correspondants. Les microplaques ainsi préparées sont incubées 24h à 35°C. La croissance bactérienne, si elle a lieu, se traduit par l'apparition d'un trouble dans le puits (**Fontanay et al, 2015**).

*Chapitre II*  
*Matériel et méthodes*

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne d'extraits obtenus par macération de feuilles d'*Urtica dioica* puis séchage à 40°C.

## 1 Matériel

### 1.1 Plante étudiée

Cette étude est réalisée sur la partie aérienne d'*Urtica dioica* (ortie), une espèce végétale de la famille des Urticacées. Les feuilles ont été récoltées en mars 2023 dans la zone d'Akfadou de Wilaya de Bejaia.

Après récolte, elles ont été lavées à l'eau du robinet, essuyées avec du papier absorbant et séchées à l'étuve à 40°C, elles étaient broyées au moulin électrique jusqu'à formation d'une poudre puis tamisées pour obtenir une poudre fine et homogène. Ce dernier a été placé dans un flacon en verre scellé et conservé à l'abri de la lumière jusqu'à l'extraction.



**Figure 04:** Préparation de la poudre à partir des feuilles d'ortie.

## 2 Méthodes

### 2.1 Extraction solide-liquide

Une extraction de type macération a été réalisée à température ambiante en utilisant trois solvants de polarités différentes : méthanol, éthanol (96%) et acétone. Une masse de 10 g de poudre végétale a été mise en contact avec 100 mL de chaque solvant séparément sous agitation mécanique et laissés macérer 3 jours à température ambiante à l'abri de la lumière. Le solvant a été renouvelé toutes les 24 heures, puis la solution a été filtrée pour obtenir un filtrat. Enfin, l'extrait est placé dans un cristalliseur et le solvant évaporé dans une étuve à 40°C jusqu'à obtention d'un extrait sec.



Figure 05: Photo originale d'extraction solide-liquide.

#### 2.1.1 Rendement de l'extraction des composés phénoliques

Le rendement en pourcentage (%), est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait et celle de la plante sèche en poudre afin d'évaluer l'efficacité de l'extraction. Il est calculé par la formule suivante :

$$R\% = [(P1 - P0) / E] \times 100$$

Sachant que :

- **R%** : Rendement d'extraction en pourcentage ;
- **P0** : Poids de bécher vide en gramme ;
- **P1** : Poids de bécher après évaporation en gramme ;
- **E** : Poids de l'échantillon en gramme.

## 2.2 Etude phytochimique

Des analyses phytochimiques ont été réalisées sur des extraits de plantes (extraits de méthanol, d'acétone et d'éthanol) pour évaluer la teneur en composés phénoliques.

### 2.2.1 Dosage des composés polyphénoliques totaux (TPC)

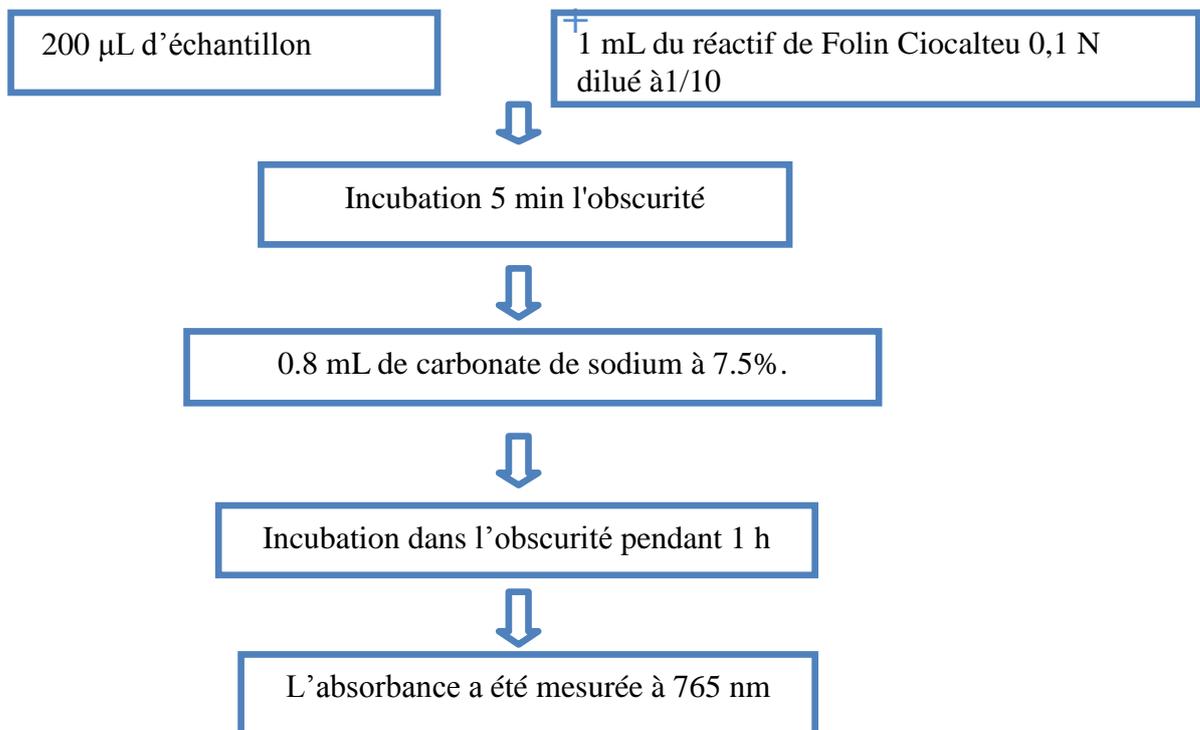
#### ❖ Principe

Les polyphénols totaux des extraits de feuilles d'*Urtica dioica* ont été déterminés par spectrophotométrie à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu selon la méthode décrite par **Singleton et Rossi (1945)**. Ce réactif est un acide jaune composé d'un mélange d'acides phosphotungstique et phosphomolybdique. Il est réduit lors de l'oxydation du phénol pour former un produit de réduction bleu (**Ribéreau-Gayon 1970**).

#### ❖ Mode opératoire

La teneur en polyphénols des extraits de feuilles d'*Urtica dioica* a été déterminée en utilisant la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu décrite par **Singleton et Rossi (1965)**.

✚ Une concentration de 2 mg/mL a été testée pour les trois extraits.



**Schéma 01** : Protocole de dosage des polyphénols (Singleton et Rossi, 1965).

- Le blanc : 0.2 mL de méthanol + 1 mL de Folin-Ciocalteu + 0.8 mL de carbonate de sodium.
- La quantification des polyphénols totaux a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $Y = aX + b$ ), réalisée dans les mêmes conditions que celles de l'échantillon, en utilisant l'acide gallique comme standard (Annexes 01).
- Les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme du poids sec de la plante (mg EAG/g).

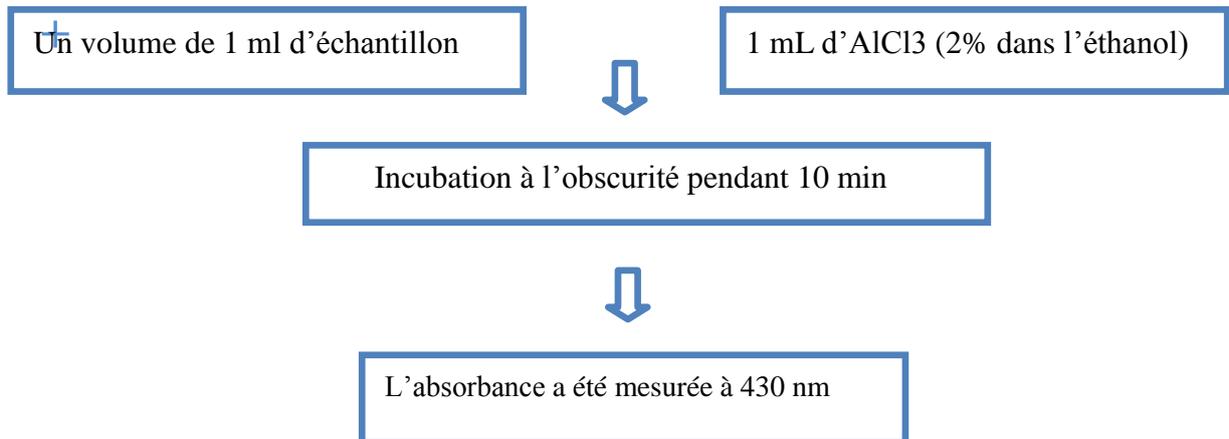
### 2.2.2 Dosage du contenu total en flavonoïdes (TFC)

#### ❖ Principe

Le dosage des flavonoïdes, contenus dans les trois extraits a été effectuée par la méthode du trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) selon **Djeridane et al, (2006)**.

#### ❖ Mode opératoire

- ✚ Une concentration de 2 mg/mL a été testée pour les trois extraits.



**Schéma 02:** Protocole de dosage des flavonoïdes (Djeridane *et al*, 2006).

- Le blanc : 1 mL méthanol + 1 mL  $AlCl_3$ .
- Une courbe d'étalonnage a été réalisée à l'aide d'un standard (Quercétine). La teneur en flavonoïdes contenus dans l'extrait est exprimée en milligramme d'équivalents quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g) (Annexes 01).

### 2.2.3 Dosage des tanins condensés

#### ❖ Principe

La quantification des tanins condensés contenus dans les trois extraits sont estimées en utilisant la méthode à vanilline en milieu acide décrite par **Ba et al, (2010)**.

#### ❖ Mode opératoire

✚ Une concentration de 2 mg/mL a été testée pour les trois extraits.

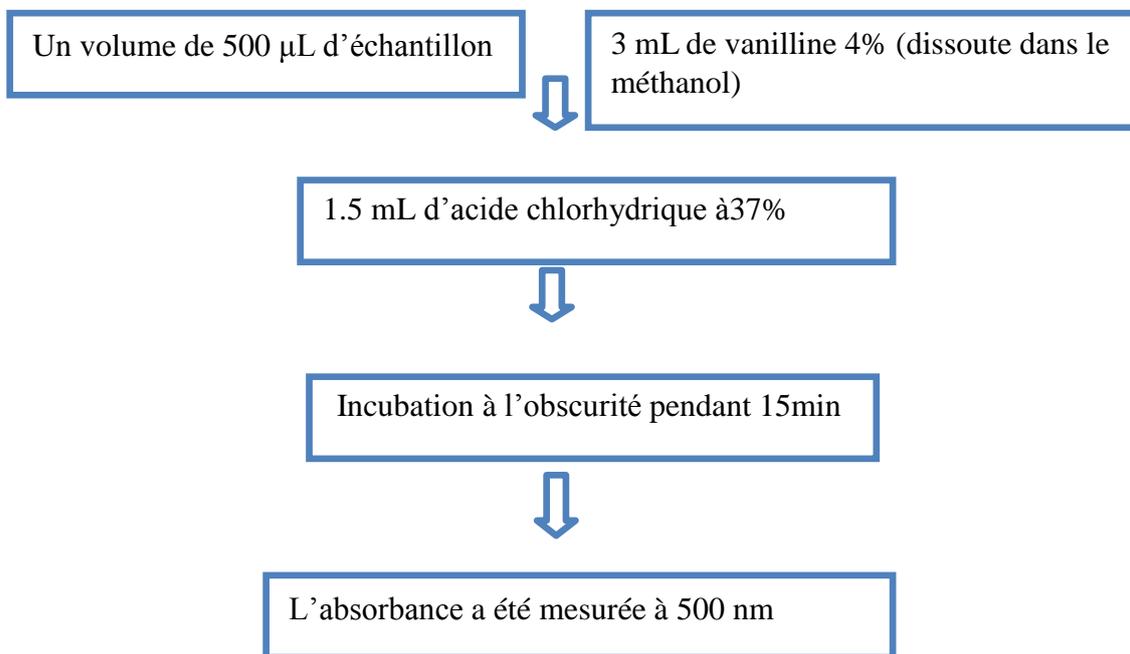


Schéma 03: Protocole de dosage des tanins condensés (Ba et al, 2010).

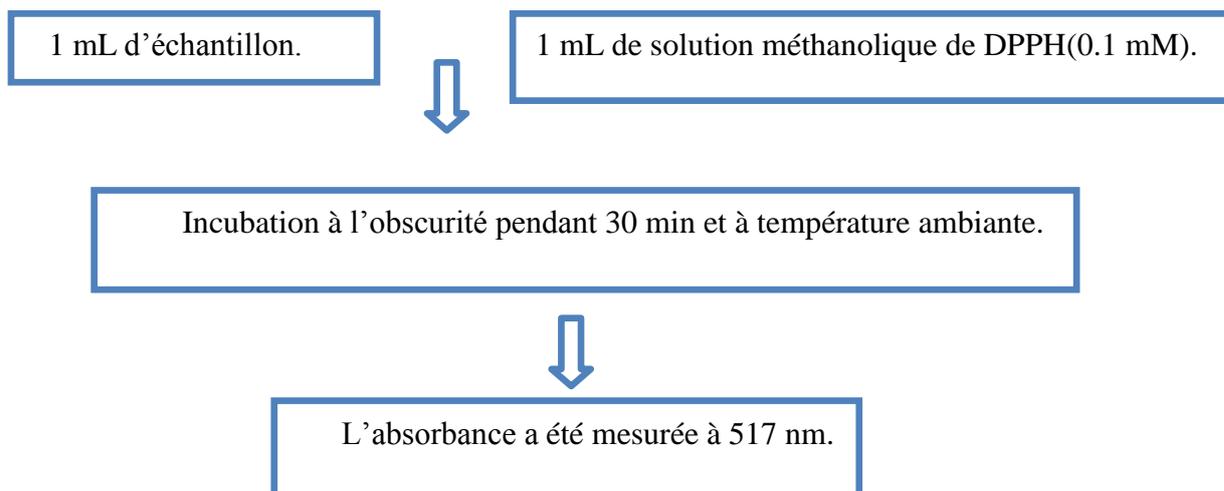
## 2.3 Détermination de l'activité antioxydants

Trois méthodes ont été mises en place afin d'évaluer l'activité antioxydante à piéger les radicaux libres: DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup> et pouvoir réducteur.

### 2.3.1 Méthode de réduction des radicaux libres DPPH<sup>•</sup>

Le test du radical DPPH<sup>•</sup> est réalisé en suivant la méthode décrite par **Annie et al, (2006)**.

✚ Des concentrations de (62,5 -1000µg/mL) ont été testées pour les trois extraits.

❖ **Mode opératoire**Schéma 04 : Protocole d'étude de l'activité du DPPH (Annie *et al*, 2006).

- Le blanc : 1 mL de DPPH + 1 mL de méthanol.
- L'acide ascorbique (Vit C) et Butyl Hydroxy Anisol (BHA) sont utilisés comme des antioxydants standards dont les résultats sont comparés à ceux obtenus pour chaque extrait testé (Annexes 01).
- Le pourcentage d'inhibition a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{DPPH \%} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs control}] \times 100$$

**DPPH• (%)** : Pourcentage de réduction du DPPH•.

**Abs contrôle** : Absorbance du contrôle positive à 517 nm.

**Abs échantillon** : Absorbance de l'échantillon testé (échantillon + DPPH) à 517 nm.

- Les concentrations inhibitrices à 50% «IC<sub>50</sub>» sont calculées graphiquement par le logiciel GraphPad Prism 5.

### 2.3.2 Méthode de réduction des radicaux-cation ABTS<sup>•+</sup>

#### ❖ Protocole de préparation de la solution ABTS<sup>•+</sup>

La méthode utilisée dans la détermination de l'activité scavenger du radical ABTS<sup>•+</sup> a été décrite par Le *et al.*, (2007). La solution ABTS<sup>•+</sup> a été préparée selon la méthode décrite par Re *et al*, (1999).

### ❖ Préparation de la solution de l'ABTS :

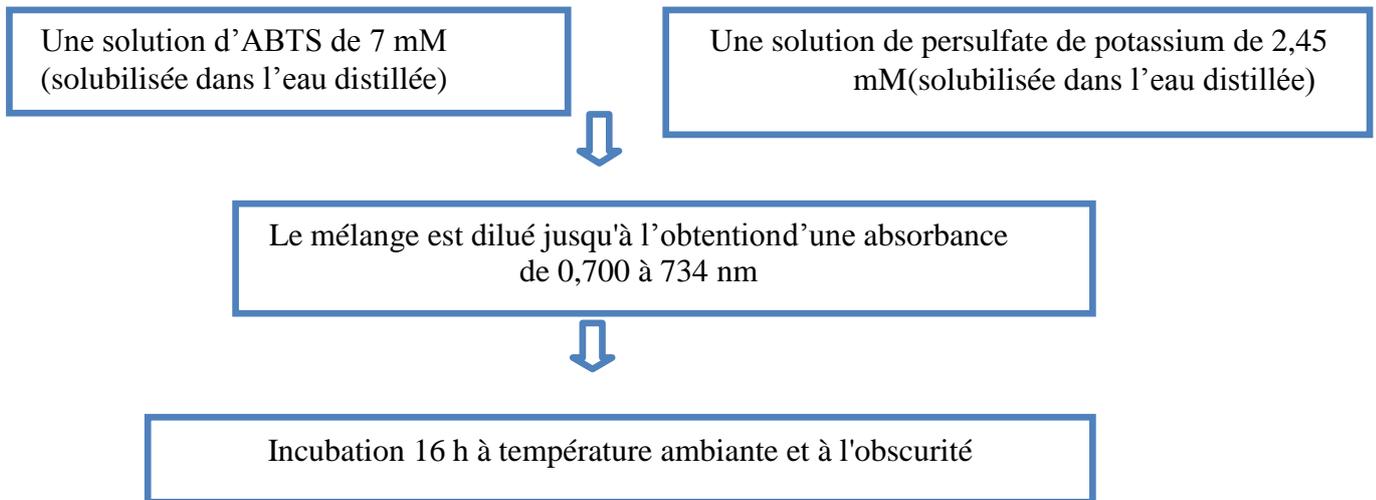


Schéma 05 : Protocole de préparation de la solution ABTS<sup>++</sup> (Re *et al*, 1999).

### ❖ Mode opératoire

✚ Des concentrations de (12,5-150 µg/mL) ont été testées pour les trois extraits.

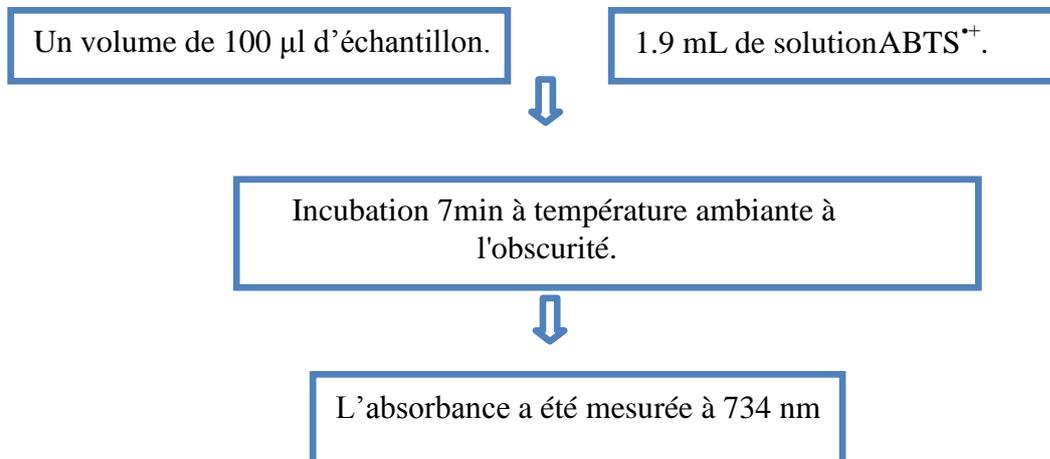


Schéma 06: Protocole d'étude de l'activité de l'ABTS<sup>++</sup> (Le *et al*, 2007)

- Contrôle : 1.9 mL ABTS<sup>++</sup> + 100 µL méthanol.
- Blanc : méthanol.
- L'acide ascorbique (Vit C) et le Trolox<sup>®</sup> sont utilisés comme des antioxydants standards dont les résultats sont comparés à ceux obtenus pour chaque extrait testé.
- L'activité d'inhibition du radical ABTS est calculée selon la formule suivante

$$\% \text{ Scavenging de radical ABTS} = \frac{AC-AE}{AC}$$

**AC** : Absorbance du contrôle.

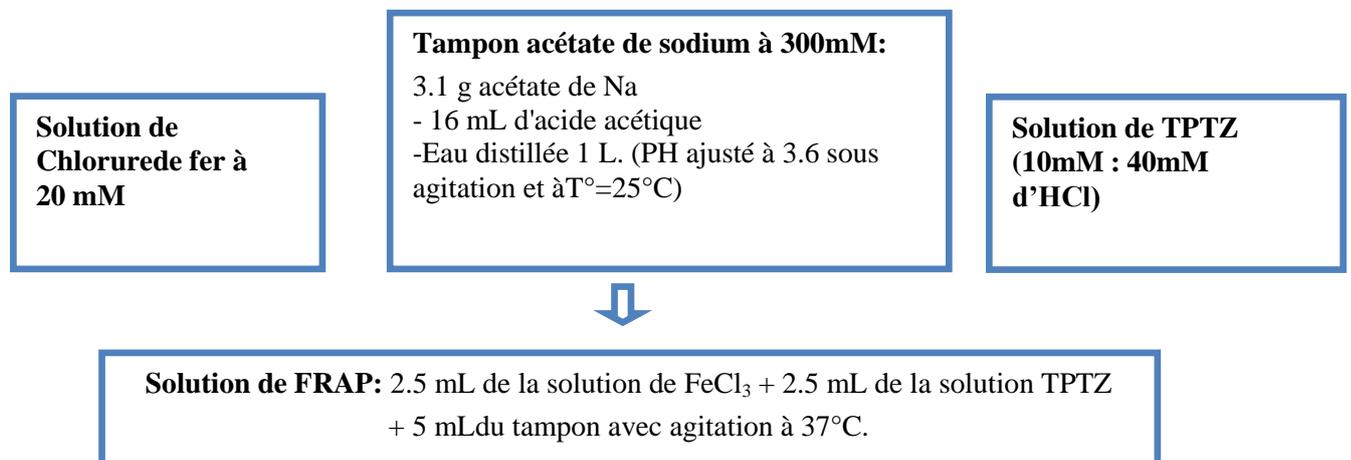
**AE** : Absorbance de l'échantillon (Absorbance du test « échantillon+ ABTS<sup>•+</sup> » - Absorbance dublanc du test « méthanol »).

- La concentration inhibitrice de 50% des radicaux ABTS<sup>•+</sup> (IC<sub>50</sub>) est calculée de la même manière que celle effectuée pour le radical DPPH<sup>•</sup>.

### 2.3.3 Méthode de réduction du fer (FRAP)

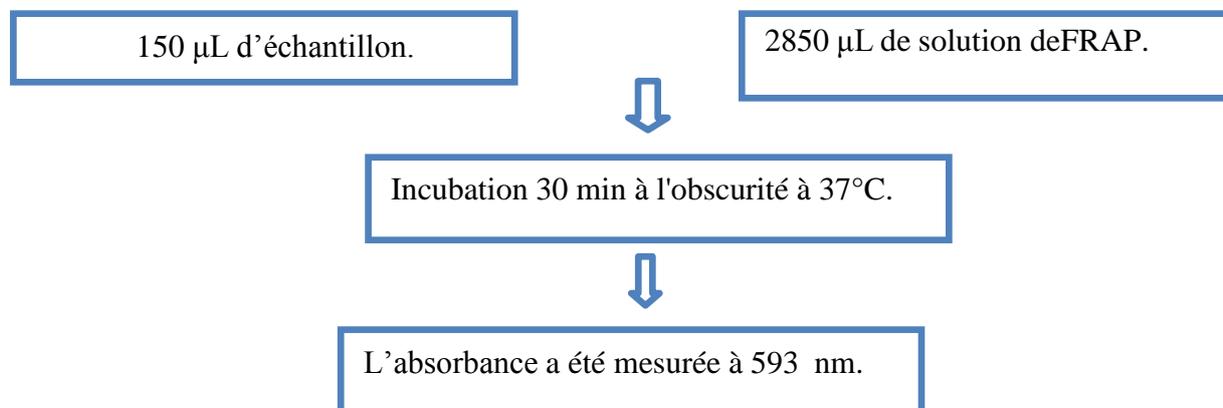
- Une concentration de 2 mg/mL a été testée pour les trois extraits.

#### ❖ Préparation de la solution de FRAP



**Schéma 07:** Protocole de Préparation de la solution de FRAP (Benzie *et al*, 1996).

#### ❖ Protocole du test FRAP



**Schéma 08:** Protocole de FRAP (Thaipong *et al*, 2006).

### 3 Évaluation de l'activité antibactérienne

#### 3.1 Souches bactériennes

Des expériences d'activité antibactérienne ont été réalisées contre les bactéries suivantes: souche Gram-positif (*Staphylococcus aureus*) ; et souche Gram négatif (*Escherichia coli*).

#### 3.2 Préparation des inocula bactériens

Des suspensions bactériennes de chaque souche ont été préparées en diluant quelque colonies dans l'eau physiologique stérile (NaCl 0,85%), grattées d'une culture de 24 h dans des plaques de gélose incubées à 37°C. La turbidité a été ajustée à 0,5 Mc Farland ( $10^8$  CFU/mL) correspondant à une suspension contenant 50 uL de chlorure de baryum anhydre ( $\text{BaCl}_2$  1,175%) ajouté à 9,95 mL d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  1%), avec une densité optique entre 0,08 et 0,13 à 625 nm. Par la suite, une dilution des suspensions bactériennes dans un Bouillon Muller Hinton (MHB) a été effectuée pour former une suspension d'environ  $5 \cdot 10^6$  CFU/mL pour les utiliser dans le test de l'activité antibactérienne.

#### 3.3 Préparation des milieux de culture

Les milieux de culture utilisés dans cette étude sont :

**Gélose Muller Hinton (GMH) :** Dans un erlenmeyer, une quantité de 38 g de la gélose Muller- Hinton a été dissoute dans 250 ml d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis verser le tout dans les flacons de façon homogène pour stérilisation, et finalement, couler le milieu dans des boîtes de Pétri.

**Bouillon Muller Hinton (BMH) :** Dans un erlenmeyer, une quantité de 21 g de Bouillon Muller- Hinton a été dissoute dans 250 mL d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis verser le tout dans les flacons de façon homogène pour stérilisation.

#### 3.4 Isolement des souches

Les différentes souches bactériennes isolées des pré-cultures ont été obtenues par la méthode de stries sur Gélose Muller Hinton (GMH) dans des boîtes de pétri puis incubées à l'étuve à 7°C pendant 24 h pour assurer leur croissance.

#### 3.5 Préparation des solutions mères

L'extrait acétonique est dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) de concentration de 2%, le test antibactérien a été effectué avec des dilutions 1/2 sachant que la

concentration de la solution mère d'échantillon est de 10 mg/mL (DMSO 20%).

### 3.6 Ensemencement

Les boîtes de pétrie stériles préalablement coulées, sont ensemencées par étalage à l'aide d'une pipette pasteur stérile, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer l'obtention des colonies séparées de bactéries. On laisse les boîtes pendant 15 à 20 min avant de les incubes.

### 3.7 Mise en test

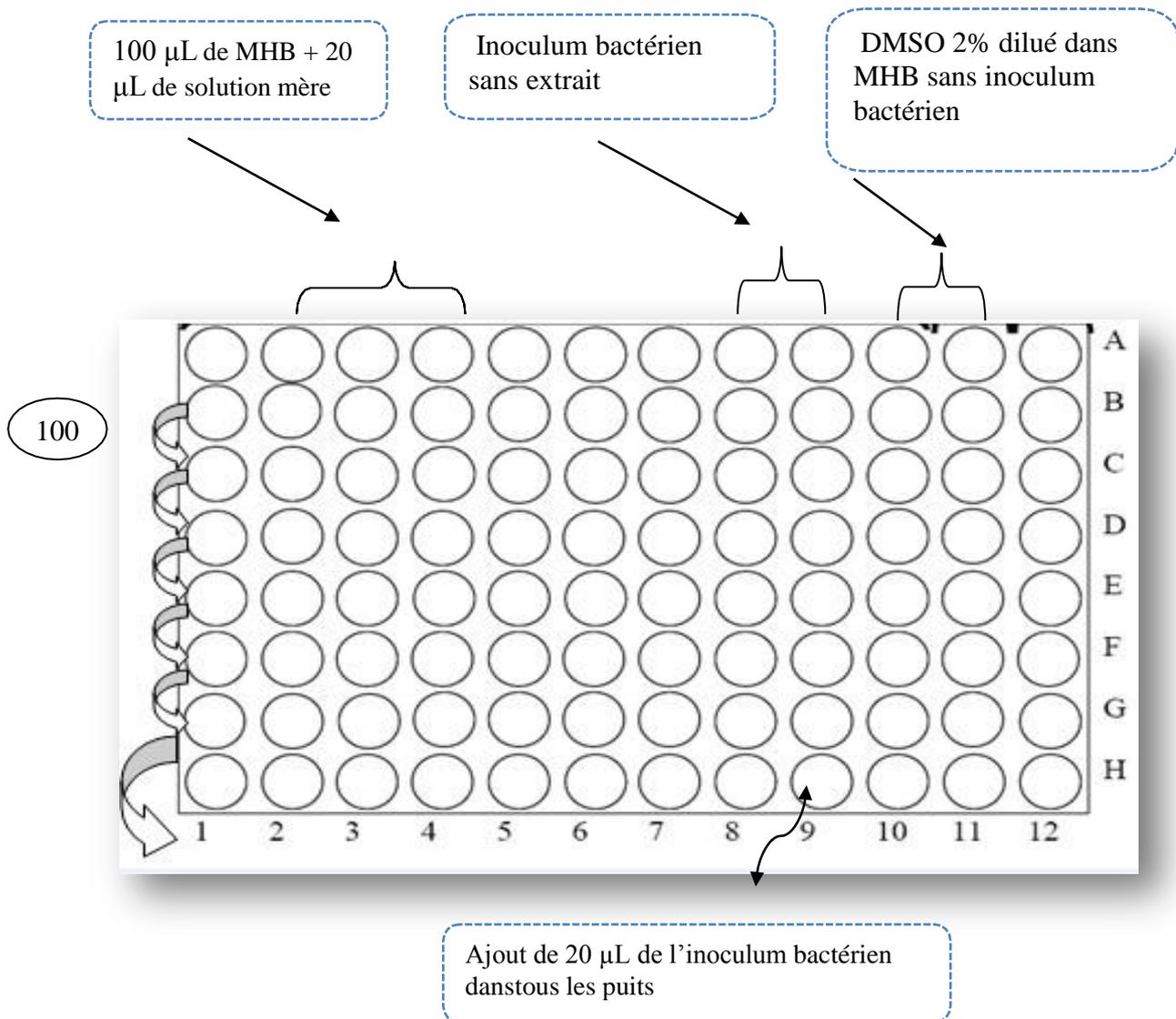


Schéma 09 : test antibactérien lancé sur microplaque.

## **4 Analyse statistique**

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  écart type, coefficients de corrélation réalisée à l'aide du programme Microsoft Office Excel 2007. L'analyse statistique des données a été réalisée avec le t-test Anova à l'aide du logiciel GraphPad Prism 5. Les différences ont été considérées comme statistiquement significatives pour  $P < 0,05$ .

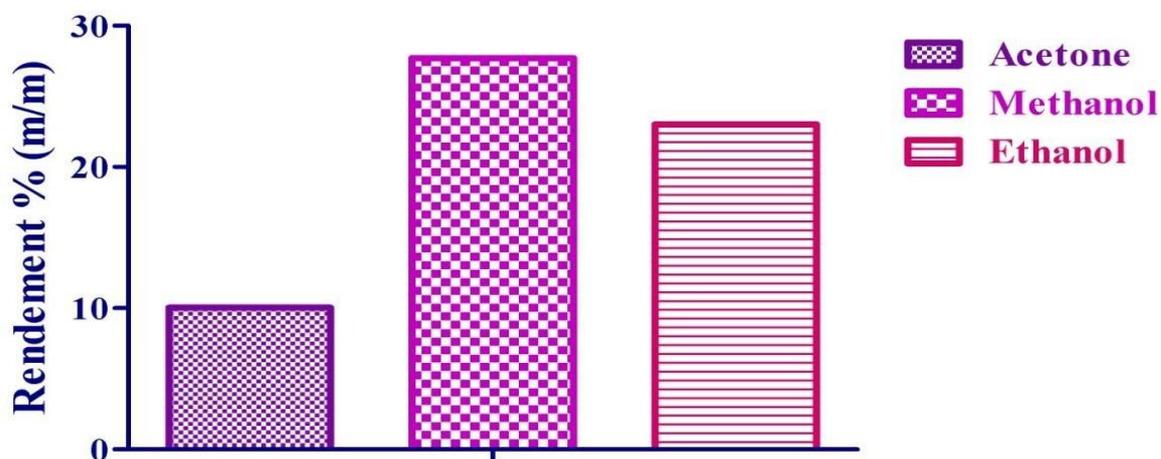
*Chapitre III*  
*Résultats et Discussion*

## 1 Résultat et discussion

Le but de cette étude était d'étudier les propriétés phytochimiques et les activités antioxydante et antibactérienne des extraits organiques des feuilles d'*Urtica dioica* L, qui appartient à la famille des Urticacées.

### 1.1 Rendement d'extraction d'*Urtica dioica* L

Une extraction solide-liquide à l'aide de divers solvants de polarités différentes (acétone, méthanol et éthanol) a été réalisée par macération pour extraire les composés phénoliques contenus dans les feuilles de la plante d'*Urtica dioica* L. Les résultats sont représentés dans la **Figure 06** suivante :



**Figure 06** : Rendement d'extraction des extraits des feuilles d'*Urtica dioica*.

Les rendements sont dans l'ordre suivant : l'extrait méthanolique avec un pourcentage de 27,7%, suivi de l'extrait éthanolique avec un pourcentage de 23%, puis l'extrait acétonique avec un pourcentage de 10,04 %. La richesse en métabolites secondaires dans une espèce végétale est un facteur de variation de rendement d'extraction (**Lachguer et al, 2021**).

**Zemmouri (2015)** a trouvé que l'extrait aqueux présente le meilleur rendement d'extraction avec valeurs de 40%. Le pouvoir d'extraction d'extraits à l'éthanol et le plus faible rendement d'extraction avec un rendement de 7,26% pour l'extrait éthanolique d'ortie.

**Sehari et al, (2020)** à trouvé que le pouvoir d'extrait méthanolique d'ortie est supérieur à l'extrait éthanolique avec des valeurs 17.01% et 15.57%.

D'après **Hayouni (2007)**, la méthode d'extraction, la nature du solvant et de la

matière première peut affecter le rendement d'extraction, la teneur des polyphénols et aussi l'activité biologique. Il a été également rapporté que le séchage peut influencer la microstructure physique des tissus végétaux, qui conduit à des rendements d'extraction accrus (Saifullah *et al*, 2019).

Aussi, d'après Zhang *et al*, (2018) dans leur étude sur les techniques d'extraction et d'isolation des produits naturels, a montré qu'une taille de particules plus petite améliore la pénétration du solvant et la diffusion du soluté, augmentant ainsi l'efficacité de l'extraction. En général, plus la taille des particules est fine, plus les résultats d'extraction sont meilleurs.

## 1.2 Analyses phytochimiques

Les résultats de l'analyse phytochimique de la plante étudiée ont montré une différente composition en métabolites secondaires pour les trois extraits : acétonique, méthanolique et éthanolique.

### 1.2.1 Teneur en polyphénols

La quantification des polyphénols des extraits acétonique, éthanolique et méthanolique de feuilles d'*Urtica dioica* a été rapportée en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'échantillon et a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire tracée en utilisant l'acide gallique comme standard (Annexe 01), avec l'équation :  $Abs = 0,0068 [AG] - 0,0043$ ;  $R^2 = 0,995$ .

L'apparition d'une coloration bleue après 1 h d'incubation confirme la présence de polyphénols dans les extraits de feuilles d'*Urtica dioica* L, qui ont réduit le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont représentés dans la Figure 07.

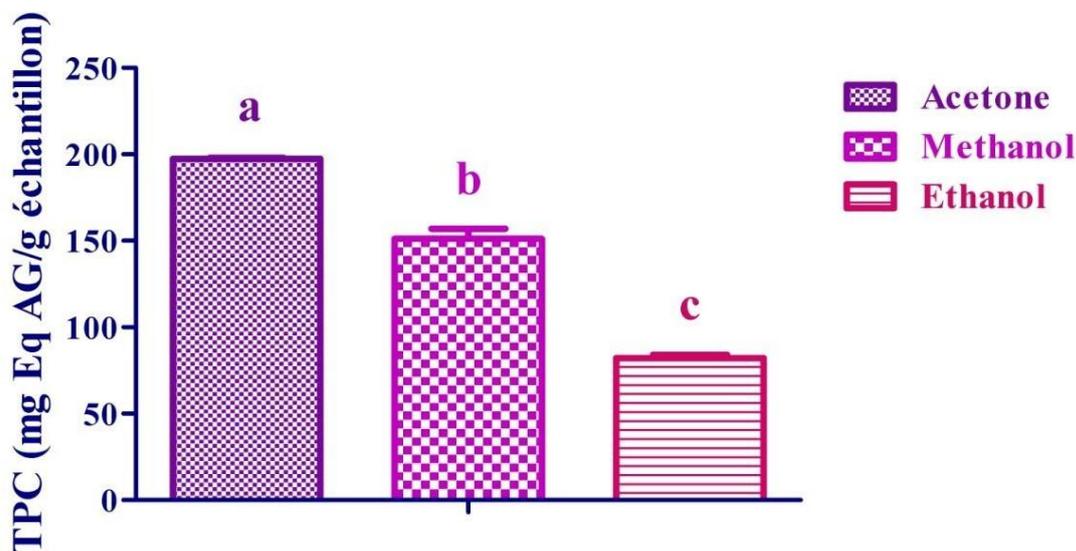


Figure 07 : Teneur totale en polyphénols dans les extraits d'*Urtica dioica*.

Pour ce graphe, les valeurs suivies d'une lettre différente étaient significativement différentes ( $P < 0,05$ ). Les valeurs ont été exprimées en moyenne  $\pm$  ET ( $n = 3$ ).

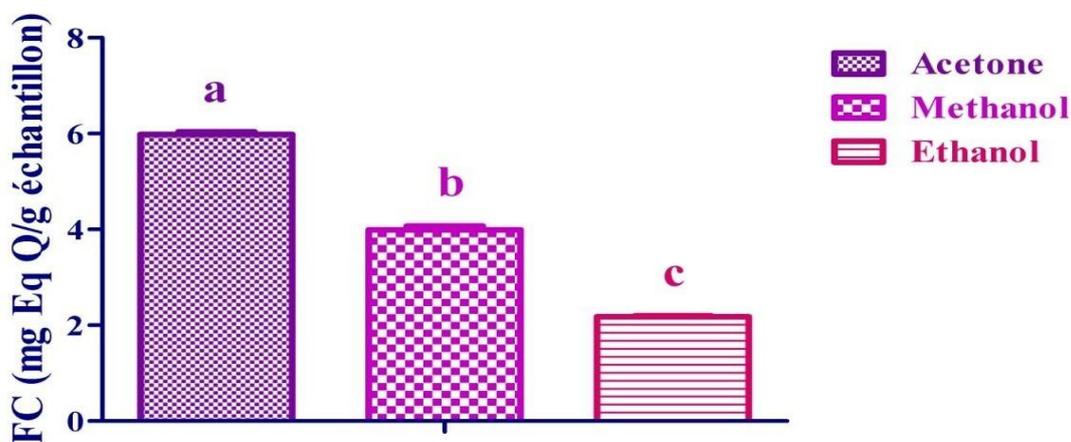
D'après la **Figure 07**, on observe une variabilité des teneurs en polyphénols totaux ( $P \leq 0,05$ ). La meilleure teneur est enregistrée pour l'extrait acétonique ( $197,33 \pm 1,54$  mg EAG/g), suivie de l'extrait méthanolique ( $151,16 \pm 1,25$  mg EAG/g) ; et enfin, l'extrait éthanolique avec  $82,11 \pm 6,11$  mg EAG/g. Ces résultats indiquent principalement que la solubilité des polyphénols dépend du type de solvant utilisé (**Daoudi, 2015**).

Nos résultats sont similaires de ceux de **Zemmouri (2015)** qui a trouvé que la teneur en polyphénols dans l'extrait éthanolique d'ortie était de  $85,11 \pm 0,35$  mg EAG/g. En outre, **Daoudiet al. (2015)** dans leur étude sur d'autres espèces du genre *Urtica* ont constaté que les taux en composés phénoliques dans les extraits méthanoliques, sont les plus élevés, retrouvés notamment dans l'extrait d'*Urtica piluliferae* ( $2,313 \pm 0,3$  mg EAG/30g MS) et d'*Urtica membranacea* ( $1,498 \pm 0,09$  mg EAG/30g MS), par contre, *Urtica urens* présente un très faible taux ( $0,06 \pm 0,029$  mg EAG/30g MS).

### 1.2.2 Teneur en flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes des extraits acétonique, éthanolique et méthanolique des feuilles d'*Urtica dioica* a été rapportée en mg équivalent de quercétine par gramme d'échantillon et a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire tracée en utilisant la quercétine comme standard (**Annexe 01**), ayant l'équation suivante:  $Abs = 0,0443 [Q] - 0,0026$ ;  $R^2 = 0,998$ .

L'apparition d'une couleur jaunâtre lors de l'ajout d'une solution de chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) confirme la présence de flavonoïdes dans les extraits de feuilles d'*Urtica dioica* L., en raison de la formation de complexes entre le chlorure d'aluminium et les flavonoïdes. Les résultats obtenus sont représentés dans la **Figure 08**.



**Figure 08** : Teneur en flavonoïdes dans les extraits d'*Urtica dioica* L.

Pour ce graphe, les valeurs suivies d'une lettre différente étaient significativement différentes ( $P < 0,05$ ). Les valeurs ont été exprimées en moyenne  $\pm$  ET ( $n = 3$ ).

Pour la plante étudiée, nous avons remarqué, à partir du la **Figure 08**, une variabilité des teneurs en flavonoïdes totaux ( $P \leq 0,05$ ). La meilleure teneur enregistrée a été pour l'extrait acétonique ( $5,98 \pm 0,09$  mg EAG/g), suivie de l'extrait méthanolique ( $3,98 \pm 0,13$  mg EAG/g) ; et enfin, l'extrait éthanolique avec ( $2,17 \pm 0,11$  mg EAG/g).

Il a été rapporté que les feuilles d'*Urtica dioica* sont riches en composés phénoliques, en acides organiques, en vitamine C et en sels minéraux **Ait Haj Saïd et al, (2016)**. Les teneurs en flavonoïdes obtenus dans la présente étude sont plus faibles par rapport à celles obtenues par **Kukric et al, (2012)**, qui sont successivement de  $20.29 \pm 0.48$  et  $208.37 \pm 4.39$  mg EQ/100g MS.

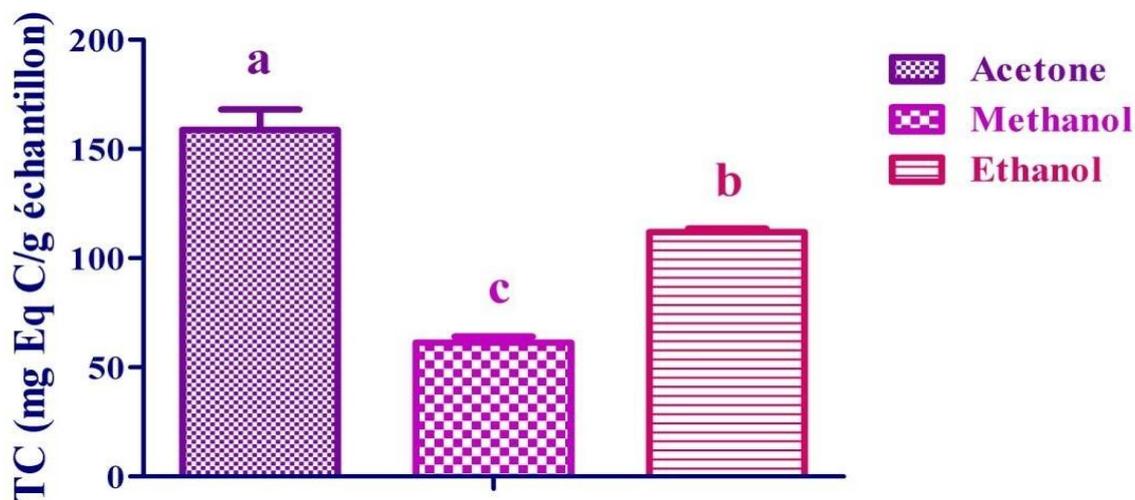
En effet, le contenu en flavonoïdes varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs à savoir les conditions météorologiques (facteurs environnementaux) telles que les précipitations et la température (**Nencu, 2014**). Ce changement est également associé au stade de maturation de la plante. Plus la plante est jeune, plus la teneur en flavonoïdes est élevée.

Les flavonoïdes se concentrent aussi principalement au niveau de l'extrait d'*Urtica pilulifera* ( $0,337 \pm 0,037$  mg EQ/30g MS), suivi par l'extrait d'*Urtica membranacea* ( $0,05 \pm 0,002$  mg EQ/30g MS), tandis que l'extrait d'*Urtica urens* détient une très faible quantité ( $0,005 \pm 0,0002$  mg EQ/30 g MS).

### 1.2.3 Teneur en tanins

La quantification des tanins condensés dans les extraits acétonique, éthanolique et méthanolique des feuilles d'*Urtica dioica* a été basée sur la condensation de la vanilline et des tanins dans des milieux acides et a été réalisée à l'aide d'un étalonnage linéaire. Elle est exprimée en mg d'équivalents de catéchine par gramme d'échantillon. Une courbe générée avec l'équation suivante en utilisant le catéchine comme standard (**Annexe 01**):  $Abs = 0,0024[C] - 0,0386$ ;  $R^2 = 0,992$ .

La présence de tanins dans les extraits de feuilles d'*Urtica dioica* L est confirmée par l'apparition d'une coloration rose claire après 15 min d'incubation, dont l'intensité dépend de la concentration en tanins dans l'extrait. Les résultats obtenus sont représentés dans la **Figure 09**.



**Figure 09 :** Teneur en tanins condensés dans les extraits d'*Urtica dioica* L.

Pour ce graphe, les valeurs suivies d'une lettre différente étaient significativement différentes ( $P < 0,05$ ). Les valeurs ont été exprimées en moyenne  $\pm$  ET ( $n = 3$ ).

Pour la plante étudiée, nous avons remarqué, à partir du la **Figure 09** une variabilité des teneurs en tanins ( $P \leq 0,05$ ). La meilleure teneur est enregistrée pour l'extrait acétonique ( $158,83 \pm 9,29$  mg EC/g), suivie de l'extrait éthanoïque avec une valeur de  $111,83 \pm 1,75$  mg EC/g; et enfin, l'extrait méthanolique ( $61,33 \pm 2,75$  mg EC/g).

**Ahmed et al, 2020** dans leur étude sur l'évaluation de la composition chimique et l'analyse des éléments d'*Urtica dioica* ont trouvé que la teneur en tanins était de 0,8 mg/100 g. Alors que **Zemmouri, 2015** a montré que l'extrait éthanolique d'ortie et aqueux et de  $6,29 \pm 1,03$  et  $3,14 \pm 0,60$ , respectivement.

Par ailleurs, **Lobna et al, 2016**, dans leur étude sur *Urtica urens* ont montré que l'acétone était le solvant le plus adapté pour l'extraction des tanins condensés avec une teneur de  $115,33 \pm 2,6$   $\mu$ g CE/g MS, suivi du méthanol avec une teneur de  $52,33 \pm 15,22$   $\mu$ g CE/g MS. Ce qui signifie que la variation de la teneur en tanins condensés varie significativement selon le type de solvant utilisé.

Cette variation peut s'expliquer par plusieurs facteurs génétiques, des conditions climatiques, de la maturité à la récolte et des conditions de stockage (**Pedneault et al, 2001**).

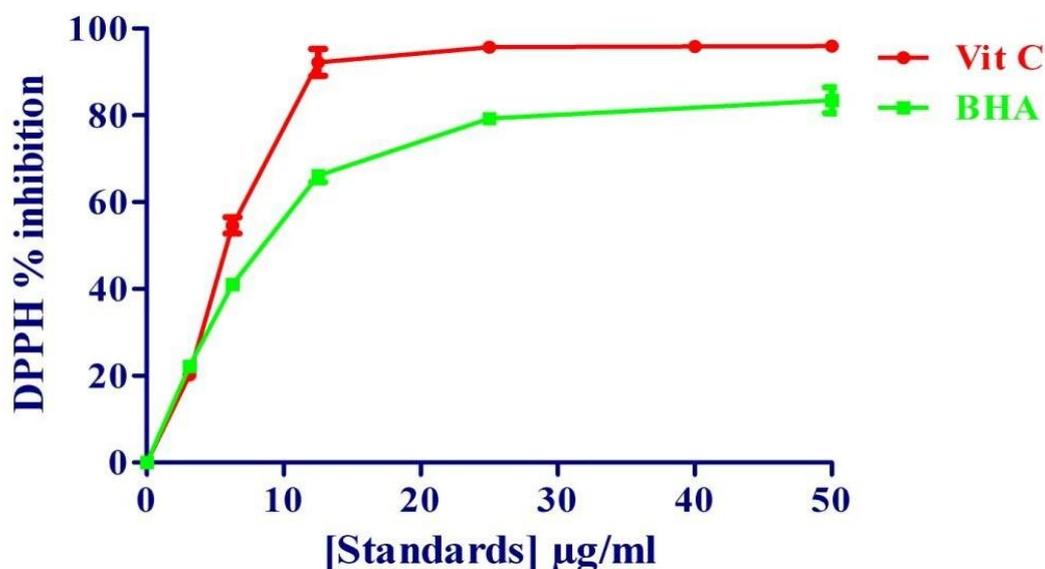
### 1.3 Activité antioxydante

L'activité antioxydante d'*Urtica dioica* L. a été démontrée par trois méthodes : méthode de piégeage des radicaux libres DPPH<sup>•</sup>, méthode de réduction des radicaux-cation ABTS<sup>•+</sup> et méthode de réduction du fer (FRAP).

Le pourcentage d'inhibition de DPPH<sup>•</sup> représente la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire la concentration de radicaux libres DPPH<sup>•</sup> de 50 %, produisant ainsi un paramètre IC<sub>50</sub> qui est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé. Une valeur IC<sub>50</sub> inférieure indique l'efficacité de l'extrait, c'est-à-dire un effet antioxydant plus fort (Sanchez, 1998).

#### 1.3.1 Piégeage du radical libre DPPH<sup>•</sup>

L'effet des antioxydants sur l'activité de piégeage du DPPH<sup>•</sup> est dû à leur capacité à donner des protons. Le DPPH<sup>•</sup> est un radical libre stable qui accepte les électrons ou les radicaux hydrogène pour devenir une molécule stable. Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> par les standards utilisés, la Vit C et la BHA sont représentés dans la **Figure 10**.

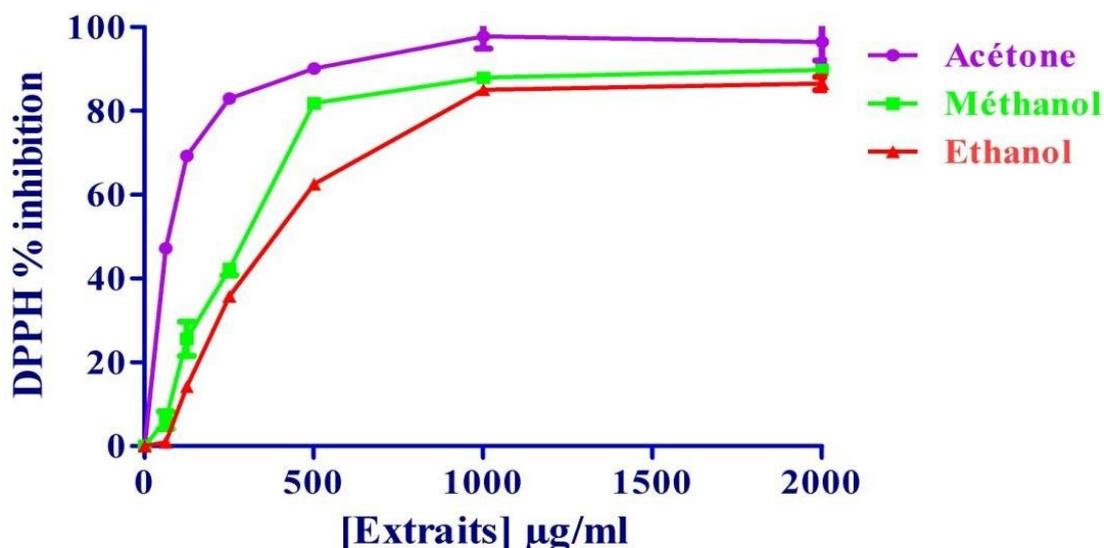


**Figure 10** : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> en fonction de la concentration des standards, BHA et Vit C.

D'après la **Figure 10**, on constate que la Vit C est plus efficace que la BHA avec un taux d'inhibition maximal de l'ordre de (95,98± 0,50) et (83,49± 2,98); respectivement, atteints à la concentration de 50 µg/mL.

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> par les extraits utilisés, acétone,

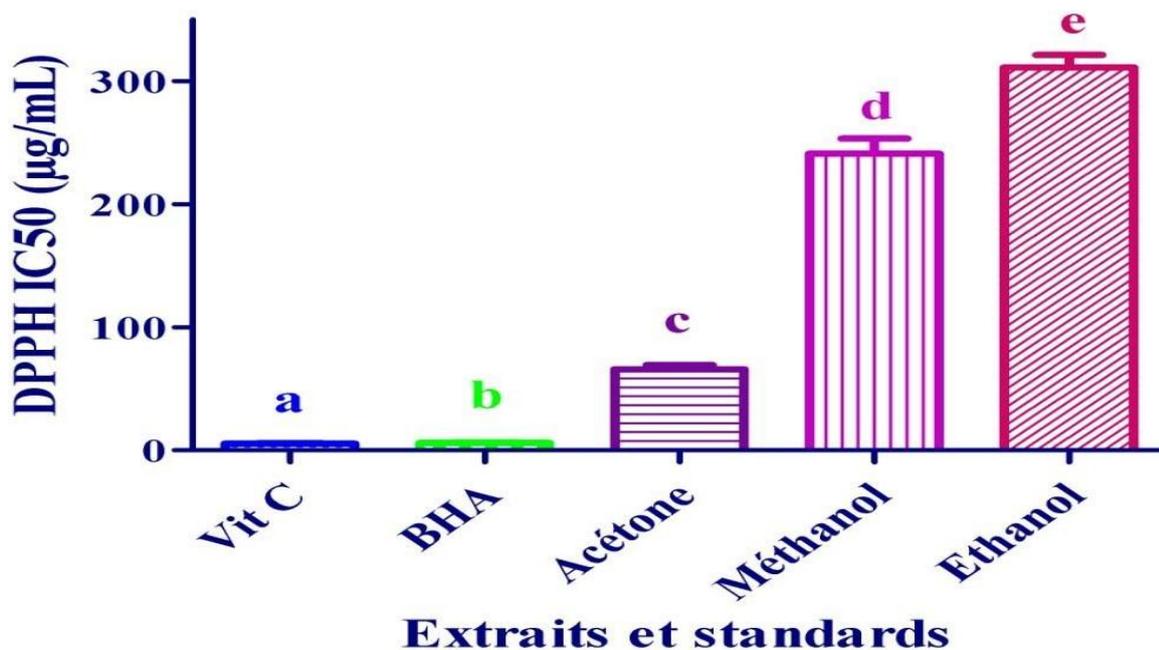
méthanol et éthanol sont représentés dans la **Figure11**.



**Figure 11:** Pourcentage d’inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration des extraits.

D’après la **Figure 11**, l’activité anti-oxydante des extraits dans un ordre décroissant est comme suit : acétone puis Méthanol puis Éthanol de l’ordre de :  $(90,14 \pm 0,73)$ ,  $(81,91 \pm 0,14)$  et  $(62,56 \pm 0,32)$ , respectivement, atteints à la concentration de 500 µg/mL .

L’activité scavenger du DPPH a été représentée par l’IC50 dans la **Figure 12**.



**Figure 12 :** Valeurs des IC50 des extraits acétonique, méthanolique et éthanolique d’*Urtica dioica* du radical DPPH.

Pour ce graphe, les valeurs suivies d'une lettre différente étaient significativement différentes ( $P < 0,05$ ). Les valeurs ont été exprimées en moyenne  $\pm$  ET ( $n = 3$ ).

L'extrait acétonique de feuilles d'*Urtica dioica* a donné la plus faible valeur d'IC50 qui est de  $65,76 \pm 3,38 \mu\text{g/mL}$ , ce qui désigne une meilleure activité anti-radicalaire par rapport à l'extrait méthanolique dont l'IC50 était de l'ordre de  $240,93 \pm 12,37 \mu\text{g/mL}$  et de l'extrait éthanolique dont l'IC50 était de l'ordre de  $311,2 \pm 10,05 \mu\text{g/mL}$ . Les valeurs d'IC50 des standards vit C et BHA sont de  $5,47 \pm 0,16$  et  $6,03 \pm 0,13 \mu\text{g/mL}$ , successivement.

Comme mentionné précédemment, des quantités accrues de composés polyphénoliques dans les extraits de feuilles d'*Urtica dioica* étaient associées à une activité antioxydante accrue du DPPH. En termes de capacité antioxydante, l'extrait acétonique d'*Urtica dioica* a présenté l'activité antioxydante la plus élevée dans tous les tests, suggérant une forte association avec la teneur élevée en composés phénoliques de cet extrait.

D'après **Semalty et al, (2010)**, les effets antioxydants des extraits de méthanol et d'éthanol d'*Urtica dioica* ont été étudiés à l'aide du test DPPH. Dans cette étude, l'extrait de méthanol avait une meilleure activité antioxydante que l'extrait d'éthanol.

**Deliorman et al, (2012)**, a trouvé que l'extrait *Urtica dioica* a une activité de balayage des radicaux DPPH $\cdot$  de  $21,5 \pm 0,2 \mu\text{g/mL}$ ,

**Kukrica et al, (2012)**, Dans leur études de l'activité antioxydante totale des feuilles d'ortie ont été comparées en utilisant radical libre stable DPPH $\cdot$  (les valeurs ont été exprimées en IC50), il a été montré que l'éthanol l'extrait de feuilles d'ortie avait une activité antioxydante significativement plus élevée ( $31,38 \mu\text{g. mL}^{-1}$ ) que certains des extraits de méthanol allant de  $1,45 \text{ mg. mL}^{-1}$  et  $105,16 \mu\text{g. mL}^{-1}$ , à  $175 \mu\text{g. mL}^{-1}$ .

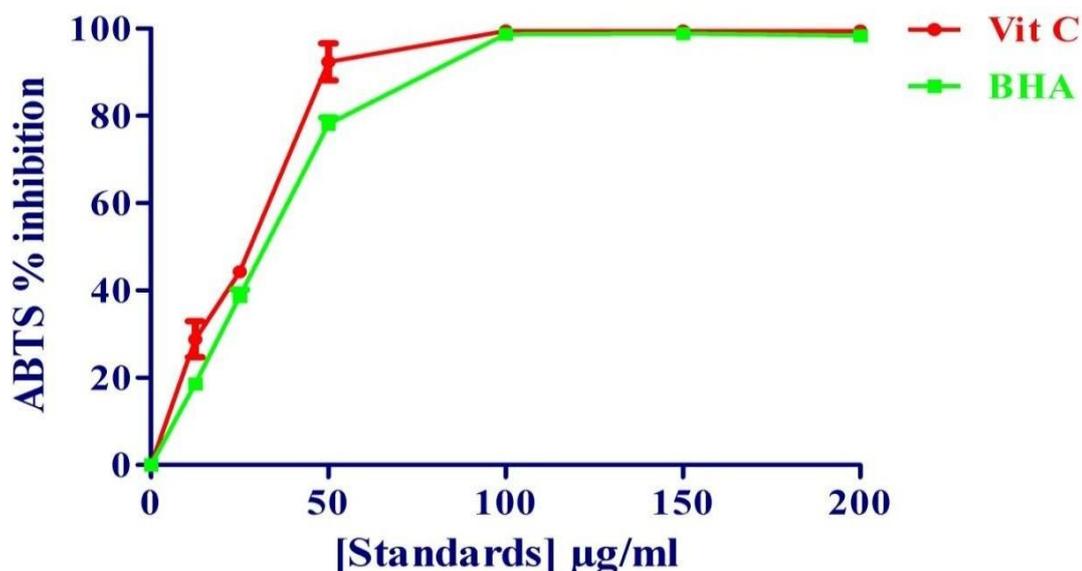
**Zemmouri (2015)** a trouvé l'IC50 par la méthode DPPH de l'extrait éthanolique d'*Urtica dioica* est de  $95,21 \pm 1,71 \mu\text{L/mL}$  et pour l'extrait aqueux  $152,34 \pm 0,37 \mu\text{L/mL}$  sont comparés à deux antioxydants standard BHT et Vit C de  $289,27 \pm 6,23$ ,  $167,47 \pm 1,40 \mu\text{L/mL}$ , respectivement.

En effet, L'activité antioxydante dans l'extrait dépend de la nature de solvant utilisé et sa dose dans les l'extraits d'ortie (**Kataki et al, 2012**).

### 1.3.2 Activité Scavenger du radical ABTS $\cdot+$

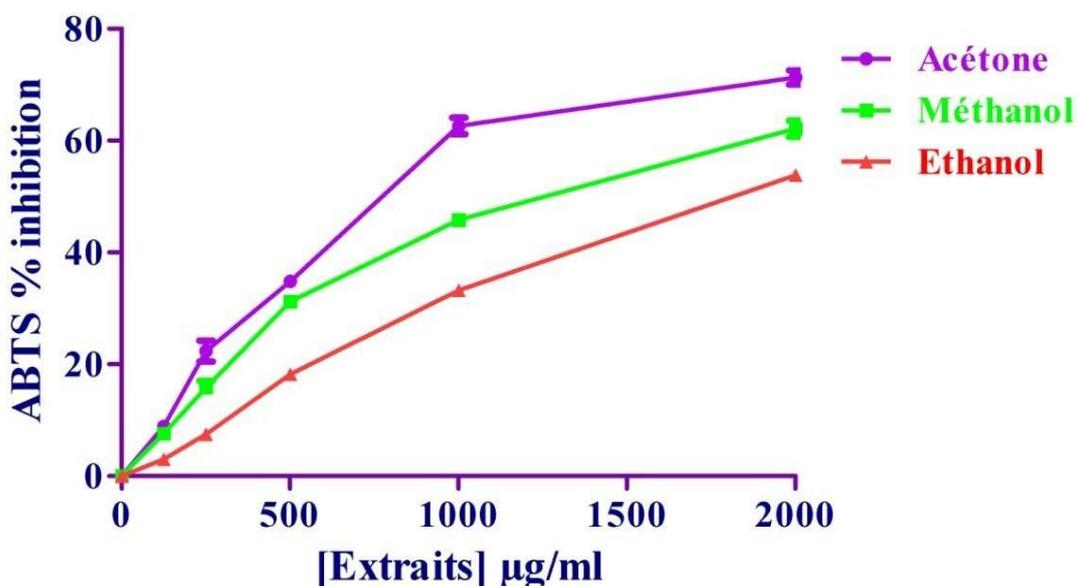
L'activité Scavenger du radical ABTS $\cdot+$  des extraits acétonique, éthanolique et méthanolique de feuilles d'*Urtica dioica* a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire tracée en utilisant le Trolox comme standard (**Annexe 01**), avec l'équation :  $\text{Abs} = 297,74 [\text{Trolox}] - 0,5017$ ;  $R^2 = 0,9994$ . Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS $\cdot+$

par le standard utilisé, et représente dans la **Figure 13**.



**Figure 13:** Pourcentage d'inhibition du radical ABTS•+ des extraits d'urtica dioica.

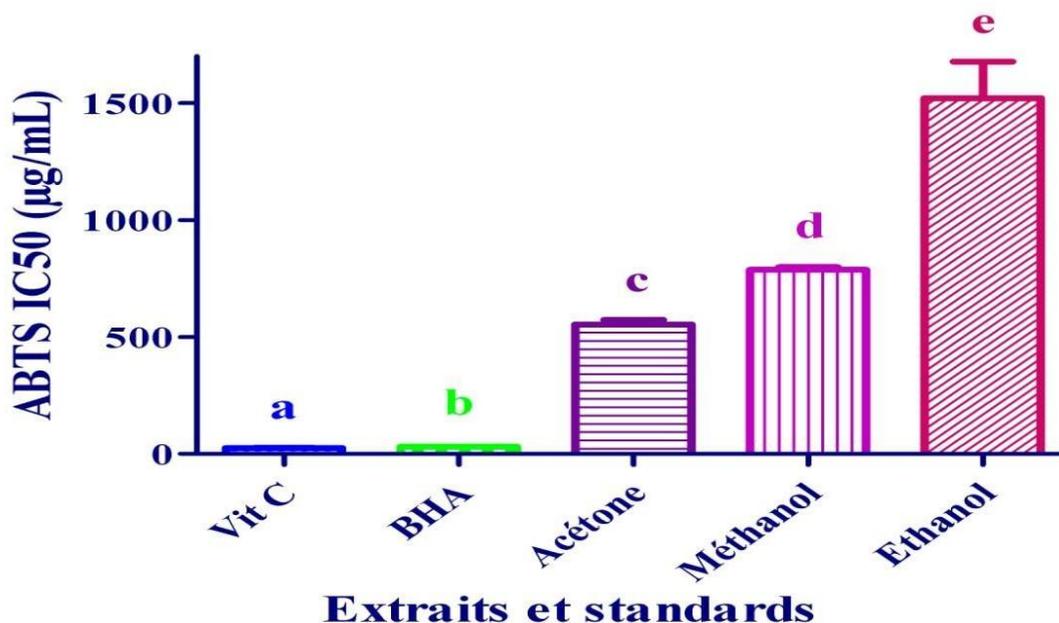
La **Figure 13** montre que la Vit C est plus efficace que la BHA avec un taux d'inhibition maximal de l'ordre de  $(92,37 \pm 4,27)$  et  $(98,39 \pm 0,64)$ ; respectivement, atteints à la concentration de 50 µg/mL.



**Figure 14:** Pourcentage d'inhibition du radical ABTS•+

D'après ces résultats on constate que l'activité anti-radical ABTS•+ est dose dépendante ; l'inhibition augmente avec la concentration. avec un pourcentage d'inhibition maximal du radical ABTS•+ en fonction des concentrations des extraits dans un ordre décroissant est comme suit : Acétone puis Méthanol puis Éthanol de l'ordre de :  $(8,93 \pm 0,84)$ ,  $(7,65 \pm 0,65)$  et  $(3,00 \pm 0,26)$  respectivement, et sont statistiquement significatifs ( $p < 0,05$ ).

Dans l'intention de comparer l'efficacité des extraits de feuilles d'*Urtica dioica*, les IC50 ont été déterminée expérimentalement et présentés dans la **Figure 15**. L'extrait acétonique a donné la plus faible valeur d'IC50 qui est de  $553,7 \pm 20,00 \mu\text{g/mL}$ , ce qui désigne une meilleure activité par rapport à l'extrait méthanolique dont l'IC50 était de l'ordre de  $786,36 \pm 11,25 \mu\text{g/mL}$  et de l'extrait éthanolique dont l'IC50 était de l'ordre de  $1521 \pm 155,65 \mu\text{g/mL}$  ( $P \leq 0,05$ ). Les valeurs des IC50 des standards vit C et BHA sont de  $24,92 \pm 1,32$  et  $30,23 \pm 0,54$  ( $P \leq 0,05$ ), respectivement.



**Figure 15 :** Valeurs des IC50 des extraits acétonique, méthanolique et éthanolique d'*Urtica dioica* du radical ABTS<sup>•+</sup>.

Pour ce graphe, les valeurs suivies d'une lettre différente étaient significativement différentes ( $P < 0,05$ ). Les valeurs ont été exprimées en moyenne  $\pm$  ET ( $n = 3$ ).

D'après **Yen et Duh (1994)**, il existe une corrélation importante entre la teneur des polyphénols et leurs capacités antioxydantes, ce qui indique que les polyphénols sont des composés principaux qui contribuent à l'efficacité de cette activité.

D'après **Kukric et al, (2012)**, les feuilles d'ortie ont la capacité d'inhiber les radicaux ABTS<sup>•+</sup>. Les résultats montrent que les extraits à l'éthanol ont une activité antioxydante significativement plus faible avec une valeur IC50 de  $23,55 \mu\text{g. mL}^{-1}$ , par rapport aux antioxydants témoins standard tels que la vitamine C, BHA avec des valeurs de  $1,37$  et  $1,72 \mu\text{g. mL}^{-1}$ , respectivement. Ces valeurs montrent que l'extrait d'ortie a une activité antioxydante 17,2 fois inférieure à celle de la vitamine C, 13,7 fois inférieure à celle du BHA.

**Taheri et al, 2022** dans leur étude sur l'extrait méthanol et l'éthanol de racine d'*Urtica* a montré une activité de piégeage des radicaux libres de 46,71 % et 45,03 % à 500

$\mu\text{g/mL}$ , respectivement. Ces résultats sont semblables à ceux de notre étude que l'extrait éthanolique à une faible activité par rapport aux autres extraits.

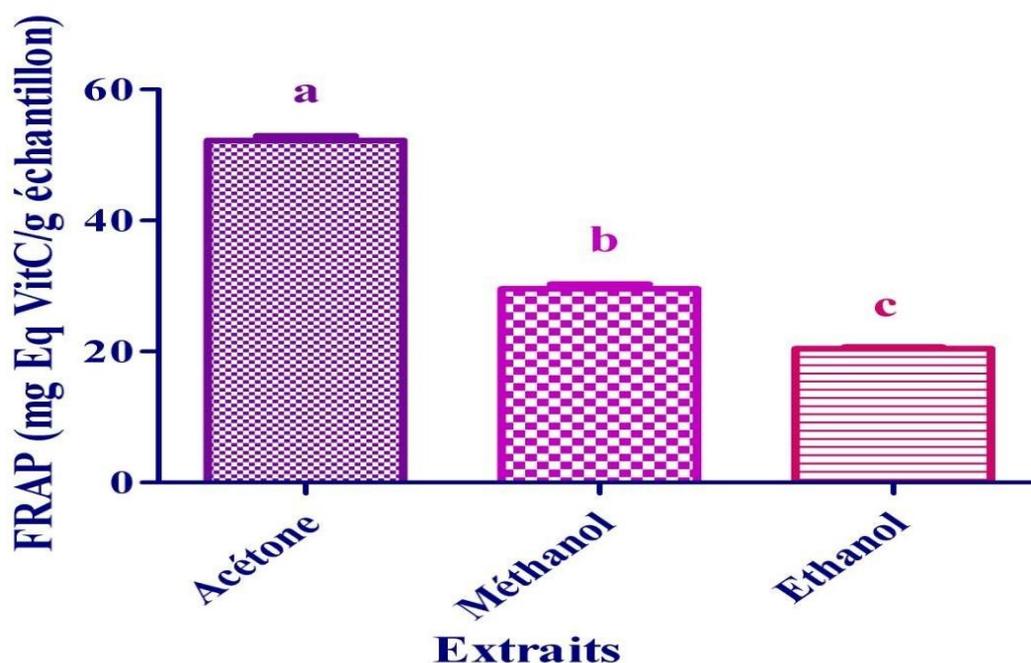
### 1.3.3 Pouvoir réducteur

Le principe de cette méthode est d'évaluer la capacité d'un échantillon à donner des électrons pour convertir le  $\text{Fe}^{3+}$  en  $\text{Fe}^{2+}$ . Cette forme est quantifiée par la mesure de la couleur bleu-vert du complexe à 700 nm. Une absorbance élevée indique un pouvoir réducteur élevé de l'échantillon (Barros et al, 2007).

Dans cette étude, l'acide ascorbique a été utilisé pour obtenir une courbe d'étalonnage (Annexe 01) avec l'équation suivante :

$$\text{Abs} = 0,0156 [\text{Vit C}] - 0,0375 ; R^2 = 0,995.$$

Les résultats du pouvoir réducteur des différents extraits d'*Urtica dioica* L, sont représentés dans la **Figure 16**.



**Figure 16:** Pouvoir réducteur des différents extraits d'*Urtica dioica* L.

Pour la plante étudiée, nous avons remarqué, à partir du la **Figure 16** une variabilité d'activité de pouvoir réducteur. La meilleure teneur est enregistrée pour l'extrait acétonique ( $52,23 \pm 0,69 \text{ mg E Vit C/ g d'E}$ ), suivi de l'extrait méthanolique ( $29,57 \pm 0,71 \text{ mg E Vit C/ g d'E}$ ), et enfin, l'extrait éthanolique avec  $20,42 \pm 0,27 \text{ mg E Vit C/ g d'E}$ .

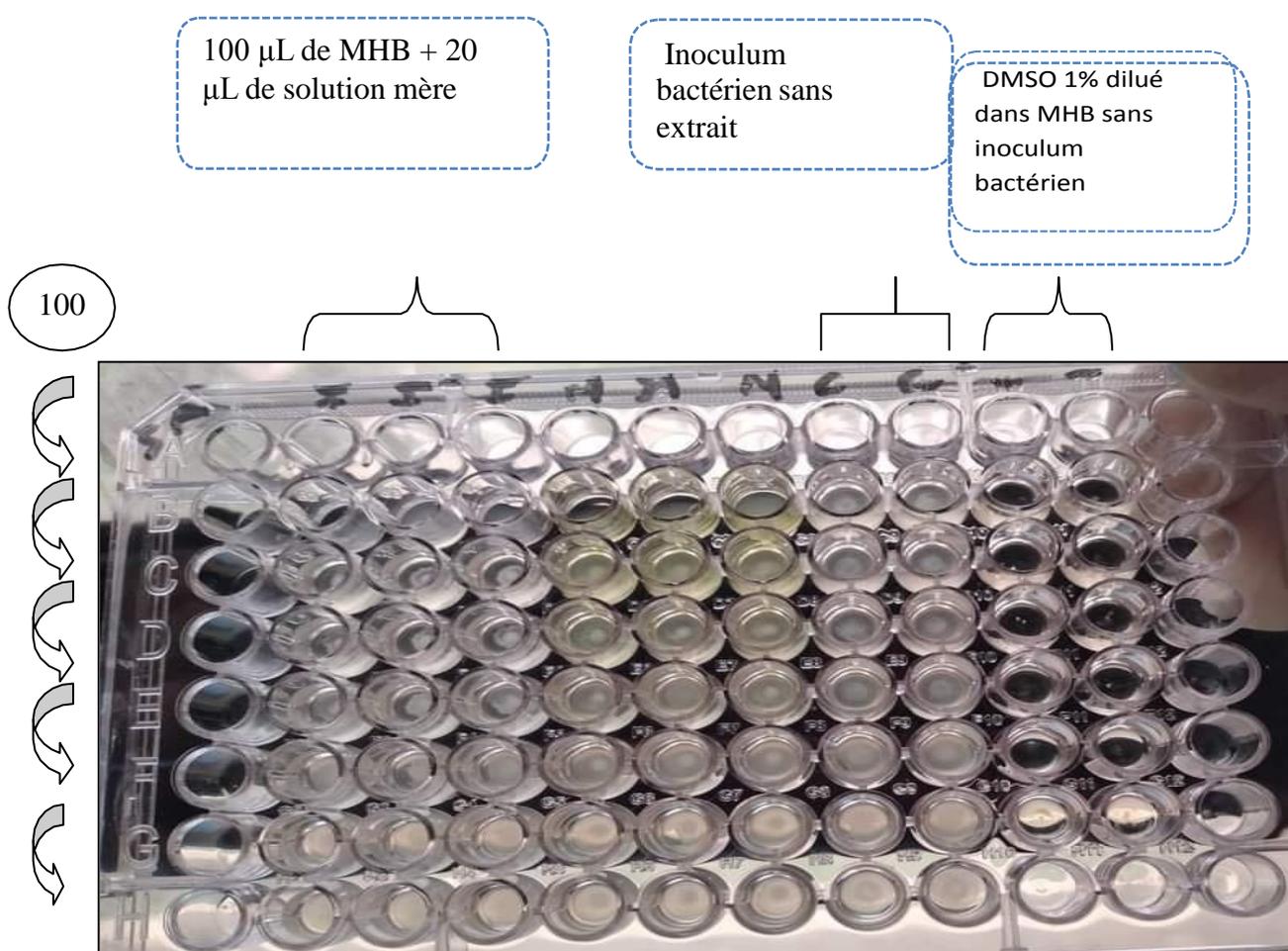
Kukrić (2012) dans l'étude sur l'activité antioxydante des feuilles d'*Urtica dioica* L. mesurée à l'aide de la méthode FRAP, montre que l'extrait d'éthanol a une activité antioxydante significativement plus élevée ( $7,50 \pm 0,43 \mu\text{g. ml}^{-1}$ ).

## 1.4 Activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne de l'extrait de feuilles d'*Urtica dioica*, à concentration maximale de 1 mg/mL, a été évaluée à l'aide de la méthode de dilution en microplaque, en utilisant le solvant DMSO (1%) comme contrôle négatif.

### 1.4.1 Résultats des CMI et CMB

Les CMI des différents échantillons sont évaluées visuellement en fonction de la présence ou de l'absence d'un trouble causé par la croissance bactérienne testée dans chaque puits. La Figure 30 montre les données de concentration minimale inhibitrice associées aux deux souches testées dans cette étude (*E. coli*, *S. aureus*).



**Figure 17 :** Effet d'extrait d'*Urtica dioica* sur les bactéries étudiées (*E. coli*, *S. aureus*)

Les résultats du DMSO (1%), testé comme contrôle négatif, montrent que le solvant dilué dans le milieu de culture ne présente aucun effet sur la croissance des souches bactériennes avec l'apparition d'une croissance de bactéries visible à l'œil nu dans tous les puits correspondants. De même, les tests effectués sur toutes les souches d'extrait d'acétone à différentes concentrations n'ont montré aucune activité antibactérienne contre ces

organismes (*E. coli* et *S. aureus*). La Figure 30 confirme la croissance bactérienne après application de l'extrait d'*Urtica dioica* à une concentration maximale de 1 mg/mL correspondant aux puits avec un trouble moins prononcé que ceux des concentrations les plus faibles. Cette figure montre que l'extrait d'*Urtica dioica* n'a aucun effet inhibiteur sur les germes étudiés.



**Figure 18 :** Effet de l'extrait acétonique des feuilles d'*Urtica dioica* sur A) *S. aureus* et B) *E. coli*.

D'après **Kukrić et al, 2012**, l'extrait éthanolique des feuilles d'ortie n'a pas inhibé la croissance d'*E. coli* ATCC 9837, contrairement à l'extrait aqueux qui a montré une activité antibactérienne considérable.

En outre, nos résultats sont différents de ceux obtenus par **Dar et al, 2012** dans leur étude sur l'activité antimicrobienne d'*Urtica dioica* en testant quatre extraits, à savoir l'hexane, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le méthanol, contre sept souches bactériennes. Les résultats des CMI étaient de 125, 15,62, 31,25, 250, 31,25, 125 et 7,81 µg/mL contre *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. flexneri* et *S. typhi*, respectivement. En effet, l'extrait de cette plante a montré une bonne activité antimicrobienne.

L'efficacité de l'extrait d'*Urtica dioica* a été aussi démontrée par **Ghaedi et al, (2015)** avec une concentration de 25 µg/mL vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* avec des diamètres d'inhibition de : Ø = 10,34mm et Ø = 8,50, successivement. Après l'augmentation de la concentration de l'extrait à 100 µg/ml, une amélioration significative de l'activité a été observée contre *E. coli* (Ø = 16,50 mm), et *S. aureus* (Ø = 10,90 mm).

En effet, d'après **Daoudi et al, 2015**, le manque d'efficacité bactériostatique ou bactéricide contre les différentes souches testées peut être dû à la résistance des souches ou à des quantités et concentrations utilisées qui sont insuffisantes. De plus, **Hayouni et al, (2007)** ont montré que la méthode d'extraction et la nature du solvant peuvent influencer l'activité antibactérienne des composés phénoliques des plantes.

## *Conclusion et perspectives*

Les différentes plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, capables d'exercer un effet équivalent à celui des médicaments et ce grâce à la nature chimique de ces constituants majoritaires. Nous nous sommes penchés sur l'analyse phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits acétonique, méthanolique et éthanolique.

L'étude phytochimique a montré que l'extrait des feuilles est plus riche en polyphénols et flavonoïdes. Cette étude a abouti aux résultats suivants :

La teneur en polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle que l'extrait acétonique, méthanolique et éthanolique d'*Urtica dioica* était de l'ordre de :  $(197,33 \pm 1,54)$ ,  $(151,16 \pm 1,25)$  et  $(82,11 \pm 6,11)$  mg EAG/g E, respectivement.

La teneur en flavonoïdes en adoptant la méthode de trichlorure d'aluminium révèle que l'extrait acétonique, méthanolique et éthanolique d'*Urtica dioica* était de l'ordre de :  $(5,98 \pm 0,09)$ ,  $(3,98 \pm 0,13)$  et  $(2,17 \pm 0,11)$  mg EQ/g E, respectivement.

La teneur en tanins condensés par la méthode de la vanilline-HCl révèle que l'extrait acétonique, méthanolique, éthanolique d'*Urtica dioica* est de l'ordre de :  $(158,83 \pm 9,29)$  ;  $(61,33 \pm 2,75)$  ;  $(111,83 \pm 1,75)$  mg EC/gE, respectivement.

L'activité antioxydante, déterminée par DPPH, ABTS et pouvoir réducteur, montre que les composés phénoliques ont une activité importante.

L'étude de l'activité antibactérienne de ces substances bioactives, sur deux souches bactériennes, montre que *S. aureus* et *E. coli* testés ne sont pas sensibles à l'extrait d'*Urtica dioica*, ce qui peut être expliqué par la multi-résistance de ces bactéries.

En perspectives, il serait intéressant de mener une étude plus approfondie afin :

- D'identifier ces principes actifs à l'aide des méthodes plus précises : HPLC et RMN.
- Déterminer les fractions les plus actives et éventuellement de caractériser les molécules responsables de ces activités et évaluer d'autres activités comme l'activité anti-inflammatoire.
- Etude de la toxicité *in vivo* afin de la mise en place des traitements naturels mieux tolérés.

# **Bibliographiques**

**A**

- **Ahmed ;B. Meryem, M.** (2020). *Composition chimique et propriétés biologiques des polyphénols de l'ortie (Urtica dioica L.)* (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat, UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM).
- **Ait Haj said A, Derfoufi S, Benmoussa A.** Mise en valeur du potentiel nutritionnel et thérapeutique de l'ortie dioïque (*Urtica dioica L.*). *Hegel* 2016;6 :3-13.
- **Alilou M.** Les tanins condensés: Propriétés et applications en œnologie. *Techniques de l'ingénieur* 2012 :1-15.
- **Annie, S., Arun, S., Kuppusamy, R., Issac S.R.O.** In Vitro Antioxidant Studies on the Benzyl Tetra Isoquinoline Alkaloïde Berberine. *Indian biology and pharmacology bulltin* 2006; 29(9): 1906-1910.
- **Avissar, N., Finkelstein, J.N., & Horowitz, S.** The enzymatic antioxidants: a function of pulmonary epithelial lining fluid. *Journal of applied physiology* 1989; 67(5): 1887-1893.

**B**

- **Benouda, A., Tagajdid, M.R.** AntibioGramme: choix, interpretation et limites. *Les technologies de laboratoires* 2008 ; 10 : 16-20.
- **Benzie, I. F., & Strain, J. J.** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry* 1996; 239(1): 70-76.
- **Benzohra, I. E., Megateli, M., Elayachi, B. A., Zekraoui, M., Djillali, K., Bouafia, A., & Benouis, S.** *Journal Algérien des Régions Arides (JARA)* 2019;13(2), 01-11.
- **Berger, M. M.** Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clinical Nutrition* 2006; 25(1), 137-152.
- **Bertrand, B.** *Les secrets de l'ortie. Le Compagnon Végétal* ,10ème édition, Terran, 2008
- **Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology* 1995; 28(1): 25-30.
- **Brigelius-Flohé, R. & Traber, M. G.** Vitamin E: function and metabolism. *FASEB journal* 2019; 3: 2005-2016.

**C**

- **Capasso, R.** Antioxidant action and therapeutic efficacy of *Allium sativum* L. *Molecules* 2013; 18(1):690-700.
- **Carange, J., & Yannick, S.** Radical libre et stress oxydant. *EMC-Pathologie Professionnelle et de l'Environnement* 2010 ; 7(3) : 1-9.
- **Carr, A. C., & Frei, B.** Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1999; 69(6): 1086-1107.
- **Chaussade, H., Sunder, S., Bernard, L., Coloby, P., Guy, L., Karsenty, G., Bruyère, F.** Les médicaments antibiotiques en urologie. *Progrès en urologie* 2013; 23(15): 1327-1341.
- **Chen, H., Huang, G., & Xiao, J.** Spectrophotometric method for the determination of antioxidant activity using 2,2'-Azinobis (3- ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) radical cation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1997; 45(3): 793-797.

**D**

- **Daoudi, A., Sabiri, M., Bammou, M., Zair, T., Ibijbijen, J., Nassiri, L.** Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica*: *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L. *Journal of Applied Biosciences* 2015 ; 87:8094– 8104 .
- **Dar SA, Yousuf AR, Ganai FA, Sharma P, Kumar N, Singh R.** Bioassay guided isolation and identification of anti-inflammatory and anti-microbial compounds from *Urtica dioica* L. (*Urticaceae*) leaves. *Afr. J. Biotechnol.* 2012; 11(65):12910-12920.
- **Delarosa M. A. S, Silva D. P, Lopes L. A. C, Figueiredo P. S, Silva R. F.** Flavonoids: Chemical structure, properties and their beneficial effects on health. *Revista de Nutrição* 2019:32.
- **Deliorman Orhan D., Ozcelik, B., & Hoşbaş., S., Vural, M.** Assessment of antioxidant, antibacterial, antimycobacterial, and antifungal activities of some plants used as folk remedies in Turkey against dermatophytes and yeast-like fungi. *Turkish Journal of Biology* 2012; 36, 672– 686.
- **Delvaile, D.** L'ortie, une plante riche en nutriments. *Phytothérapie* 2013; 11(1), 37-40.

- **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 2006; 97(4): 654-660.
- **Draghi, F.** L'Ortie dioïque (*Urtica dioica* L.) : étude bibliographique. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Henri Poincaré Nancy 2005 :89.

### F

- **Favier, A.** Le stress oxydant. *L'actualité chimique* 2003;108(10) : 863-832.
- **Fennane M, Tattou M, Mathez J, Ouyahya A, El oualidij.** Flore pratique du Maroc. Manuel de détermination des plantes vasculaires. *Travinstscisér* 1999: 558.
- **Fleurentin, J.** Plantes médicinales tradition et thérapeutique, éditions Ouest-France, France B.U.Santé Nantes 2008 :104-105.
- **Fontanay, S., Mougnot, M.E., Duval, R.E.** Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires. *Hegel* 2015 ; 5(2) : 109 - 118.

### G

- **Ghaedi M., Naghiha R., Jannesar R., Dehghanian N., Mirtamizdoust B. Pezeshkpour V.** Antibacterial and antifungal activity of flower extracts of *Urtica dioica*, *Chamaemelum nobile* and *Salvia officinalis*: Effects of Zn [OH]<sub>2</sub> nanoparticles and Hp-2-minh on their property. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 2015; 32: 353-359.
- **Ghedira, K., Goetz, P, Jeune, R.** *Urtica dioica* L., *Urtica urens* et/ou hybrides (*Urticaceae*). *Phytothérapie* 2009; 7(5) : 279.

### H

- **Haleng, J., Bassand, D., & Droz, P. O.** Oxydation et stress oxydant. *Revue Médicale Suisse* 2007 ; 3(133) : 1681-1685.
- **Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M.** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food chemistry* 2007; 105(3): 1126-1134.

- **Hurrell, R, Egli, Wieser, S. Iron bioavailability, dietary reference values and I.** The American journal of clinical nutrition 2010; 91(5):461-1467.

**J**

- **Janssen, A.M., Scheffer, J.J., Baerheim Svendsen, A., Klocke, E.** Antimicrobial activity of essential oils: a 1976–1986 literature review. Aspects of the test methods. *Planta Med*1987; 53, 395–398.

**K**

- **Kataki MS, Murugamani V, Rajkumari A, Mehra SP, Awasthi D, Yadav RS.** Antioxidant, Hepatoprotective and Anthelmintic Activities of Methanol Extract of *U. dioica* L. Leaves. *Pharm. Crops* 2012 ; 3:38-46.
- **Kregiel, D, Pawlikowska, E, Antolak, H, Ulański, P, Sławińska, A.** *Urtica* spp Ordinary plants with extraordinary properties. *Molecules* 2018; 23(7):1664.
- **Kukrić, Z. Z., Topalić-Trivunović, L. N., Kukavica, B. M., Matoš, S. B., Pavičić, S. S., Boroja, M. M., & Savić, A. V.** Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L.). *Acta periodica technological* 2012; (43): 257-272.
- **Kukrića, Z., Topalić, L., Kukavicab, B., Matoša, S., Pavičića, S., Borojab,M., & Savića, A.** Charactisation of antioxydant and antimirobienne activitis of nettle leaves (*Urtica dioica* L.) 2012.
- **KURESH, G. T., KASHYAP, D., BHAT, Z. A., & BHAT, H. K.** *Coumarins: a versatile class of phytochemicals. Journal of Applied Pharmaceutical Science*2022; 12(01), 146-152.

**L**

- **Lahouel, M., Boulkour, S., Segueni, N., Fillastre, J.P .** The flavonoids effect against
- vinblastine, cyclophosphamide and paracetamol toxicity by inhibition of lipid peroxydation
- and increasing liver glutathione concentration. *Pathologie Biologie*2004; 52: 314-322.
- **Lachguer, K., El Ouali, M., Essaket, I., El Merzougui, S., Cherkaoui, O., & Serghini, M. A.** Eco-friendly dyeing of wool with natural dye extracted from

Moroccan Crocus sativus L. flower waste. *Fibers and Polymers* 2021;22, 3368-3377.

- **Le, K., Chiu, F., Ng, K.** Identification and quantification of antioxidants in Fructuslycii. *Food chemistry* 2007; 105: 353-363.
- **Leinmuller E, Ruzicka J, Wimmer Z, Kostka V.** Study of the hydrolysis of hydrolysable tannins by high-performance liquid chromatography with pulsed amperometric detection. *Journal of Chromatography* 1991; 543: 137-146.
- **Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., Abete, P., & Della-Morte, D.** Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging* 2018; 13: 757–772.
- **Lobna, M., Salma, K. B. G., Sana, K., Kalthoum, C., Imene, O., & Abdelwaheb, C.** Antioxidant enzymes expression in *Pseudomonas aeruginosa* exposed to UV-C radiation. *Journal of Basic Microbiology* 2016 ;56(7), 736-740.

## N

- **Nauciel, C. et Vildé, J.L.** Bactériologie médicale. 2èmeEd. Masson, Paris,2005 ; 5,10.
- **Nencu, I., Gird, C. E., Costea, T., Duțu, L. E., Popescu, M. L., & Ciupitu,N.** Quantitative analysis of phenolic compounds from *Salvia officinalis* L.leaves. *Farmacia*2014 ;62(4), 649-657.

## P

- **Padayatty, S. J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J. H.,Levine, M.** Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition* 2003; 22(1): 18-35.
- **Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C.** Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science* 2008; 4(2):89-96.
- **Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J. O.** Mécanismes hysiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme* 2002 ; 16(4) : 233-239.

**R**

- **Rahman K.** Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging* 2007; 2:219-236.
- **Re, R., Pelliegrini, N., Posteggente, A.** Antioxydant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radicals in biology and biology medicine* 1999; 26 (9-10): 1231-1237.
- **Ribereau-Gayou, P.** Les composés phénoliques des végétaux. *Edition dunod.Paris*, 1968 : 105-133.
- **Roschek B Jr, Fink RC, Mc Michael M, Alberte RS.** Nettle extract (*Urtica Dioica*) affects key receptors and enzymes associated with allergic rhinitis. *Phytother Res* 2009; 23(7): 920-926.

**S**

- **Said, A. A. H., El Otmani, I. S., Derfoufi, S., & Benmoussa, A.** Mise en valeur du potentiel nutritionnel et thérapeutique de l'ortie dioïque (*Urtica dioica* L.). *Hegel* 2016; (3), 280-292.
- **Saifullah M, McCullom R, McCluskey A, Voung Q.** Effects of different drying methods on extractable phenolic compounds and antioxidant properties from lemon myrtle dried leaves. *Heliyon*. 2019; 5(12):1-8.
- **Sanchez-Moreno C., Larrauri Jose A., Saura-Calixto F. A.** Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 1998; 76(2): 270-276.
- **Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M.** Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am J Clin Nutr* 2005; 81:215-217
- **Sehari, M., Kouadria, M., Amirat, M., Sehari, N., & Hassani, A.** (2020). Phytochemistry and antifungal activity of plant extracts from Nettle (*Urtica dioica* L.). *Ukrainian Journal of Ecology* 2020;10(1), 1-6.
- **Semalty, M.; Semalty, A.; Rawat, B.; Singh, D.; Joshi, G.; Rawat, M.** In- vitro antioxidant activity of roots of *Urtica dioica* (Nettle). *Indian Drugs* 2010; 47: 55–58.
- **Singleton, V. L., & Rossi, J. A.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture* 1965;16(3), 144-158.

- **Sohal, R. S.** Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process. *Free Radical Biology and Medicine* 2002; 33(1): 37-44.
- **Steven, P., Rachel, C., Martha, E., Paul, H., Jane, S. et Peter, W. J.** Microbiology of Waterborne Diseases. *Academic Press. Elsevier* 2004: 71- 132.

**T**

- **Taheri, Y., Quispe, C., Herrera-Bravo, J., Sharifi-Rad, J., Ezzat, S. M., Merghany, R. M., Cho, W. C.** Urtica dioica-derived phytochemicals for pharmacological and therapeutic applications. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2022.*
- **Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H.** Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of food composition and analysis* 2006; 19(7): 669-675.
- **Toubal, K.** Importance de l'association plante-micro-organismes Rhizobium frankia pour la fixation biologique d'azote atmosphérique par les plantes. *Revue Algérienne des Sciences Agronomiques* 2018 ; 4(2) :135-142.

**U**

- **Eloff, J.N.** Which extractant should be used for the screening and isolation of Antimicro-bial components from plants. *Journal of Ethno-pharmacology*1998; 60: 1-8
- **Upton, R.** Stinging nettles leaf (Urtica dioica L.): Extraordinary vegetable medicine. *Journal of Herbal Medicine* 2013 ; 3(1) : 9-38.
- **Uttara, B., Singh, A. V., Zamboni, P., Mahajan, R. T.** Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Current neuropharmacology* 2009; 7(1): 65-74.

**V**

- **Vanden Berghe, D. A., Vlietinck, A. J.** Plant products as potential antiviral agents. *Bulletin of the World Health Organization* 1991; 69(5): 623-626.

**W**

- **Wink M.** Introduction: Biochemistry, Physiology and Ecological Functions of Secondary Metabolites. In *Annual Plant Reviews Online* 2010:1-19.

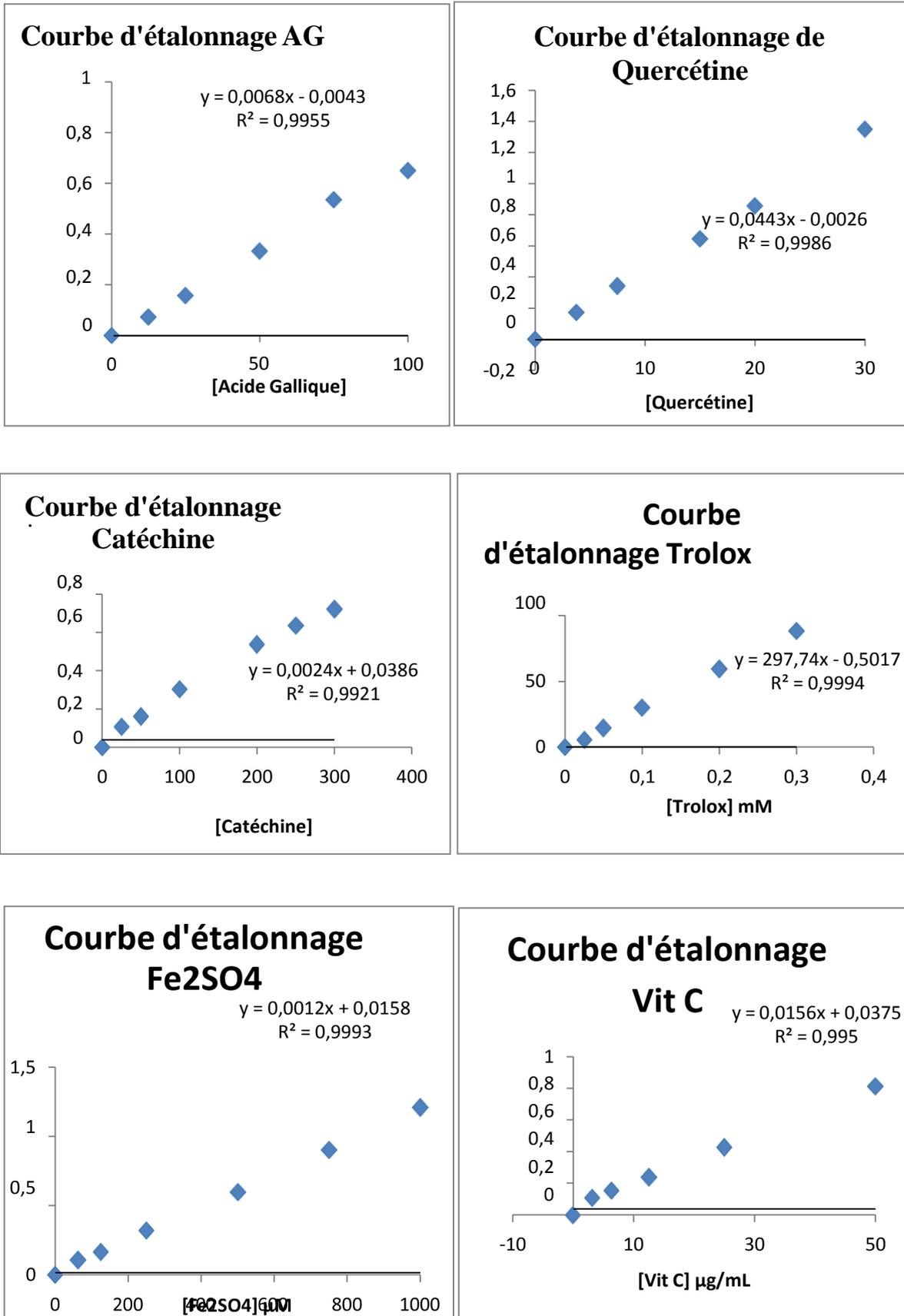
**Y**

- **Yen GC, Duh PD.** Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active-oxygen species. *J. Agric. Food Chem* 1994; 42:629-632.

**Z**

- **Zaika, L.** Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination 1. *Journal of food safety* 1988 ; 9(2), 97-118.
- **Zemmouri, H.** Etude des activités biologiques et effets comparatifs de *Borago officinalis* & *Urtica dioica* sur l'inflammation bronchique dans un modèle d'asthme expérimental chez les rats de la souche Wistar. Thèse de Doctorat en biochimie appliquée. Université Badji Mokhtar Annaba 2015 ; 79-84.
- **Zhang QW, Lin LG, Ye WC.** Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chin Med.* 2018; 13(1):1-26.
- **Ziegler J, Facchini PJ.** Alkaloid biosynthesis: metabolism and trafficking. *Annual Review of Plant Biology* 2008; 59:735-769.

# **Annexe**

**Annexe 01** : Courbes d'étalonnage

**Annexe 02** : Réactifs, matériel et produits utilisés.

<i>Produits et réactifs utilisés</i>	<i>Matériel</i>	<i>Appareillages</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ ABTS</li> <li>▪ Acétone</li> <li>▪ Acide ascorbique</li> <li>▪ Acide chlorhydrique</li> <li>▪ Acide gallique</li> <li>▪ Acide sulfurique</li> <li>▪ Bouillon</li> <li>▪ Butyl Hydroxy Anisol</li> <li>▪ Carbonate de sodium</li> <li>▪ Chlorure de baryum anhydre</li> <li>▪ Chlorure de fer</li> <li>▪ Diméthyle sulfoxyde</li> <li>▪ DPPH</li> <li>▪ Eau distillée</li> <li>▪ Eau physiologique stérile</li> <li>▪ Éthanol</li> <li>▪ Folin-Ciocalteu</li> <li>▪ FRAP</li> <li>▪ Gélose</li> <li>▪ Méthanol</li> <li>▪ Persulfate de potassium</li> <li>▪ Quercétine</li> <li>▪ Tampon acétate de sodium</li> <li>▪ TPTZ</li> <li>▪ Trichlorure d'aluminium</li> <li>▪ Trolox</li> <li>▪ vanilline</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Barreau magnétique</li> <li><input type="checkbox"/> Bec benzène</li> <li><input type="checkbox"/> Bêchers</li> <li><input type="checkbox"/> Boite de pétrie</li> <li><input type="checkbox"/> Cristallisoir</li> <li><input type="checkbox"/> Cuve</li> <li><input type="checkbox"/> Éprouvettes graduées</li> <li><input type="checkbox"/> Embout</li> <li><input type="checkbox"/> Erlenmeyer</li> <li><input type="checkbox"/> Flacons en verre</li> <li><input type="checkbox"/> Micropipette</li> <li><input type="checkbox"/> Microplaque</li> <li><input type="checkbox"/> Papier absorbant</li> <li><input type="checkbox"/> Papier aluminium</li> <li><input type="checkbox"/> Papier filtre</li> <li><input type="checkbox"/> Pense stérile</li> <li><input type="checkbox"/> Porte tubes</li> <li><input type="checkbox"/> spatule</li> <li><input type="checkbox"/> Tubes à essais</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Balance électrique</li> <li>▪ Plaque agitatrice</li> <li>▪ Moulin électrique</li> <li>▪ Spectrophotomètre</li> <li>▪ PH-mètre</li> <li>▪ Étuve</li> <li>▪ Haute</li> <li>▪ Vortex</li> <li>▪ Bain marie</li> </ul>

## Résumé

Notre travail s'inscrit dans le cadre de l'étude de la composition chimique, l'activité antioxydante et antibactérienne d'extrait préparé à partir de feuilles d'*Urtica dioïca* L. L'extraction a été réalisée par macération en utilisant l'acétone, l'éthanol et le méthanol. L'analyse phytochimique a révélé sa richesse en composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes et tanins) en quantités variables, conformément aux résultats du dosage par les méthodes: Folin-Ciocalteu, le trichlorure d'aluminium, et vanilline-HCl respectivement. L'évaluation du pouvoir antioxydant des différents extraits ont été réalisée grâce à trois méthodes: DPPH•, ABTS•+ et FRAP et ont présenté une bonne activité antioxydante, mais elle reste modérée par rapport aux antioxydants standards employés. Alors que l'étude de l'activité antibactérienne a été effectuée sur deux souches bactériennes (*E. coli* et *S. aureus*) par la méthode de microplaque et a montré aucune activité inhibitrice. Ces résultats contribuent à la valorisation de cette plante en tant que source naturelle d'antioxydants.

-Mots clés : *Urtica dioica*, macération, activité antibactérienne, activité antioxydante.

## Abstract

The present study deals with the chemical composition, antioxidant and antibacterial activity of *Urtica dioica* L leaves extracts. The extraction was accomplished using maceration with acetone, ethanol and methanol. Phytochemical analysis demonstrated a high concentration of phenolic components (polyphenols, flavonoids, and tannins) in the plant, according to the results using the Folin-Ciocalteu, aluminum trichloride, and vanillin-HCL procedures. The evaluation of the antioxidant power of the different extracts was assessed using three distinct methods: DPPH•, ABTS•+ and FRAP showing good antioxidant activity, but it was still moderate compared to the standard antioxidant employed. While testing the antibacterial activity on 2 bacterial strains (*E. coli* and *S. aureus*) using the microplate method revealed no inhibitory effect. These findings the plant's value as a natural source of antioxidants.

-Key words: *Urtica dioica*, maceration, antibacterial activity, antioxidant activity