



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الأخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : de la Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie de la Nutrition.

Intitulé :

Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de feuilles d'*Urtica dioica L.*

Présenté par : AKRAB Cheyma

MOUHADI Zeyneb

Date de soutenance: 31/07/2019

Membres du jury :

Présidente du jury : M^{me} MEDOUKALI I. Maître de conférences « B » - UFM Constantine 1.

Encadrant : M^{me} GUENDOUZE A. Maître Assistante «B» - UFM Constantine 1.

Examinatrice : M^{me} TENIOU S. Maître assistante « A » - UFM Constantine 1.

Année universitaire: 2018-2019

Remerciements

En premier lieu, nous tenons à remercier le grand Dieu qui nous à aidée et nous a donné le courage, la santé et la patience pour pouvoir réaliser ce travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements à notre promoteur, M^{me} GUENDOUZE A. Maître Assistente « B»- UFM constantine , pour l'aide compétent qu'elle nous apporté, pour sa patience, sa confiance, son encouragement pour structurer ce travail et pour améliorer la qualité des différentes sections de notre mémoire, nous la remercions vivement.

Nos vifs remerciements vont aussi à M^{me} MEDOUKALI I. Maitre de conférences « B»- UFM constantine 1, pour l'honneur d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire et d'évaluer notre travail. Ses conseils, comme à son habitude, apporteront un plus à ce travail.

Nos remerciements s'adressent également à M^{me} TENIOU S. Maitre assistante « A»- UFM constantine1, qui nous fait l'honneur d'examiner ce travail. Son engagement à participer dans ce jury est une valeur positive ajoutée à notre travail, vue la grande expérience qu'elle a dans le domaine de la phytochimie.

Un grand remerciement au responsable du laboratoire de Biochimie de la faculté de la science de la nature de la vie,, Monsieur BOUDARSA N., pour nous avoir permis de réaliser ce travail au sein de ce laboratoire et la grande aide qu'il nous a donnée pour accomplir ce travail

Nos remerciements vont également à Mme CHERFIA R. et à Dr BRAMKI A. pour leur grande aide dans la réalisation de ce travail.

Nous remercions nos parents pour leurs soutiens, et leurs encouragements.

Enfin, nous remercions également tous ceux qui nous ont soutenus, encouragés et rendus service au cours de la réalisation de ce mémoire Merci à tous et à toutes.

Table des matières

Remerciements

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale.....1

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Description de la plante *Urtica dioica* L

I.1. Caractéristiques botaniques3

I.2. Dénomination.....3

I.3. Classification botanique4

I.4. Répartition géographique4

I.5. Composition chimiques d'*Urtica dioica* L5

I.6. Utilisations thérapeutique d'*Urtica dioica* L5

II. Les composés phénoliques

II.1. Les composés phénoliques6

II.2. Principales classes des composés phénoliques6

II.2.1. Les acides phénols6

II.2.2. Les coumarines7

II.2.3. Les tanins7

II.2.3.1. Tanins hydrolysables8

II.2.3.2. Tannins condensés ou tannins catéchiques ou proanthocyanidols8

II.2.4. Les flavonoïdes9

II.2.4.1. Les principales classes des flavonoïdes9

III. Les activités biologiques

III.1. Activité antioxydante9

III.1.1. Le stress oxydant9

III.1.2. Les radicaux libres10

III.1.2.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)10

III.1.2.1.1. Les différents types des EOR10

III.1.2.2. Sources des radicaux libres	12
III.1.2.3. Dommages oxydants des molécules biologiques	12
III.1.3. Les antioxydants.....	13
III.1.3.1. Définition des antioxydants.....	13
III.1.3.2. Classification des antioxydants	13
III.1.3.2.1. Les antioxydants enzymatiques.....	13
III.1.3.2.2. Les antioxydants non enzymatiques	14
III.1.3.2.2.1. Le système antioxydant non enzymatique d'origine endogène	14
III.1.3.2.2.2. Le système antioxydant non enzymatique d'origine alimentaire.....	14
III.1.3.3. Mode d'actions d'action des antioxydants	16
III.2. L'activité antibactérienne	17
III.2.1. Les infections microbiennes.....	17
III.2.2. Les antibiotiques	18
III.2.2.1. Les polyphénols.....	18
III.2.2.1.1. Mécanisme de l'effet antibactérien des composés phénoliques	18
III.2.3. L'aromatogramme	18
III.2.4. Description des microorganismes étudiés	19

ETUDE EXPERIMENTALE

Matériels et méthodes

1. Matériels.....	20
1.1. Matériel Végétal	20
1.2. Matériel biologique	20
2. Méthodes	20
2.1. Préparation du matériel végétal pour l'extraction	20
2.2. Préparation des extraits	21
2.3. Criblage phytochimique	23
2.3.1. Test des composés phénoliques	24
2.3.2. Test des flavonoïdes	24
2.3.3. Test des tanins	24
2.3.4. Test des composés réducteurs	24
2.3.5. Test des saponines	24
2.3.6. Test des alcaloïdes.....	24

2.3.7. Test des quinones libres	25
2.3.8. Test des stérols ou triterpènes	25
2.4. Dosage des composés phénoliques	25
2.4.1. Dosage des polyphénols totaux	25
2.4.2. Dosage des flavonoïdes	26
2.5. Evaluation d'activités biologiques	27
2.5.1. Test du piégeage du radical DPPH.....	27
2.5.2. Le pouvoir réducteur	28
2.5.3. Evaluation de l'activité antibactérienne	29

Résultats et Discussions

1. Les rendements	32
2. Criblage phytochimique	33
3. Dosage des polyphénols totaux	36
4. Dosage des flavonoïdes	38
5. Test du piégeage du radical DPPH	40
6. Le pouvoir réducteur	41
7. Evaluation de l'activité antibactérienne	44
Conclusion générale et perspective	50

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

ADN : Acide desoxyribonucléique

AGPI : Acides gras polyinsaturés

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

ARN : Acide ribonucléique

ATCC : American Type Culture Collection

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle)

EAE : Extrait d'acétate d'éthyle

EAG / gE: Equivalent d'acide gallique par gramme d'extrait

Eaq : Extrait aqueuse

EBu : Extrait butanolique

EC : Concentration efficace

EEP : Extrait éther de pétrole

EOA : Espèces oxygénées activées

EQ / gE : équivalent de quercétine par gramme d'extrait

ERN : Les radicaux dérivés d'azote

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

Fe₂₊ : Fer ferreux

Fe₃₊ : Fer ferrique

FeCl₃: Chlorure ferrique

FRAP : Ferric reducing antioxidant power

GPX : Glutathions peroxydases

GSSG: Disulfure de glutathion

HgCl₂: Chlorure de mercure

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogene

HOO: Radical hydroperoxyde

H₃PMo₁₂O₄₀: acide phosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀: acide phosphotungstique

KI: Iodure de potassium

Mg²⁺: Magnésium

NaOH: Hydroxyde de sodium

NO•: Radical oxyde nitrique

O₂: Oxygène

O₂⁻: Anion super oxyde

¹O₂: Oxygène singulet

OH: Radical hydroxyle

ONOOH: Acide peroxy nitreux

PR: Pouvoir réducteur

R₂: Coefficient de corrélation

RL: Radical libre

RO•: Radical alkoxyde

ROO: Radical peroxyde

ROOH: Hydroperoxyde

.

Liste des figures

Figure 1 : a. <i>Urtica dioica</i> L, b. Feuille d' <i>Urtica dioica</i> L, c. Tige d' <i>Urtica dioica</i> L.....	03
Figure 2: Structure des phénols et acides phénoliques.....	06
Figure 3 : Structure des coumarines.....	07
Figure 4 : Structure des tanins hydrolysables	08
Figure 5 : Structure des tanins condensés.....	09
Figure 6 : Schéma montrant le stress oxydant.....	10
Figure 7 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.....	12
Figure 8 : Régulation de la production des espèces oxygénées activées (EOA) par des systèmes antioxydants de défenses primaire et secondaire	17
Figure 9 : a. Photo original de la plante <i>Urtica dioica</i> L, b. La localisation géographique du lieu de récolte.....	20
Figure 10 : Préparation du matériel végétal pour l'extraction.....	21
Figure 11 : Etapes de l'extraction solide-liquide.....	22
Figure 12 : Organigramme récapitulatif des étapes d'extraction des métabolites Secondaire	23
Figure 13 : Dosage des polyphénols des feuilles d' <i>Urtica dioica</i> L	26
Figure 14 : Dosage des flavonoïdes des feuilles d' <i>Urtica dioica</i> L.....	26
Figure 15 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	27
Figure 16 : Activité antioxydante par diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH).....	28
Figure 17 : Réaction de réduction du fer (FRAP).....	29
Figure 18 : Préparation des dilutions pour l'activité antibactérienne.....	30
Figure 19 : Etapes de l'évaluation de l'activité antibactérienne (Méthode de diffusion de disque sur milieu gélosé).....	31
Figure 20 : Comparaison des rendements des différents extraits <i>Urtica dioica</i> L.....	32
Figure 21 : Les différents extraits obtenus.....	33
Figure 22 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	36
Figure 23 : Comparaison de la teneur en phénols totaux dans les différents extraits des feuilles <i>Urtica dioica</i>	37

Figure 24 : Courbe d'étalonnage de la quercitrine	38
Figure 25 : Comparaison de la Teneur en flavonoïdes dans les différents extraits de feuilles <i>Urtica dioica L.</i>	39
Figure 26 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique.....	40
Figure 27 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits étudiés et l'acide ascorbique.....	40
Figure 28 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)- TPTZ et un antioxydant (AH).....	42
Figure 29 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.....	42
Figure 30 : Pouvoir réducteur des différents extraits des feuilles <i>Urtica dioica L.</i>	43
Figure 31 : Photos des boîtes de pétris après incubation montrant les zones d'inhibition des bactéries <i>S. aureus</i> et <i>B. subtilis</i>	46
Figure 32 : Comparaison des diamètres des zones d'inhibition d'extrait éther de pétrole pour Les deux souches bactériennes <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Baccillus subtilis</i>	47
Figure 33 : Diamètres des zones d'inhibition d'extrait d'acétate d'éthyle pour les deux souches bactériennes <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Baccillus subtilis</i>	47
Figure 34 : Diamètres des zones d'inhibition d'extrait butanolique pour la souche <i>Staphylococcus aureus</i>	48

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les principaux radicaux libres.....	11
Tableau 2 : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées...16	
Tableau 3 : Les caractères biologiques des différentes souches utilisées.....	19
Tableau 4 : Rendements des extraits.....	32
Tableau 5 : Résultats de criblage phytochimique des feuilles d' <i>Urtica dioica L.</i>	34
Tableau 6 : Teneur en phénols totaux dans les extraits.....	37
Tableau 7 : Teneur en flavonoïdes dans les extraits.....	39
Tableau 8 : Valeurs EC50 des defferentes extraits des feuilles <i>Urtica dioica L</i> et l'acide ascorbique.....	43
Tableau 9 : Diamètre de la zone d'inhibition des extraits testés vis-à-vis les germes à étudier.....	45

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisée diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies (Lee, 2004). Aujourd'hui encore une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes (Hostettmann *et al.*, 1998).

Une particularité des plantes supérieures est leur capacité à produire un grand nombre de produits chimiques organiques de grande diversité structurale qui sont les métabolites secondaires. Ces derniers, empêchent l'oxydation des molécules biologiques par les radicaux libres (Berger, 2006), en particulier, les composés phénoliques qui sont présents dans la quasi-totalité des plantes et sont retrouvés dans presque toutes les parties de la plante. Ces composés font l'objet de nombreuses études en raison de leurs nombreuses propriétés biologiques et leur impact bénéfique sur la santé humaine (Richard *et al.*, 2010). Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention de nombreuses pathologies notamment, le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires (Vârban *et al.*, 2009).

Les maladies infectieuses causées par les microorganismes affectent la santé des gens, et causent de lourds dégâts au niveau économique ceci est du à la résistance aux antibiotique. Cette résistance aux antibiotiques 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 (Eloff, 1998).

Parmi ces plantes l'ortie '*Urtica dioica L*', une plante sauvage présente partout, sur les chemins, les ruines. C'est une plante aux mille vertus, que nos ancêtres savaient apprécier. Considérée comme une « mauvaise herbe », elle est employée en agriculture, en alimentation, cosmétique, teinturerie, l'industrie du textile et à des fins médicinales (Bertrand et Jeanne, 2008). D'après l'enquête ethnopharmacologie effectuée sur les plantes médicinales, *Urtica dioica L* reste parmi les moins utilisées dans la médecine alternative Algérienne.

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est de doser les composés phénoliques et les flavonoïdes après leur extraction à partir des feuilles d'*Urtica dioica L*, en utilisant plusieurs solvants de différentes polarités, et de déterminer l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits obtenus.

Notre manuscrit est scindé en deux parties :

- La première partie consacrée à l'étude bibliographique au sein de laquelle nous apportons des généralités sur l'espèce étudiée, les composés phénoliques et leurs activités biologiques.

-La seconde partie, pratique, contient deux chapitres : le premier décrit le matériel biologique et la méthodologie de travail et le deuxième abordera les différents résultats ainsi que leur discussion.

-Enfin, une conclusion générale sur l'ensemble de cette étude ainsi que les perspectives sont dégagées.

Etude bibliographique

I. Description de la plante *Urtica dioica* L.

I.1. Caractéristiques botaniques

Urtica dioica ou ortie dioïque est une plante herbacée vivace, vigoureuse et à longue durée de vie (Figure 1). Sa taille peut atteindre plus d'un mètre. Les feuilles sont d'un vert frais, opposées, pétiolées, stipulées, ovées, dentées et velues sur les deux faces. Les tiges sont plus ou moins raides, quadrangulaires et couvertes de poils urticants (Luc Fontaine, 2010). Le poil urticant est pourvu d'une ampoule à sa base qui constitue la partie glanduleuse- c'est un réservoir rempli de liquide urticant. Diverses substances y sont contenues sous pression : histamine, formiate de sodium, acide formique, sérotonine et acétylcholine (Fleurentin, 2008).

Les fleurs sont petites, unisexuées, verdâtres et disposées en grappes pendantes aux axes des feuilles, dans la partie supérieure de la tige pour les femelles, et sous forme de chatons pour les mâles (Manon, 2005).



Figure 1: a. *Urtica dioica* L. (Bouayed Debbagh, 2016)
 b. Feuille d'*Urtica dioica* L. (Schaffner, 1992) c. Tige d'*Urtica dioica* L. (Boyrie, 2016).

I.2. Dénomination

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

- Nom latin : *Urtica dioica* L. Syn., *Urtica major*, Kanitz (Marie-Jo, 2005 ; Luc Fontaine, 2010).
- Noms français : Ortie dioïque, grande ortie, ortie piquante, ortie élevée, ortie, ortie commune, ortie vivace (Luc Fontaine et Valérie, 2010).
- Noms anglais : Nettle, Common Nettle, Stinging Nettle, Tall Nettle, Slender Nettle, Greater Nettle, Nettle leaf (Luc Fontaine et Valérie, 2010 ; Smith *et al.*, 1997)
- Nom italien : *Ortica comune* (Valérie, 2010).

I.3. Classification botanique

L'Ortie dioïque, genre *urtica* espèce *dioica*, appartient à la famille des Urticacées. Cette famille comprend près d'une cinquantaine de genres et plus de 700 espèces. Elle est présente partout dans le monde. On distingue les Urticacées avec poils urticants (genre *Urtica*) ou sans (genres *Parietaria* et *Boehmeria*) (Apgil, 2003). *Urtica dioica* (grande ortie) la plus commune en France ; *Urtica urens* (ortie brûlante) ; *urtica Pilulifera* (ortie à pilule, ortie romaine) ; *Urtica membranacea* (ortie à membrane) (Valnet, 1992 ; Tessier, 1994 ; Diederiches, 2005 ; Moutsie, 2008).

Urtica dioica L. appartient au :

- Règne : Plantae
- Classe : Magnoliopsida
- Ordre : Urticales
- Famille : Urticaceae
- Genre : *Urtica*
- Espèce : *Urtica dioica*

I.4. Répartition géographique

Originnaire d'Eurasie, l'ortie s'est répandue dans toutes les régions tempérées du monde. On la rencontre plus en Europe du sud, en Afrique du nord, en Asie et largement distribuée en Amérique du nord et du sud (Brisse *et al.*, 2003).

En Algérie, la Grande ortie est commune dans tout le Tel Algérien (exemples : Djurdjura, Atlas de Blida, Miliana, Boumerdès (foret de Bouarbi) (Beloued, 1998).

I.5. Composition chimiques d'*Urtica dioica*

Vu son usage traditionnel millénaire, les scientifiques ont accordé un important intérêt à sa composition chimique (Tita *et al.*, 2009).

Cette plante contient des métabolites secondaires, essentiellement des flavonoïdes, des tanins et des composés volatiles, mais aussi des acides gras, des polysaccharides, des stérols, des terpènes, des protéines, des vitamines et des minéraux (Wetherlit, 1992 ; Rafajlovska *et al.*, 2001 ; Krystofova *et al.*, 2010 ; Gul *et al.*, 2012).

En effet, les parties aériennes d'*Urtica dioica* (les feuilles) contiennent de la chlorophylle, plusieurs vitamines (vitamine C, K, B1 et B2...), caroténoïdes, huiles essentielles et des minéraux parmi lesquels on cite : Fe, Cu, Mn et Ni. Quant aux polyphénols présents dans cette plante, il s'agit principalement d'après la littérature de kaempferol, isorhamnetine, quercitine, isoquercitine et d'astragaline qui confèrent à la plante ses propriétés antioxydantes (Bhuwan *et al.*, 2014).

En plus de la composition des feuilles, les poils contiennent de l'acétylcholine, de l'histamine, 5-hydroxytryptamine (sérotonine), des leukotriènes et de l'acide formique qui sont responsables de l'effet urticant de la plante (Collier *et al.*, 1956 ; Fu *et al.*, 2006).

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

I.6. Utilisations thérapeutique d'*Urtica dioica* L.

L'ortie est utilisée sous diverses formes, en infusion ou en jus de plante fraîche. Actuellement elle est inscrite sur la liste des plantes médicinales retenues comme telles par la pharmacopée dans le monde entier. De nombreuses utilisations traditionnelles de l'ortie ont été confirmées scientifiquement. Elle est considérée comme antidiabétique (Bnouham *et al.*, 2003), anti-inflammatoire (Kavalali, 2003), antimicrobienne (Ramtin *et al.*, 2012 ; Al-Khafaji, 2015), antivirale (Balzarini *et al.*, 1992), antiulcéreuse (Gülcin *et al.*, 2004), analgésique (Tita, 1993), diurétique (Tahri *et al.*, 2000), anticancéreuse (Nisha *et al.*, 2011), et bénéfique pour le système cardiovasculaire (Testai *et al.*, 2002). Elle est efficace dans l'arthrite, les rhumatismes (Chrubasik *et al.*, 1997) et la rhinite allergique (Mittman, 1990), ainsi sur les douleurs articulaires par usage externe des feuilles (Randall *et al.*, 2000) elle est également utilisée en cas d'eczéma (Chrubasik *et al.*, 2007).

II. Les composés phénoliques

II.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique non azoté portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide et sont exclusivement synthétisés dans le règne végétal (Collin et Crouzet, 2011). Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs « racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois » (Marouane, 2013).

Les composants phénoliques sont des molécules biologiquement actives, ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, antiradicalaires et antimicrobiens (Zoughlache, 2008).

II.2. Principales classes des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont classés selon le nombre d'atome de carbone dans le squelette de base, ces structures peuvent être sous forme libres ou liées à l'ester ou hétérosides. Ils existent également sous forme de polymères naturels (tanins) (CROZIER, 2006).

II.2.1. Les acides phénols

Les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être également estérifiées, et liée à des sucres sous forme d'hétérosides (Figure 2). Leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Ayant tendance à s'isomériser et à se polymériser, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires (Wichtl et Anton, 2003).

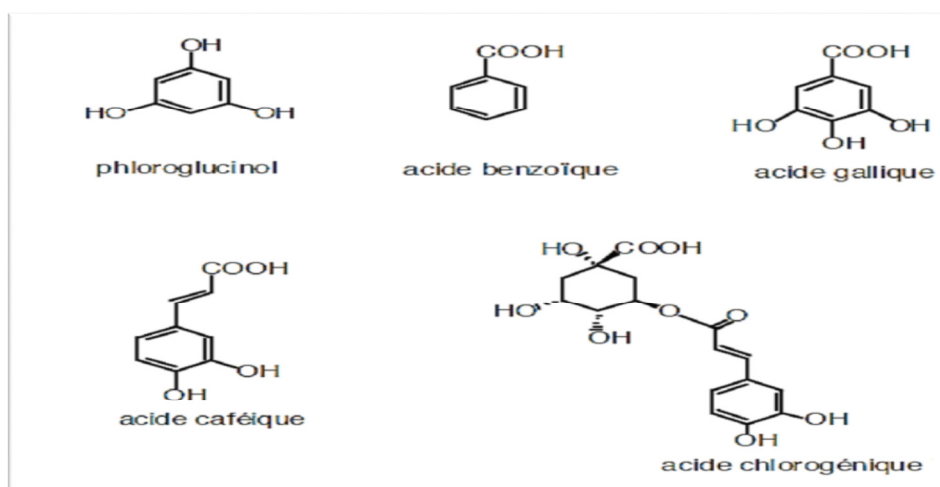


Figure 2 : Structure des phénols et acides phénoliques (Krief, 2003)

II.2.2. Les coumarines

Les coumarines viennent du mot « coumarou » non vernaculaire de la fève Tonka (Touafe, 2010). Isolées la première fois de *Coumarouna odorata* par Vogel en 1820, aujourd'hui, près de 1000 composés coumariniques sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les microorganismes (Kone, 2009).

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration mais aussi suivant l'espèce. Dans la cellule, les coumarines sont principalement présentes sous forme glycosylée. Cette glycosylation serait une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques des coumarines sur la cellule et la croissance des plantes. Certaines d'entre elles sont induites par des stress abiotiques et biotiques et possèdent une activité antimicrobienne telle les furanocoumarines de persil (Midoun, 2011).

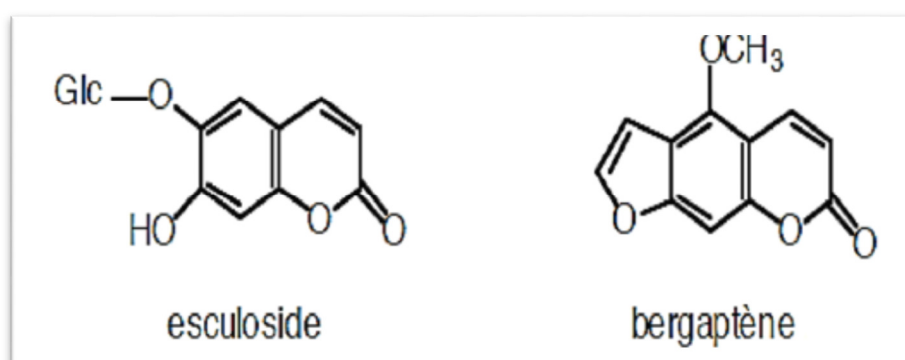


Figure 3 : Structure des coumarines (Krief, 2003)

II.2.3. Les tanins

Les tanins végétaux sont des composés phénoliques solubles dans l'eau et ayant des poids moléculaires entre 500 et 3000 Da. Ils sont aptes à la préparation du cuir et donnent les réactions classiques des phénols. En outre, ils ont l'aptitude à précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les autres protéines (Sereme *et al.*, 2010).

Dans le passé, les tanins ont été classés en deux groupes pyrogallol et catéchol. Actuellement, les tanins sont classés en tanins hydrolysables et non hydrolysable ou condensés (Okuda et Ito, 2011 ; Adamczyk *et al.*, 2013).

II.2.3.1. Tanins hydrolysables

Ce sont des esters de glucose et d'acide gallique (Guignard, 2000). Ils sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol (Figure 4). Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins (Bruneton, 1993 ; Cowan, 1999).

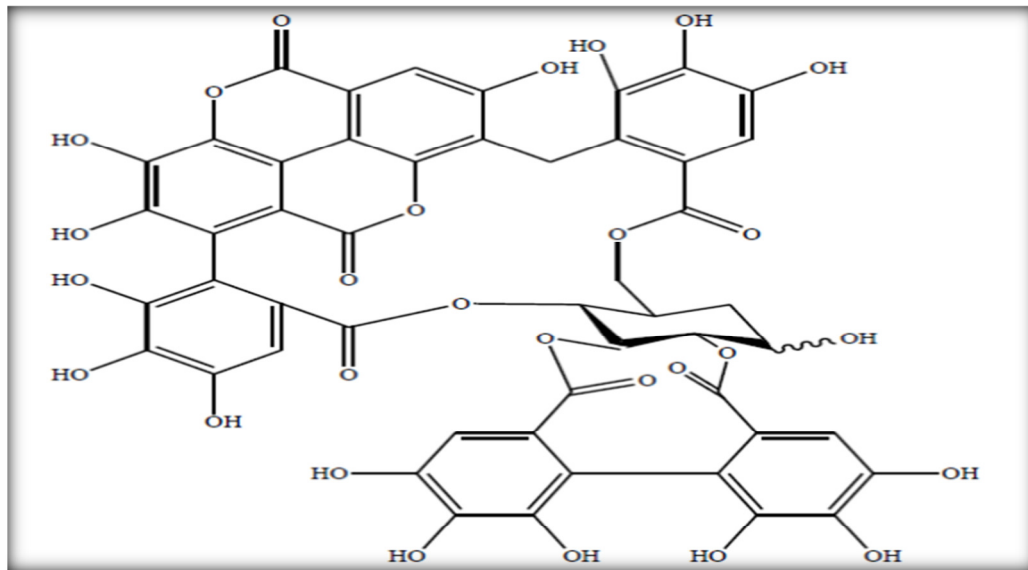


Figure 4 : Structure des tanins hydrolysables (Fedala, 2015)

II.2.3.2. Tannins condensés (catéchiques ou proanthocyanidols)

Ce sont des composés phénoliques hétérogènes, ils se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères qui sont formés par condensation des molécules de flavonoïdes entre elles. Ils ont tous comme précurseurs des flavonoïdes (C6- C3-C6). Ils ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux (Guignard, 2000).

Ils se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes (Figure 5). Il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone - carbone. Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères (Bruneton, 1999).

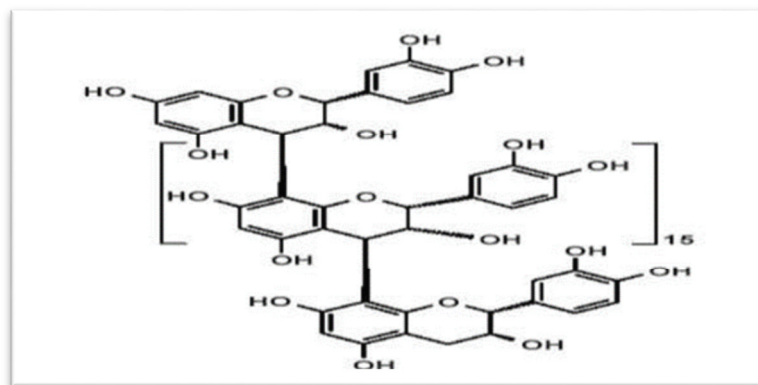


Figure 5 : Structure des tanins condensés (Gavot, 2009).

II.2.4. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde provenant du latin "flavus", signifiant "jaune", désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ce groupe comprend comme son nom l'indique des composés jaunes mais aussi d'autres couleurs ou incolores (Bruneton, 1999 ; Harborne et Williams, 2000).

II.2.4.1. Les principales classes des flavonoïdes

Les flavonoïdes se répartissent en quinze familles de composés, dont les plus importantes sont les suivantes : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, isoflavones, isoflavanones, chalcones, aurones et anthocyanes (Harborne et William, 2000 ; Kuresh *et al.*, 2002). Les composés de chaque sous classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants sur les deux cycles aromatiques A et B et le cycle intermédiaire (Julies et Christin, 2002).

III. Les activités biologiques

III.1. Activité antioxydante

III.1.1. Le stress oxydant

La chaîne respiratoire mitochondriale joue un rôle capital dans la cellule en étant responsable de la transformation de l'oxygène en deux molécules d'eau. Environ 0,4 à 4% de l'oxygène ne sera pas correctement converti en eau, donnera naissance à des espèces oxygénées activées (EOA) parmi les quelles figurent des radicaux libres (Pincemail *et al.*, 2001).

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants (Figure 06), dû soit à la défense antioxydante défailante, soit à un état pro-oxydatif accru (Berger, 2006).



Figure 6 : Schéma montrant le stress oxydant (Belaïch et Boujraf, 2016).

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

III.1.2. Les radicaux libres

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

Les RL peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (espèces réactives d'azote ERN) (Delattre *et al.*, 2005). Le tableau 1 représente les principaux radicaux libres.

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

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

III.1.2.1.1. Les différents types des ERO

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer trois groupes : les radicaux primaires, qui constituent un ensemble

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

Tableau 1 : Les principaux radicaux libres (Haton, 2005).

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

Les ERO possèdent des propriétés physiologiques lorsqu'elles sont produites en faibles concentrations : elles jouent un rôle dans l'expression des gènes au niveau des cellules vasculaires (Bonfont et *al.*, 2002). Elles participent aussi à plusieurs fonctions : (phagocytose, signalisation cellulaire, fécondation de l'ovule (Haleng *et al.*, 2007). Les ERO jouent ainsi un rôle dans le contrôle du processus cellulaires physiologiques (croissance, sénescence, apoptose ou survie des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses) (Bonfont, 2006).

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

III.1.2.2. Sources des radicaux libres

Les sources de ces radicaux libres sont très variées: la pollution atmosphérique, le tabac, le rayonnement UV, les radiations ionisantes, le métabolisme cellulaire (activité mitochondriale, réactions enzymatiques (NADH oxydase, xanthine oxydase)), l'inflammation et les métaux toxiques (chrome, cuivre) (Figure 7) (Uttara *et al.*, 2009).

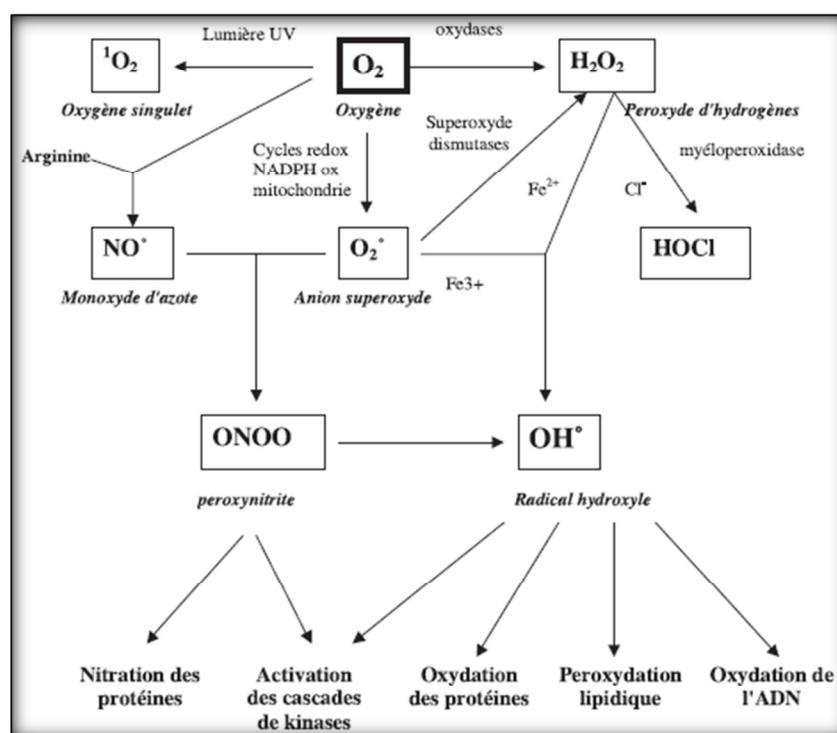


Figure 7 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003)

III.1.2.3. Dommages oxydants des molécules biologiques

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

L'oxydation des protéines : il s'ensuit une fragmentation de la protéine, une oxydation des chaînes latérales des acides aminés ou une formation de liaisons croisées entre deux

protéines. Les fonctions de multiples enzymes, de récepteurs et de protéines de transport cellulaire peuvent ainsi être modifiées (Davies, 2003).

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

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

III.1.3. Les antioxydants

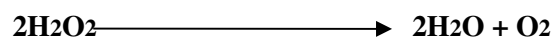
III.1.3.1. Définition des antioxydants

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

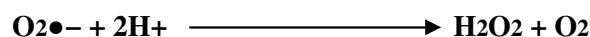
III.1.3.2. Classification des antioxydants

III.1.3.2.1. Les antioxydants enzymatiques

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

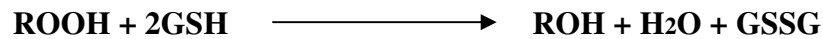
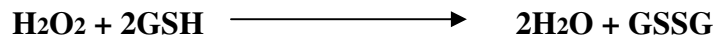


b. Les superoxydes dismutases: ou SOD (EC 1.15.1.1) sont des antioxydants enzymatiques ubiquitaires. Ils représentent l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydant en assurant l'élimination de l' $\text{O}_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation en le transformant en peroxyde d'hydrogène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



c. Glutathions peroxydases (GPX) : (EC 1.11.1.19) La glutathion peroxydase joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène, de l'hydroperoxyde résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de ces

dérivés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH) (Piquet et Hebuterne, 2007).



III.1.3.2.2. Les antioxydants non enzymatiques

III.1.3.2.2.1. Le système antioxydant non enzymatique d'origine endogène

Ce groupe de systèmes antioxydants renferme de nombreuses substances parmi lesquelles on peut citer le glutathion, l'acide urique et la bilirubine.

- a. **Le glutathion** : C'est un tripeptide (Lγglutamy-l-cystéinyl-glycine), il appartient au groupe des thiols parmi les plus abondants dans la cellule (Raman et Berry, 2011).
- b. **L'acide urique** : A un pH physiologique l'acide urique est majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux (OH•, ROO•, NOO•) (Haleng *et al.*, 2007).
- c. **La bilirubine** : Ce composé liposoluble est capable de piéger les radicaux peroxyde, l'oxygène singulet et le radical hydroxyle, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine contre les attaques radicalaires (Algeciras *et al.*, 2007).

III.1.3.2.2.2. Le système antioxydant non enzymatique d'origine alimentaire

L'organisme possède une seconde ligne de défense « les piègeurs de radicaux libres » qui sont des composés pour la plupart apportés par l'alimentation et dont le rôle essentiel est de neutraliser les effets toxiques des ERO, limitant ainsi toute atteinte de l'intégrité cellulaire (Koechlin, 2006). Le tableau 2 représente la source alimentaire de ce type d'antioxydants.

- a. **La Vitamine E** : Cette vitamine fait partie de la famille des tocophérols, α-tocophérols est la forme la plus active (Cuvelier *et al.*, 2003). Elle est capable de piéger chimiquement l'oxygène singlet et aussi de réagir avec le radical hydroxyle HO•. Mais son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux peroxydés ROO• pour former un radical tocophéryle (Deliatre *et al.*, 2005).
- b. **La vitamine C** : Ou acide L-ascorbique est un antioxydant hydrosoluble souvent considéré comme le principal antioxydant des fluides extracellulaires. En plus de

réagir directement avec les ERO, la vitamine C permet la régénération d'autres antioxydants, tel que l' α -tocophéol, le glutathion, l'urate et les α -carotènes (Carr et Frei, 1999).

c. Le β carotène : Il appartient à la grande famille des caroténoïdes. Le β -carotène est notamment capable de piéger les radicaux hydroxyles OH et peroxydes RO₂ et ainsi d'inhiber les chaînes de peroxydations lipidiques, il neutralise également l'oxygène singulet 1O₂ (Jean et Genevève, 2008)

d. Les oligoéléments : Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique (Garait, 2006).

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

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

Tableau 2 : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées
(Koechlin, 2006).

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

III.1.3.3. Mode d'actions des antioxydants

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

Selon leur mode d'action, les antioxydants sont classés en deux catégories (Figure 8) :

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

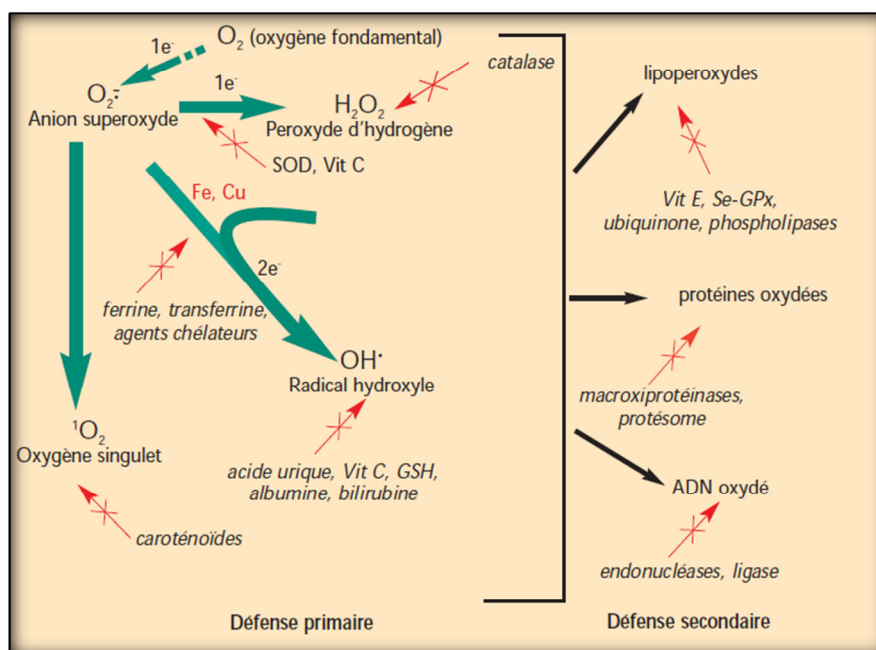


Figure 8 : Régulation de la production des espèces oxygénées activées (EOA) par des systèmes antioxydants de défenses primaire et secondaire (Pincemail , 2001).

III.2. L'activité antibactérienne :

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

III.2.1. Les infections microbiennes

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

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

Le traitement des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée et peut entraîner la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la

découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base de plantes (Billing et Sherman, 1998).

III.2.2. Les antibiotiques

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

III.2.2.1. Les polyphénols

Les actions des polyphénols peuvent être distinguées sur la base du type d'activité qu'ils exercent. Un extrait bactériostatique arrête la croissance des bactéries en évitant sa prolifération, il facilite la destruction des germes par le biais des défenses de l'hôte et l'extrait bactéricide tue les bactéries (Van et Tulkens, 2008).

III.2.2.1.1. Mécanisme de l'effet antibactérien des composés phénoliques

Le mécanisme de l'effet antibactérien des composés phénoliques est très complexe, et implique multiples modes d'actions tels que :

- l'inhibition des enzymes extracellulaires bactériennes, la séquestration des substrats nécessaires à la croissance bactérienne ou la chélation de métaux tels que le fer.
- l'inhibition du métabolisme microbien, dégradation de la paroi cellulaire, perturbation de la membrane cytoplasmique, ce qui cause une fuite des composants cellulaires.
- Interaction avec la synthèse de l'ADN et l'ARN, des protéines, des lipides et de la fonction mitochondriale ainsi que la formation des complexes avec la paroi (Mouffok, 2011).

III.2.3. L'aromatogramme

L'aromatogramme est un examen de routine qui permet de mesurer et de déterminer la capacité des extraits à base des plantes à inhiber la croissance bactérienne *in vitro*. Il renseigne, par conséquent, sur la sensibilité des germes vis-à-vis des agents anti-infectieux (Benouda et Tagajdid, 2008).

III.2.4. Description des microorganismes étudiés

Les principales caractéristiques des bactéries étudiées dans cette étude sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Les caractères biologiques des différentes souches utilisées

Bactérie	Caractéristiques
<i>Escherichia coli</i>	Bacille à Gram négatif, généralement mobile grâce aux flagelles. Constitue la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme. Capable de déclencher spécifiquement des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encore des méningites néo-natales (Patrick <i>et al.</i> , 1988).
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacille à Gram négatif, mobile. Elle est responsable de 10% de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3 ^{ème} rang après <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i> , mais le 1 ^{er} rang pour les infections pulmonaires basses et le 3 ^{ème} rang pour les infections urinaires (Richard et Kiredjian, 1995).
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci à Gram positif, de forme sphérique (Patrick <i>et al.</i> , 1988). Elles sont la cause de méningite, ostéomyélite et la diarrhée (Steven <i>et al.</i> , 2004).
<i>Bacillus subtilis</i>	Bactérie à Gram positif, largement présente dans la nature, elle fait également partie de la flore intestinale microbienne. L'origine de maladies et/ou d'intoxications alimentaires. (Danja, 2016 ; Elodie, 2009 ; Pauline, 2013).
<i>Citrobacter freundii</i>	Bacille ou de coccobacille Gram négatif, facultativement anaérobique (Abbott, 2007), mobile (Knirel <i>et al.</i> , 2002). Présente dans le tractus gastro-intestinal humain, peut devenir un agent pathogène opportuniste, associé en particulier aux infections des voies urinaires et respiratoires. (Majewski <i>et al.</i> , 2017)
<i>Proteus vulgaris</i>	Bactérie à gram négatif, en forme de bâtonnet, largement répandus dans l'environnement. Elle provoque des maladies gastro-intestinales et non gastro-intestinales, telles que le syndrome hémolytique, les maladies rénales, les maladies ulcéreuses ... (Arun <i>et al.</i> , 2015).
<i>Morganella morganii</i>	Coccobacilles à gram négatif, anaérobie facultatif. Impliqué en tant qu'agent causal de la diarrhée (Amera <i>et al.</i> , 2018), et exceptionnellement la cause d'une infection maternofoetale. (Boussemart <i>et al.</i> , 2004)

Etude experimentale

Chapitre 1

Matériel et méthodes

Matériels et méthodes

1. Matériels

1.1. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur les feuilles d'*Urtica dioica* L. dont la cueillette a eu lieu en mois d'avril 2019 dans la région de Grarem Gouga (wilaya de Mila).

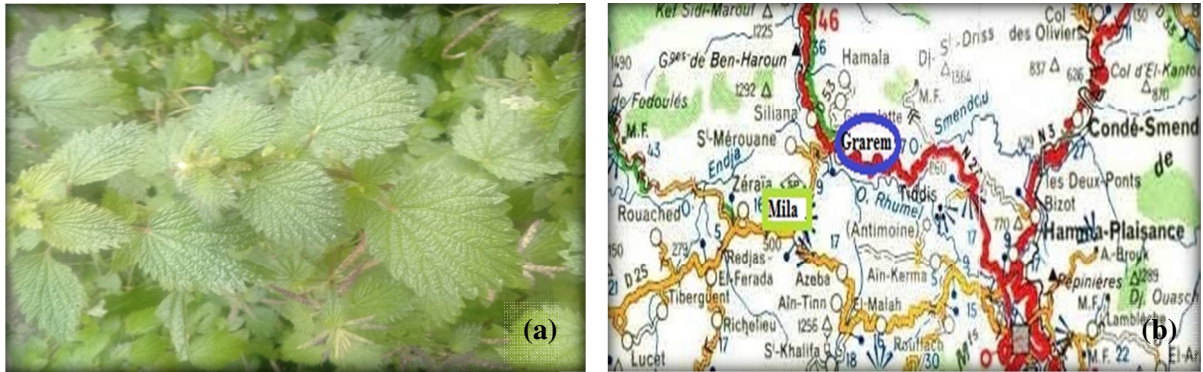


Figure 9 : a. Photo original de la plante *Urtica dioica* L.
b. La localisation géographique du lieu de récolte.

1.2. Matériel biologique

L'activité antibactérienne des extraits a été testée sur quatre souches de référence : *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25923, *Pseudomonas aerogenosa* ATCC 27853 et trois souches cliniques : *Citrobacter freundii*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*.

2. Méthodes

2.1. Préparation du matériel végétal pour l'extraction

- **Lavage et séchage**

La partie aérienne de l'ortie a été lavée avec de l'eau de robinet, et débarrassée de la poussière et d'autres particules, puis soumise à un séchage pendant 15 jours à l'abri de la lumière et à température ambiante (Figure 10).

- **Broyage**

Après le séchage, les feuilles ont été broyées à l'aide d'un mortier et d'un pilon afin d'avoir une poudre fine : plus le diamètre des grains est petit plus la surface d'échange entre

l'échantillon et le solvant d'extraction est grande, et plus le rendement d'extraction est meilleur (Diallo *et al.*, 2004).

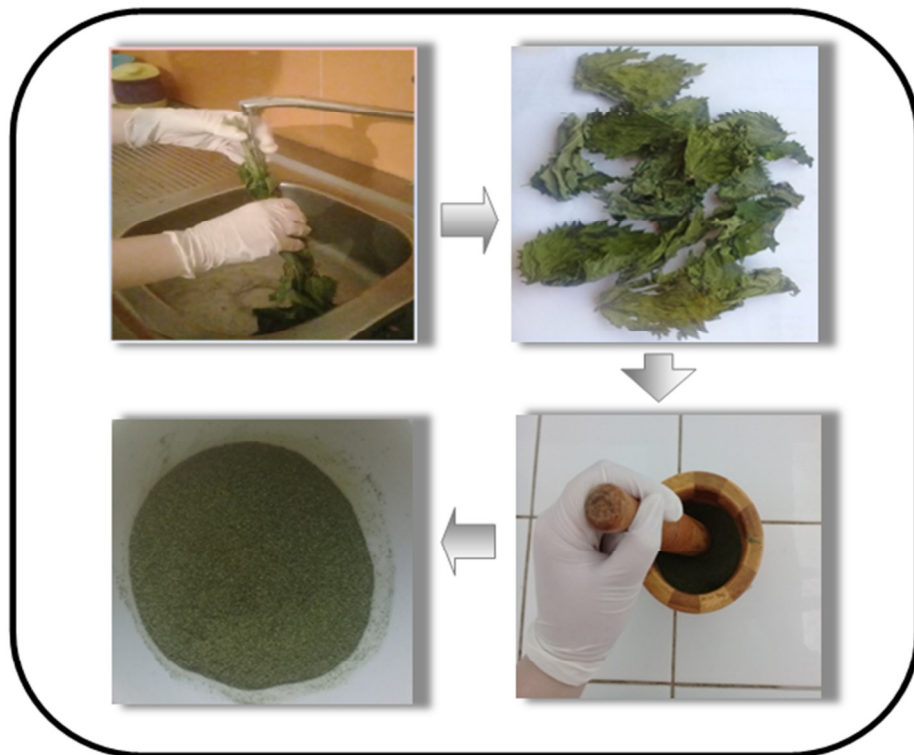


Figure 10: Préparation du matériel végétal pour l'extraction.

La poudre obtenue a été ensuite conservée dans un récipient en verre, fermé hermétiquement et stocké à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité, jusqu'à une utilisation ultérieure.

2.2. Préparation des extraits

- **Extraction solide-liquide**

Le broyat (50 g de poudre) a été mis à macérer dans un volume de 500 ml de méthanol à 70%, pendant 72h, à l'air libre avec renouvellement du solvant chaque 24h.

Après filtration à l'aide d'un papier filtre et un entonnoir, le filtrat a été évaporé sous vide en utilisant un évaporateur rotatif, à une température de 45 °C (Figure 11), afin de concentrer l'extrait. L'extrait obtenu a été resuspendu dans 250 ml d'eau distillée.

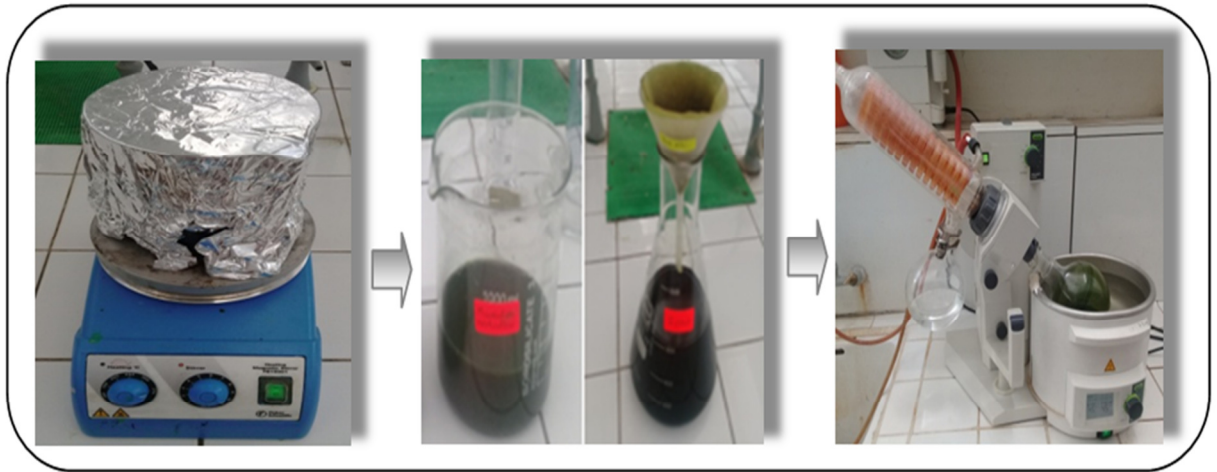


Figure 11 : Etapes de l'extraction solide-liquide

- **Séparation liquide-liquide**

L'extrait brut hydrométhanolique a été épuisé successivement par des extractions successives de type liquide-liquide dans une ampoule à décanter en utilisant des solvants de polarité croissante : éther du pétrole, acétate d'éthyle, butanol.

Les trois phases organiques récupérées (phase d'éther de pétrole, d'acétate d'éthyle et la phase de n-butanol) et la phase aqueuse finale ont été évaporées à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif à des températures 50°C, 40°C et 60°C et 55°C respectivement (Figure12).

Les rendements des extraits ont été calculés en utilisant la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = m_0/m_1 \times 100$$

m_0 : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé.

m_1 : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche (50 g).

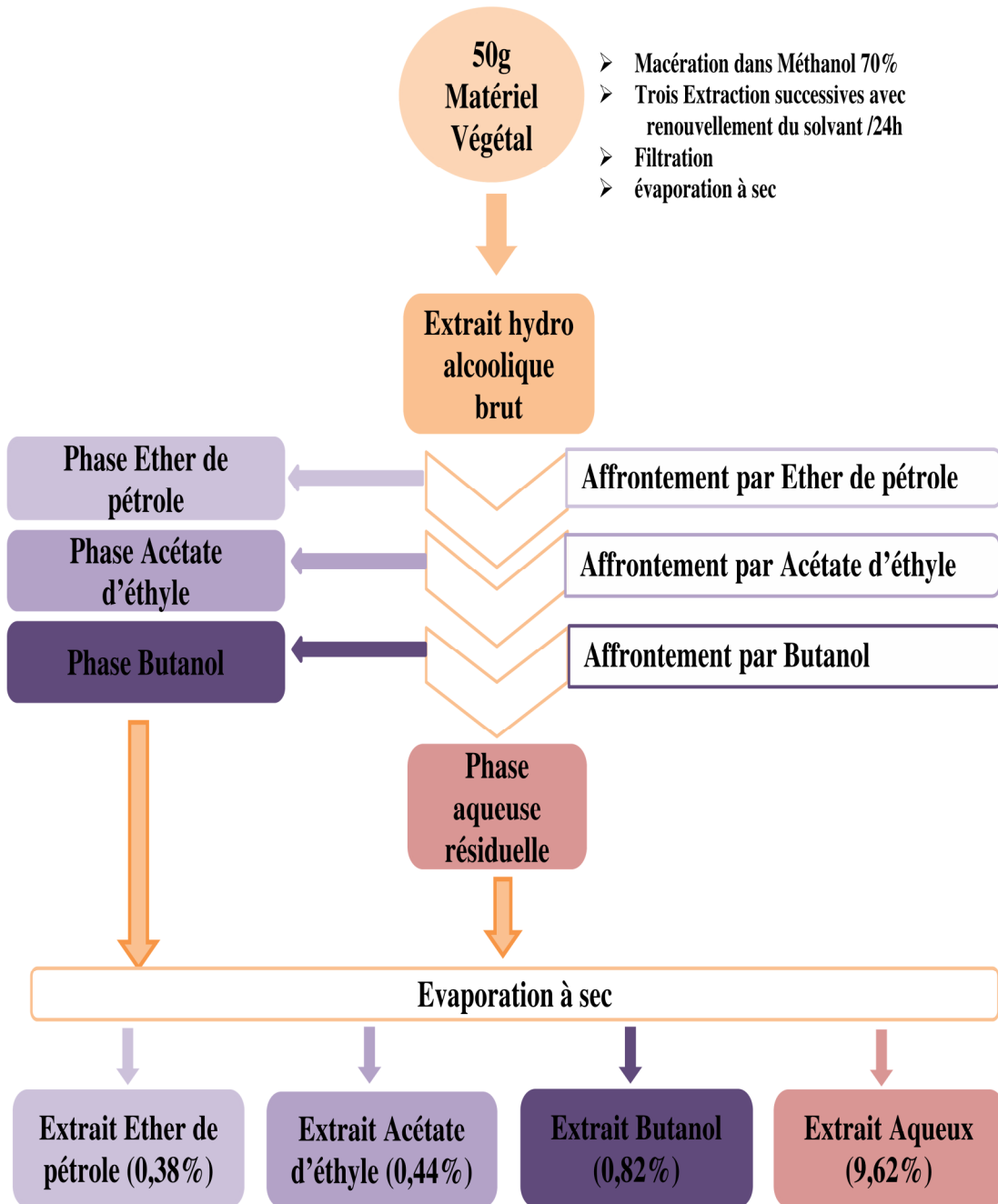


Figure 12 : Organigramme récapitulatif des étapes d'extraction des métabolites secondaires.

2.3. Criblage phytochimique :

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de métabolites secondaires existants dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés (Hagerman *et al.*, 2000).

2.3.1. Test des composés phénoliques :

Nous avons ajouté 2 ml d'éthanol à 2 ml de l'extrait hydrométhanolique, l'ajout de quelques gouttes de FeCl_3 provoque l'apparition d'une coloration verdâtre qui indique la présence des phénols (Iqbal *et al.*, 2011).

2.3.2. Test des flavonoïdes (Cyanidine)

En présence de 1 ml d'acide chlorhydrique concentré et de quelques copeaux de magnésium, les flavonoïdes sont responsables d'un dégagement d'hydrogène et d'une coloration allant de l'orangé au rouge pourpre (Najaa *et al.*, 2011).

2.3.3. Test des tanins

Pour détecter la présence des tanins, nous avons ajouté à l'extrait hydrométhanolique quelques gouttes de FeCl_3 (Chlorure ferrique) à 1%. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au bleu verdâtre en présence de tanins catéchiques (tanins condensés) (Diallo *et al.*, 2004).

2.3.4. Test des composés réducteurs

Les sucres réducteurs ont été mis en évidence dans l'extrait hydrométhanolique par le réactif de Fehling. Un volume de 5 ml d'extrait brut a été additionné à 5 ml de liqueur de Fehling. La formation d'un précipité rouge brique après 2-3 min de chauffage au bain-marie à 70°C indique une réaction positive (Yves-Alain *et al.*, 2007).

2.3.5. Test des saponines

Leur présence est déterminée quantitativement par le test de la mousse. Les résidus ont été repris dans 5 ml d'eau distillée, puis introduits dans un tube à essai. Ce dernier a été agité vigoureusement. La formation d'une mousse (hauteur supérieure à 1 cm) stable, persistant pendant 1 h, indique la présence abondante de saponines (Yves-Alain *et al.*, 2007).

2.3.6. Test des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont mis en évidence par le réactif de Mayer (Annexe 1). L'ajout de quelques gouttes de ce réactif à 2 ml de la solution d'extrait éther de pétrole entraîne la formation d'un précipité blanc ou blanc-jaune en présence d'alcaloïde (Dohou *et al.*, 2003).

2.3.7. Test des quinones libres

Nous avons ajouté quelques gouttes de NaOH 1/10 à l'extrait d'éther de pétrole. La présence de quinones libres est confirmée par un virage de la couleur des phases aqueuses au jaune, rouge ou violet (Najaa *et al.*, 2011).

2.3.8. Test des stérols ou triterpènes

Ils ont été recherchés par la réaction de Liebermann. Le résidu est dissout à chaud dans 1ml d'anhydride acétique ; nous avons ajouté 0,5 ml d'acide sulfurique concentré au triturât. L'apparition, à l'interphase, d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert indique une réaction positive (koffi *et al.*, 2009).

2.4. Dosage des composés phénoliques

2.4.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (Mahmoudi *et al.*, 2013). Ce réactif est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribereau, 1968).

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie, suivant le protocole appliqué en 2007 par Li *et al.* : 200 μ l de l'extrait dilué ont été mélangés avec 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans de l'eau distillée. Après 4 minutes, 800 μ l de carbonate de sodium à concentration de 7,5% ont été ajoutés. Après une incubation du mélange réactionnel pendant 2 heures à température ambiante et à l'obscurité (Figure 13), l'absorbance a été mesurée à 765 nm.

La courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0 – 0,1 mg/ml). Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par grammes du poids d'extrait (mg EAG/gE).

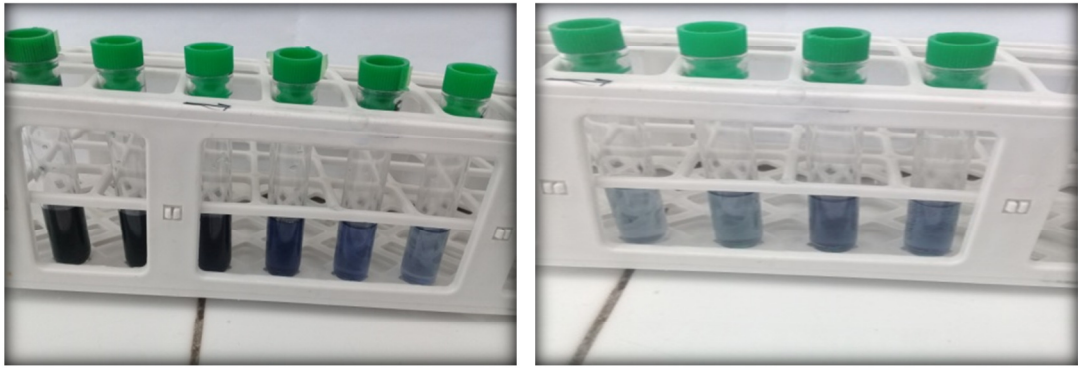


Figure 13 : dosage des polyphénols des feuilles d'*Urtica dioica L*

2.4.2. Dosage des flavonoïdes

La détermination des flavonoïdes est effectuée par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (Bahorun *et al.*, 1996). Elle est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits. L' AlCl_3 forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et absorbe dans le visible à 430 nm. 1 ml d'extrait a été ajouté à 1 ml d' AlCl_3 (2% dans le méthanol) Après 10 min d'incubation à 37°C et à l'obscurité (Figure 14), l'absorbance a été lue à 430nm. Les concentrations des flavonoïdes dans les échantillons sont déterminées à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-0,05g/mL) et sont exprimées en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/gE).

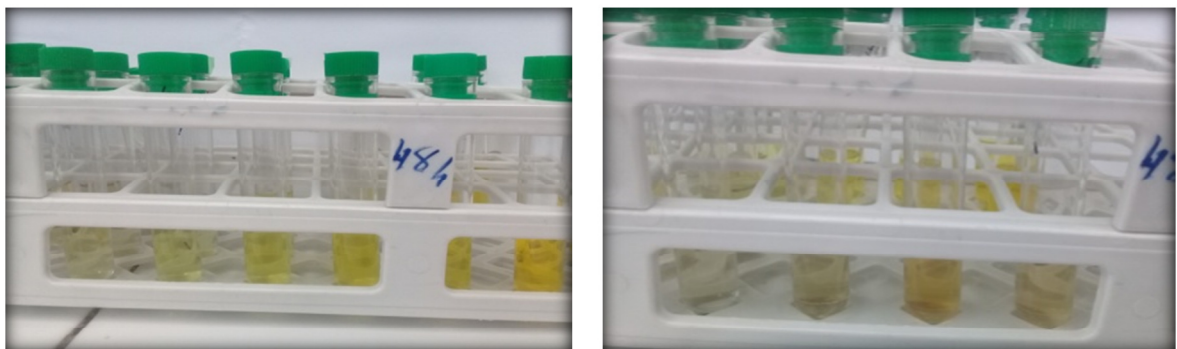


Figure 14 : Dosage des flavonoïdes des feuilles d'*Urtica dioica L*.

2.5. Evaluation des activités biologiques

2.5.1. Test du piégeage du radical DPPH

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylHydrazyl) est un radical libre stable qui possède un électron célibataire sur l'atome d'azote, il est de couleur violacée qui absorbe à 517nm (Chaabi, 2008). Il fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure activité antioxydante des composés phénoliques (Popovici, 2009).

En présence d'un antioxydant l'électron célibataire devient apparié, ce qui conduit à la décoloration de DPPH du violet (forme radicalaire DPPH) au jaune (forme réduite DPPH-H) (Figure 15) (Popovici, 2009). Cette décoloration représente donc la capacité d'extrait de piéger ce radical.

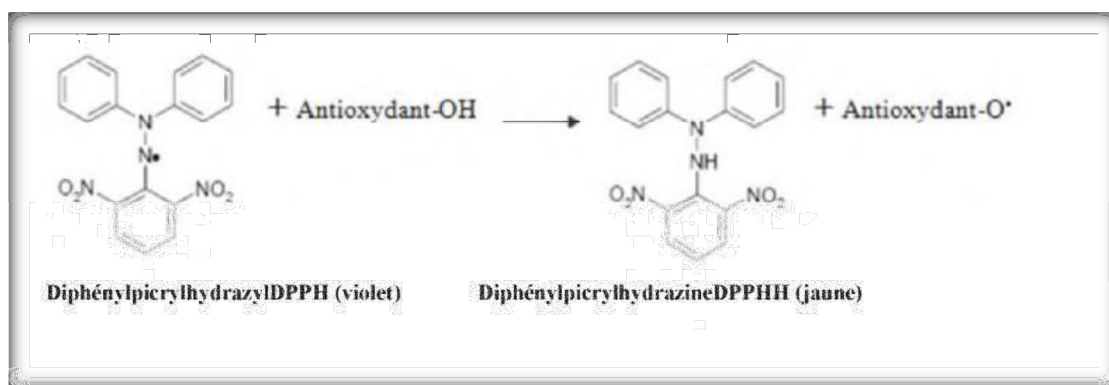


Figure 15 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Molyneux, 2004)

Le pourcentage de piégeage du radical est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{d'activité antiradicalaire} = \left[\frac{\text{Abs}_{517} \text{ contrôle} - \text{Abs}_{517} \text{ échantillon}_{517}}{\text{Abs}_{517} \text{ contrôle}} \right] \times 100$$

Un volume de 100 µl de différentes concentrations de chaque extrait (ou l'acide ascorbique) a été ajouté à 1,95 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,024 g/l) fraîchement préparée. Le contrôle négatif a été préparé en parallèle en mélangeant 100 µl du méthanol avec 1,95 ml d'une solution méthanolique de DPPH. Après incubation à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante (Figure 16), la lecture des absorbances a été effectuée à 517 nm.

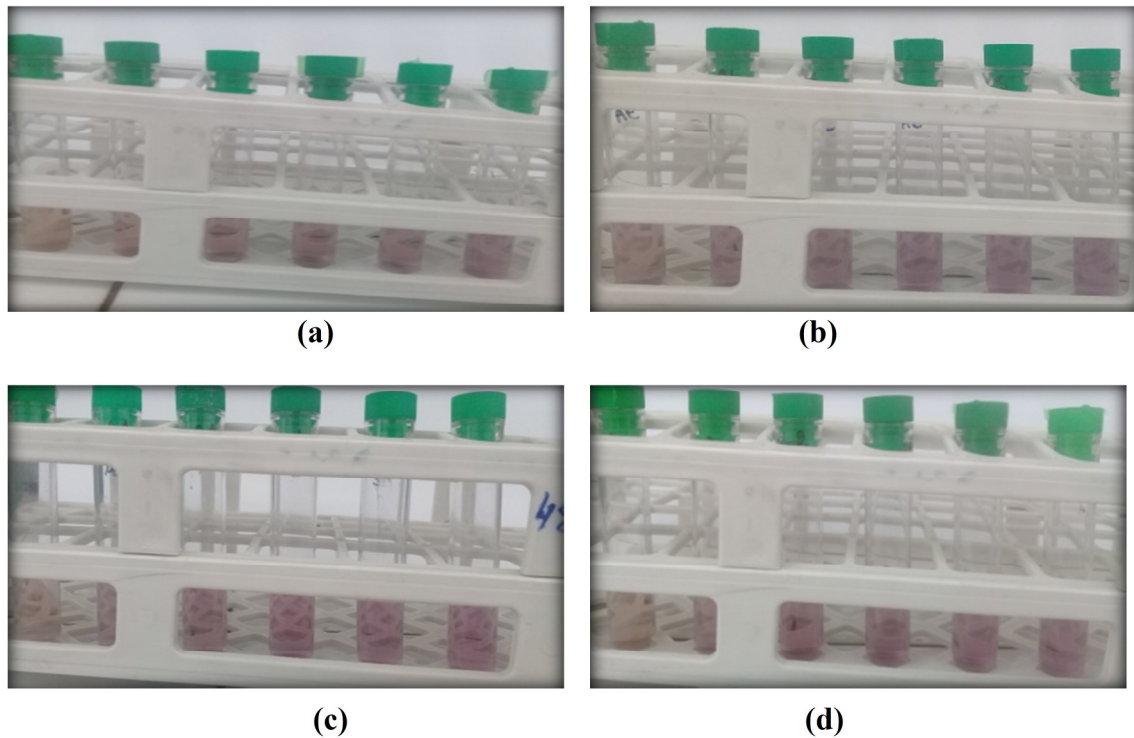


Figure 16 : Activité antioxydante par diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH)
 (a) : pour l'extrait éther de pétrole, (b) : pour l'extrait d'acétate d'éthyle
 (c) : pour l'extrait butanolique, (d) : pour l'extrait aqueuse.

2.5.2. Le pouvoir réducteur

Le principe de cette méthode consiste à évaluer l'aptitude de l'échantillon à donner un électron pour convertir le Fe^{3+} en Fe^{2+} , cette forme est quantifiée par la mesure de la couleur bleu vert du complexe (bleu de Prusse $Fe_4 [Fe(CN)_6]_3$) qui absorbe à 700 nm. Une absorbance élevée indique que l'échantillon possède un grand pouvoir réducteur (Barros *et al.*, 2007).

Le protocole expérimental utilisé est celui de Yildirim *et al.*, 2001 :

Un volume de 1 ml de chaque échantillon à différentes concentrations a été mélangé avec 2 ml d'une solution tampon phosphate à 0,2 M (pH 6,6) (Annexe 1) et 2 ml d'une solution de $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. Le tout a été incubé à 50°C pendant 20 min, puis refroidi à température ambiante. 2 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10% ont été ajoutés pour stopper la réaction. Après centrifugation à 3000 rpm pendant 10 min, 2 ml du surnageant ont été récupérés et ajoutés à 2 ml d'eau distillée et 2 ml d'une solution de chlorure de fer ($FeCl_3, 6H_2O$) à 0,1% (Figure 17). La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif dans cette expérience.

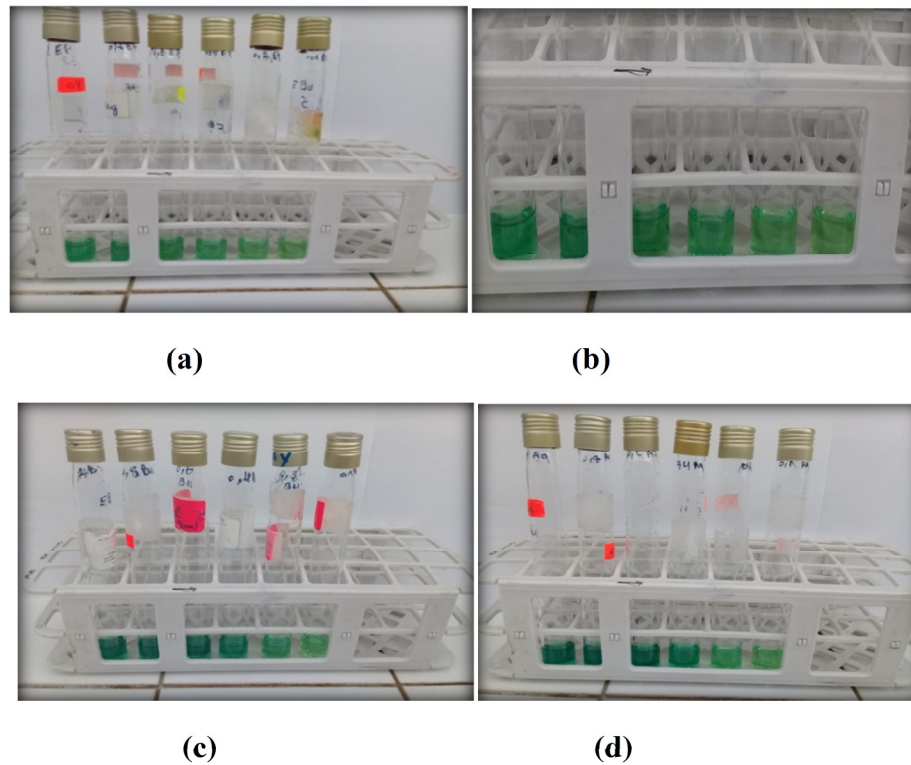


Figure 17 : Réaction de réduction du fer (FRAP).

(a) : pour l'extrait éther de pétrole, (b) : pour l'extrait d'acétate d'éthyle
 (c) : pour l'extrait butanolique, (d) : pour l'extrait aqueuse.

2.5.3. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'objectif de cette étude est de déterminer parmi les extraits préparés, ceux qui ont une activité inhibitrice sur les bactéries. L'évaluation de l'activité antibactériennes a été réalisée par la méthode de diffusion de disque sur un milieu gélose (Bammou *et al.*, 2015).

❖ Protocole

- **Préparation des solutions mères et des dilutions des extraits**

Les extraits de notre plante ont été dissous dans le méthanol 50% pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions en séries (10 dilutions), sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 200 mg/ml (Figure 18).

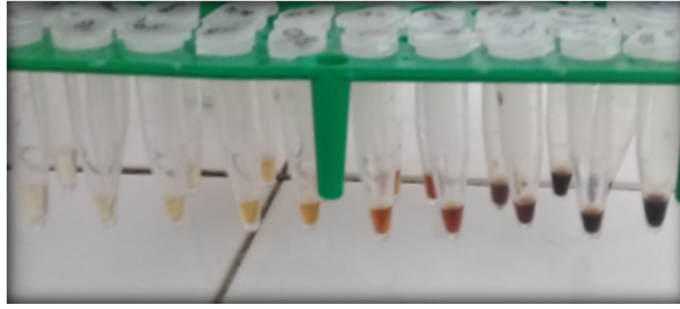


Figure 18 : Préparation des dilutions pour l'activité antibactérienne.

- **Préparation des cultures**

Les différentes espèces bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies fraîches qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

- **Préparation de l'inoculum**

A partir des cultures bactériennes, quelques colonies bien isolées et identiques ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur scellée, cette dernière a été déchargée dans 9 ml l'eau physiologique stérile (0.9%). La suspension bactérienne a été bien agitée. La turbidité de l'inoculum a été ajustée à 0.5 Mc Farland (Annexe 1).

- **Préparation du milieu de culture**

La gélose de Muller-Hinton prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétrie stériles. Les boîtes ont été séchées pendant 30 min à température ambiante avant l'emploi.

- **Ensemencement**

Après l'ajustement de la turbidité de la suspension servant d'inoculum, nous avons trempé un écouvillon stérile dans la suspension. Ce dernier a servi d'étalé la surface entière de la gélose à trois reprises, de haut en bas, en stries serrées. Après chaque application, la boîte a été tournée de 60° environ en vue d'assurer une distribution homogène de l'inoculum. Enfin, l'ensemencement s'est achevé en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

- **Préparation des disques**

Des disques de 6 mm de diamètre découpés sur papier Wattman N°1, stérilisés, ont été imprégnés à raison de 20 µl d'extraits (le méthanol a été utilisé comme témoins négatif). À

l'aide d'une pince stérile les disques ont été déposés aseptiquement à la surface du milieu préalablement ensemencé. Les boîtes ont été incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.

- **Lecture des résultats**

Après incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition circulaire transparente autour de disque correspondant à l'absence de la croissance bactérienne. L'activité antibactérienne a été déterminée à l'aide d'une règle mesurant le diamètre de la zone d'inhibition, plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (Choi *et al.*, 2006). La zone d'inhibition des souches vis à- vis de l'extrait est interprétée selon Celikel et Kavas (2008) :

- Résistante : diamètre inférieur à 8 mm.
- Sensible : diamètre compris entre 9 et 14 mm.
- Très sensible : diamètre compris entre 15 et 19 mm.
- Extrêmement sensible : diamètre supérieur à 20 mm.



Figure 19 : Etapes de l'évaluation de l'activité antibactérienne (Méthode de diffusion de Disque sur milieu gélosé)

Chapitre 2

Résultats et Discussions

Résultats et discussions

1. Les rendements

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Les trois phases organiques obtenus (éther de pétrole, acétate d'éthyle, butanol) et la phase aqueuse, ont été concentrées à sous pression réduite, pesées et les rendements sont donnés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Rendements des extraits

Matière sèche	Extrait	Masse	Rendement
50 g	Ether de pétrole	0,19 g	0,38 %
	Acétate d'éthyle	0,22 g	0,44 %
	Butanol	0,41 g	0,82 %
	Aqueux	4,81 g	9,62 %

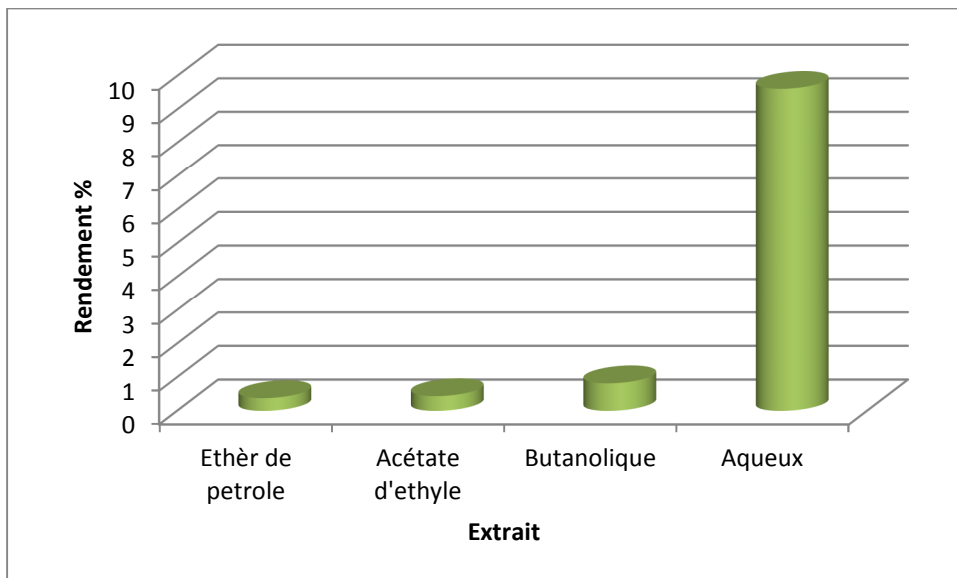


Figure 20 : Comparaison des rendements des différents extraits

Urtica dioica L.

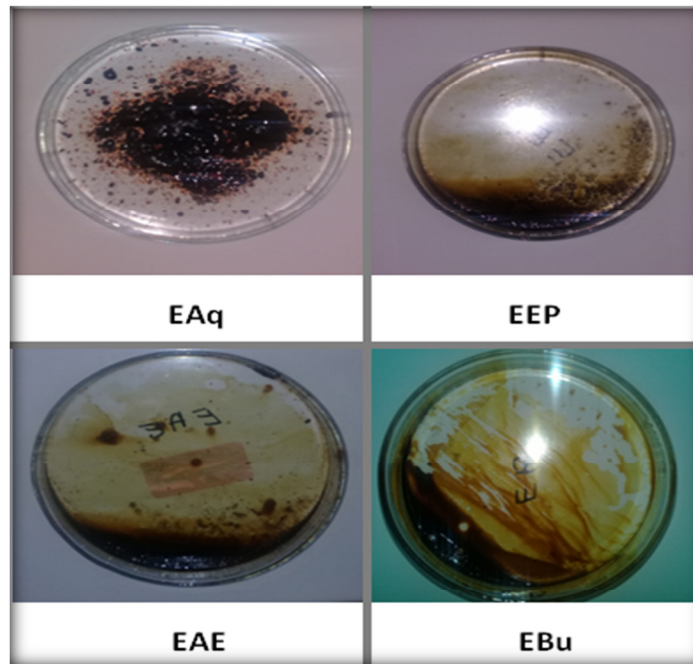


Figure 21 : Les différents extraits obtenus



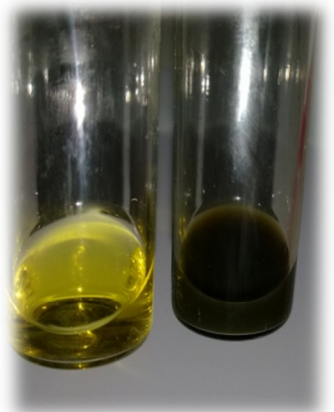
Les résultats obtenus montrent que parmi les différentes fractions, l'extrait aqueux représente le rendement le plus élevé (9,62 %) par rapport au poids total de la matière végétale sèche (poudre), suivi par extrait butanolique (0,82 %), l'extrait acétate d'éthyle (0,44%), puis l'extrait d'éther de pétrole (0,38 %).




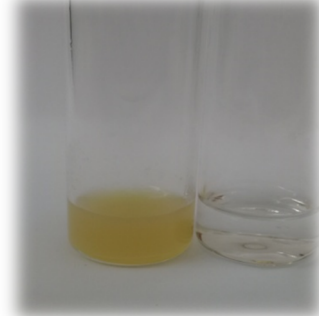
Le rendement n'est que relatif et semble être lié aux propriétés génétiques de la plante ainsi qu'à l'origine géographique, aux conditions et à la durée de stockage, de la récolte et aussi des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (Lee *et al.*, 2003).

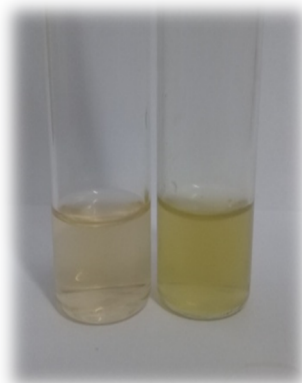
2. Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique sert à détecter certains constituants dans les feuilles de l'*Urtica dioica L.* Ce dernier est effectué par des tests et selon des réactions phytochimiques, qui sont basées sur des changements de couleur et des précipitations spécifiques par des réactifs spécifiques, indiquant la présence ou non de ces constituants. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Résultats de criblage phytochimique des feuilles d'*Urtica dioica L.*

Le composé chimique		Présence/ Absence dans l'extrait	Résultat par rapport au témoin
Composés phénoliques		+++	
Flavonoïdes (Cyanidine)		++	
Tanis	Catéchiques	++	
	Galliques	-	

<p>Composés réducteurs</p>	<p>++</p>	
<p>Saponines</p>	<p>-</p>	
<p>Alcaloïdes</p>	<p>-</p>	
<p>Quinones libres</p>	<p>+++</p>	

Stérols et triterpènes	Stérols	+	
	Triterpènes	-	

(+) : présence, (++) : présence considérable, (+++) : abondance, (-) : absence

D'après les résultats obtenus, nous remarquons la présence des composés phénoliques, flavonoïdes, des tanins catéchiques, des quinones libres, des composés réducteurs, et l'absence des saponines, des alcaloïdes et les tanins galliques et les triterpènes. Nos résultats concordent avec les résultats des autres études (Basaran, 2001; Chaurasia et Wichtl, 1987 ; Tita, 1993).

3. Dosage des polyphénols totaux

Dans notre travail, la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été déterminée par la méthode de réactif de Folin-Ciocalteu.

La courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard est représentée dans la figure 22.

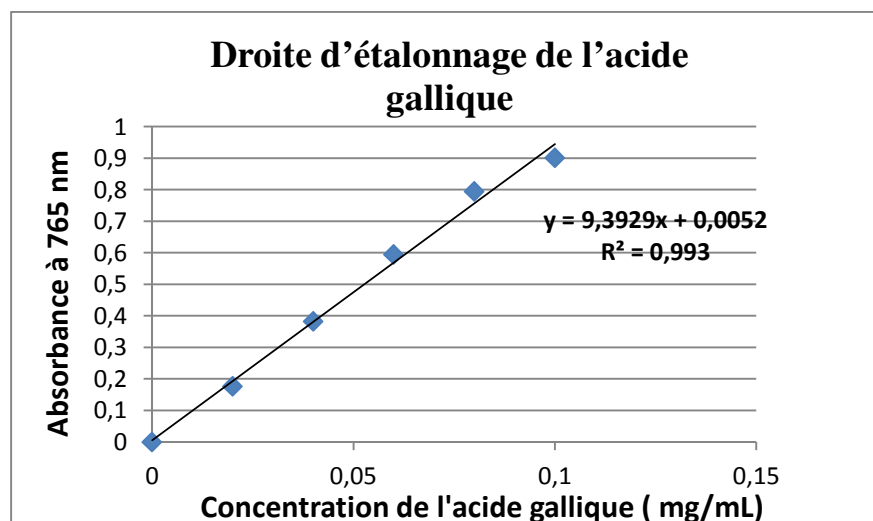


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des composés phénoliques totaux des extraits est estimée par l'équation suivante:

$$y = 9,3929x + 0,0052 \text{ avec un coefficient } R^2 = 0,993.$$

Les résultats obtenus exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g extrait), sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Teneur en phénols totaux dans les extraits.

Echantillon dosé	Teneurs en phénols totaux (mg équivalente d'acide gallique/g extrait)
Extrait éther de pétrole	44,83 ± 1,77
Extrait acétate d'éthyle	55,51 ± 1,45
Extrait butanol	82,62 ± 1,96
Extrait aqueux	64,10 ± 2,08

Selon les résultats du tableau 6 et la figure 23, l'extrait butanolique est l'extrait le plus riche en composés phénoliques.

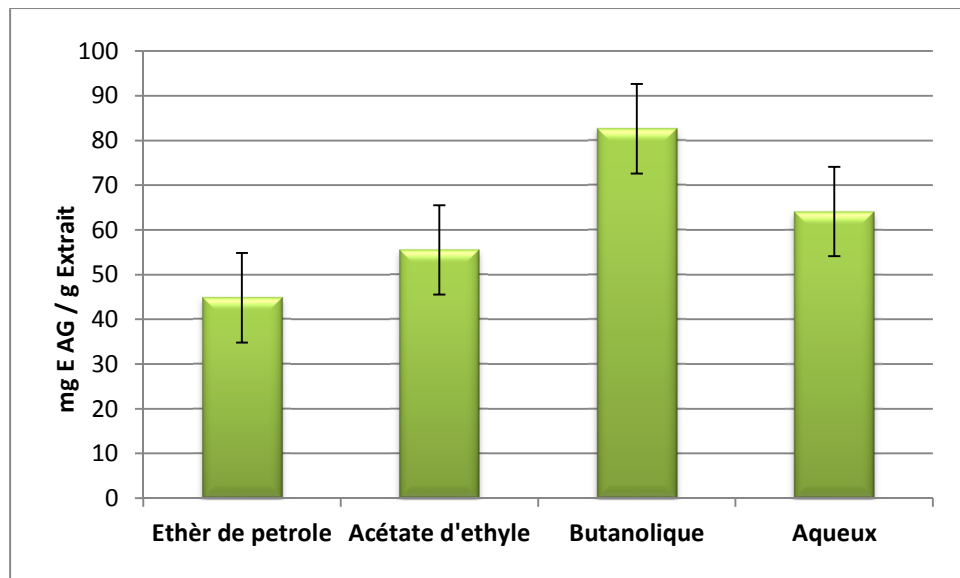


Figure 23 : Comparaison de la teneur en phénols totaux dans les différents extraits des feuilles *Urtica dioica*.

Des résultats similaires ont été trouvés en 2013 par Ghaima *et al.*, avec une teneur en composés phénoliques de 48,3 mg d'AGE/g d'extrait dans l'extrait acétate d'éthyle (55,51 mg d'AGE/g d'extrait dans notre étude). Par contre Kukric *et al.*, (2012) ont rapporté dans leur travaux une teneur en composés phénoliques de 208,37 mg EAG/g d'extrait des feuilles d'ortie, en utilisant l'éthanol 80 % comme solvant d'extraction.

En effet, le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs :

- Facteurs climatiques et environnementaux: la zone géographique, sécheresse, agressions et maladies...etc (Miliauskas *et al.*, 2004).
- Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante (Lee *et al.*, 2003).
- La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (Morais *et al.*, 2011).

4. Dosage des flavonoïdes

La détermination des flavonoïdes a été effectuée selon la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) (Bahorun *et al.*, 1996), elle est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits.

La courbe d'étalonnage qui a été obtenue en utilisant la quercitrine à différentes concentrations (0 – 0,05 mg/ml) est représentée dans la figure 24.

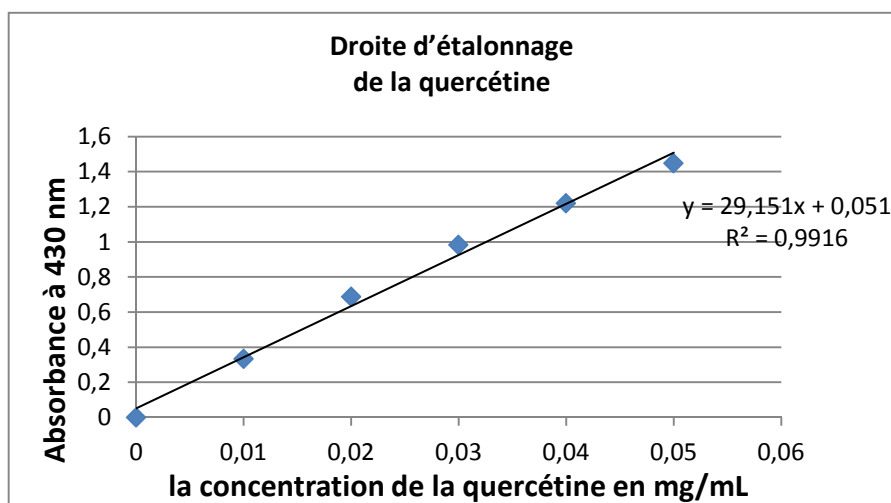


Figure 24 : Courbe d'étalonnage de la quercitrine

Les résultats obtenus, exprimés en mg équivalent de quercitrine par g de l'extrait (mg EAG/g extrait), sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Teneur en flavonoïdes dans les extraits.

Echantillon dosé	Teneur en flavonoïdes (mg Equivalent Quercitrine/g d'extraits)
Extrait éther de pétrole	12,21 ± 0,46
Extrait acétate d'éthyle	20 ,11 ± 0,42
Extrait butanol	33,53 ± 1,66
Extrait aqueux	13,18 ± 0,49

Selon ces résultats la teneur en flavonoïdes dans la phase butanolique de notre plante est la plus élevée.

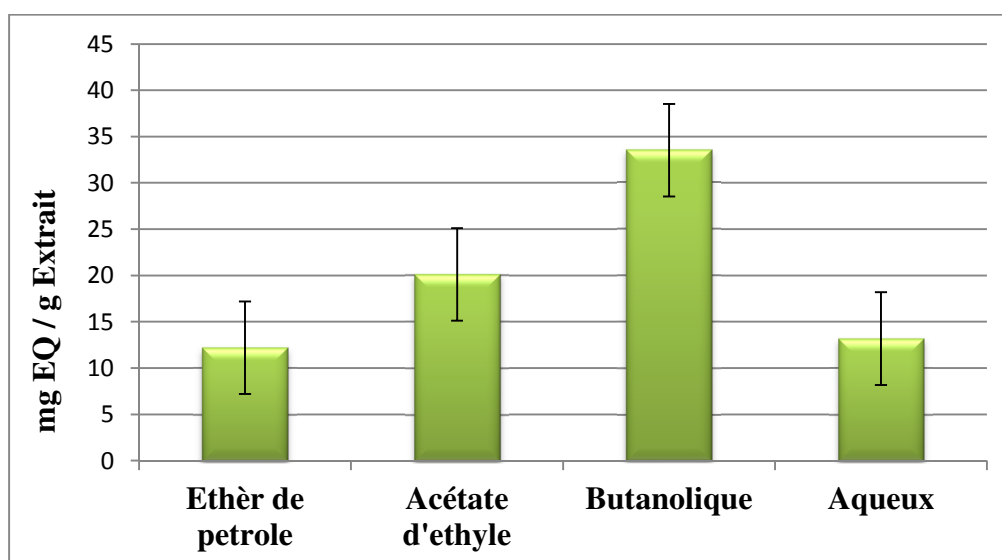


Figure 25 : Comparaison de la Teneur en flavonoïdes dans les différents extraits de feuilles *Urtica dioica L*

En 2012 Kukric *et al.*, ont rapporté une teneur en flavonoïdes de 20,29 mg EQ/g extrait dans feuilles d'*Urtica dioica L*. en utilisant l'éthanol 80 % comme solvant d'extraction.

5. Test du piégeage du radical DPPH

Le DPPH est un radical libre stable avec une bande d'absorption à 517 nm. Elle perd cette absorption lorsqu'elle est réduite par un antioxydant. La méthode DPPH est employée couramment pour déterminer l'activité antioxydante des composés phénoliques purifiés ainsi que des extraits de plantes naturels (Fukumoto et Mazza, 2000 ; Brand-Williams et *al.*, 1995). Dans ce test nous avons utilisé l'acide ascorbique comme standard, les résultats obtenus (pourcentage d'inhibition I%) sont représentés dans la figure 26.

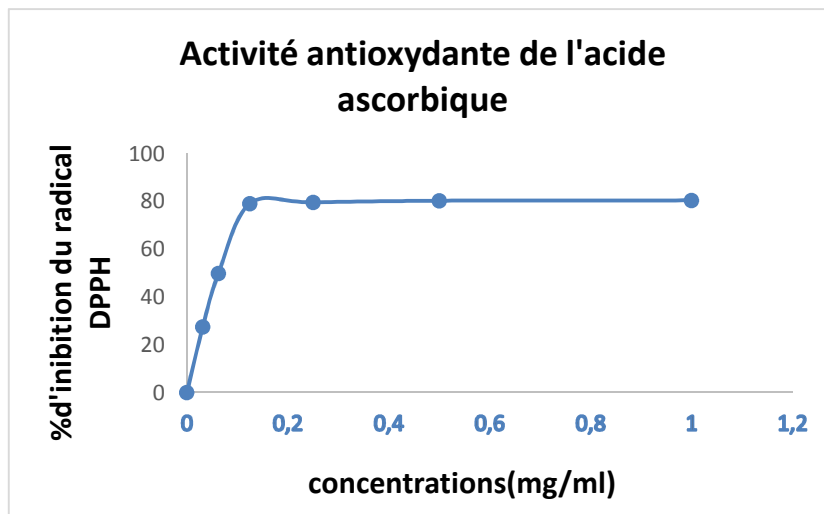


Figure 26 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique.

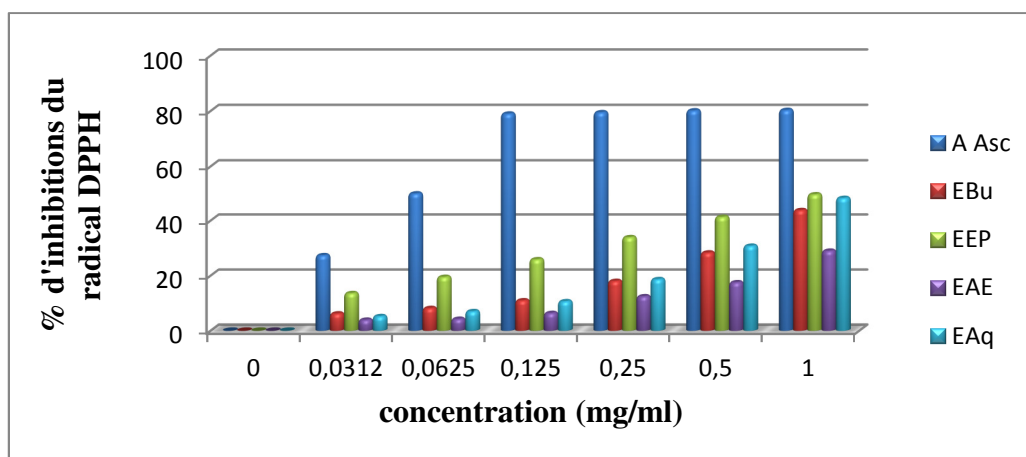


Figure 27 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits étudiés et l'acide ascorbique.

L'activité anti-radicalaire de nos extraits augmente avec l'augmentation des concentrations des extraits, dans la gamme allant de 0-1 mg/ml. Les résultats exprimés en tant que pourcentage de l'activité antiradicalaire (Figure 27), révèlent que tous les extraits testés sont des antiradicalaires. L'extrait éther de pétrole de notre plante a présenté l'activité la plus élevée (49,5 %), suivie par l'extrait aqueux et l'extrait butanolique avec 48,19 et 43,77 % respectivement et en dernier l'extrait acétate d'éthyle (29,01 %). Ces valeurs sont faibles par rapport au pouvoir antiradicalaire de l'acide ascorbique qui montre la faible efficacité de nos extraits à piéger le radical libre DPPH.

En étudiant la décoction et l'infusion de l'ortie, Albayrak *et al.*, (2012) ont enregistré une non efficacité avec des taux maximales ne dépassant pas les 40% d'inhibition du radical DPPH avec des concentrations allant jusqu'à 2mg/ml. Ce résultat est compatible avec les résultats enregistrés dans notre étude. De même, l'extrait méthanolique de cette plante n'a pas donné une satisfaction en enregistrant un pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'ordre de 21,18%.

Le même constat a été fait par Deliorman-Orhan *et al.*, (2012) qui ont montré que la décoction de l'ortie d'origine Turque s'est révèlé inefficace *vis-à-vis* du radical DPPH avec un pourcentage maximal de $21,4 \pm 0,2\%$.

La différence d'efficacité d'*U. dioica* dépend essentiellement de la région de cueillette et du stade physiologique de la plante (Monfared *et al.*, 2011) et de la méthode et/ou le solvant d'extraction.

6. Le pouvoir réducteur

Selon Wang *et al.*, (2008), le pouvoir réducteur est un indicateur significatif du potentiel antioxydant d'une substance.

L'activité réductrice du fer est estimée par la concentration efficace (CE50) qui correspond à une absorbance égale à 0,5. Les valeurs de CE50 sont obtenues à partir de la courbe de régression linéaire entre la concentration de l'extrait et la densité optique correspondante (Khadhri A *et al.*, 2012).

La présence des réducteurs dans l'extrait de la plante provoque la réduction de Fe^{3+} complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en

mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700nm (Figure 28).

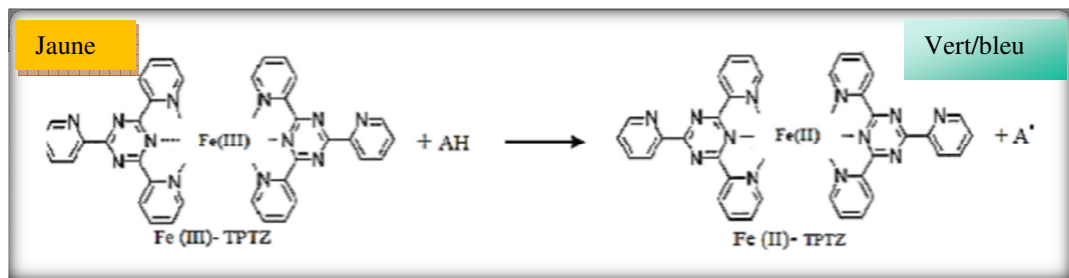


Figure 28 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)- TPTZ et un antioxydant (AH)

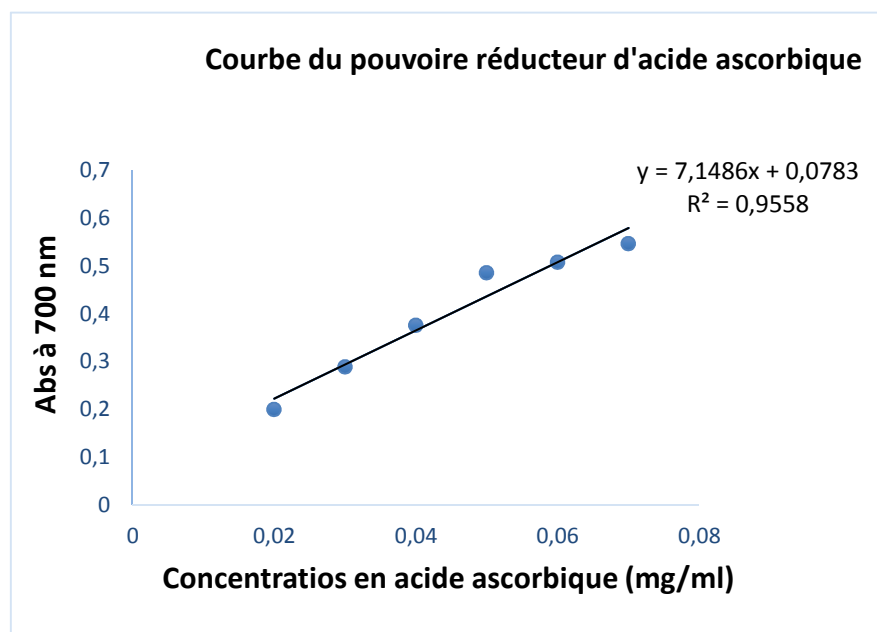


Figure 29 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.

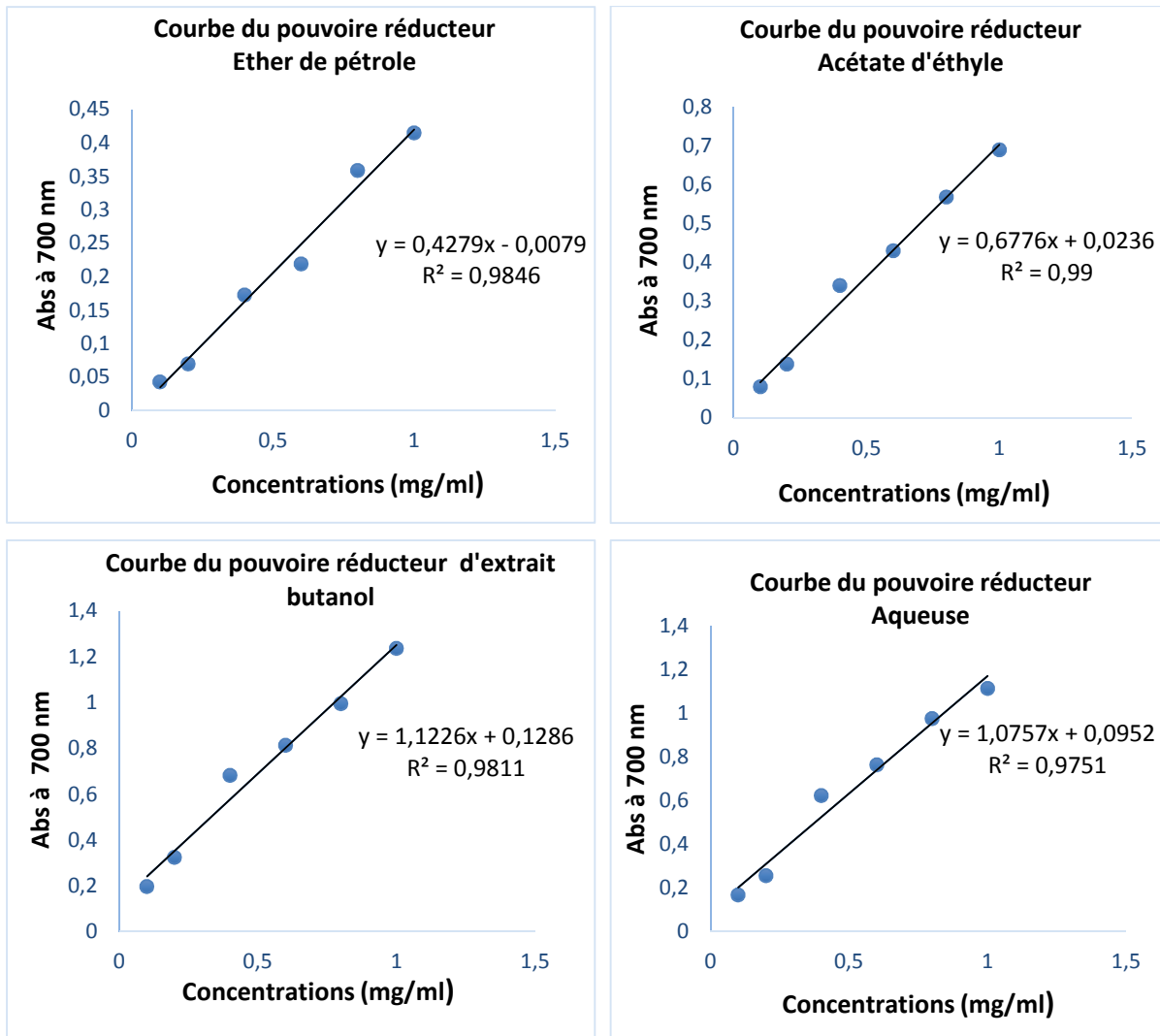


Figure 30 : Pouvoir réducteur des différents extraits des feuilles *Urtica dioica L*

D'après les résultats du tableau 8, nous remarquons que le pouvoir réducteur de l'extrait butanolique est le plus efficace par rapport aux autres extraits.

Tableau 8 : Valeurs CE50 des différentes extraits des feuilles *Urtica dioica L* et l'acide ascorbique

L'échantillon testé	EC 50 mg/ml
Extrait éther de pétrole	1,15
Extrait acétate d'éthyle	0,70
Extrait butanol	0,33
Extrait aqueuse	0,37
L'acide ascorbique	0,06

D'après ces résultats, le pouvoir réducteur, qui est estimé par la concentration efficace (CE50), est de 1,15, 0,70, 0,33, 0,37 mg/ml dans les extraits éther de pétrole, acétate d'éthyle, butanolique et l'extrait aqueux respectivement. Ces valeurs sont faibles par rapport à l'CE50 de l'antioxydant standard utilisé dans notre étude qui est l'acide ascorbique avec une valeur de 0,06 mg/ml.

À travers les courbes représentées dans la figure 30, la capacité de la réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits.

Nous avons remarqué qu'il y a une relation directe entre le teneur en polyphénol des extraits et leurs capacités antioxydantes. Ce résultat est confirmé par d'autres études (Bruda. S et Oleszek. W, 2001).

L'étude de Ilhami *et al.*, (2003) sur l'extrait aqueux des feuilles d'*Urtica dioica* a montré que toute augmentation de la concentration de l'extrait conduit à l'augmentation de la capacité de réduction de fer avec un absorbance environ de 0,2 nm d'une concentration de 0,25 mg/ml, Ce résultat concorde avec le notre.

7. Evaluation de l'activité antibactérienne

Les plantes contiennent de nombreux composés doués d'une action antimicrobienne, ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes, les huiles essentielles et les triterpénoïdes (Rojas *et al.*, 1992). Le pouvoir antimicrobien des extraits des plantes est tributaire de leurs compositions chimiques (Ben Sassi *et al.*, 2007 ; Naili *et al.*, 2010).

Nous avons observé que parmi les souches testées, seules *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, qui sont des bactéries Gram+, montrent une sensibilité aux différents extraits. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 9 et la figure 31.

Tableau 9 : Diamètre de la zone d'inhibition des extraits testés vis-à-vis les germes à étudier.

Concentration d'extrait (mg/ml)		Diamètre de zones d'inhibition (mm)	
		Gram+	
		S. aureus	Bacillus subtilis
EEP	1	16,5mm	22,5mm
	1/2	16 mm	18,5mm
	1/4	14,5mm	16,5mm
	1/8	10mm	13mm
	1/16	-	11,5mm
	1/32	-	-
	1/64	-	-
	1/128	-	-
	1/256	-	-
	1/512	-	-
EAE	1	12mm	11,5mm
	1/2	12mm	11mm
	1/4	10mm	10,5mm
	1/8	8mm	9mm
	1/16	7mm	9mm
	1/32	-	7mm
	1/64	-	-
	1/128	-	-
	1/256	-	-
	1/512	-	-
EBu	1	-	9mm
	1/2	-	7mm
	1/4	-	7mm
	1/8	-	-
	1/16	-	-
	1/32	-	-
	1/64	-	-
	1/128	-	-
	1/256	-	-
	1/512	-	-

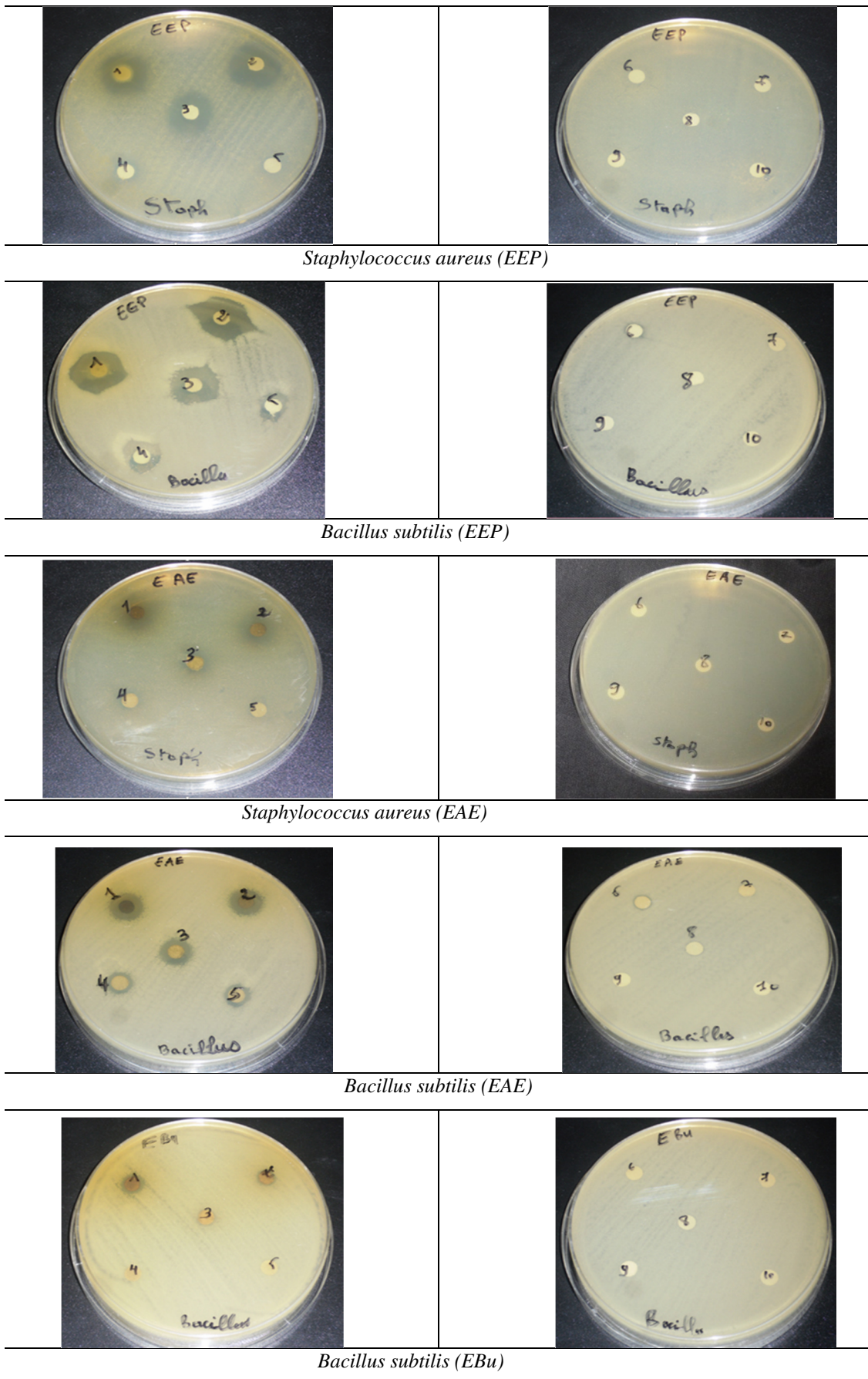


Figure 31 : Photos des boîtes de pétris après incubation montrant les zones d'inhibition des bactéries *S. aureus* et *B. subtilis*.

Le diamètre d'inhibition le plus élevé est observé pour l'extrait éther de pétrole, contre *B. subtilis*, avec une zone d'inhibition de 22,5mm.

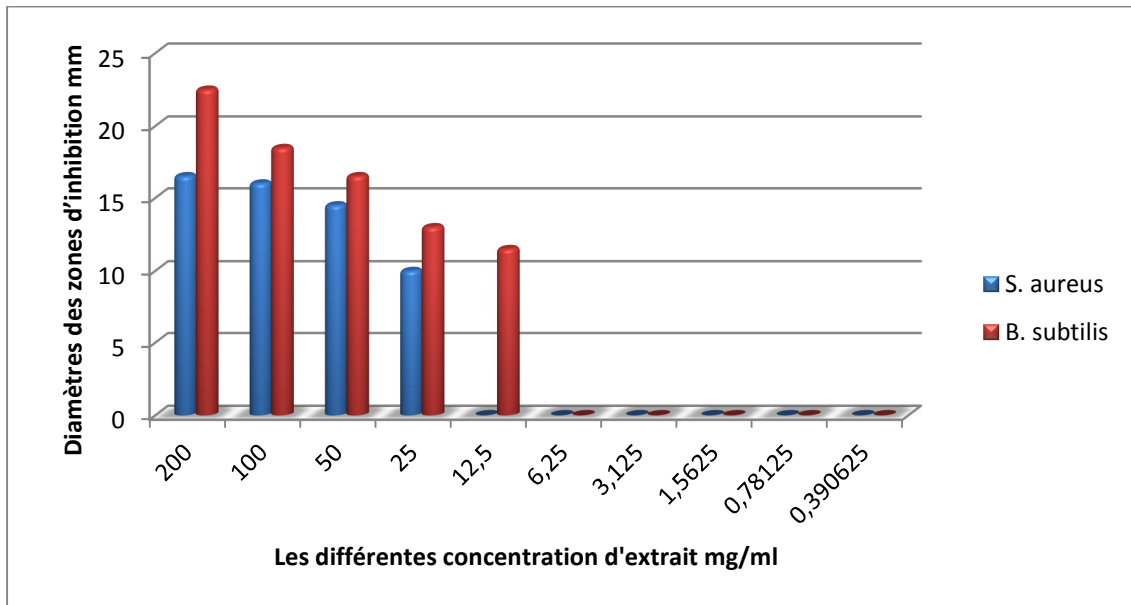


Figure 32 : Comparaison des diamètres des zones d'inhibition d'extrait éther de pétrole pour les deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* et *Baccillus subtilis*.

L'extrait acétate d'éthyle possède une activité antimicrobienne inhibitrice sur ces deux souches bactériennes avec un pouvoir inhibiteur maximal de 12 mm contre *S. aureus*.

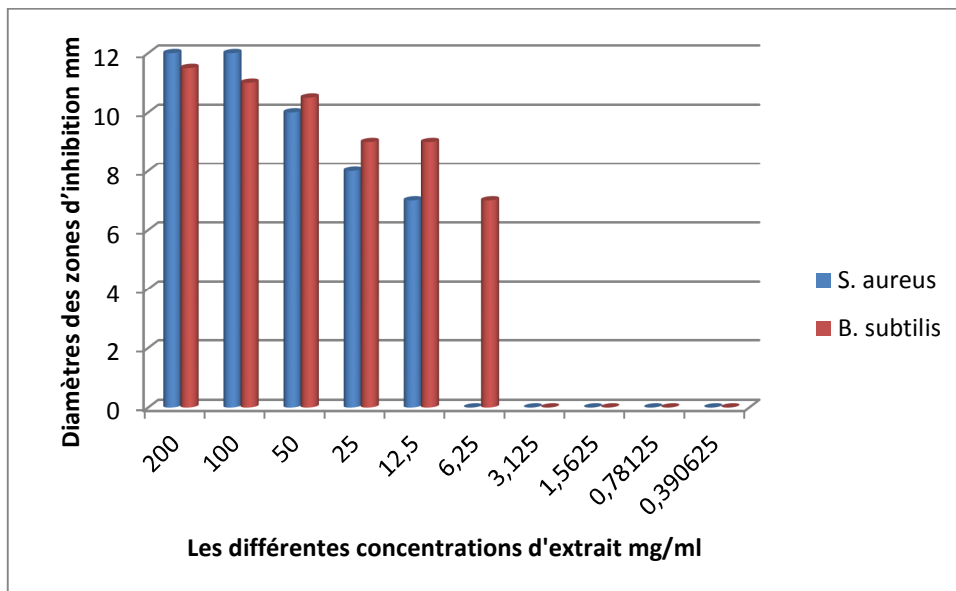


Figure 33 : Diamètres des zones d'inhibition d'extrait d'acétate d'éthyle pour les deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* et *Baccillus subtilis*

L'extrait butanolique a un pouvoir inhibiteur contre *B. subtilis* et aucun effet contre *S. aureus*.

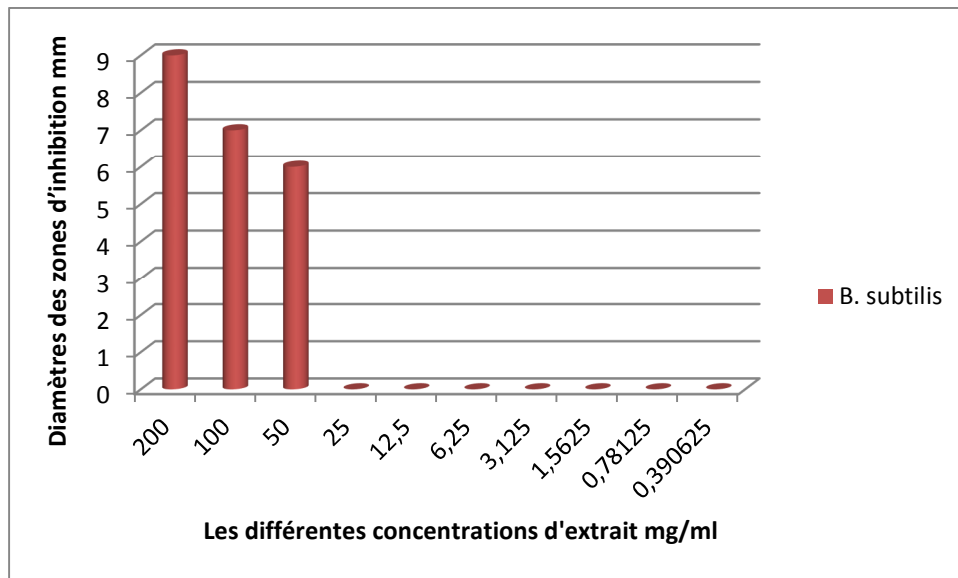


Figure 34 : Diamètres des zones d’inhibition d’extrait butanolique pour la souche *Staphylococcus aureus*

L’efficacité optimale d’un extrait peut ne pas être due à un constituant actif majoritaire, mais plutôt à l’action combinée (synergie) de différents composés (Essawi et Srour, 2000). Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est très complexe. Parmi les hypothèses avancées sur ces mécanismes : l’inhibition de la synthèse d'acide nucléique, l’altération des fonctions de la membrane cytoplasmique, la séquestration de substrats nécessaires à la croissance microbienne et l’inhibition du métabolisme énergétique microbien (Jungkind, 1995).

D’après les résultats obtenus, nous remarquons qu’indépendamment de la nature de l’extrait ou de sa concentration, les bactéries à Gram(-) possèdent une forte résistance. Cette résistance est en relation avec la nature de leurs membranes externes (imperméable à la plupart des agents biocides) (Faucher et Avril, 2002).

Des résultats similaires ont été observés dans d’autres études qui ont rapporté que l'extrait d'ortie inhibe la croissance de *S. aureus* et *S. epidermidis* (Janssen *et al.*, 1985) et il n'a pas d'effet sur la croissance de *E. coli* (Shale *et al.*, 1999 ; Dulger *et al.*, 2004).

Les résultats obtenus par Chahardehi *et al.* (2012) sur l'extrait brut d'*Urtica dioica* montre qu'à 100 mg/ml l'extrait était actif contre plusieurs souches bactériennes (*Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilissu* bsp. *Spizizenii* ATCC 6633, *Micrococcus* sp. Et *Vibrioparahaemolyticus*, *Escherichia coli*, *B. subtilis* et *Staphylococcus aureus*, *Salmonella paratyphy*, *Saccharomyces cerevisiae*). Ces auteurs ont constaté que les extraits d'acétate éthyle, d'hexane et du chloroforme ont démontré une forte efficacité antimicrobienne comparés aux extraits bruts.

De nombreuses études ont évoqué le pouvoir antimicrobien d'*Urtica dioica*. Les résultats de Marino *et al.* (2011) ont révélé que l'extrait d'acétate d'éthyle est efficace sur tous les isolats bactériens étudiés (*E. coli*, *E. coli* O157:H7, *Pro. Mirabilis*, *Pro. Ōulgaris*, *Salm. Typhimurium*, *Ser. Marcescens*, *Y. enterocolitica*, *Pse. Fluorescens*, *Pse. Putida*, *Micrococcus* sp, *Sar. flaŌa*, *S. aureus*, *B. licheniformis*, *B. thuringiensis*, *L. innocua*) avec un diamètre d'inhibition maximal de 24 mm, excepte pour *B. cereus* et *A. hydrophila* qui présentent une certaine résistance.

De même, Ghaima *et al.* (2013) ont constaté que l'extrait d'acétate éthyle d'*Urtica dioica* s'est révélé efficace vis-à-vis des bactéries Gram + (avec des diamètres d'inhibition compris entre 20 et 24 mm) comparée aux Gram négatif (avec des diamètres d'inhibition compris entre 10 et 14 mm).

Une autre étude menée par Gülcinet *al.* (2004) a également montré une résistance de *P. aeruginosa* ATCC 9027 vis-à-vis de l'extrait aqueux des feuilles d'*Urtica dioica* par contre *E. coli* a été sensible à cet extrait.

Dans l'étude menée par Sánchez *et al.*, (2009), l'extrait éthanolique des feuilles d'*Urtica dioica* du Mexique n'a pas exercé un effet inhibiteur vis-à-vis d'*E. coli* ATCC 9837.

Enfin, l'activité antimicrobienne est dépendante des caractères physico-chimiques des composés phytobiotiques et des souches employées (Sari *et al.*, 2006). Kalemba et Kunicka, (2003) ont établi la corrélation entre la composition chimique et l'activité antimicrobienne, et ont classé les molécules chimiques selon leur importance du point de vu activités biologiques comme suit: phénols, alcools, aldéhydes, cétones, éther et hydrocarbures.

Conclusion et perspectives

Le climat méditerranéen en Algérie favorise la croissance des plantes sauvages, mais malheureusement, parmi les différentes espèces de la flore algérienne, jusqu'à présent, peu d'entre elles sont étudiées. La valorisation de ces ressources naturelles est basée sur l'extraction de leurs substances naturelles qui peuvent servir en industries alimentaire, pharmaceutiques et en cosmétiques (Azzi *et al.*, 2012).

A cet effet et dans le cadre de la valorisation de l'espèce *Urtica Dioica*. Nous avons orienté notre travail sur le criblage phytochimique, l'estimation du taux des polyphénols et flavonoïdes de différents extraits de feuilles de l'ortie, suivie d'une évaluation de leurs activités antioxydantes et antibactérienne.

Le criblage phytochimique a révélé une richesse en molécules bioactives notamment les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins catéchiques, des quinones libres et des composés réducteurs. Une absence des saponines, des alcaloïdes et les tanins galliques et triterpènes a été observée.

Nos résultats ont montré que l'extrait butanolique est l'extrait le plus riche en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

L'étude de l'activité antioxydante des extraits d'*Urtica dioica L* par la méthode de DPPH a montré une faible efficacité à piéger le radical libre. D'autre part, l'activité antioxydante par la méthode de réduction du fer a montré une activité réductrice de tous les extraits, mais inférieure à celle du standard (Acide ascorbique).

L'activité antibactérienne a été positive sur deux souches bactériennes Gram positif : *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*. Nos résultats ont montré que les extraits EP et AE possèdent une meilleure activité antimicrobienne contre ces deux bactéries.

Il serait intéressant d'envisager comme perspective d'approfondir les recherches en complétant cette étude par des expériences *in vivo* et *in vitro* (les tests enzymatiques). Il serait, également, très instructif d'explorer la composition chimique de l'extrait et de tester l'effet isolé et synergique des différents constituants des différents extraits de cette espèce végétale.

Références bibliographiques

- Abbott, S.L. (2007).** *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae*. Manual of Clinical Microbiology. Washington, DC: ASM press, 9: 698-715.
- Adamczyk, B., Kitunen, V., and Smolander, A. (2013).** Response of soil C and N transformations to condensed tannins and different organic N-condensed tannin complexes. *Applied Soil Ecology*, 64: 163-170.
- Ait Braham, S., Belhamel, C. (2016).** Propriétés antioxydantes d'extraits d'une plante médicinale : *Urtica dioica* L. thèse master. Université A. Mira Bejaia., Algérie.
- Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., Albayrak, S. (2012).** Antioxidant and antimicrobial activities of different extracts of some medicinal herbs consumed as tea and spices in turkey. *Journal of Food Biochemistry*, 36: 547-554.
- Algeciras, S. A., Cook, W. J., Milz, T. C., Saenger, A. K., Karon, B. S. (2007).** Evaluation of hemoglobin interference in capillary heel-Stick samples collected for determination of neonatal bilirubin. *Clinical Biochemistry*, 40: 1311-1316.
- Al-Khafaji, N. (2015).** Evaluation of antibacterial activities of *Urtica dioica* against some pathogenic bacterial strains. *International journal of current advanced research*, 4, 216- 220.
- Alwash, M. S., Ibrahim, N., Ahmad, W. Y. (2013).** Identification and mode of action of antibacterial components from *Melastoma malabathricum linn* leaves. *American Journal of Infectious Diseases*, 9(2): 46-58.
- Amera, M., Al, R., Shababa, A., Bahjat, S. A. AlSanjary, S. T.B. (2018).** Microbial Bank Manual I : Bacteria.
- Apgil. (2003).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group Classification for the orders and families of flowering plants : APGII. *Bot. J Linn. Soc*, 141(4) : 399-436.
- Arun, C., Durdana, S., Shweta, K., Khalid, M., Neeru, S., Rahul, S. (2015).** Drug's resistant activity of *Proteus vulgaris* isolated from gut of *Mystus seenghala* of northern Punjab region. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(12):284-288.
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Vasseur, J., Gazin, J.C., Pinkas, M., Luyckx, M., Gazin, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimforschung*, 46 (11): 1086-1089.
- Balzarini, J., Neyts, J., Schols, D., Hosoya, M., Van Damme, E., Peumans, W. & De Clercq, E. (1992).** The mannose-specific plant lectins from *Cymbidium hybrid* and *Epipactis helleborine* and the (N-acetylglucosamine) n-specific plant lectin from *Urtica dioica*

are potent and selective inhibitors of human immunodeficiency virus and cytomegalovirus replication *in vitro*. *Antiviral res*, 18: 191-207.

Bammou, M., Daoudi, A., Slimani, I., Najem, M., Bouiamrine, E., Ibijbijen, J., Nassiri, L. (2015). Valorisation du lentisque « *Pistacia lentiscus* L. » : Etude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of applied biosciences*, 86: 7966-7975.

Barros, L., Ferreira, M.J., Queiros, B., Ferreira, I., Baptist, A. (2007). Total phenols, ascorbic acid, b-carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 103: 413-419.

Belaïch, R., Boujraf, S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des maladies Métaboliques*, 10(1) : 38-42.

Beloued, A. (1998). Plantes médicinales d'Algérie. Ed: Office des Publications Universitaires., Algérie.

Beloued, A. (2012). Plantes médicinales d'Algérie. 6^{ème} édition : Office des publications Universitaires., Algérie.

Benouda, A., Tagajdid, M.R. (2008). Antibiogramme: choix, interpretation et limites. *Les technologies de laboratoires*, 10 : 16-20.

Ben Sassi, A., Harzallah-Skhiri, F., and Aouni1, M. (2007). Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *J Pharmaco Bio*, 45 (5): 421–428.

Berger, M. M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20: 48-53.

Bhuwan Chandra Joshi, Minky Mukhija, Ajudia Nath Kalia., 2014. Pharmacognostical review of *Urtica dioica* L. *International Journal of Green Pharmacy*, 8(4):201-209.

Billing, J., Sherman, P. W. (1998). Antimicrobial functions of spices: why some like it hot. *The Quarterly review of biology*, 73(1): 3-49.

Bnouham, M., Merhfour, F.Z., Ziyat, A., Mekhfi, H., & Aziz, M. (2003). Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of *Urtica dioica*. *Fitoterapia*, 74 : 677–681.

Bonnefont, R. D., Peynet, J., Beaudoux, J., Théron, P., Legrand, A., Delattre, J. (2002). Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16: 260-267.

Bonnefont, R. D. (2006). Stress oxydant Conclusions, perspectives et recommandations. *Ann Pharm Fr*, 64: 402-405.

- Bouayed Debbagh, L. (2016).** Contribution à l'étude de l'effet antibactérien et antioxydant de l'extrait aqueux d'*Urtica dioica* (l'Ortie). Mémoire de master. Université de Tlemcen Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers ., Tlemcen.
- Boudjouref, M. (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister. Université Ferhat Abbes Sétif., Algérie.
- Boussemart, T., Piet-Duroux, S., Manouana, M., Azi, M., Perez, J.M., Port-Lis, M.(2004).** *Morganella morganii* et infection maternofoetale. Archives de pédiatrie, 11: 37-39.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Sci. Technol, 28: 25-30.
- Brisse, H., Grandjouan, G., Hoff, M., De Ruffray, P., et Garbolino, E. (2003).** « Répartition d'*Urtica Dioica* ». Sophy-banque de données phytosociologiques.
- Bruda, S., Oleszek, W. (2001).** Antioxidant and antiradical activities of Flavonoids. Journal of agricultural and food chemistry, 49: 2774-2779.
- Buettner, G.R. (1993).** The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate. Arch. Biochem. Biophys, 300: 535-543.
- Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 2ème édition : Tec & Doc., Paris.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes médicinales. 3^{ème} édition : Editions Tec & Doc Lavoisier., Paris.
- Capasso, A. (2013).** Antioxidant action and therapeutic efficacy of *Allium sativum* L. Molecules, 18: 690-700.
- Carange, J. (2010).** Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection. Thèse de doctorat. Université du Québec Trois-Rivières., Québec.
- Carra, A., Frei, B. (1999).** Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions. The FASEB Journal 13, (9): 1007-1024.
- Celikel, N., Kavas, G. (2008).** Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. Czech J Food Sci, 26:74-81.
- Chaabi, M. (2008).** Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines : *Euphorbia steclada* Bail. (Euphorbiaceae), *Anogeissus leiocarpus* Guill. & Perr. (Combretaceae), *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. (Plumbaginaceae).Thèse de doctorat. Université de Mentouri de Constantine et université de Louis Pasteur.

- Chahardehi, A.M., Ibroni, D., Sulaimani, S.F., & Mousavi, L. (2012).** Screening antimicrobial activity of various extracts of *Urtica dioica*. *Int J Trop Biol*, **60(4)**: 1567-1576.
- Chrubasik, S., Enderlein, W., Bauer, R. & Grabner, W. (1997)** .Evidence for antirheumatic effectiveness of Herba *Urtica dioica* III acute arthritis : a pilot study. *Phytomedicine*, 1:105-108.
- Chrubasik, J.E., Boutogalis, B.O., Hanger, H., et Chrubasik, S.A. (2007).** Comprehensive review on the stinging nettle, effect and efficacy profile. *Phytomedicine*, *14(7)* :568 – 579.
- Collier, H., Chesher, G.B. (1956).** Identification of 5-hydroxy tryptamine in the stinging nettle (*Urtica dioica*). *Pharmacology*, 186-9.
- Collin, S., & Crouzet, J. (2011).** Agence universitaire de la francophonie. Polyphénols et procédés : Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agroalimentaire. Edition Lavoisier.
- Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaroglu, M., Lunec, J. (2003).** Oxidative DNA damage : mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J*, 17(10): 1195-1214.
- Cotelle, N. (2001)** Role of flavonoids in oxidative stress. *Current topics in medicinal chemistry*, 1: 569-590.
- Cowan, M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4): 564-582.
- CROZIER A., CLIFFORD M. N., ASHIHARA H., (2006).** *Plant Secondary Metabolites*. Blackwell Publishing., Oxford UK.
- Cuvelier, C., Dotreppe, O., Istasse, L. (2003).** Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann.Méd .Vété*, 147: 315-324.
- Danja, S., Jonas, G., Nathalie, W., Katharina, O. (2016).** *Bacillus subtilis*. iGEM team: Bonn – Freiburg.
- Davies, M.J. (2003).** Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochem Biophys Res Commun*, 305(3): 761-770.
- Delattre, J., Beaudoux, J.L., Bonnefont, R. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales., Paris.
- Deliorman, O. D., Ozcelik, B., Hoşbaş, S., Vural, M. (2012).** Assessment of antioxidant, antibacterial, antimycobacterial, and antifungal activities of some plants used as folk remedies in Turkey against dermatophytes and yeast-like fungi. *Turk. J. Biol*, 36: 672- 686.

- Diallo, A. (2004).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (MYRTACEAE). Thèse de Doctorat. Université de Bamako., Mali.
- Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traoré, A., Coulibaly, K., Maiza, A. (2004).** Etude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae) utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. C.R.Chimie, 7: 1073-1080.
- Dohou, N.; Yamni, K., Gmira, N., Idrissi Hassani, L.M. (2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine Thymelaeaceae, Bull. Soc. Bordeaux, 142: 61-78.
- Dulger B, Gonuz A. (2004).** Antibacterial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine. Asian Journal of Plant Sciences, 3(1) : 104-107.
- Eboh, A. S. (2014).** Biochemistry of free radicals and oxidants scholars. Academic journal of biosciences (SAJB), 2(2): 110-118.
- Elodie, M. (2009).** Etude fonctionnelle d'un centre d'interactions protéiques chez *Bacillus subtilis* par une approche intégrée, thèse doctorat, Université Paris XI., France.
- Eloff, J.N. (1998).** Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants. Journal of Ethno-pharmacology, 60: 1-8
- Essawi, T., et Srour, M. (2000).** Screening of some Plesinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacol*, 70 (3) : 343-349.
- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique, 108-115.
- Fedala, G. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits des plantes : *Urtica dioica*, *Urtica pilulifera* et *Globularia alypum* L. diplôme de Master. Université Abderrahmane MIRA de Bejaia., Bejaia.
- Fleurentin, J. (2008).** Plantes médicinales tradition et thérapeutique. Éditions Ouest France, France B.U.Santé Nantes., France.
- Fuhrman, B., Lavy, A., Aviram, M. (1995).** Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. Am. J. Clin Nutr, 6: 549-554.
- Fu, H.Y., Chen, S.J., Chen, R.F., Ding, W.H., Kuo- Huang, L.L., Huang, N. (2006).** Identification of oxalic acid and tartaric acid as major persistent pain inducing toxins in the stinging hair of the nettle extract (*Urtica thumbergiana*). Ann Bot, 98: 57- 65.
- Fukumoto, L.R., Mazza, G., (2000).** Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compound. J. Agric. Food Chem, 48: 3597-3604.

- Garait, B. (2006).** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la Glisodin. Thèse pour obtenir le grade de docteur. Université Joseph Fourier-Grenoble., France.
- Gavot, A. (2009).** Support des cours sur les métabolites secondaires. Université de Rennes 1-L2. U2 PHR.
- Ghaima, K. K., Hashim, N. M., Abdalrasool, A. S. (2013).** Antibacterial and antioxidant activities of ethyl acetate extract of nettle (*Urtica dioica*) and dandelion (*Taraxacum officinale*). Journal of Applied Pharmaceutical Science, 3 (05): 96-99.
- Grassi, D., Desideri, G., Ferri, C. (2010).** Flavonoids: antioxidants against atherosclerosis. Nutrients, 2: 889-902.
- Gül, S., Demirci, B., Başer, KH., Akpulat, HA., Aksu, P. (2012).** Chemical composition and in vitro cytotoxic, genotoxic effects of essential oil from *Urtica dioica* L. Bull Environ Contam Toxicol, 88: 666-71.
- Gülçin, I., Küfrevioğlu, Ö. İ ., Oktay, M., et Büyükokuroğlu, M. E. (2004).** Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). Journal of ethnopharmacology, 90(2-3), 205-215.
- Hagerman, A.E., Muller, H. I., Makkar, H.P.S. (2000).** Quantification of tanins in tree foliage. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture.,Vienna.
- Haleng, J., Pinecemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P. (2007).** Le stress oxydant. Revue Medicale de Liege, 62(10): 628-638.
- Harborne, J. B., et Williams, C. A. (2000).** Advances in flavonoid research since. Photochemistry, 55 :481-504.
- Haton, C. (2005).** Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat. Université de Paris VI., France.
- Hostettmann, K., Poterat, O., Wolfender, J. L. (1998).** The potential of higher plants as a source of drugs. Chimia, 52:10-17.
- Iqbal, H., Moneeb, U.R., Rehman, K., Raiz, U., Zia, M., Naeem, K., Farhat, A.K., Zahoor, U., Sajjad, H. (2011).** Phytochemicals screening and antimicrobial activities of selected medicinal plants of Khyberpakhtunkhwa Pakistan African. Journal of Pharmacology, 5(6):746-750.
- Janssen, AM1., Scheffer, JJ. (1985).** Acetoxychavicol acetate, an antifungal component of alpinia galangal. PlantaMedica, 51(6) : 507-11.
- Jean, L. B., Genevève, D. (2008).** Biochimie médicale marqueurs actuels et perspectives. 2^e édition : Chantal Arpino., paris.

- Julies, A., Christin, M. (2002).** Dietary flavonoids : Bioavailability, metabolic effects and safety. *Annual Review of Nutrition*, 22: 19-44.
- Boyrie, j. (2016).** *Urtica dioica L : une plante aux usages multiples. Thèse de doctorat. Université de bordeaux U.F.R. des sciences pharmaceutiques., Bordeaux.*
- Jungkind, D. L. (1995).** Antimicrobial resistance: a crisis in health care;[based on the proceedings of the Eastern Pennsylvania Branch of the American Society of Microbiology Symposium on Antimicrobial Resistance: a crisis in health care—Clinical laboratory and epidemiologic considerations. Ed Plenum Press., New York, NY [u.a.].
- Kalemba, D., Kunicka, A. (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10: 813-829.
- Kavalali, G. (2003).** *Urtica: therapeutic and nutritional aspects of stinging nettles.* Londres. Taylor & Francis., New York.
- Khadhri, A., El Mokni, R., Smiti, S., (2012).** Composes phénoliques et activités antioxydantes de deux extraits de chardon a glu: *Atractylis gummifera*, *Revue Soc. Sci. Nat. de Tunisie*, 39: 44-52.
- Knirel, Y.A., Kocharova, N.A., Bystrova, O.V., Katzenellenbogen, E., Gamian, A. (2002).** Structures and serology of the O-specific polysaccharides of bacteria of the genus *Citrobacter*. *Archivum Immunologiae Et Therapiae Experimentalis*, 50: 379-391.
- Koechlin, R.C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments anti-oxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20: 165-177.
- Koffi, N., Beugré, K., Guédé, N. Z., Dossahoua, T., Laurent, A. (2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 6(1):1-15.
- Kone, D. (2009).** enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes, extraction, identification d'alcaloïdes, caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse doctorat chimie organique. Université de Bamako., Bamako.
- Krief, S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de Doctorat, Ouganda.
- Kristofova, O., Adam, V., Babula, P., Zehmalek, J., Beklova, M, Havel, L. (2010).** Effects of various doses of selenite on stingingnettle(*Urticadioica*). *Intr Environ HealthRes Public Health*, 7 : 3804-15.

- Kukric, Z.Z., Topalic-Trivunovic, L.N., Kukavica, B.M., Matos, S.B., Pavicic, S.S., Broja, M.M., Savic, A.V. (2012).** Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L), 43: 257-272.
- Kuresh, A., Youdim, A., Jeremy, P. E., Spencer., Hangen, S., Rice-Evans, C. (2002).** Dietary flavonoids as potentialneuro protectants. *Biological Chemistry*, 383: 503-519.
- Lee, A.T., Proenc, C., Ferreira, A.R., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M.F., Araujo, M.E.M. (2003).** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chem*, 103: 778-786.
- Lee, K. H. (2004).** Current developments in the discovery and design of new drug candidates from plant natural product lead. *Journal of Natural Products*, 67: 273-283.
- Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J., Lee, C.Y. (2003).** Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry*, 51: 7292-7295.
- Lewis, K. (2001).** In search of natural substrates and inhibitors of MDR pumps. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol*, 3: 247-254.
- Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Tian, Y. (2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chimestry*, 102: 771-776.
- Luc, Fontaine. (2010) .***Urtica dioica*, Guide de production sous régie biologique, Bibliothèque et Archives nationales du Québec.
- Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technologie* ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques, 9: 35-40.
- Manon, Desgagnés. (2005).** L'Ortie dioïque, Guide de production sous régie biologique, Bibliothèque nationale du Québec.
- Marie-Jo, Vanstippen. (2005).** La grande ortie (*Urtica Dioica*), Cercles des Naturalistes de Belgique (CNB) – Section Les Sources.
- Marino, M., Berrami, C., Comi, R. (2011).** Impedance measurement to study the antimicrobial activity of essential oils from luminaceae and compositae. *International Journal of Food Microbial*, 67: 187-195.
- Marouane, w. (2013).** The protective effect of *Malvasylvestris* on rat kidneydamaged by vanadium. *Lipids Health Dis*, 23;10:65.

- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., Van Beek, T.A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*, 85: 231-237.
- Midoun, T. (2011).** Extraction des composés phénoliques et étude leur activité antioxydant par le comportement électrochimique. Mémoire fin d'étude. Université kasdimerbahouargla.
- Mittman, P. (1990).** Randomized, double-blind study of freeze-dried *Urtica dioica* in the treatment of allergie rhinitis. *Planta Med*, 56:44-47.
- Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl(DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin. J. Sci. Technol*, 26: 211-219.
- Monfared, M., Kamkar, A., Khaligh, S. G., Javan, A. J., Asadi, F., Basti, A. A. (2011).** Antioxidative effects of Iranian *Urticadioica*L. extracts on the oxidation of sunflower oil. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(18): 4438-4445.
- Morais, M., Moreira, L., Feàs, X., Estevinho, L. M. (2011).** Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Food and Chemical Toxicology*, 10:1-6.
- Mouffok S. (2011).** Etude des metabolites secondaires de *Centaurea pubescens* ssp. *omphalotricha* (Asteraceae). Mémoire de Magister en chimie organique. Université Hadjilakhd Batna., Algérie.
- Moutsie. (2008).** L'ortie, une amie qui vous veut du bien, l'encyclopédie d'utovie. Edition d'utovie.
- Najjaa, N., Zouari, S., Arnault, I., Auger, J., Emna, A., Neffati, M. (2011).** Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium* *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L. *Acta Bot. Gallica*, 158(1):111- 123.
- Naili, M.B., Alghazeer, O.A., Saleh, N.A., Al-Najjar, A.Y. (2010).** Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisiacampestris*(Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab J Chem*, 3: 79–84.
- Nauciel, C., Vildé, J.L. (2005).** Bactériologie médicale. 2^{ème} Ed. Masson., Paris.
- Niki, L., Reynaert, S.W., Aesif, T.M., Amy, B., Emiel, F.M., Wouters, C.G., Irvin, G., Yvonne, M.W., Janssen, H. (2007).** Catalase over expression fails to attenuate allergic airways disease in the mouse. *The journal of Immunology*, 178: 3814-3821.
- N. O, Smith., I, Maclean., F A, Miller., S. R, Carruthers. (1997).** Crops for industry and energy in Europe, Science Research and Development. University of Reading.
- Okuda, T., and Ito, H. (2011).** Tannins of constant structure in medicinal and food plants—hydrolyzable tannins and polyphenols related to tannins. *Molecules*, 16: 2191-2217.

- Patrick, B., Jean, L., Michel, S. (1988).** Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1er Ed Médecine –Sciences Flammarion. Paris.
- Pauline, L. (2013).** Etude de la spore de *Bacillus subtilis* : caractérisation des structures impliquées dans sa résistance. Thèse doctorat. Université de Bourgogne., France.
- Pincemail, J., Heusele, C., Bonté, F., Limet, R., Defraigne, J.O. (2001).** Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. Act. Méd. Int. - Métabolismes - Hormones – Nutrition, 4: 158-164.
- Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., Defraigne, J.O. (1999).** Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme: importance en matière de prévention. cancerologie. Medi Sphere.
- Piotr, M., Piotr, W., Izabela, L., Dominika, O., Anna, S., Paweł, S., Janusz, K., Elzbieta, T. (2017).** Emergence of a multidrug-resistant *Citrobacter freundii* ST8 harboring an unusual VIM-4 gene cassette in Poland. International Journal of Infectious Diseases, 61: 70-73.
- Piquet, M.A., Hébuterne, X. (2007).** Nutrition en pathologie digestive. Ed : DOIN., France.
- Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réaction avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel, 4: 25-39.
- Rafajlovska, V., Rizova, V., Djarmati, Z., Tesevic, V., and Cvetkov, L. (2001) .**Contents of fattyacids in stinging nettle extracts (*Urticadioica* L) obtained with super critical carbon dioxide. International Journal of Green Pharmacy, 51 :45-51.
- Raman, A.V., Berry, M.J. (2012).** Selenoproteins in Cellular Redox Regulation and Signaling. Oxidative Stress in Vertebrates and Invertebrates: Molecular Aspects of Cell Signaling., 195-208. Edited by Tahira Farooqui and Akhlaq A. Farooqui. Hawaii.
- Ramtin, M., Massiha, A., Khoshkholgh-Pahlaviani, M. R. M., Issazadeh, K., Assmar, M., et Zarrabi, S. (2012).** In Vitro Antimicrobial activity of *Iris pseudacorus* and *Urtica dioica*. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences, 16(3) : 35-39.
- Randall, C.F., Randall, H., Dobbs, F., Hutton, C. & Sanders H. (2000).** Randomized controlled trial of nettle sting for treatment of base-of-thumb pain. J Royal Soc Medicine, 93:305-309.
- Ribereau, G.P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod., Paris.
- Richard, C., Kiredjian, M. (1995).** Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à gram négatif aérobies stricts: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Brucella*, *Bordetella*. 2ème édition. Ed Institut. Pasteur., Paris.

- Richard, T., Tamsamani, H., Delaunay, J.C., Krisa, S., Mérillon, J.M. (2014).** Stilbènes : de la chimie à la neuroprotection. Cahiers de nutrition et de diététique, 49:173-180.
- Rojas, A., Hernandez, L., Pereda-Miranda, R., Mata, R. (1992).** Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal Plants. J Ethno pharmacology, **35** : 275-283.
- Sánchez, D.O.S., Najera, G.L.A., Rivera, I.L., Ramírez, O.D., Cisneros, Ma.G.V., &García, V.M.N. (2009).** Antimicrobial Activity of Medicinal Plants from the Huautla Sierra Biosphere Reserve in Morelos (México). Polibotánica, 28: 213-225.
- Sari, M., Biondi, D. M., Kaâbeche, M., Mandalari, G., D'Arrigo, M., Bisignano, G., Saija, A., Daquino, C., Ruberto, G. (2006).** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum* Desf. Flavour and Fragrance Journal, 21: 890-898.
- Schaffner, W. (1992).** Les plantes médicinales et leurs propriétés. Manuel d'herboristerie. Del chaux et Niestlé.
- S, Djemai Zoughlache. (2008).** Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L. mémoire magister. Université El Hadj Lakhder., Batna.
- Sereme, A., Millogo-Rasolodimby, J., Guinko, S., and Nacro, M. (2010).** Anatomie et concentration des tanins des plantes tannifères du Burkina Faso. Journal des Sciences, 10 (2): 24-32.
- Shale, TL., Staden, JV. (1999).** Screening of medicinal plants used in Lestho for antibacterial and anti-inflammatory activity. Journal of Ethnopharmacology, 67(1): 79-86.
- Steven, P., Rachel, C., Martha, E., Paul, H., Jane, S., Peter, W.J. (2004).** Microbiology of Waterborne Diseases. Ed Elsevier Academic Press. pp71-132
- Tessier, A. (1994).** Phytothérapie analytique, phytochimie et pharmacologie. Editions Marc Auréle.
- Testai, L., Chericoni, S., Calderone, V., Nencioni, G., Nieri, P., Morelli, I., et Martinotti, E. (2002).** Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) roots extracts: in vitro and in vivo pharmacological studies. Elsevier.Journal of Ethnopharmacology, 81 : 105- 109.
- Tita B., Faccendini, P., Bello, U., Martinoli, L. & Bolle, P. (1993).** *Urtica dioica*: pharmacological effect of ethanol extract. *Pharmacol Res*, 27 : 21-22.
- Tita, I., Mogusam, G.D., Tita., (2009).** Ethnobotanical inventory of medicinal plants from the south-west of Romania. Farmacia, 57 (2): 1416156.
- Touafe, O. (2010).** Étude phytochimique des plantes médicinales du nord et du sud Algériens .Thèse Doctorat. Université Mentouri., Constantine.

- Upton, R. (2013).** Stingingnettle leaf (*Urtica dioica* L.): Extraordinary vegetable medicine. *Journal of Herbal Medicine*, 3: 9-38.
- Uttara, B., Singh, A.V., Zamboni, P., Mahajan, R.T. (2009).** Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Curr. Neuropharmacol*, 7(1) : 65-74.
- Valérie, Langlade. (2010).** L'Ortie dioïque, *Urtica Dioica* L, Etude bibliographique. Thèse de doctorat en Pharmacie. Université de Nante- France., France.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological function and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell biology*, 39: 44-84.
- Valnet, J. (1992).** Phytothérapie: traitement des maladies par les plantes. 6^{ème} édition. Paris : Maloine.
- Van, B. F., Tulkens P. (2008).** Pharmacologie et Pharmacothérapie. Anti-infectieuse (Antibiotiques, Antifongiques), pp 199.
- Vârban, D.I., Duda, M., Vârban, R., Muntean, S. (2009).** Research Concerning the Organic Technology for *Satureja Hortensis* L. *Culture Bulletin UASVM Agriculture*, 66(2): 225- 229.
- Wetherilt, H. (1992).** Evaluation of *Urtica* species as potential sources of important nutrients. *Developments in Food Science*, 29: 15-25.
- Wichte, M., & Anton, R. (2003).** Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2^{ème} édition : EMI nter /Tec & Doc éditions. Paris.
- Yildirim, A., Mavi, A., Kara, A. (2001).** Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(8): 4083-4089.
- Yves-Alain, B., Janat, A., Mamyrbekova, B., Boua, B., Fézan, H. T., Ehouan, E. (2007).** Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend and Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences & Nature*, 4(2): 217-225.

Annexes

Annexe 1**Réactif de Mayer**

10 g de KI et 2,70 g de HgCl₂ dissous dans 20 ml d'eau

KI : Iodure de potassium

HgCl₂ : chlorure de mercure

Solution tampon phosphate à 0,2M et pH 6,6

Solution 1 :

Mélanger 7,1g de Na₂HPO₄ avec 250ml de l'eau distillée.

Solution 2 :

Mélanger 7,8g de NaH₂PO₄ 2H₂O avec 250ml de l'eau distillée.

Le tampon Phosphate à 0,2M et pH6,6 est un mélange de 37,5mL de la solution 1 et 62,5mL de la solution 2.

Eau physiologique à 0.9% :

Mélanger 0,9 ml NaCl avec 100 ml de l'eau distillée.

Solution 0.5 Mc Farland :

Solution 1 :

H₂SO₄ à 1% → Mélanger 1 ml H₂SO₄ avec 100 ml de l'eau distillée.

Solution 2 :

BrCl₂ à 1,175% →Mélanger 1,175 g BrCl₂ avec 100 ml de l'eau distillée.

0,5 Mc Farland est obtenue on mélangeant 50 µl de solution 1 et 950 µl de la solution 2.

Résumés

Résumé

Afin de valoriser et exploiter le patrimoine végétal dans plusieurs domaines pharmacologique, médical et agro-alimentaire, nous sommes intéressées dans ce travail à l'évaluation de l'activité biologique des extraits préparés à partir des feuilles d'*Urtica dioica* L. (Activité antioxydante et antibactérienne) et la détermination de certains composés phytochimiques et leur teneur en molécules bioactives.

Les tests de criblage phytochimique ont révélé sa richesse en composés phénoliques, flavonoïdes, des tanins catéchiques, des quinones libres, des composés réducteurs. La quantification des polyphénols et des flavonoïdes a été effectuée par spectrophotométrie, leurs dosages ont révélé des teneurs qui varient de 44,83 à 82,62 mg EAG/g d'extrait pour les polyphénols et de 12,21 à 33,53 mg EQ /g d'extrait pour les flavonoïdes.

L'évaluation du pouvoir antioxydant de nos extraits réalisé par la méthode du piégeage du radical libre DPPH, a montré que tous les extraits testés ont une faible efficacité antioxydante. Le test du pouvoir réducteur du fer, a montré que les extraits exercent une activité réductrice, mais inférieure à celle du standard (Acide ascorbique).

L'étude de l'activité antibactérienne a été effectuée sur 7 souches bactériennes par la méthode de diffusion sur disque. Les résultats obtenus ont montré que les extraits EEP et EAE et EBU ont un effet inhibiteur sur deux bactéries à Gram positif *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*.

Nos résultats peuvent être considérés comme prometteurs et justifient la poursuite des recherches, entre autres, sur l'identification des composants antioxydants et antimicrobiens dans les extraits actifs.

Mots clés : *Urtica dioica* L, EEP, EAE, EAq, EBU, Criblage phytochimique, Activité antioxydante, Activité antibactérienne.

Abstract

In order to valorize and exploit the plant heritage in several pharmacological, medical and agri-food domains, we are interested in this work to evaluate the biological activity of the extracts prepared from the *Urtica dioica L.* leaves (Antioxidant activity and antibacterial) and the determination of certain phytochemicals and their content of bioactive molecules.

Phytochemical screening tests revealed its richness in phenolic compounds, flavonoids, catechin tannins, free quinones, reducing compounds. The quantification of polyphenols and flavonoids was carried out by spectrophotometry, their assays revealed levels ranging from 44.83 to 82.62 mg EAG / g extract for polyphenols and from 12.21 to 33.53 mg EQ / g extract for flavonoids.

The evaluation of the antioxidant power of our extracts carried out by the DPPH free radical scavenging method, showed that all the extracts tested have low antioxidant efficiency. The test of the reducing power of iron has shown that the extracts exert a reducing activity, but lower than that of the standard (ascorbic acid).

The study of the antibacterial activity was carried out on 7 bacterial strains by the diffusion method on disk. The results obtained showed that the EPE and AEE and BuE extracts have an inhibitory effect on two gram-positive bacteria *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*.

Our results may be considered promising and warrant further research, including identification of antioxidant and antimicrobial components in active extracts.

Key words: *Urtica dioica L.*, EEP, EAE, EAq, EBU, Phytochemical Screening, Antioxidant activity, Antibacterial activity.

ملخص

من أجل تثمين واستغلال التراث النباتي في العديد من المجالات الدوائية والطبية والزراعية ، نهتم في هذا العمل بتقييم النشاط البيولوجي للمستخلصات المحضرة من أوراق نبات القراص (النشاط المضاد للأكسدة و المضاد للبكتيريا) و تحديد بعض المركبات الكيميائية النباتية ومحتواها من الجزيئات النشطة بيولوجيا.

كشفت اختبارات الكشف الكيميائي النباتي عن ثرائها في المركبات الفينولية ، والفلافونويد ، والتانين المكثف، والكينونات الحرة، والمركبات السكرية. تم إجراء القياس الكمي للبوليفينول والفلافونويد عن طريق القياس الطيفي، وكشفت فحوصاتها كميات تتراوح بين 44.83 إلى 82.62 مغ معادل لحمض الغاليك / غ من المستخلص بالنسبة للبوليفينول و 12.21 الى 33.53 مع معادل للكروستين / غ من المستخلص بالنسبة للفلافونويد.

فحص DPPH أظهر تقييم النشاط المضادات للأكسدة في المستخلصات التي أجريناها بكفاءة منخفضة. أظهر اختبار الحد من قوة الحديد ، أن المستخلصات تمارس نشاطاً مضاداً للأكسدة، ولكن أقل من نشاط (حمض الأسكوربيك).

أجريت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا على 7 سلالات بكتيرية. وأظهرت النتائج المحصل عليها أن كل من مستخلصات اثر البترول و الأسيتات اثيل و البيتانول لها تأثير مثبط على اثنين من البكتيريا اجابية الغرام *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* .

قد تعتبر نتائجنا واعدة وتستدعي إجراء مزيد من البحوث ، بما في ذلك تحديد مكونات مضادات

الأكسدة ومضادات الميكروبات في المستخلصات النشطة.

الكلمات المفتاحية: القراص , EEP, EAE, EAq, EBU, الفحص الكيميائي النباتي ، نشاط مضاد

الأكسدة ، نشاط مضاد للبكتيريا.

AKRAB Cheyma

Date de soutenance : 31/07/2019

MOUHADI Zeyneb

Année universitaire : 2018/2019

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention de diplôme de Master en Biochimie de la Nutrition.

Thème : Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de feuilles *d'Urtica dioica L.*

Résumé

Afin de valoriser et exploiter le patrimoine végétal dans plusieurs domaines pharmacologique, médical et agro-alimentaire, nous sommes intéressées dans ce travail à l'évaluation de l'activité biologique des extraits préparés à partir des feuilles *d'Urtica dioica L.* (Activité antioxydante et antimicrobienne) et la détermination de certains composés phytochimiques et leur teneur en molécules bioactives.

Les tests de criblage phytochimique ont révélé sa richesse en composés phénoliques, flavonoïdes, des tanins catéchiques, des quinones libres, des composés réducteurs. La quantification des polyphénols et des flavonoïdes a été effectuée par spectrophotométrie, leurs dosages ont révélé des teneurs qui varient de 44,83 à 82,62 mg EAG/g d'extrait pour les polyphénols et de 12,21 à 33,53 mg EQ /g d'extrait pour les flavonoïdes.

L'évaluation du pouvoir antioxydant de nos extraits réalisé par la méthode du piégeage du radical libre DPPH, a montré que tous les extraits testés ont une faible efficacité antioxydante. Le test du pouvoir réducteur du fer, a montré que les extraits exercent une activité réductrice, mais inférieure à celle du standard (Acide ascorbique).

L'étude de l'activité antibactérienne a été effectuée sur 7 souches bactériennes par la méthode de diffusion sur disque. Les résultats obtenus ont montré que les extraits EEP et EAE et EBU ont un effet inhibiteur sur deux bactéries à Gram positif *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*.

Nos résultats peuvent être considérés comme prometteurs et justifient la poursuite des recherches, entre autres, sur l'identification des composants antioxydants et antimicrobiens dans les extraits actifs.

Mots clés : *Urtica dioica L.*, EEP, EAE, EAq, EBU, Criblage phytochimique, Activité antioxydante, Activité antibactérienne.

Membres du jury :

Présidente du jury : M^{me} MEDOUKALI I. Maître de conférences « B »- UFM constantine 1.

Encadreur : M^{me} GUENDOUZE A. Maître de conférences « B »- UFM constantine 1.

Examinatrice : M^{me} TENIOU S. Maître assistante « A » - UFM Constantine 1.