

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR**  
**ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



**Université des Frères Mentouri Constantine 1**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie et Ecologie Végétale**



**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**  
**Domaine : Science de la Nature et de la Vie**  
**Filière : Biologie et Physiologie Végétale**  
**Spécialité : Métabolisme Secondaire et Molécule Bioactive**

**Intitulé :**

---

**Etude phytochimique et biologique chez l'espèce *Urtica dioica* au niveau des  
deux parties : racinaire et aérienne.**

---

**Présentée et soutenu par : Bennouar Yousra**

**Soutenant le : 19\06\2017**

**Chekakta Sihem**

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury : Chibani Salih      MCB – UFM Constantine 1.**

**Encadreuse :            Labbani Zelikha      MAA – UFM Constantine 1.**

**Examinatrice :        Nebbache Seloua      MCB – UFM Oum El Bouaghi.**

**Année Universitaire**

**2016 – 2017**

## *Remerciements*

*Avant toute chose, on tient à remercier Dieu le tout puissant, pour avoir donné la force et la patience. Nous commençons par exprimer notre profonde reconnaissance nos vifs remerciements au Mme LABBANI Zelikha, Professeur au Département de Biologie et Ecologie Végétale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des frère Mentouri Constantine 1, qui nous à honorées en acceptant de diriger ce travail, pour ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience dans la correction, merci de nous avoir guidées avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les corrections de ce manuscrit.*

*Nous remercions Monsieur CHIBANI Salih, Docteur au Département de Biologie et Ecologie Végétale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Constantine 1, d'avoir accepté de nous faire l'honneur de présider notre travail.*

*Nous remercions également Mme NEBBACHE Seloua Maitre Assistance Classe A au Département de Oum El Bouaghi d'avoir accepté d'examiner ce travail et de participer au membre de jury. A la fin nos remerciements vont à tous personne qui a participé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.*

## *Dédicace*

*Je remercie le bon Dieu qui m'a donnée le courage et la force d'accomplir ce  
modeste travail.*

*Je dédie ce travail :*

*A mes parents bien sur Mon père qui a semé en moi le respect et l'amour de la  
Science, à ma mère, je tiens à exprimer ma profonde gratitude et tous mes respects  
pour tout son affection, son soutien et sa compréhension.*

*A mes frères Abdelmoiz et Abdelmouneim*

*Ama ma sœur Faiza et son mari Yacine et son petit chouchou Youcef aucun mot ne  
serait exprimé tout l'amour que je vous porte.*

*A l'homme de ma vie, Lahouassa Youcef.*

*Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à mes chères  
copines Amina, Houda, Aida, Narimen. Sihem, Manel.*

*Et à toute la famille Bennouar, Achi, Lahouassa et Ardjoum.*

*Yousra*

## *Dédicace*

*Je remercie le bon Dieu qui m'a donnée le courage et la force d'accomplir ce  
modeste travail.*

*Je dédie ce travail :*

*A mes parents bien sur Mon père qui a semé en moi le respect et l'amour de la  
Science, à ma mère, je tiens à exprimer ma profonde gratitude et tous mes respects  
pour tout son affection, son soutient et sa compréhension.*

*A mes frères Slimane, Wahid et Mohamed et ces femmes Moufida et Nassima.*

*A mes audorante sœur Hakima et Wahiba, aucun mot ne serait exprimé tout  
l'amour que je vous porte.*

*A mes petits-enfants, Malek, Ghoufran, Roueya, Haitam et sur tous mon petit cœur  
Salah El dine.*

*Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude :*

*A ma chère cousine et sœur Linda.*

*A ma chère binôme et sœur Yousra qui toujours ma encouragé.*

*A mes amies : Yousra, Ilham, Nawel, Kenza, Rahma, Okba, et Walid.*

*A toute la famille, Chekakta, Boudjouada, et à Laoud.*

*Sihem*

## **Résumé :**

Ce travail concerne l'étude phytochimique de l'espèce *Urtica dioica*, appartenant à la famille des Urticacées, portant sur deux parties de la plante : la partie racinaire et la partie aérienne. Le but de ce travail est de confirmer la richesse de l'ortie en métabolites secondaires particulièrement les flavonoïdes.

Les différents tests réalisés, montrent la richesse de *Urtica dioica* en composés phénoliques et plus particulièrement en flavonoïdes.

Parallèlement une étude biologique a été effectuée sur quatre souches bactériennes et deux souches fongiques. Les résultats obtenus ont montré qu'il y a une activité antibactérienne plus marquée chez l'espèce *Bacillus subtilis* (avec un diamètre d'inhibition de 26 mm).

**Mots clés :** *Urtica dioica*, Urticacées, Partie aérienne, Partie racinaire, Flavonoïdes, Activité biologique.

## الملخص

هذا البحث يتناول الدراسة الفيتوكيميائية لنبات *Urtica dioica*, الذي ينتمي الى عائلة Urticacées وهو يقوم على معاينة النبتة باكملها و دراسة كلا جزئها : (المجموع الجذري و المجموع الخضري). ويتمثل الهدف الاساسي من هذا العمل في اثبات غنى نبات القرايص من حيث عمليات الايض الثانوي و خصوصا الفلافونيدات وقد اظهرت مختلف التجارب المنجزة على نبات القرايص الكبير , انه غني بالمركبات الفينولية و تحديدا الفلافونويدات بالمقابل, تم انجاز دراسات بيولوجية طبقت على اربعة انواع بكتيرية و نوعين من فطريين. ولقد جاءت النتائج لتثبت القدرة المضادة للبكتيريا التي تتميز بها نبتة القرايص و خاصة الفصيلة المعروفة باسم bacillus subtilis بمجال مانع قطره 26 م

**الكلمات الاساسية :** القرايص الكبير, المجموع الجذري, المجموع الخضري, الفلافونيدات  
دراسات بيولوجية , *urtica dioica*

**Abstract :**

This work represents a phytochemical study of specie of *Urtica dioica*, belonging to the family Urticaceae, and it's concerned by its both parts of the plant: root part and aerial part. The main goal of this research is to confirm the richness of the plant with second metabolites is specially the flavonoids.

The different tests realized revealed that *Urtica dioica* is a precious plant being full of phenolic compounds particularly flavonoids.

In the second hand, another biological study has been made on for kinds of bacteria and to type of champignons.

The results confirmed an antibacterial activity, showed by the plant specially *Bacillus subtilis* species with inhibition diameter of 26 mm.

**Keywords:** *Urtica dioica*, Urticaceae, Root part, Aerial part, Flavonoids, biological study.



## Liste des abréviations

**A** : Acide.

**BuOH** : Butanol.

**°C** : Degré Celsius.

**CCM** : Chromatographie sur couche mince.

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

**FED** : Fraction éther di éthylique.

**FAE** : Fraction acétate d'éthyle.

**FBU** : Fraction butanol.

**g** : Gramme.

**HCl** : Acidechlorohydrique.

**KOH** : Hydroxyde de potassium.

**L** : Litre.

**m** : Mètre.

**MeOH** : Méthanol.

**mg** : Milligramme.

**Mg** : Magnésium.

**min** : Minute.

**ml** : Millilitre.

**mm** : Millimètre.

**M.V** : Matière végétale.

**NaCl** : Chloride sodium.

**Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Picrate de sodium.

**NaOH** : Sodium hydroxide..

**N°** : Numéro.

**Rf** : Rapport frontal.

**V** : Volume.

**UV** : Ultra-violet.



## Listes des figures

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure 01</b> : une planche botanique d' <i>Urtica dioica</i> .....   | 02 |
| <b>Figure 02</b> : Schéma montre la position des poils urticants d' <i>Urtica dioica</i> .....   | 03 |
| <b>Figure 03</b> : Rhizomes.....   | 04 |
| <b>Figure 04</b> : Diagramme floral d'une fleur femelle d' <i>Urtica dioica</i> .....  | 04 |
| <b>Figure 05</b> : Diagramme floral d'une fleur male d' <i>Urtica dioica</i> .....   | 04 |
| <b>Figure 06</b> : Protocole d'étude expérimentale .....   | 12 |
| <b>Figure 07</b> : Partie aérienne .....   | 13 |
| <b>Figure 08</b> : Partie racinaire.....   | 13 |
| <b>Figure 09</b> : Poudre de la partie aérienne .....  | 13 |
| <b>Figure 10</b> : Poudre de la partie racinaire.....  | 13 |
| <b>Figure 11</b> : Différentes parties de l'évaporateur rotatif.....   | 17 |
| <b>Figure 12</b> : L'évaporateur rotatif .....   | 17 |
| <b>Figure 13</b> : Dépôt et développement de la CCM .....  | 19 |
| <b>Figure 14</b> : CCM analytique représentative des flavonoïdes d'ortie dioïque, partie aérienne sur une plaque de gel de silice développée dans le système solvant (butanol/Acide acétique /Eau) ..... | 29 |
| <b>Figure 15</b> : CCM analytique représentative des flavonoïdes d'ortie dioïque, partie racinaire sur une plaque de gel de silice développée dans le système solvant (butanol/Acide acétique /Eau)..... | 29 |
| <b>Figure 16</b> : diamètre des zones d'inhibition des quatre souches bactériennes chez <i>Urtica dioica</i> partie racinaire.....   | 32 |
| <b>Figure 17</b> : diamètre des zones d'inhibition des quatre souches bactériennes chez <i>Urtica dioica</i> partie aérienne.....  | 32 |
| <b>Figure 18</b> : Activité antifongique de l'extrait brut des deux parties chez <i>Urtica dioica</i> .....  | 33 |

## Listes des tableaux

|  |    |
|--|----|
| <b>Tableau 01</b> : Description botanique de l'ortie dioïque.....  | 03 |
| <b>Tableau 02</b> : Composants chimiques des différentes parties dans l'ortie dioïque.....   | 06 |
| <b>Tableau 03</b> : Structure chimique et Principales classes de composés phénoliques.....   | 07 |
| <b>Tableau 04</b> : Classes des flavonoïdes .....  | 09 |
| <b>Tableau 05</b> : Différents solvants utilisés pour la CCM de gel de silice.....   | 18 |
| <b>Tableau 06</b> : Relation entre la fluorescence et la structure des flavonoïdes.....  | 20 |
| <b>Tableau 07</b> : Relation entre le RF et la structure des flavonoïdes.....  | 20 |
| <b>Tableau 08</b> : Résultats des tests du criblage des flavonoïdes par l'extrait méthanolique des<br>feuilles et des racines.....                                       | 24 |
| <b>Tableau 09</b> : Résultats des tests de criblage des quinones par l'extrait éthérique des feuilles et<br>des racines.....   | 25 |
| <b>Tableau 10</b> : Résultats des tests de criblage des anthraquinones par l'extrait éthérique des feuilles<br>et des racines.....                                       | 26 |
| <b>Tableau 11</b> : Résultats de recherche des tanins condensés dans les deux extraits.....  | 26 |
| <b>Tableau 12</b> : Résultats de recherche des alcaloïdes dans les deux parties.....   | 27 |
| <b>Tableau 13</b> : Résultats de recherche des stérols et tri-terpènes dans les deux parties.....  | 27 |
| <b>Tableau 14</b> : Résumé des résultats obtenus du criblage des composés phénoliques.....   | 28 |
| <b>Tableau 15</b> : Comportement chromatographique des phases : éther di éthylique, acétate d'éthyle<br>et butanol partie aérienne sur des plaques de gel de silice..... | 29 |
| <b>Tableau 16</b> : Activité antibactérienne de l'extrait brut des deux parties chez la plante<br><i>Urtica dioica</i> .....   | 30 |
| <b>Tableau 17</b> : Diamètre de la zone inhibitrice des souches bactériennes dans les deux parties<br>chez l'ortie dioïque en (mm).....                                  | 31 |



# Table des matières

## Introduction

## Partie 1 : Synthèse bibliographique

### Chapitre I : Présentation botanique

|   |    |
|---|----|
| I.1.1. Description générale des Urticacées.....                         | 01 |
| I.2. Etude botanique d' <i>Urtica dioica</i> .....                      | 01 |
| I.2.1. Dénomination.....  | 01 |
| I.2.2. Classification de la plante.....                                 | 02 |
| I.2.3. Description d' <i>Urtica dioica</i> .....                        | 02 |
| I.3 Propriétés médicinales et pharmacologiques de l'ortie dioïque ..... | 05 |
| I.4. La Composition chimique .....                                      | 05 |

### Chapitre II : Les molécules bioactives végétales

|   |    |
|---|----|
| II .1. Les composés phénoliques .....           | 07 |
| II.1.1. Les flavonoïdes .....                   | 09 |
| II.1.2. Les tanins .....                        | 10 |
| II.1.3. Les quinones .....                      | 10 |
| II.1.4. Les anthraquinones.....                 | 11 |
| II.2. Les composés azotés (les alcaloïdes)..... | 11 |
| II.3. Les stérols et triterpènes.....           | 11 |

## Partie II : Matériels et méthodes

### Chapitre I : Etude phytochimique.....

|   |    |
|---|----|
| I.1. Matériels végétaux.....  | 12 |
| I.1.1. La récolte de la matière végétale.....                       | 13 |
| I.2. Criblages.....   | 13 |
| I.2.1. Criblage des flavonoides.....                                | 14 |
| I.2.2. Criblages des quinones.....                                  | 14 |
| I.2.3. Criblage des anthraquinones.....                             | 15 |
| I.2.4. Criblage des tanins.....                                     | 15 |
| I.2.5. Criblage des alcaloïdes.....                                 | 15 |
| I.2.6. Criblage des stérols et des triterpènes.....                 | 16 |
| I.3. Extraction des flavonoïdes (partie racinaire et aérienne)..... | 17 |

|   |           |
|---|-----------|
| I.3.1. Macération et préparation des extraits méthanoliques.....                  | 17        |
| I.3.2. Evaporation à sec.....   | 17        |
| I.3.2.1. L'évaporateur rotatif.....   | 17        |
| I.4. Séparation des flavonoïdes par une chromatographie sur couche mince CCM..... | 17        |
| I.4.1. Principe de la CCM.....  | 17        |
| I.4.2. Matériels et produits.....   | 18        |
| I.4.3. Préparation de la phase mobile.....  | 18        |
| I.4.4. Préparation de la phase stationnaire (fixe).....                           | 18        |
| I.4.5. Dépôt des échantillons.....  | 19        |
| I.4.6. Préparation de la cuve.....  | 19        |
| I.4.7. Développement des plaques.....   | 19        |
| I.4.8. La révélation.....   | 19        |
| I.4.8.1. Identification des flavonoïdes.....                                      | 19        |
| I.4.8.2. Fluorescence sous lumière UV.....  | 20        |
| <b>Chapitre II : Etude des activités biologiques.....</b>                         | <b>21</b> |
| II.1. L'activité antibactérienne.....   | 21        |
| a. Repiquage des espèces bactériennes.....  | 21        |
| b. Préparation des inoculums.....   | 21        |
| c. Préparation des extraits.....  | 21        |
| d. Préparation des disques.....   | 21        |
| e. Préparation des milieux de culture.....  | 22        |
| f. Ensemencement.....   | 22        |
| II.2. L'activité antifongique.....  | 22        |
| a. Repiquage des espèces fongiques.....   | 22        |
| b. Préparation des inoculums.....   | 22        |
| c. Préparation des disques.....   | 22        |
| d. Préparation des milieux de culture.....  | 23        |
| e. Ensemencement et dépôt des disques.....  | 23        |
| f. Lecture de l'activité.....   | 23        |
| <b>Partie III : Résultats et discussions.....</b>                                 | <b>31</b> |
| <b>Conclusion.....</b>  | <b>40</b> |

# Introduction

**Introduction :**

Depuis la nuit des temps, l'homme s'est toujours soigné par les plantes, de manière empirique, guidé par la tradition ou les coutumes.

Les vertus thérapeutiques des plantes ont été expérimentées depuis lors et leurs précieuses caractéristiques se sont transmises oralement de génération en génération ou consignés dans les vieux écrits. Les remèdes de bonne réputation ont prévalu malgré le développement de la médecine moderne qui est venue marginaliser le recours aux techniques médicinales naturelles. Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mise au profit dans l'alimentation, comestibilité et pharmacie ; parmi ces composés on trouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapie. C'est pour cela que l'industrie pharmaceutique se tourne vers la nature et a entrepris une vaste étude sur le terrain pour un répertoire des plantes les plus prometteuses parce qu'il est nécessaire aujourd'hui de valider l'usage traditionnel de ces plantes et d'évaluer scientifiquement leurs activités pharmacologiques retenus (Bohrom, 1997).

L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse de l'ortie dioïque réputé comme une plante médicinale en composés flavonoïdes et faire une comparaison entre la partie aérienne et racinaire de la plante après la détermination de leurs propriétés biologiques. Cette étude englobe trois parties : la première est consacrée à l'étude phytochimique (le criblage des métabolites secondaires). Elle porte également sur le diagnostic et la séparation des principaux flavonoïdes par l'utilisation de la technique de chromatographie sur couche mince (CCM). Cependant la seconde partie est consacrée à une comparaison entre la partie aérienne et racinaire. Et enfin une troisième partie réservée à une évaluation de l'activité biologique.

# **Partie I**

## **Synthèse bibliographique**

## Chapitre I : Présentation botanique

### I.1. Description générale des Urticacées

La famille des Urticacées comporte 1000 espèces vivantes dans des régions plutôt chaudes. Les plantes de cette famille sont dites nitrophiles, c'est-à-dire poussant sur des terrains riches en azote, et rudérales, c'est-à-dire poussant sur des sols « sales » et où vivent les hommes. Les feuilles sont le plus souvent opposées, l'épiderme porte des poils (protecteurs, sécréteurs ou urticants).

Il existe une reproduction végétative (asexuée). Nous allons voir par la suite que l'ortie est un bon représentant de cette famille puisqu'elle en possède les principales caractéristiques. Les Urticacées sont répandues dans la plupart des régions tropicales. Quelques genres, en particulier *Urtica*, sont originaires des régions tempérées.

[\(\[galerie.pierre.free.fr/Labo\\\_Ouvert/pdf/urtica\\\_dioica.pdf\]\(http://galerie.pierre.free.fr/Labo\_Ouvert/pdf/urtica\_dioica.pdf\)\)](http://galerie.pierre.free.fr/Labo_Ouvert/pdf/urtica_dioica.pdf).

Le terme *Urtica*, signifiant « celle qui brûle », vient du latin *urere*, « brûler ». Par extension, le terme « urticaire » désigne toute démangeaison similaire à celle provoquée par les piqûres d'orties. La famille des Urticacées comprend une cinquantaine de genres et près de 700 espèces réparties à travers le monde.

Ce sont les espèces *Urtica dioica* et *Urtica urens* qui sont connues pour posséder des propriétés médicinales. *Urtica dioica* étant le sujet de cette étude, nous n'accorderons qu'une description sommaire d'*Urtica urens*. C'est une plante annuelle très commune, mais beaucoup plus petite qu'*Urtica dioica* (maximum 70 cm de haut), elle est une espèce monoïque (fleurs mâles et femelles sur le même pied), possédant des feuilles ovales à peine plus longues que larges.

Les Urticacées sont des plantes herbacées élancées à feuilles stipulées opposées par deux et à petites fleurs unisexuées. Les fleurs mâles possèdent quatre sépales et quatre étamines, les fleurs femelles sont formées de quatre sépales et d'un carpelle, et donnent naissance à un fruit sec : un akène.

### I.2. Etude botanique d'*Urtica dioica*

#### I.2.1. Dénomination

Le nom latin (universel) de l'ortie est *Urtica dioica*. L'ortie se disait *Urtica* en latin mot venant lui-même du verbe *urere* signifiant brûler par extension urticaire, se disent de toutes espèces démangeaisons similaires à celles provoquées par les piquantes d'orties. Le nom d'espèce *dioica* se disait *dioïque* en français, concerne une plante dont les fleurs mâles et femelles sont portées par des pieds différents. (Bertrand, 2008 ; Valnet, 1992)



### I.2.2. Classification de la plante

Règne : Végétale

Embranchement : Spermatophytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones.

Ordre : Rosales

Famille : Urticacées

Genre : *Urtica*

Espèce : *Urtica dioica* L.

### I.2.3. Description d'*Urtica dioica*



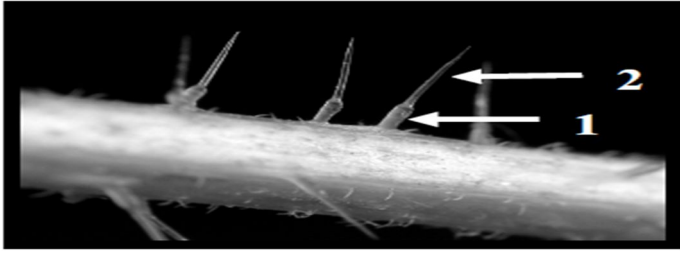
**Figure 01.** une planche botanique d'*Urtica dioica*.

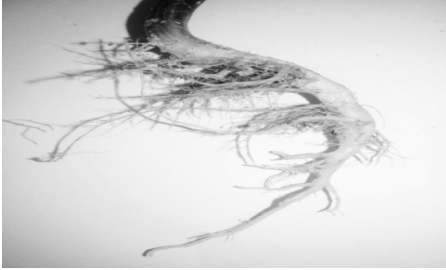
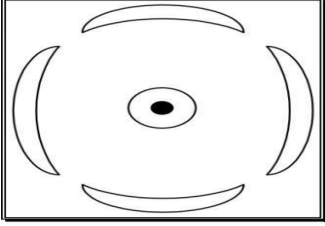
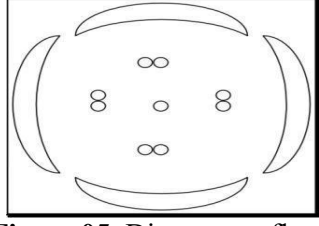
([http://galerneau.pierre.free.fr/Labo\\_Ouvert/pdf/urtica\\_dioica.pdf](http://galerneau.pierre.free.fr/Labo_Ouvert/pdf/urtica_dioica.pdf), 2015).

(A) parties aériennes, (1) fleur femelle, (2) fleur mâle, (3) grappe, (6) akène, (7) poils urticants.

**Tableau 01.** Description botanique de l'ortie dioïque.

<https://www.biologievegetale.be/index.php?rub=fiches-espece&ide=377htm>

| <b>Morphologie</b>   |  |   |  |
|--|--|---|--|
| <b>Morphologie générale</b>  | Plantes herbacées vivaces mesurant de 60 à 150 cm de haut, de couleur vert sombre  |   |  |
| <b>Écorce</b>  |  |   |  |
| <b>Rameaux/Tiges</b>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>● Robustes, simples, dressées, pleines, quadrangulaires.</li> <li>● Couvertes de poils courts et de poils urticants blancs unicellulaires.</li> </ul>   |   |  |
| <b>Bourgeons</b>   |  |   |  |
| <b>Feuilles</b>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>● Opposées, grossièrement dentelées triangulairement, à nervation pennée.</li> <li>● Généralement longues de plus de 5 cm.</li> <li>● Feuilles inférieures ovales et feuilles supérieures plus lancéolées, terminées en pointe, légèrement cordées.</li> <li>● 2 stipules libres à la base du pétiole.</li> <li>● Limbe 1 à 2 fois plus long que le pétiole</li> <li>● Face inférieure recouverte de poils urticants.</li> </ul>                                      |   |  |
| <b>Poils urticants</b>   | <p>Au niveau de l'épiderme (de la tige et des feuilles) de l'ortie mature on observe des poils urticants. Ces poils, constitués de silice, sont durs et coniques.</p> <p>1- la base qui ressemble à une ampoule et renferme des substances urticantes : Acétylcholine, Histamine, Sérotonine... (Figure n° 03).</p> <p>2- la pointe effilée, qui se brise facilement lors d'un contact.</p> <p>Elle laisse ainsi s'échapper le contenu de l'ampoule, provoquant alors une irritation locale (Figure 02).</p> |   |  |
|    |  |   |  |
| <p><b>Figure 02.</b> Schéma montre la position des poils urticants d'<i>Urtica dioica</i>.<br/> <a href="http://galerie.pierre.free.fr/Labo_Ouvert/pdf/urtica_dioica.pdf">http://galerie.pierre.free.fr/Labo_Ouvert/pdf/urtica_dioica.pdf</a>.</p> |  |   |  |
| <b>Le type L'inflorescence</b>   | Représente des petites boules en Grappe (regroupement de fleurs).  |   |  |
| <b>Fleurs</b>  | <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Unisexuées (dioïques), apétales.</li> <li>● Tétramères Calice à 4 sépales.</li> <li>● Un seul carpelle ; ovaire supère.</li> </ul> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Unisexuées (dioïques), apétales.</li> <li>● 4 étamines.</li> <li>● Tétramères, Calice à 4 sépales.</li> </ul> </td> </tr> </table>       | <ul style="list-style-type: none"> <li>● Unisexuées (dioïques), apétales.</li> <li>● Tétramères Calice à 4 sépales.</li> <li>● Un seul carpelle ; ovaire supère.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>● Unisexuées (dioïques), apétales.</li> <li>● 4 étamines.</li> <li>● Tétramères, Calice à 4 sépales.</li> </ul> |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>● Unisexuées (dioïques), apétales.</li> <li>● Tétramères Calice à 4 sépales.</li> <li>● Un seul carpelle ; ovaire supère.</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>● Unisexuées (dioïques), apétales.</li> <li>● 4 étamines.</li> <li>● Tétramères, Calice à 4 sépales.</li> </ul>   |   |  |
| <b>Fruits</b>  | Présenter sous forme des akènes ovales de couleur Jaune-brun.  |   |  |

|                                  |   |  |
|----------------------------------|---|--|
| <b>Enracinement potentiel</b>    |  <p data-bbox="539 474 1369 510"><b>Figure 03.</b> Rhizomes (Cliché de Bennouar, Chekakta, Labbani 2017).</p>                                 |  |
| <b>La graine</b>                 | Possède un albumen huileux et un embryon droit.   |  |
| <b>Formule florale</b>           | Fleurs mâles : 4 S + 0 P + 0 C + 4 E.   | Fleurs femelles : 4 S + 0 P + 0 E + <u>1</u> C.  |
| <b>Le diagramme floral</b>       |  <p data-bbox="507 898 916 999"><b>Figure 04.</b> Diagramme floral d'une fleur femelle d'<i>Urtica dioica</i>. (Géhu- Franck et al, 1993).</p> |  <p data-bbox="973 898 1369 999"><b>Figure 05.</b> Diagramme floral d'une fleur mâle d'<i>Urtica dioica</i>. (Géhu-Franck et al, 1993).</p> |
| <b>Ecologie</b>                  |   |  |
| <b>Distribution</b>              | La plupart des régions tropicales.  |  |
| <b>Amplitude trophique</b>       | Sols riches en azote (plante nitrophyle).   |  |
| <b>Amplitude hydrique</b>        | Sols frais à humides.   |  |
| <b>Tolérance à l'ombrage</b>     | Héliophile ou de demi-ombre.  |  |
| <b>PH</b>                        | Neutre.   |  |
| <b>Position Successionnelle</b>  | Pionnière.  |  |
| <b>Biotope</b>                   | Haies, fossés, terrains vagues, forêts fraîches à sol riche, prairies eutrophes.  |  |
| <b>Groupements végétaux</b>      | Calystegionsepii, Artemisietea, Epilobietaliaangustifoli, Chenopodietea, Salicionalbae, Alno-Padion, Populionalbae.   |  |
| <b>Floraison</b>                 | Mai à octobre (anémophile).   |  |
| <b>Dissémination des graines</b> | Mécanique ( <i>Pilea</i> , <i>Elatostema</i> ) ou bien se fait par les oiseaux.   |  |

### **I.3. Propriétés médicinales et pharmacologiques de l'ortie dioïque**

L'ortie dioïque est une espèce largement utilisée comme une plante médicinale, par ses propriétés thérapeutiques depuis l'antiquité. Les constituants responsables des propriétés pharmacologiques de l'ortie varient selon la nature du sol, de l'exposition de la plante et de la saison (Moutsie, 2008).

#### **Les feuilles d'ortie**

Par voie interne, (infusion, en teinture, en capsules ou sous forme de jus frais pour tonifier et redonner de l'énergie) elle est utilisée :

- Contre l'inflammation des voies urinaires.
- En traitement ou en prévention des calculs rénaux.
- Contre l'anémie, l'insuffisance cardiaque et le rhume des foins.

Par voie externe elle est utilisée pour :

- Traiter les entorses, la tendinite et la névralgie.
- Soulager les douleurs arthritiques et rhumatismales.
- Traiter les maladies de peau comme l'eczéma, le psoriasis, l'acné et les infections.

Les racines d'ortie sont utilisées pour traiter l'hyperplasie bénigne de la prostate.

### **I.4. La Composition chimique**

La composition chimique des différents organes de l'Ortie dioïque, à savoir les feuilles, les fruits, les racines et les poils, a été le sujet de nombreuses études depuis la seconde moitié du 19<sup>ème</sup> siècle.

La reconnaissance de l'importance médicinale des Orties a commencé au début du 20<sup>ème</sup> siècle. Depuis, des progrès considérables ont été réalisés dans la découverte de la structure des composés, grâce aux améliorations des techniques de séparation et des méthodes spectroscopiques. Les constituants d'ortie dioïque sont d'un intérêt, car les extraits des racines et des feuilles sont largement utilisés en médecine traditionnelle dans de nombreuses régions du monde. La partie chimique active d'ortie dioïque comprend près de cinquante composés de la fraction lipophile et dont la structure chimique est connue. On trouve des stérols, des acides triterpéniques, des coumarines, des phénols, des lignines, des céramides, des acides gras, etc., tous ces constituants trouvent leur répartition dans les divers organes de la plante.

**Tableau 02.** Composants chimiques des différentes parties de l'ortie dioïque.

| <b>Feuilles</b>   | <b>Poils urticants</b>   | <b>Racines</b>   | <b>Fleurs</b>  |
|---|--|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>-Chlorophylle.</li> <li>-Xanthophylle.</li> <li>-Flavonoïdes.</li> <li>-Enzymes.</li> <li>-Tanins.</li> <li>-Vitamines : vit. A, B, C, E, K.</li> <li>-Acides-alcool.</li> <li>-Glycoprotéines.</li> <li>-Sel minéraux : Fer, Magnésium, Soufre, Phosphore, Calcium, silice, Zinc, Potassium, sélénium, Manganèse et Cuivre</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>-Catécholamines (Responsables des réactions urticantes)</li> <li>-Des Acides : formique, acétique.</li> <li>- Neuromédiateur : Choline, Acétylcholine 1 %, Sérotonine et L'histamine</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>-Lectine.</li> <li>-Terpènes.</li> <li>-Phytostérols et stéroïdes.</li> <li>-Lignanes.</li> <li>- Composés Phénoliques : C6-C3, C6-C2.</li> <li>- Sels minéraux.</li> <li>- Acides gras.</li> <li>- Céramides.</li> <li>- Polysaccharides : glycanes, glycogalacturonique, arabinogalactane.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>-Protéines mucilage.</li> <li>-Caroténoïdes.</li> <li>-Vitamine E.</li> </ul> |

## Chapitre II : Les molécules bioactives végétales.

### Introduction

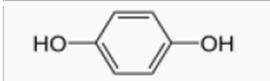
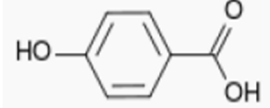
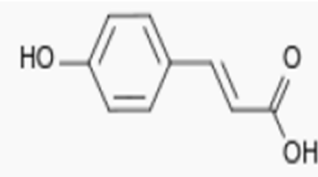
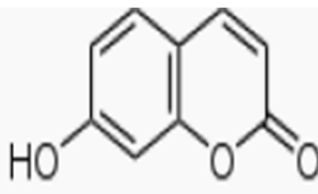
Les métabolites secondaires sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques et abiotiques ou améliorent l'efficacité de la reproduction (Laurent, 2012).

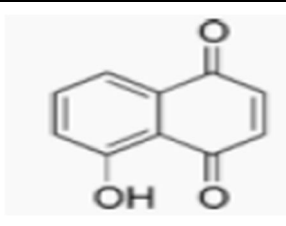
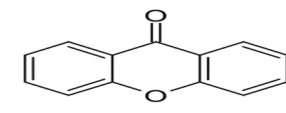
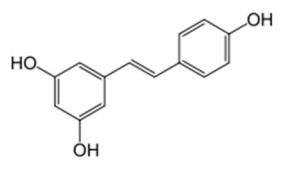
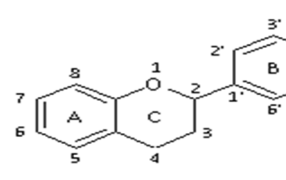
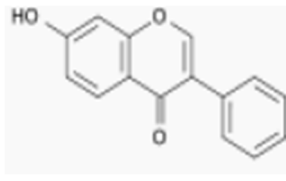
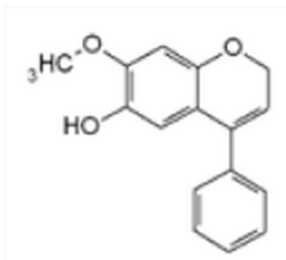
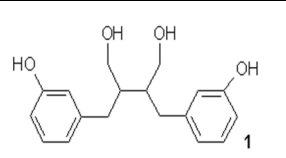
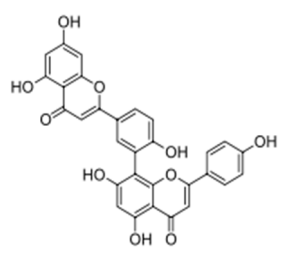
Les composés de métabolisme secondaire ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultant de réactions chimiques ultérieures. On les appelle donc des métabolites secondaires. (Laurent, 2012).

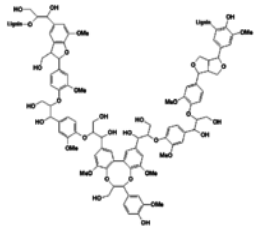
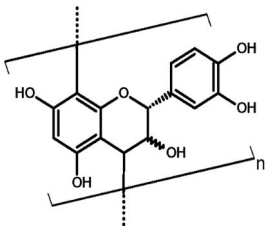
### II.1. Les composés phénoliques

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

**Tableau 03.** Structure chimique et Principales classes des composés phénoliques  
<https://fr.wikipedia.org/wiki/Polyph%C3%A9nol>

| Squelette carboné              | Classe              | Structure chimique  | Exemple                | Origine              |
|--------------------------------|---------------------|---|------------------------|----------------------|
| C <sub>6</sub>                 | Phénols simples     |  | Hydroquinone           | Busserole            |
| C <sub>6</sub> -C              | A-hydroxybenzoïques |  | A-parahydroxybenzoïque | Epices, Fraise       |
| C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> | A-hydroxycinnamic   |  | A-paracoumarique       | Tomate<br>Ail        |
|                                | Coumarinés          |  | Ombelliférone          | Carotte<br>coriandre |

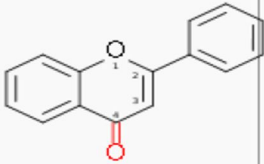
|                   |                               |   |                                     |  |
|-------------------|-------------------------------|---|-------------------------------------|--|
| $C_6-C_4$         | Naphtoquinones                |    | Jugion                              | Noix   |
| $C_6-C_1-C_6$     | Xanthones                     |    | Mangiferin                          |  |
| $C_6-C_2-C_6$     | Stilbènes<br>Anthraquinones   |    | Trans-resveratrol<br>Anthraquinones | Vigne,<br>Raisin                                   |
| $C_6-C_3-C_6$     | Flavonoïdes <i>lato sensu</i> |    | kaempférol                          | Fraise   |
|                   | Isoflavones                   |   | Daidzeine                           | Graines de soja                                    |
|                   | Anthocyane                    |  | Dalphinol                           | Dalbergia<br>Sissoo,<br>petits<br>fruits<br>rouges |
| $(C_6-C_3)_2$     | Lignanes                      |  | Anthérodol                          | Bactérie<br>intestinale<br>lin                     |
| $(C_6-C_3-C_6)_2$ | Biflavonoides                 |  | Amentoflavone                       |  |

|                   |                  |   |              |                              |
|-------------------|------------------|---|--------------|------------------------------|
| $(C_6-C_3)_n$     | Lignines         |  |              | Bois,<br>fruits à<br>noyaux, |
| $(C_6-C_3-C_6)_n$ | Tanins condensés |  | Procyanidine | Raisin<br>rouge,<br>kaki     |

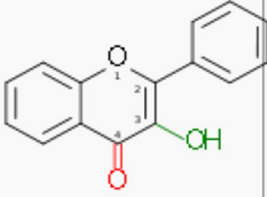
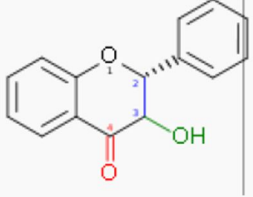
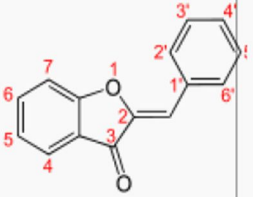
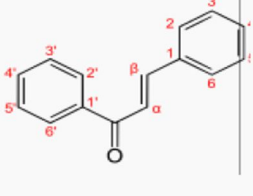
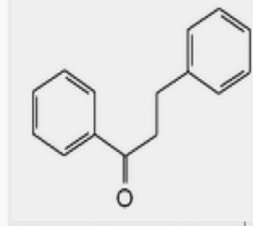
### II.1.1. Les flavonoïdes

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. Structuellement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules. En effet plus de 6500 structures ont été identifiées (Bruneton, 1999 ; Harborne et Williams, 2000).

**Tableau 04.** Classes des flavonoïdes selon Bruneton, 2009.

| Flavonoïdes |  |   |  |  |
|-------------|--|---|--|--|
| Classes     | Squelettes   | Aglycones   | Hétérosides  | Drivés méthoxylés  |
| Flavone     | <br>2-phénylchromen-4-one | <u>Lutéolol</u><br>(OH :5,7,3,4)<br><u>Apégénol</u><br>(OH :5,7,4). | 7-0-glucosid de<br>lutéol, 6-C-<br>glucoside<br>d'apigénol<br><u>Apiine.</u> | <u>Trangéritine</u><br>(CH <sub>3</sub> :5,6,7,8,4)<br><u>Nobilétine</u><br>(CH <sub>3</sub> :5,6,7,8,3,4)<br>Géraldine<br>(7,4-dihydroxy-3-<br>méthoxyflavone). |



|  |   |   |  |   |
|--|---|---|--|---|
| <b>Flavonol</b>                              | <br>3-hydroxy-2-phénylchromen-4-one.             | <u>Quercétol</u> ,<br><u>Kaempférol</u> ,<br><u>Myricétol</u> ,<br><u>Fiséol</u> .  | Rutine ou rutoside 3,7,4'-O-Triglucoside de kaempférol, 3-O-galactoside d'isorhamnétol.  | Pachypodol, rhamnazine, 3,7diméthylquercétol, Isorhamnétol (3-méthylquercétol). |
| <b>Dihydroflavonol<br/>Où<br/>Flavanonol</b> | <br>3-hydroxy-2,3-dihydro-2-phénylchromen-4-one. | <u>Dihydrokaempférol</u> ,<br><u>Dihydroquercétol</u> (Taxifoline extraire du mélèze <i>Larix Gmalinii</i> <sup>4</sup> ) | 3-O-rhamnoside de dihydroquercétol, 3-O-rhamnoside de dihydromyricétol.  |   |
| <b>Aurone</b>                                |   | <u>Hispidol</u> ,<br><u>aureusidine</u> ,<br><u>sulfurétine</u> ,<br><u>maritimétine</u>                                  |  |   |
| <b>Chalcone</b>                              |    | <u>Iso-liquiritigénine</u> ,<br><u>Butéine</u>  |  | Xanthohumol   |
| <b>Di-hydrchalcone</b>                       |    | <u>Phlorétine</u>   | <u>Aspalathine</u> (=3-C-Glucopyranosylcone),<br><u>naringine</u><br><u>dihydrochalcone</u> ,<br><u>néothofagine</u> ,<br><u>Phloorrhizine</u> |   |

### II.1.2. Les tanins

Le terme tanin vient du mot tannage. Les tanins sont des composés polyphénoliques hydrosoluble ayant une masse moléculaire entre 500 et 3000, et qui présentent, à côté des réactions des phénols des propriétés de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (Bruneton, 2009).

### II.1.3. Les quinones

Ce sont des composés aromatiques comportant un noyau de benzène sur lequel deux atomes d'hydrogène sont remplacés par deux atomes d'oxygène formant deux liaisons carbonyles.

Les quinones sont des transporteurs d'électrons dans la membrane mitochondriale interne et dans la membrane des thylakoïdes 1.

#### **II.1.4. Les anthraquinones**

Appartient à la famille chimique des hydrocarbures aromatiques polycycliques. C'est un dérivé de l'anthracène. Présent à l'état naturel chez un certain nombre d'animaux et de plantes, il est aussi une substance active de produit phytosanitaire (ou produit phytopharmaceutique, ou pesticide), qui présente un effet répulsif à l'égard des oiseaux. Isolé, il a l'apparence d'une poudre cristalline solide, du jaune et du gris-clair au gris-vert. Plus généralement, une anthraquinone est un composé chimique qui possède ce motif dans sa structure.

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Anthraquinone>.

#### **II.2. Les composés azotés (les alcaloïdes)**

Le mot alcaloïde en arabe alkali qui vous dire un alcaloïde est une substance organique d'origine végétale et azotée à caractère alcalin. Ce sont des produits d'origine végétale caractérisées par des propriétés pharmacologiquement actifs. Il existe environs 12000 répertoriés. Constituent un vaste groupe de substance secondaire et paraissent servir comme moyen de dissuasion chimique contre les prédateurs. Ils se caractérisent par un goût assez amer. Chimiquement ils sont constitués de C, H, O, N. Essentiellement les acides aminés qui donnent naissance aux Alcaloïdes (Bruneton J, 1999).

#### **II.3. Les stérols et triterpènes**

Ils sont des substances d'origine organique en C<sub>30</sub> (30 atomes de carbone) de la famille des terpènes. Très répandus dans la nature, on les trouve notamment dans les résines, à l'état libre, sous forme estérifiée ou hétérosidique.

Ils résultent de la condensation de six molécules d'isoprène. La formule de base d'un triterpène est :  $C_5H_8 \times 6 = C_{30}H_{48}$ . Ce sont des hydrocarbures insaturés alors que l'isoprène est un hydrocarbure saturé 1.

Les stérols (cholestérol, squalène...) sont des dérivés de triterpènes.

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Triterp%C3%A8ne>.

## **Partie II**

### **Matériel et méthodes**

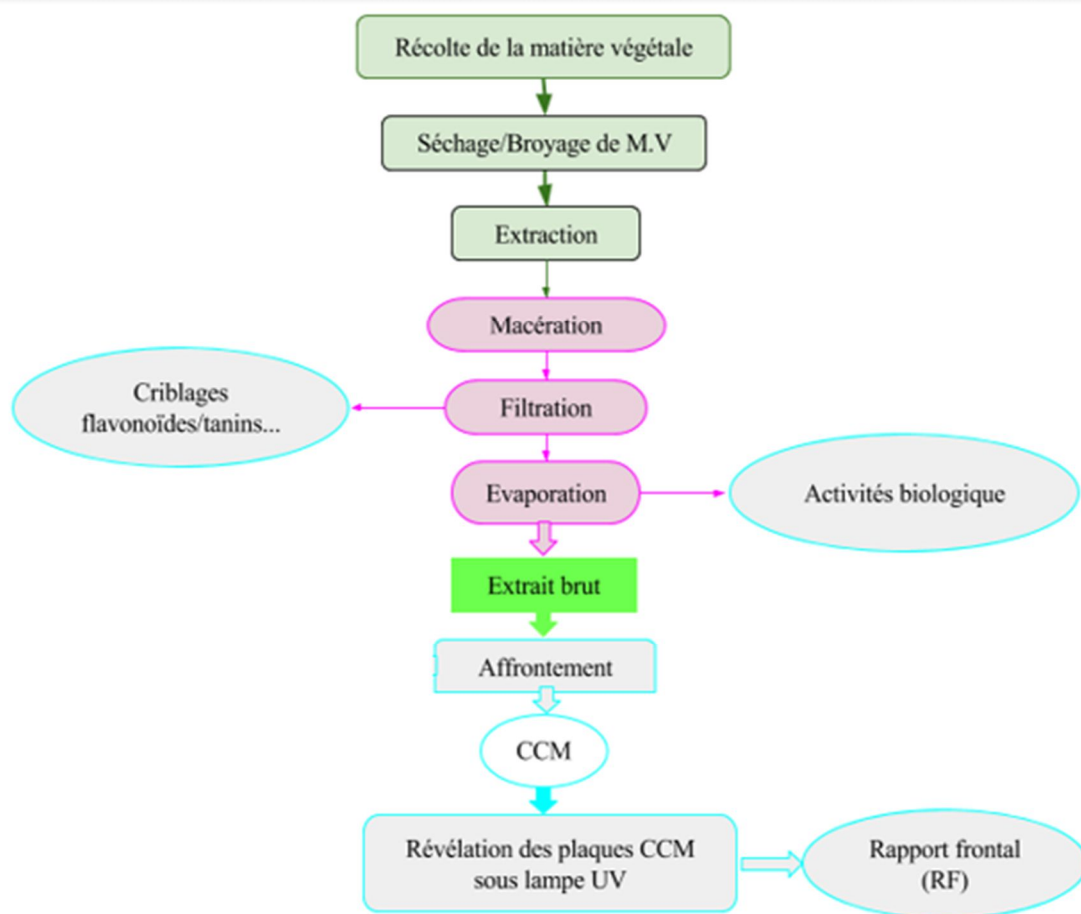
## Chapitre I : Etude phytochimique.

Une étude phytochimique d'une espèce passe impérativement par les étapes suivantes :

- \_ Récolte de la plante (ortie dioïque).
- \_ Extraction.
- \_ Séparation.
- \_ Identification.

Ce travail a été effectué au laboratoire n° 1 et 2, département de biologie et écologie végétale, faculté des sciences de la nature et de la vie, université des frères mentouri Constantine 1

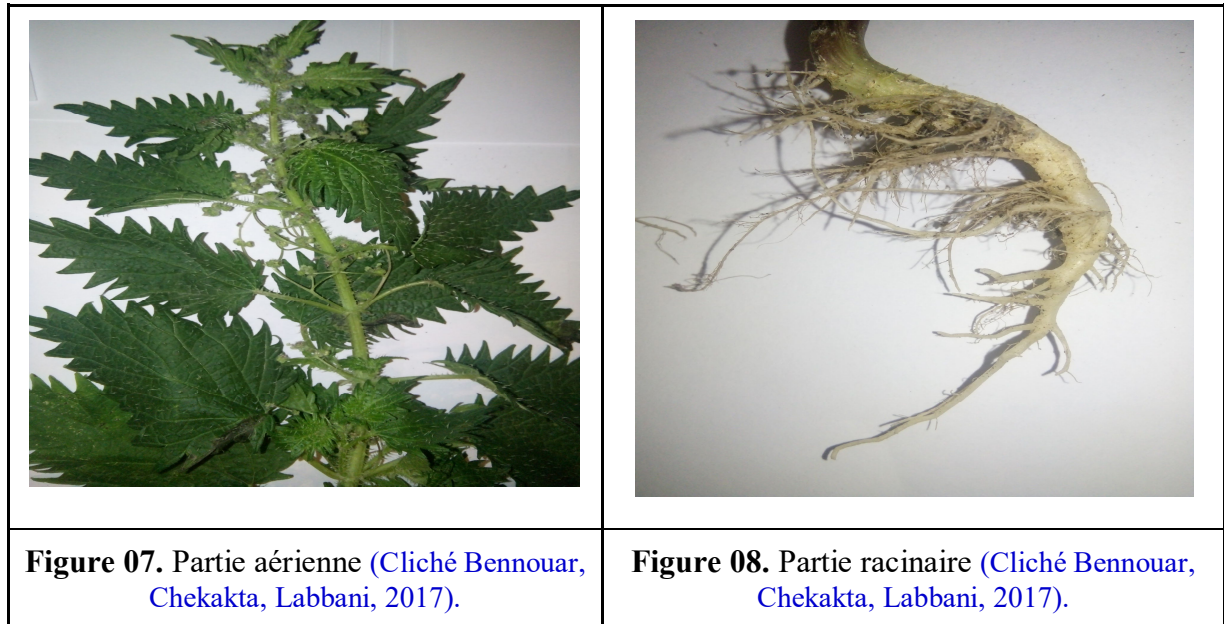
Les différentes étapes d'extraction à l'identification se représentent dans la figure suivante :



**Figure 06.** Protocole d'étude expérimentale (Labbani, Ramoul, Ouras, 2013).

### I.1. Matériels végétaux

Ce travail a été effectué sur l'espèce *urtica dioica* (la grande ortie) de la famille des Urticacées, Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne et la partie racinaire de la plante.



### I.1.1 La récolte de la matière végétale

La matière végétale a été récoltée en février 2017, au centre-ville de Constantine, du côté de l'hôtel NOVOTEL. Pour effectuer les expériences nécessaires à la partie pratique de cette recherche, on a choisi de travailler sur un matériel sec pour voir plus de mobilité de la viabilité pratique.

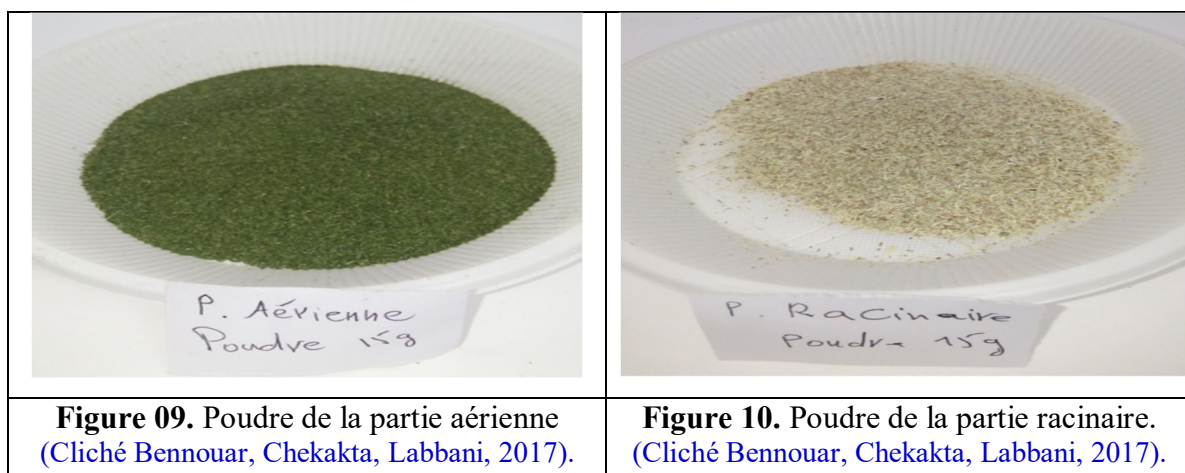
## I.2. Criblages

### Préparation des extraits bruts

- Séchages et broyage de la matière végétale :

C'est fait à température ambiante dans un endroits sec, sous l'ombre et à l'abri du soleil (à la maison), pendant 8 jours, pour mieux conserver les molécules sensibles à la chaleur de la lumière.

- Broyage finement à l'aide d'un appareil électrique.



## I.2.1. Criblage des flavonoïdes

### a. Macération de la matière végétale

- On prend 15g de M.V + solution hydroalcoolique (MeOH/H<sub>2</sub>O ;70/30 ; V/V) 150 ml.
- laisser macérer dans une fiole pendant 48 heures.

### b. Filtration

- A l'aide d'un entonnoir et papier wattman et laisser le filtrat reposer (Figure A).
- Récupération de mélange hydro méthanolique (Figure. A).

### c. Elimination de la chlorophylle

- On ajoute au filtrat des parties aériennes 100 ml de cyclohexane pour éliminer la chlorophylle
- Après 24h, le mélange est séparé en deux phases :
  - Phase inférieur (cyclohexane) qui contient la chlorophylle rejetée (Figure B).
  - Phase supérieur (organique) : récupérée dans un béccher et passé pour le criblage (Figure. B et D).

### d. Faire les tests

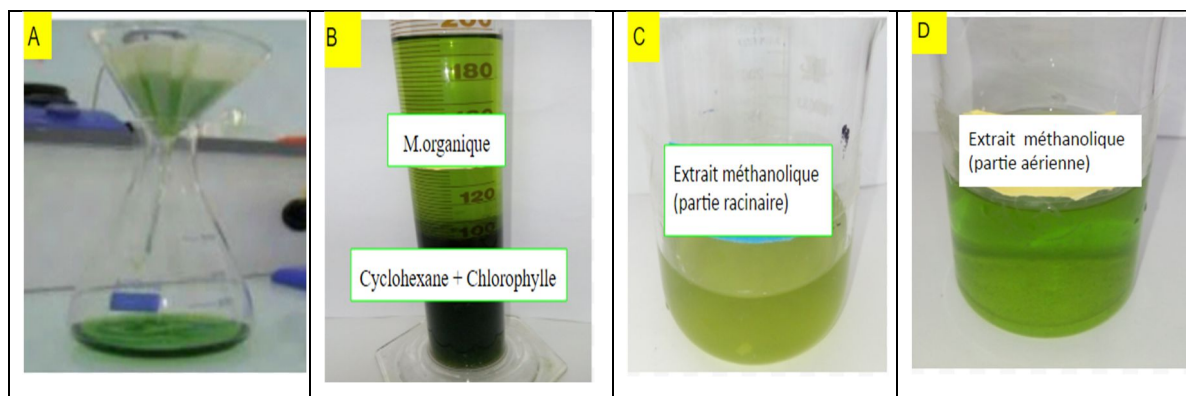
- On répartit l'extrait méthanolique en quatre tubes pour faire les tests suivants :

**1<sup>er</sup> tube.** Serve comme témoin (extrait méthanolique).

**2<sup>ème</sup> tube.** Quelques gouttes de HCL à 50% et quelques tournes de Mg environ 0.5 g, laisser agir 5 min. Le changement de coloration est observé : virage ou rouge (flavones).

**3<sup>ème</sup> tube.** Quelques gouttes (5) d'HCl + 1 ml d'alcool isoamylique + 1 ml de H<sub>2</sub>O. (Coloration de la phase supérieure).

**4<sup>ème</sup> tube.** 0.5 ml de HCl à 50% + bain marie à degré de (80 – 90 C °) pendant de 30 min. (coloration rouge dénote la présence de leuco anthocyanes).



## I.2.2. Criblage des quinones

### a. Macération de la matière végétale

- On prend 1g de M.V et la placée dans un tube à essai + 30 ml d'éther de pétrole
- Agitation 24 heure

**b. Filtration****c. Elimination de la chlorophylle** (le même protocole de flavonoïde)**d. Faire les tests**

-On répartit l'extrait obtenu en 2 tubes

**1<sup>ère</sup> tube.** Servant témoin (extrait éthérique).**2<sup>ème</sup> tube.** Extrait éthérique + quelque goutte de NaOH.

(Coloration rouge/jaune /violet).

**I.2.3. Criblage des anthraquinones****a. Macération de la matière végétale****b. Filtration****c. Elimination de la chlorophylle**

Le même protocole de quinone

(1g de matière végétale +  
15 à 30 ml de chloroforme)**d. Faire les tests**

On répartit l'extrait obtenu en 2 tubes

**1<sup>ère</sup> tube.** Servant témoin (extrait chloroformique).**2<sup>ème</sup> tube.** Extrait chloroformique + quelque goutte de KOH.

(Coloration rouge).

**I.2.4. Criblage des tanins**

-100 ml d'extrait hydro-méthanolique + 25 ml d'eau distillée chaude +3-4 gouttes de NaCl.

**-Filtration.** Le filtrat est ensuite réparti dans 3 tubes à essai :**1<sup>er</sup> tube.** Servant témoin.**2<sup>ème</sup> tube.** Solution méthanolique + addition 4-5 gouttes de gélatine.**3<sup>ième</sup> tube.** Solution méthanolique + addition 4-5 gouttes de FeCl<sub>3</sub>.**Coloration**Bleu-vert ou vert noir est dû aux tanins catéchols\Noir bleuâtre signifie les présences de tanins de type pyrogallols\Une réaction négative à la gélatine accompagnée d'une verte ou bleu noir avec FeCl<sub>3</sub>, sont dues à la présence d'autre types de composée phénolique.**I.2.5. Criblage des alcaloïdes****a. Macération de la matière végétale**

200 mg de M.V + 10 ml d'acide sulfurique + agitation pendant 2 min.

**b. Filtration**

On obtient un extrait sulfurique.

**c. Faire les tests**

On répartit le filtrat en 3 tubes

**1<sup>er</sup> tube.** Servant témoin (extrait sulfurique).



**2<sup>ème</sup> tube.** Extrait sulfurique + quelque goutte de réactif DRAGENDORFF (0,85g sous nitrate basique de bismuth +8g d'iodure potassium + 100 ml d'acide acétique glaciale + 70 ml d'eau distillée).

**3<sup>ème</sup> tube.** Extrait sulfurique + quelque goutte de réactif MAYER (1,35 g chlorure mercurique+5 g d'iodure potassium +30 ml d'eau distillée + agitation jusqu'à dissolution puis + l'eau distillée jusqu'à 100 ml).

La précipitation et la coloration de tube 2 en orange et de tube 3 en jaune confirme la présence des alcaloïdes (virage claire et al 2010).

## **I.2.6. Criblage des stérols et des triterpènes**

### **a. Dépigmentation**

- 100 ml d'extrait hydro-méthanolique + 10 ml de cyclohexane + agitation pendant 10 min, - dissoudre le résidu de pigment Président par 15 ml de chloroforme.
- Sécher la solution obtenue sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydride.

### **b. Filtration**

Obtenir le filtrat.

### **c. Faire les tests**

On répartit le filtrat en 3 tube

**1<sup>er</sup> tube.** Servant témoin.

**2<sup>ème</sup> tube.** Test de SALKOWSKI : on ajoute 4 à 5 goutte H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

**3<sup>ème</sup> tube.** Test de LIEBERMANN-BURCHARD : on ajoute 4 goutte d'anhydride acétique puis agiter légèrement + ajouter une goutte de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Le changement de coloration est observé pendant une heure :

Bleu-vert indique-la de stérols.

Rouge violet indique la présence de triterpènes.

## **I.3. Extraction des flavonoïdes (partie racinaire et aérienne)**

### **I.3.1. Macération et préparation des extraits méthanoliques**

- Faire 1<sup>ère</sup> macération ; on prend 15 g de M.V + 150 ml solution hydro-méthanolique (MeOH/H<sub>2</sub>O ;70/30 ; V/V) (115 ml Méthanol + 35 ml Eau).
- Laisser macérer dans une fiole pendant 24h.
- Après la macération, on filtre, pour quelque min.
- On récupère l'extrait n°01.
- Faire une 2<sup>ème</sup> macération ; la matière végétale précédente + 150 ml d'extrait hydro-méthanolique (115 ml Méthanol + 35 ml Eau).

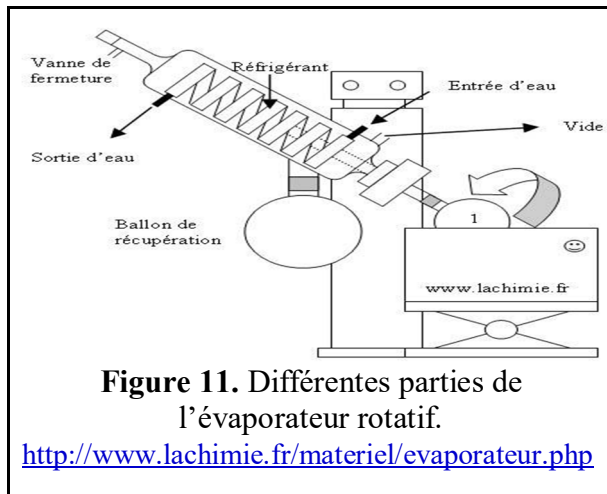
La macération est répétée en 3 fois.



### I.3.2. Evaporation à sec

Après cette étape on met les extraits méthanoliques dans l'évaporateur rotatif à température qui varie de 35°C, récupérer cet extrait brut dans une boîte pour s'évaporer plus (Figure 11-12).

#### I.3.2.1. L'évaporateur rotatif



**Figure 11.** Différentes parties de l'évaporateur rotatif.

<http://www.lachimie.fr/materiel/evaporateur.php>



**Figure 12.** L'évaporateur rotatif (Cliché Bennouar, Chekakta, Labbani, 2017).

## I.4. Séparation des flavonoïdes par une chromatographie sur couche mince CCM :

### Définition

La chromatographie est à la fois une méthode de séparation et d'identification de divers constituants d'un mélange, la chromatographie sur couche mince (CCM, en anglais TLC pour thin layer chromatography) et une technique de chromatographie dont la phase mobile est liquide et la phase fixe est solide. Cette méthode de séparation physique est basée sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases :

- Stationnaire ou fixe : d'une matière à solvants.
- L'autre mobile (éluant) : un solvant ou un mélange de solvants.

Rôle du solvant : entraîner les composés à séparer de long de la phase stationnaire. La séparation des composés entraînés par la phase mobile résulte du point de leur adsorption et de leur désorption successive sur la phase stationnaire, soit de leur solubilité différente dans chaque phase (Marchal 1998).

#### I.4.1. Principe de la CCM

La chromatographie sur couche mince s'effectue généralement sur une fine couche de silice (phase stationnaire) déposée sur un support. Le mélange à étudier est ensuite posé à l'aide d'un capillaire à environ 1 cm du bord puis placé dans une cuve contenant l'éluant. Le niveau de l'éluant doit être en dessous du produit déposé. La cuve de chromatographie est ensuite refermée par un couvercle. L'éluant migre sur la plaque de silice par capillarité et entraîne les composés du mélange étudié. Si les vitesses de migration des composés sont différentes, ils

seront séparés. La plaque chromatographique est lue directement si les composés sont visibles, ou placée sous une lumière UV. Ils peuvent également être révélés en pulvérisant une solution d'acide sulfurique puis chauffée dans une étuve.

#### I.4.2. Matériels et Produits

Extrait brut de la partie aérienne.

Extrait brut de la partie racinaire.

Solvants organiques (tableau 05).

Pipettes pasteurs.

Règle et crayon.

Une cuve.

Chambre noire avec une lampe à UV.

Deux plaques CCM.

#### I.4.3. Préparation de la phase mobile

- la phase mobile (éluant) est constituée par un mélange des solvants organiques.
- l'éluion est commencée avec des solvants peu polaire puis poursuivie par des solvants plus polaire (Gwenola et al. 2011).

D'après les essais effectués dans le tableau ci-dessous, on a choisi les solvants suivants :

Butanol / acide acétique / H<sub>2</sub>O.

Proportions : 4V / 1 V / 5 V.

Pour 1 cm de hauteur de l'éluant dans la cuve ; 150 ml de l'éluant :

- 60 ml de Butanol.
- 15 ml de l'Acide Acétique.
- 75 ml de H<sub>2</sub>O.

**Tableau 05.** Différents solvants utilisés pour la CCM de gel de silice.

| CCM sur gel de silice                   |                   |
|---|-------------------|
| Solvants                                | Proportion        |
| Chloroforme/MeOH                        | (50/50, V/V)      |
| Butanol/acide acétique/H <sub>2</sub> O | (40/10/50, V/V/V) |
| Butanol/acide acétique/H <sub>2</sub> O | (60/15/75, V/V/V) |

#### I.4.4 Préparation de la phase stationnaire (fixe)

L'utilisation d'une fine couche de gel de silice comme une phase fixe, déposée sur une plaque rigide en aluminium déjà préparée (plaque commerciale). A 2 cm de la bordure inférieure et à l'aide d'un crayon et d'une règle. On a tracé une ligne parallèle très fine (pour éviter le

grattement de la couche de silice). Pour réussir le processus de séparation on a marqué des points séparés de la même distance toute au long de la ligne.

#### I.4.5. Dépôt des échantillons

Le dépôt s'est fait à l'aide d'une pipette pasteur sur les points marqués au long de la ligne de la plaque CCM. Le diamètre de la tâche ne doit pas dépasser 4 mm pour réussir la séparation des échantillons. Le dépôt à la pipette peut être répété jusqu'à 3 fois pour accentuer la densité des taches et obtenir une meilleure visibilité des résultats.

#### I.4.6. Préparation de la cuve

On a ramené une cuve en verre dans laquelle on a mis la phase mobile (les solvants organiques déjà préparés). Ensuite on a trempé les plaques verticalement dans la cuve.

La cuve doit rester fermée et ne doit pas être déplacé durant le développement de la plaque.

#### I.4.7. Développement des plaques

##### Définition

Le développement de la plaque représente la migration de l'éluant à travers la plaque CCM jusqu'au front de séparation. Lorsque le front de séparation arrive à 2 cm de l'extrémité supérieure de la plaque, on retire cette dernière de la cuve et on marque tout de suite avec un crayon le front du solvant avant l'évaporation de l'éluant et on entoure également les différentes taches séparées. La plaque est séchée à l'aire libre (Figure 13).

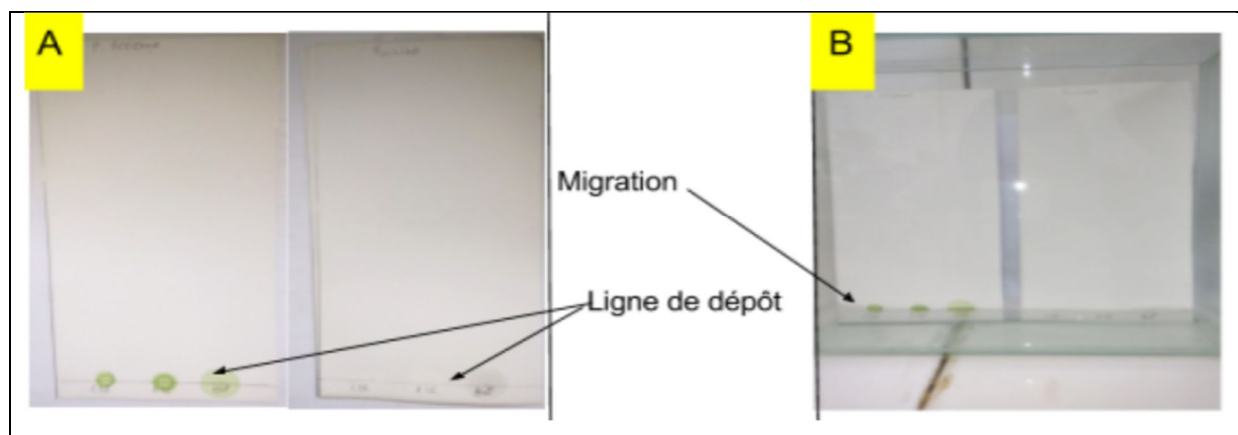


Figure 13. Dépôt et développement de la CCM. (Cliché Bennouar, Chekakta, Labbani, 2017).

#### I.4.8. La Révélation

Après migration et séchage, la visualisation des spots obtenus a été faite sous UV ( $\lambda=254$  nm) dans une chambre noire, par la lampe UV.

##### I.4.8.1. Identification des flavonoïdes

Le comportement d'une molécule particulière dans un système donné est exprimé par sa fluorescence sous UV et par son  $R_f$  (le rapport de la distance par cette molécule sur cette parcourue par la phase mobile c'est à dire le front du solvant) qui est compris entre 0 et 1.

### I.4.8.2. Fluorescence sous lumière UV

L'examen en lumière ultraviolette est la méthode la plus utilisée pour la détermination de la structure des flavonoïdes, le tableau suivant résume la relation qui peut exister entre la structure d'un composé et sa fluorescence sous UV.

**Tableau 06.** Relation entre la fluorescence et la structure des flavonoïdes (Lahouel, 2005).

| Tache colorée                            | Type de flavonoïdes                                     |
|--|---|
| Noir                                     | Flavonols 5, 6, 7 tri OH libres                         |
|  | Flavonols 5, 6, 7 tri OH libres                         |
| Brun noir                                | 3-OH absent ou 3-OH substitué                           |
| Violette                                 | Flavones 5-OH et 4' OH                                  |
|  | Flavones 3-OR et 5 OH, 4'-OH                            |
|  | Flavones 6 ou 8 OH                                      |
|  | Chalcones, dihydroflavonols, Isoflavones, Flavanones.   |
| Bleue claire (fluorescent)               | Flavanones sans 5-OH libre                              |
|  | Flavanols sans 5-OH libre avec 3-OH substitué           |
| Jaune terne, jaune, fluorescence orangée | Flavanols 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre            |
| Jaune vert brillant                      | 5 OH libre ou 5 OH substitué                            |
| Jaune fluorescent                        | Flavanols avec 3-OH libre, Aurones, Chalcones, Flavones |
| Jaune pale                               | dihydroflavonols  |

**Tableau 07.** Relation entre le R<sub>f</sub> et la structure des flavonoïdes (Bandyukova et Shinkarenko, 1973).

| Structure flavonique             | R <sub>f</sub>   |
|----------------------------------|--|
| Augmentation des (OH)            | Diminution du R <sub>f</sub>   |
| Méthylation des groupements (OH) | Augmentation des valeurs de R <sub>f</sub>   |
| Acétylation                      | Augmentation des valeurs de R <sub>f</sub>   |
| Glycosylation                    | Diminution des valeurs de R <sub>f</sub> due principalement de l'introduction de nouveaux groupements (OH) |

## Chapitre II : Etude des activités biologiques

Les polyphénols sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes, le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytique (les protéases et les carbohydrolase) ou d'autre interactions pour inactiver les multiplications microbiennes : les protéines de transport et l'enveloppe cellulaire (Crown, 1999).

Pour démontrer l'activité antibactérienne nous avons choisi de travailler sur quatre souches bactériennes qui sont : *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Cependant pour l'activité antifongique nous avons choisi deux souches qui sont : *Alternaria solani* et *Rhizopus stolonifer*.

### II.1. L'activité antibactérienne

Le test de susceptibilité a été effectué selon la méthode de diffusion des disques décrite par (Rota *et al*, 2008, Parekh et Chanda, 2007, Rahalet *et al*, 2005, Dulger et Gonuz, 2004). Le support microbien est composé d'*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* qui a été ramené depuis le laboratoire de microbiologie de la faculté de science de la nature et de la vie. L'activité antibactérienne a été réalisée au niveau de laboratoire n°1 et 2 de la faculté des sciences et de la nature et de la vie, université mentouri Constantine 1 département de biologie et physiologie végétal.

#### a. Repiquage des espèces bactériennes

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

#### b. Préparation des inoculums

Des colonies bien séparées des espèces bactériennes concernées ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisées dans 10 ml de bouillon nutritif (eau physiologie stérile) puis portées à l'incubation pendant 18 à 24 heures à 37° C.

#### c. Préparation des extraits

Après le séchage de l'extrait méthanolique qu'on a obtenu de l'évaporateur rotatif, on prend deux volumes différents de la pâte :

**1<sup>er</sup> tube.** 0,5 g de la pâte + 1 ml d'éthanol.

**2<sup>ème</sup> tube.** 1 g de la pâte + 1 ml d'éthanol.

#### d. Préparation des disques

Des disques de papiers de 5mm de diamètre, préparés avec des papiers wattman n°4 de 6 mm de diamètre, puis sont placés dans l'autoclave pendant 120°C et stockés à une température

ambiante pendant 15 min (le tube à essai est hermétiquement). Ces disques stériles sont prolongés dans les extraits éthanoliques qu'on a déjà préparés.

#### **e. Préparation des milieux de culture**

La gélose nutritive stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes pétries stériles, l'épaisseur de gélose est de 3 mm répartie dans les boîtes. Ces dernières doivent être entrouvertes devant la flamme de bec benzène et on attend le séchage et la solidification de la gélose pendant 30 min à une température ambiante du laboratoire.

#### **f. Ensemencement**

Les boîtes de pétrie stériles préalablement coulées, sontensemencées par étalage à l'aide d'une pipette pasteur stérile, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries. On divise les boîtes en deux parties, à l'aide d'une pince stérile. Les disques qu'on a déjà préparés, sont déposés à la surface de la gélose inoculée au préalable. L'activité antibactérienne est déterminée en C de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 h d'incubation à 370° C.

### **II.2. L'activité antifongique**

L'activité antifongique est réalisée au niveau de laboratoire n° 02 faculté de science de la nature et de la vie. L'activité antifongique des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé citée par ([Rassooli et al, 2008](#), [Sacchetti et al, 2005](#)).

#### **a. Repiquage des espèces fongiques**

L'isolement est effectué sur le milieu PDA par la méthode des stries puis incubées à une température de 30° C pendant 7 jours suivies d'une purification sur le même milieu et la même condition.

#### **b. Préparation des inoculums**

- Dans la zone septique du bec bunsen on a raclé à l'aide d'une anse de platine stérile quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches fongiques à tester.
- Décharger l'anse de platine dans 10 ml d'eau stérile.
- Bien homogénéiser la suspension fongique.
- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau distillée stérile s'il est trop fort.
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum.

#### **c. Préparation des disques**

Le même protocole suivi pour l'activité antibactérienne a été respecté pour celle antifongique.

**d. Préparation des milieux de culture**

Le PDA nutritif stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétri stériles, l'épaisseur de la PDA de 6 mm réparti uniformément dans des boîtes. Ces dernières doivent être séchées 30 min à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi.

**e. Ensemencement et dépôt des disques**

- Tremper une pipette pasteur stérile dans la suspension fongique.
- Frotter légèrement la pipette pasteur sur toute la surface du PDA.
- Recharger la pipette à chaque fois dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche, en veillant à la faire passer par la flamme pour éviter toutes les contaminations.

- Des disques de papier wattman imprégné dans l'extrait d'éthanol servant le témoin, qui sont déposés sur la surface de la PDA inoculée. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 30°C pendant 48 à 72 heures.

**f. Lecture de l'activité**

La lecture des antibiogrammes a été faite à l'aide d'un pied à coulisse, elle a été réalisée à l'extérieur de la boîte. Un extrait est considéré actif lorsqu'on mesure une zone d'inhibition autour du disque d'un diamètre supérieur à 6 mm et à l'intérieur de laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée.

# **Partie III**

## **Résultats et discussion**



On a travaillé sur une étude comparative des composés phénoliques principalement les flavonoïdes entre les parties racinaires et aériennes de la plante ortie dioïque.

Notre extraction a été faite par le méthanol /eau (70/30 : v/v) au lieu de méthanol pur (100%) car d'après la bibliographie, le méthanol aqueux donne de meilleur résultat par rapport au méthanol pur (Vuorela, 2005).

Les tests de criblage ont été effectués pour mettre en évidence la présence ou l'absence de certaines composées phénolique qui a un effet sur les activités biologiques étudiées.

Selon leur intensité les réactions qui se produisent sont classées de :

Réaction négative (-).


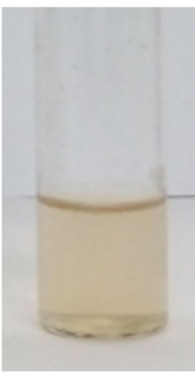


Réaction faiblement positif (+).

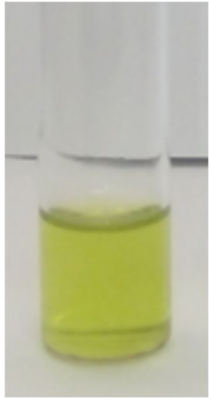



Réaction moyenne positive (++).

Réaction fortement positive (+++).

La présence des composés flavonoïques a été déterminée par la méthode de [Wilstater et Bate-Smith](#), le changement de la couleur par rapport à un témoin est mentionné dans le tableau suivant :



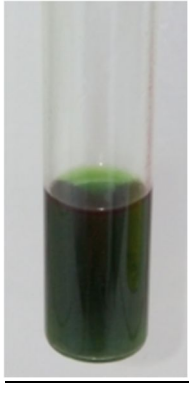

**Tableau 08.** Résultats des tests du criblage des flavonoïdes par l'extrait méthanoïque des feuilles et des racines.

| Tests               |   |   |  |   |
|---------------------|---|---|--|---|
| Extraits            | Témoins   | H Cl + Mg   | HCl+Mg+H <sub>2</sub> O+<br>Alcool   | H Cl+ bain marie  |
| Partie<br>racinaire |  |  |  |  |
|                     |   | Rouge pourpre<br>très claire (+)  | Absence de l'anneau<br>supérieure (-)  | Coloration en<br>rouge violacée<br>très claire (+)                                    |

|                    |   |   |  |   |
|--------------------|---|---|--|---|
| Partie<br>aérienne |  |  |  |  |
|                    |   | Rouge pourpre<br>(+++)  | Apparition de<br>l'anneau rouge<br>pourpre (+++)                                   | Coloration en<br>rouge violacé<br>(+++)   |

D'après la partie synthèse bibliographique, les résultats du criblage des flavonoïdes montrent la présence des flavones, flavonols, flavonones et anthocyanes dans les extraits des parties aériennes et racinaires sauf que l'intensité de la coloration caractérisée aux parties aériennes est plus intense que celles des racines.





**Tableau 09.** Résultats des tests de criblage des quinones par l'extrait éthérique des feuilles et des racines.

| Tests     |   |  |  |  |
|-----------|---|--|--|--|
| Extraits  | Témoin de la<br>partie racinaire  | Extrait éthérique +<br>4 gouttes de NaOH   | Témoin de la<br>partie aérienne  | Extrait éthérique +<br>4 gouttes de NaOH   |
| Résultats |  | <br>( - ) |  | <br>( +++ ) |

Le criblage des quinones a montré que l'espèce étudiée *Urtica dioica* ne contient pas des quinones dans la partie racinaire (résultat négatif). Mais elle est riche de quinone dans la partie aérienne, comme on a observé une coloration jaune. Donc c'est un résultat fortement positif.

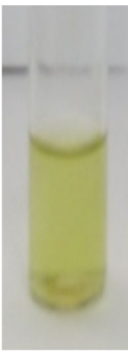

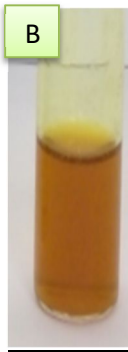
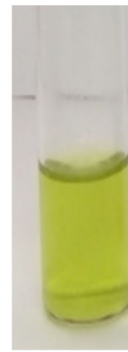
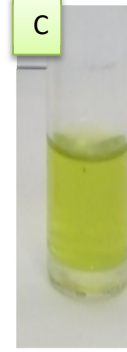
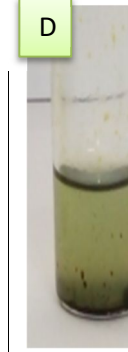
Le réactif KOH utilisée pour la détection des anthraquinones a démontré les résultats suivants :

**Tableau 10.** Résultats des tests de criblage des anthraquinones par l'extrait éthérique des feuilles et des racines.

| Tests     |   |  |  |  |
|-----------|---|--|--|--|
| Extraits  | Témoin de la partie racinaire   | Filtrat + quelques gouttes de KOH  | Témoin partie aérienne   | Filtrat + quelques gouttes de KOH  |
| Résultats |  | <br>(-) |  | <br>(-) |

D'après la bibliographie, la présence des anthraquinones est marquée par une coloration rouge, cependant ce critère de couleur rouge est absent dans les deux parties testées. Nous avons un résultat négatif. La présence des tanins est déterminée par l'intensité de la coloration vert olive ou vert noir donnée suite à la réaction des tanins condensés des différents extraits avec le  $\text{FeCl}_3$  aqueux est mentionnée dans le tableau suivant :

**Tableau 11.** Résultats de recherche des tanins condensés dans les deux extraits.

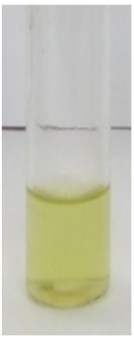
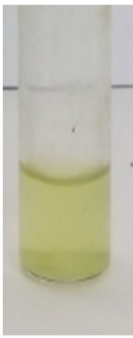

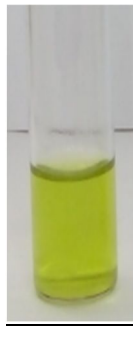

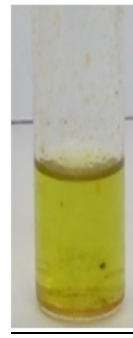
| Tests     |   |  |  |  |   |  |
|-----------|---|--|--|--|---|--|
| Extraits  | Témoin de la partie racinaire   | Extrait méthanolique + 4 gouttes de gélatine.  | Extrait méthanolique + 4 gouttes de $\text{FeCl}_3$  | Témoin de la partie aérienne   | Extrait méthanolique + 4 gouttes de gélatine.   | Extrait méthanolique + 4 gouttes de $\text{FeCl}_3$  |
| Résultats |  | <br>(+) | <br>(-) |  | <br>(++) | <br>(-) |

D'après la bibliographie, la présence des tanins condensés est marquée par la composition de la gélatine ou d'une coloration bleu verdâtre.

Dans la partie racinaire ([figure A](#)), on a observé une présence faible de la gélatine. Donc le résultat est faiblement positif. Et dans la [Figure B](#) le résultat est négatif.




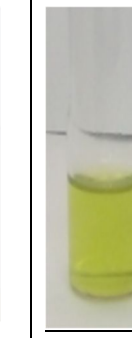


Dans la partie aérienne (figure C), il y'a une présence moyenne de la gélatine. Donc le résultat obtenu est moyennement positif. Cependant il y'a une réaction négative à la gélatine accompagnée d'une verte ou bleu noir avec  $\text{FeCl}_3$ , sont dues à la présence d'autres types de composée phénolique (figure D).

**Tableau 12.** Résultats de recherche des alcaloïdes dans les deux parties.

| Tests     |  |  |  |   |  |  |
|-----------|--|--|--|---|--|--|
| Extraits  | Témoin de la partie racinaire  | Filtrat + 5 goutte de MAYER.   | Extrait sulfurique + DRAGENDO RFF  | Témoin de la partie racinaire   | Filtrat + 5 goutte de MAYER.   | Extrait sulfurique + DRAGEND ORFF  |
| Résultats |  |  |  |  |  |  |
|           |  | (-)  | (-)  |   | (-)  | (-)  |

Théoriquement la présence des alcaloïdes est marquée par une coloration orange ou jaune ; cependant nos résultats indiquent une absence de la couleur jaune ou orange (voir tableau n° 05) ce qui confirme une absence totale des alcaloïdes dans l'espèce *Urtica dioica* au niveau des deux parties testés (partie racinaire et partie aérienne).

**Tableau 13.** Résultats de recherche des stérols et triterpènes dans les deux parties.

| Tests    |   |   |   |   |   |   |
|----------|---|---|---|---|---|---|
| Extraits | Témoin de la partie racinaire   | Test de SALKOWSKI   | Test de LIEBERMANN -BURCHARD  | Témoin de la partie racinaire   | Test de SALKOWSKI I   | Test de LIEBERMANN -BURCHARD  |
|          |  |  |  |  |  |  |
|          |   | (++)  | (++)  |   | (+)   | (+)   |

On a observé une coloration rouge très claire au niveau de la partie racinaire, sa nous signifier la présence de triterpènes. Donc le résultat obtenu est moyennement positif.

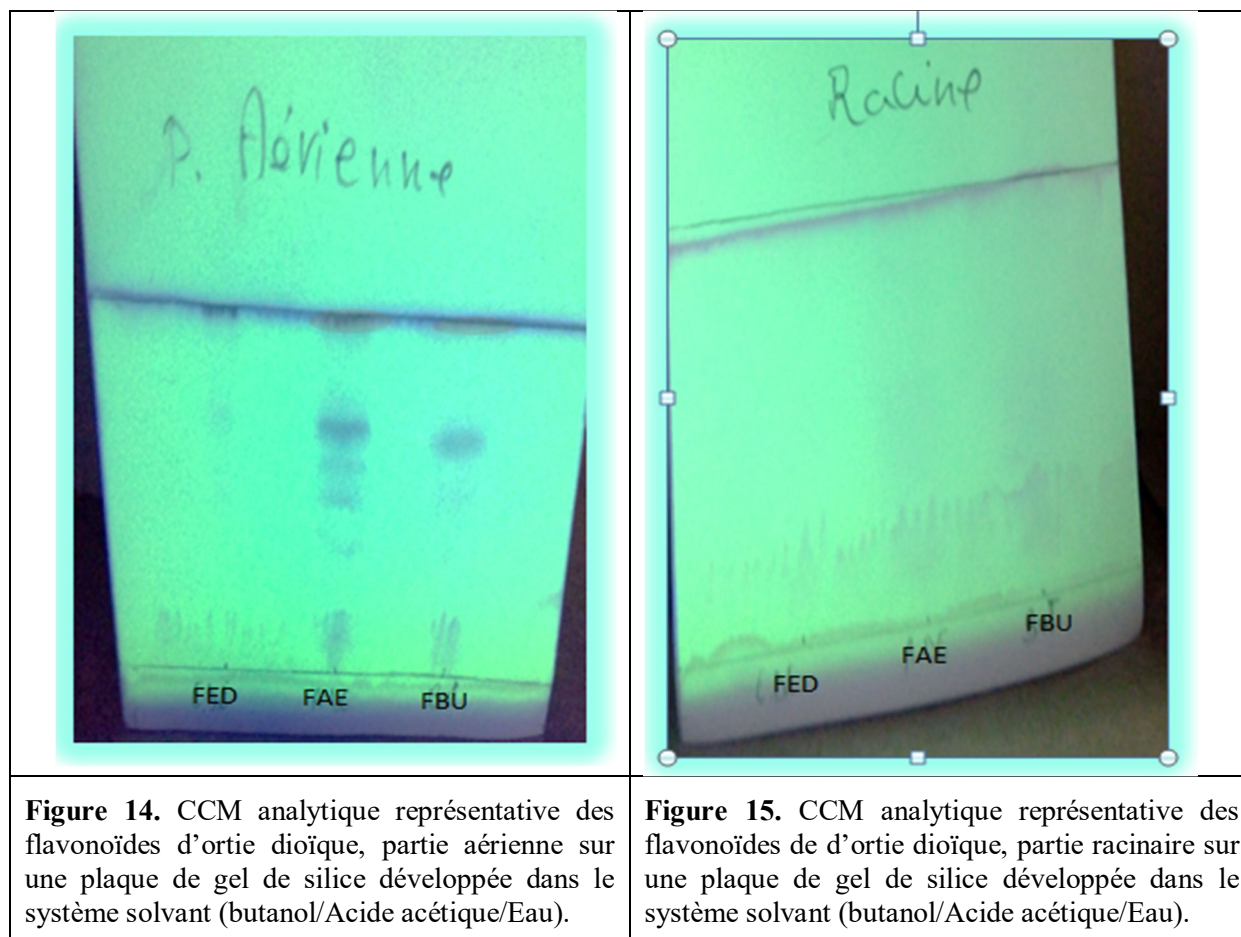
Notre travail montre une richesse des stérols au niveau de la partie aérienne. Ce résultat confirme les travaux publiés sur l'espèce *Nigella sativa*. Ainsi une coloration bleu-vert, qui indique la présence des stéroïdes. Donc le résultat obtenu est faiblement positif.

**Tableau 14.** Résumé des résultats obtenus du criblage des composés phénoliques.

| Composés phénoliques | Partie racinaire |             |            | Partie aérienne |             |            |
|----------------------|------------------|-------------|------------|-----------------|-------------|------------|
|                      | Flavonols        | Anthocyanes | Flavonones | Flavonols       | Anthocyanes | Flavonones |
| Flavonoïdes          | +                | -           | ++         | +++             | +++         | +++        |
| Quinones             | -                |             |            | +++             |             |            |
| Anthraquinones       | -                |             |            | -               |             |            |
| Tanins               | +                |             |            | ++              |             |            |
| Alcaloïdes           | -                |             |            | -               |             |            |
| Stérols              | -                |             |            | +               |             |            |
| Triterpènes          | ++               |             |            | -               |             |            |

Chez l'ortie dioïque, la comparaison entre les deux parties montre que la partie aérienne a une concentration plus élevée en molécules bioactives par rapport à la partie racinaire. En effet les flavonoïdes sont présents dans la partie aérienne sous formes de **flavonones**, **anthocyanes** et **flavonols**.

Pour déterminer la présence des flavonoïques au niveau de nos extraits, et voir une idée sur leurs compositions chimiques, une chromatographie analytique sur couche mince a été réalisée en utilisant un système solvant : butanol/acide acétique/H<sub>2</sub>O. Un chromatogramme comporte une série de spot, ce dernier est visualisé à l'aide lampe UV à 254 nm (Figures 14-15).



**Figure 14.** CCM analytique représentative des flavonoïdes d'ortie dioïque, partie aérienne sur une plaque de gel de silice développée dans le système solvant (butanol/Acide acétique/Eau).

**Figure 15.** CCM analytique représentative des flavonoïdes de d'ortie dioïque, partie racinaire sur une plaque de gel de silice développée dans le système solvant (butanol/Acide acétique/Eau).

Les couleurs des taches et leurs  $R_f$  observés sous UV suite à une analyse par chromatographie sur couche mince nous ont permis de révéler la présence des flavones et des flavonols ([Tableau 15](#)).

**Tableau 15.** Comportement chromatographique des phases : éther di éthylique, acétate d'éthyle et butanol partie aérienne sur des plaques de silice.

| Partie aérienne          |       |                        |       |               |       |
|--------------------------|-------|------------------------|-------|---------------|-------|
| Phase éther di éthylique |       | Phase acétate d'éthyle |       | Phase butanol |       |
| Fluorescence             | $R_f$ | Fluorescence           | $R_f$ | Fluorescence  | $R_f$ |
| Violette                 | 0.904 | Brune clair            | 0,92  | Brune clair   | 0,93  |
| /                        | /     | Violette               | 0.75  | Bleu clair    | 0.62  |
| /                        | /     | Bleu                   | 0.69  | /             | /     |
| /                        | /     | Bleu clair             | 0.56  | /             | /     |
| /                        | /     | Bleu clair             | 0.18  | /             | /     |

D'après le tableau, on remarque que les fractions du chromatogramme obtenu est variable selon les valeurs du  $R_f$  pour différentes fraction éther di éthylique, acétate d'éthyle, te butanol. Le  $R_f$  de la phase acétate d'éthyle est le plus élevé (5 spots) il est riche en flavonoïdes (0.56 / 0.69 et 0.75) approximation sont flavonone, flavonol, anthocyanes, et donner un résultat optimal.



Portant de leurs fluorescences et leurs  $R_f$ , nos échantillons sont riches en flavones qui correspondent aux taches violettes, brunes et bleues. Nos résultats sont confirmés à ceux obtenus par [Markham, 1982](#).

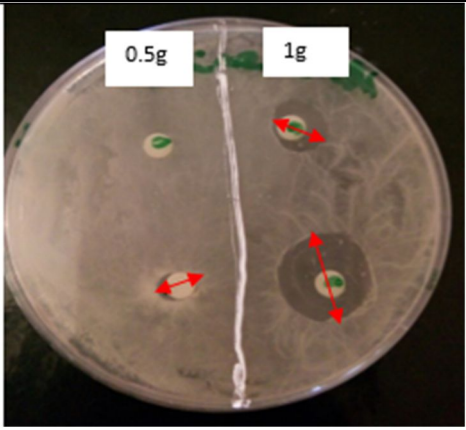
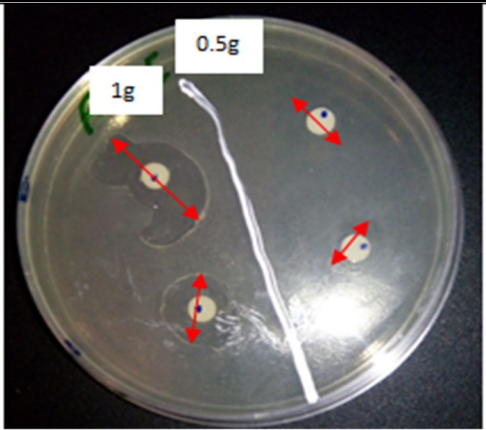
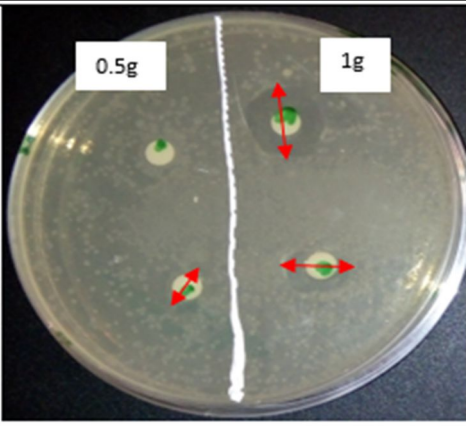
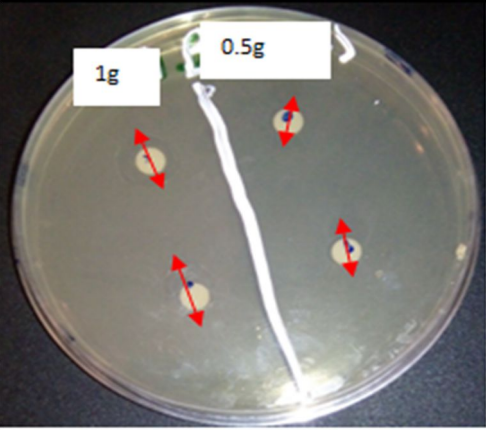
On remarque que la migration des molécules est différente d'une phase à l'autre ce qui explique que la migration est en fonction de la polarité des substances, de la polarité de l'éluant et du pouvoir d'adsorption de la phase stationnaire. Selon [Bandyukova et Shinkarenko, 1973](#).

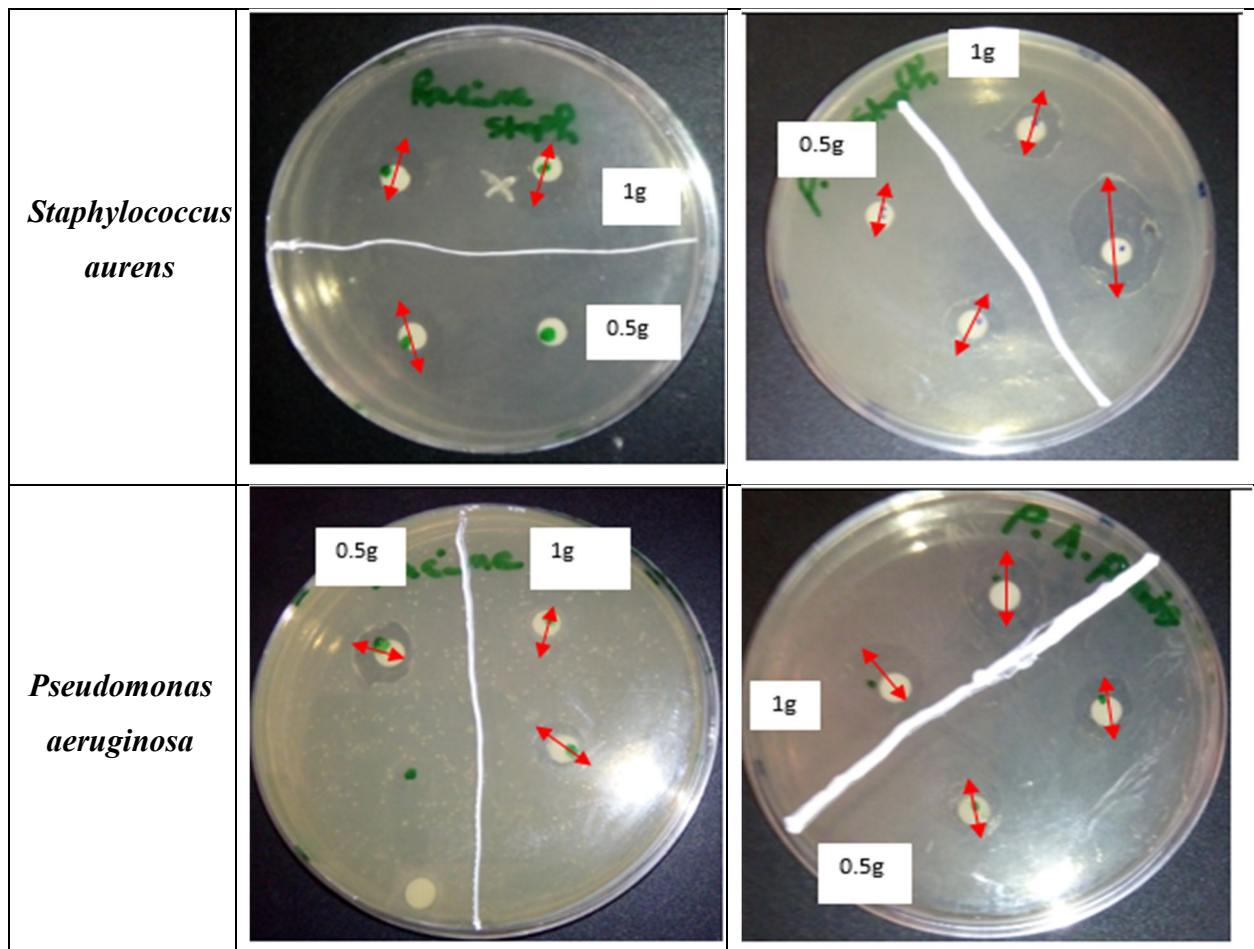
Nous avons étudié le pouvoir antibactérien des flavonoïdes isolés d'*Urtica dioica* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu de culture gélosé solide ([Muller Hinton](#)).

L'activité antibactérienne effectuée sur les quatre espèces (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) s'est manifestée par l'apparition des zones d'inhibition autour des disques imprégnés de principes actifs dans les deux parties chez *Urtica Dioica*.

D'après la classification de [Ponce et al, 2003](#), les zones d'inhibition, variant entre 8 et 13mm, indiquent que les souches sont sensibles aux flavonoïdes de l'ortie dioïque.

**Tableau 16.** Activité antibactérienne de l'extrait brut des deux parties chez la plante *Urtica dioica*.

| Bactéries                | Partie racinaire  | Partie aérienne  |
|--------------------------|---|--|
| <i>Bacillus subtilis</i> |  |  |
| <i>Escherichia coli</i>  |  |  |



Le **tableau** montre les résultats de l'activité antibactérienne de chaque partie étudiée. En comparaison, les deux parties ont une activité inhibitrice contre *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Mais la partie aérienne a une activité inhibitrice plus élevée.

**Tableau 17.** Diamètre de la zone inhibitrice des souches bactériennes dans les deux parties chez l'ortie dioïque en (mm).

| N° | Souches                       | Natures           | Parois | Activité (zone d'inhibition mm) |        |                 |        | Types     |
|----|-------------------------------|-------------------|--------|---------------------------------|--------|-----------------|--------|-----------|
|    |                               |                   |        | Partie racinaire                |        | Partie aérienne |        |           |
|    |                               |                   |        | 0.5g\1ml                        | 1g\1ml | 0.5g\1ml        | 1g\1ml |           |
| 01 | <i>Escherichia Coli</i>       | Gram <sup>-</sup> | Double | 6                               | 8      | 8               | 12     | Pathogène |
| 02 | <i>Bacillus subtilis</i>      | Gram <sup>+</sup> | Simple | 7                               | 17     | 11              | 26     | Pathogène |
| 03 | <i>Staphylococcus aureus</i>  | Gram <sup>+</sup> | Simple | 8                               | 11     | 12              | 17     | Pathogène |
| 04 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Gram <sup>-</sup> | Double | 7                               | 10     | 8               | 11     | Pathogène |

Les figures ci-dessous représentent les diamètres de la zone inhibitrice des quatre souches bactériennes chez *Urtica dioica*, au niveau des deux parties étudiées (racinaire et aérienne).



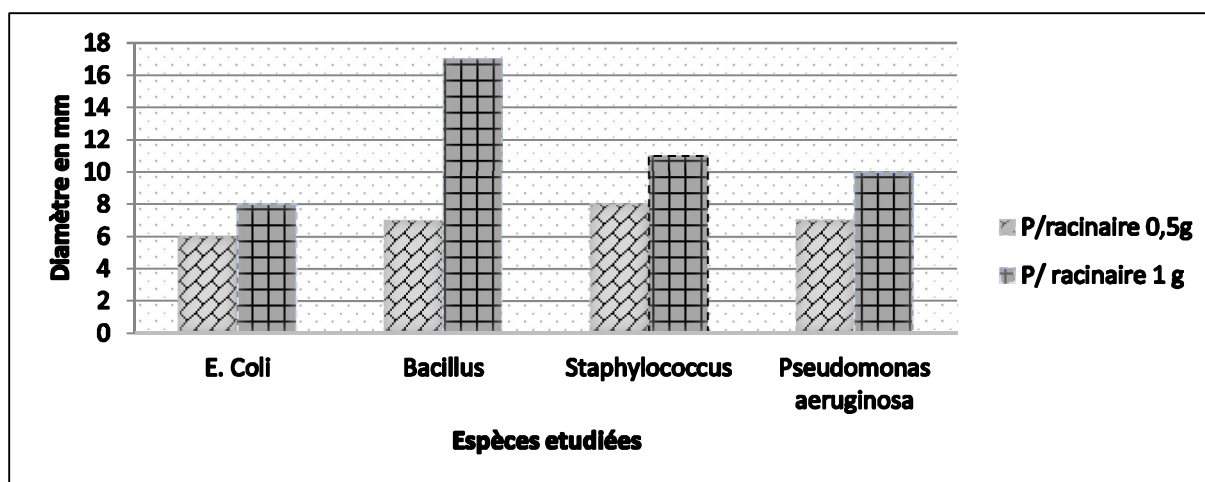


Figure 16. Diamètre des zones d'inhibition des quatre souches bactériennes chez *Urtica dioica* partie racinaire.

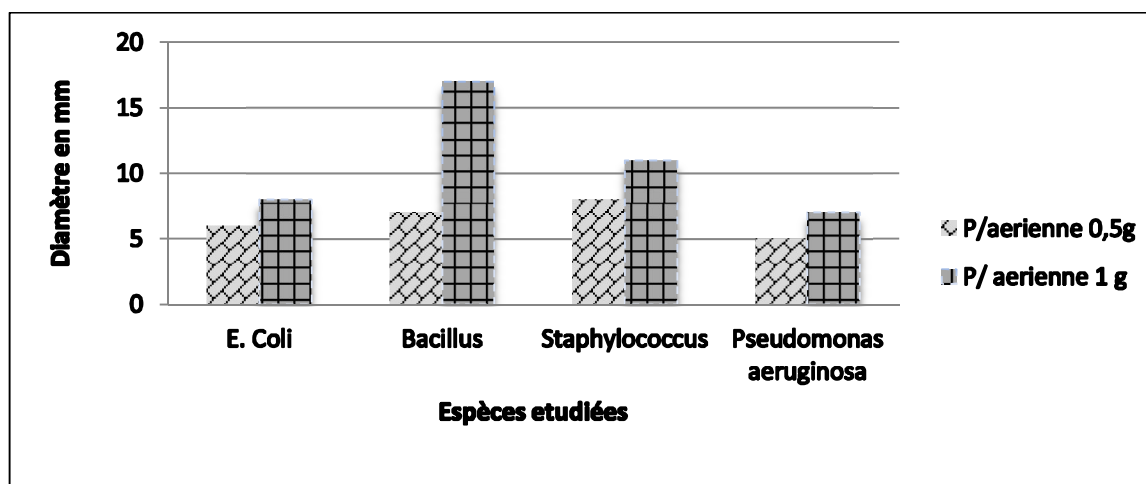


Figure 17. Diamètre des zones d'inhibition des quatre souches bactériennes chez *Urtica dioica* partie aérienne.

D'après nos résultats, nous constatons que les deux parties ont un effet inhibiteur efficace contre les quatre espèces bactériennes mais avec des diamètres variables. Nous constatons aussi que pour les deux concentrations testées (0.5g/1g) le diamètre d'inhibition le plus élevé est marqué chez la bactérie Gram positif *Bacillus subtilis* (7mm/17mm) mm respectivement ; par contre le plus faible est observé chez la bactérie Gram négatif *Pseudomonas aeruginosa* (7mm/10mm). Cependant pour la partie aérienne on remarque les mêmes résultats que celle de la partie racinaire sauf que l'ordre est de (11mm/26mm) et (8mm /10mm) respectivement pour *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa*.

On peut expliquer les résultats obtenus par la toxicité de nos extraits bruts à ces bactéries. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les multiplications microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire. Ceci pourrait être expliqué par le fait que les

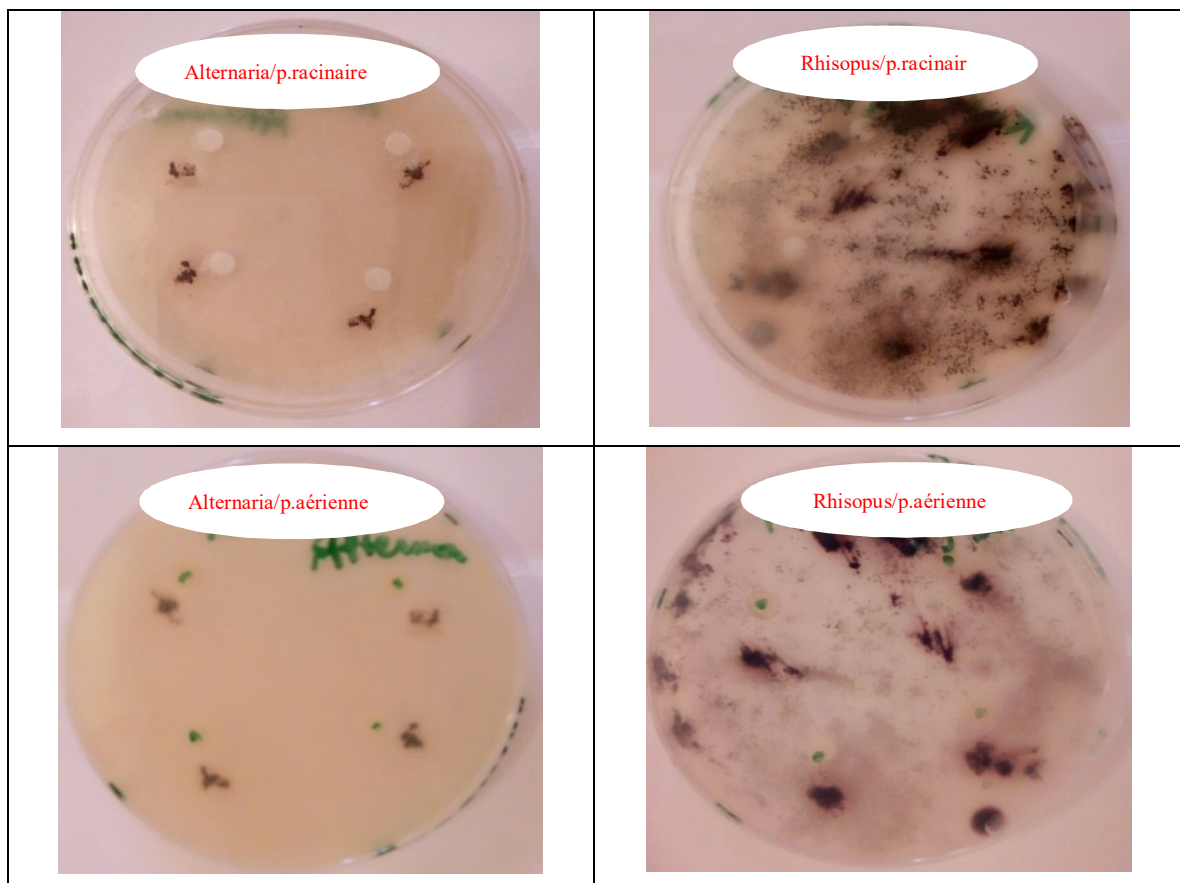
bactéries à Gram<sup>+</sup> (*Bacillus subtilis* et *Staphylococcus*) sont dépourvues de paroi ce qui facilite l'entrée des composés phénoliques à l'intérieure et aura comme conséquence l'inhibition de la croissance bactérienne.

Néanmoins les souches à Gram<sup>-</sup> (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) sont pourvues de couche lipopolysaccharide (paroi) qui pourrait fonctionner comme barrière efficace contre n'importe quel intrant.

On peut résumer que l'effet antibactérien d'*Urtica dioica*) selon le diamètre de la zone d'inhibition comme suit :

***Bacillus subtilis* > *Staphylococcus* > *E. Coli* > *Pseudomonas aeruginosa*.**

Pour l'activité antifongiques nous n'avons remarqué aucune inhibition chez les deux souches fongiques testées : *Alternaria solani* et *Rhizopus stolonifer*. Donc ils n'ont pas une activité inhibitrice pour les champignons testés (Figure 18).



**Figure 18.** Activité antifongique l'extrait brut des deux parties chez *Urtica dioica*.

Généralement, ces souches fongiques ont été isolées à partir des éléments riches en flavonoïdes (comme la tomate qui est riche en anthocyane), ce qui exprime la production et la multiplication des spores et donc on peut les considérer comme milieu de culture pour certains champignons. Alors, il n'y a pas une inhibition fongique chez l'ortie dioïque parce qu'il est très riche en flavonoïdes.



Conclusion

**Conclusion :**

Ce travail a pour objectif principal l'extraction et l'identification des composés phénoliques principalement les flavonoïdes contenus dans la partie racinaire et aérienne de l'ortie dioïque et l'évaluation de leurs activités biologiques.

Le criblage et la chromatographie sur couche mince (de type liquide-solide) des extraits des deux parties étudiées montre la richesse en trois flavonoïdes : flavonones, flavonols et anthocyanes. Ces derniers sont plus marqués dans la partie aérienne. Parallèlement, l'étude biologique des différentes fractions à montrer un pouvoir antibactérien plus accentué pour les bactéries grames positifs que pour les grames négatifs. Comparativement entre les deux parties, cette activité antibactérienne est plus forte dans la partie aérienne. Ceci pourra s'expliquer par le fait que les feuilles sont plus riches en flavonoïdes que les racines. Par contre cette étude montre qu'il n'y a pas d'inhibition fongique chez l'espèce *Urtica dioica*.

Sachant que l'Algérie est marquée par un potentiel en biodiversité aux niveaux des plantes. Cette richesse est une réserve pharmaceutique qui demande son entretien et par conséquent sont utilisation ultérieure.

L'utilisation des molécules bioactives existantes ainsi que l'identification d'autres molécules pourront répondre aux différents problèmes de santé ainsi que ceux liés à l'environnement.

Et en guise de conclusion il est temps pour notre pays d'introduire l'ortie dans les différents domaines (l'industrie, l'agroalimentaire, en produits pharmaceutiques).

## Références bibliographique

- Bandyukova, V.A. et Shinkarenko, A. L. (1973).** The thin layer chromatography of flavonoids. *Cemistry of Natural compound*, 9 (1) ;17-21.84.
- Bertrand, B. (2008).** Les secrets de l'ortie. 10<sup>e</sup> édition, édition de Terran.
- Bohrom, N. (1997) :** les huiles essentielles extraites des plantes médicinales : moyen efficace de lutte contre les ravageurs de denrées alimentaires stockées. Université du Maroc pp162
- Bruneton, J. (1999).** « Pharmacognosie, photochimie et plantes médicinales ». 3ieme édition .3, Lavoisier, Paris.
- Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plante médicinale. 3<sup>e</sup> Ed : Lavoisier : Paris, P.1120<sup>e</sup> et 4<sup>2</sup> Ed : Lavoisier : Paris, P.1269.
- Crown, M. M. (1999).** Plant products As Antimicrobial Agents. *Clinical microbiology Reviews*. 12(4), P.564-582.
- Dulger, B. et Gonuz, A. (2004).** Antimicrobial activity of some Turkish medicinal plants. *Pakistan journal of biological sciences* .7(9), P.1559-1562.
- Géhu-Frank, J. Géhu, J. M. et Bournique C. P. (1993).** Schémas de Botanique systématique illustrée : Tome 2 : Les plantes à fleurs et fruits (angiospermes). Laboratoire de Botanique. Faculté de Pharmacie de Paris.
- Harborne, J. B. et Williams, C. A. (2000).** Advancesin flavonoid research since 1992. *Phothochimistry* 55, P.481-504.
- Haslam, E. (1989).** Plant polyphenols -Vegetal tannins revisited.Cambridge. UK: Cambridge University Press. 230 p (BioEssays, volume 12).
- Lahouel, M. (2005).** Interaction flavonoïdes –mitochondrie et rolde la propolis dans la prévention de l'propose induite par certains médicaments anticancéreux. These de doctorat universite constantine 1, pp.254.
- Laurent Bray. (2012).** Initiation à la botanique et découverte des petits secrets du monde vert interactions végétales Conservation du jardin botanique de la ville Paris science végétale la guerre biologique est déclarée vu da8ns6l'officiel jardin motoculture – n° 150 janvier\février le magazine référence de l'acmotoculture de jardin – espace vertsl' officiel jardin tualité jardin – espace verts.
- Marchal, R. (1998).** Chromatographie : stage MAFPEN. Ed. ANTONDT. Lycée Louis Vincent- METZ.
- Markham, K. R. (1982).** Technique of flavonoids identification. *Ed Academic press*, P.6-10.

- Morel Jean-Michel. (2008). Traité pratique de phytothérapie, Edition Grancher, *Collection « Le corp de l'esprit »*, p. 74, 209, 233, 287.
- Marouane w. (2013).** *The protective effect of Malva sylvestris on rat kidney damaged by vanadium. Lipids Health Dis. 2011 Apr 23;10:65. doi: 10.1186/1476-511X-10-65.*
- Moutsie. (2008).** L'ortie une plante qui vous veut du bien, l'encyclopédie d'utovie, Editions d'Utovie.
- Parekh, J. et Chanda, S. V. (2007).** In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis.
- Ponce A.G., Fritz R., del Valle C. & Roura S.I., (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.*36, pp.679-684.
- Rassoli, I. Fakoor, M. H. et al. (2008).** Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *International J of Food Microbiology*, 122, P.135-139.
- Rota, M. Herrera, A. et al. (2008).** Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgzeris*, *Thymus zygis* and *Thymus* essential oils. *Food control*, 19 P. 681-687.
- Sacchetti, G. Herrera, A. et al. (2005).** Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional anti-oxidants. *Antiradicals and anti-microbial sin foods. Food Chem*, 91 P. 621-632.
- Valnet J. (1992).** *Phytothérapies : traitement des maladies par les plantes. – 6<sup>ème</sup> édition Paris : Maloine, P. 617-625.*
- Vuorela, S. (2005).** Analysis, isolation and bioactivities of rapeseed phenolics. Helsinki.

**Webographie**

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Anthraquinone>

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Triterp%C3%A8ne>.

<http://www.lachimie.fr/materiel/evaporateur.php>

[https://fr.wikipedia.org/wiki/Ph%C3%A9nol\\_\(groupe\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Ph%C3%A9nol_(groupe))

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Polyph%C3%A9nol>

[galerieau.pierre.free.fr/Labo\\_Ouvert/pdf/urtica\\_dioica.pdf](http://galerieau.pierre.free.fr/Labo_Ouvert/pdf/urtica_dioica.pdf).

[http://galerieau.pierre.free.fr/Labo\\_Ouvert/pdf/urtica\\_dioica.pdf](http://galerieau.pierre.free.fr/Labo_Ouvert/pdf/urtica_dioica.pdf)

## Lexiques :

|                             |  |
|-----------------------------|--|
| <b>Albumen</b>              | C'est un type de tissu de réserves nutritives de la graine chez les angiospermes (plantes à fleur).  |
| <b>Acide ascorbique</b>     | Nom chimique de la vitamine C.   |
| <b>Akène</b>                | Fruit sec indéhiscent.   |
| <b>Alcaloïdes</b>           | Substance azotée basique.  |
| <b>Anthocyane</b>           | Pigments des végétaux responsables à la coloration rose, rouge, bleu et violette.  |
| <b>Antibactérienne</b>      | Lutte contre les bactéries   |
| <b>Antifongique</b>         | Molécule agit contre les infections provoquées par les champignons ou Les levures parasites. Anti-inflammatoire : Qui calme les inflammations.   |
| <b>Anti-inflammatoire</b>   | Qui calme les inflammations  |
| <b>Arbuste</b>              | Plante ligneuse haute de la 3 mètre  |
| <b>Biosynthèse</b>          | Formation d'une substance organique au sein d'un être vivant.  |
| <b>Biotope</b>              | Littéralement en grec ancien, un type de <i>lieu de vie</i> défini par des caractéristiques physiques et chimiques déterminées relativement uniformes.                                       |
| <b>Bactérie</b>             | Organe se trouvant à la base de la fleur permettant de protéger son organe sexuel.   |
| <b>Broyage</b>              | Transformation de la matière végétale en poudre fine.  |
| <b>CCM</b>                  | Méthode simple et rapide qui permet de suivre l'évolution d'une réaction ou de testé la pureté de composés organique.  |
| <b>Composés phénoliques</b> | Molécule aromatique constituées d'un groupe phényle et d'un hydroxyle OH.  |
| <b>Chromatographie</b>      | Analyse (identification ou dosage) des constituants d'un mélange, fondée sur leur adsorption sélective par des solides pulvérulents ou leur partage en présence de phase liquide ou gazeuse. |
| <b>Criblage</b>             | Technique qui prouve la présence ou l'absence des flavonoïdes dans un extrait de la plante.  |
| <b>Dicotylédones</b>        | Plantes dont l'embryon possède deux cotylédoné.  |
| <b>Evaporation</b>          | Opération qui consiste à séparer le solvant du filtrat aux principes actifs.   |
| <b>Extraction</b>           | Technique chimique classique pour obtenir des composés organiques à partir de matériel végétal séché.  |



|  |  |
|--|--|
| <b>Filtration</b>                      | Etape permet de séparer un mélange liquide du matériel végétal macérée.  |
| <b>Flavonoïdes</b>                     | Pigments des végétaux responsables de la couleur jaune. Ils possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone constitué de 2 phénol- (A et B) reliée par une chaîne en C3.   |
| <b>Groupe hydroxyle</b>                | C'est un groupe de chimie organique constitué d'un atome d'oxygène et d'un atome d'hydrogène, – OH. Il caractérise, associé à une chaîne carbonée aliphatique, les différents alcools et, placé sur un cycle aromatique, les phénols ; il est aussi présent dans les très nombreux composés dits hydroxylés. |
| <b>Hétérosides<br/>(ou glycosides)</b> | Ce sont des molécules nées de la condensation d'un sucre (ose, alors qualifié d'aglycone) et d'une substance non glucidique. Ces deux éléments sont réunis par une liaison dite glycosidique dont le type définit une classification du glycoside.   |
| <b>Héliophile</b>                      | (Du grec <i>hélíos</i> , le soleil, et <i>philos</i> , ami) qualifie une espèce végétale ayant d'importants besoins en lumière pour se développer. L'héliophyte désigne cette essence de lumière   |
| <b>Identification</b>                  | Le comportent d'une molécule particulière dans un système donné est exprimé par sa fluorescence sous UV et par son Rf.   |
| <b>Inflorescence</b>                   | Mode de groupement des fleurs sur une même tige  |
| <b>Lignine</b>                         | Substance organique polysaccharides responsable de la rigidité chez les plantes.   |
| <b>Macération</b>                      | Opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant, pour extraire les principaux actifs.   |
| <b>Métabolisme</b>                     | Produit de la transformation d'une substance de l'organisme.   |
| <b>Pétale</b>                          | Elément composant la corolle d'une fleur. Il est formé d'un limbe corolle et d'un onglet qui les rattache au calice.   |
| <b>Pharmacologie</b>                   | C'est une discipline scientifique du vivant, subdivision de la biologie, qui étudie les mécanismes d'interaction entre une substance active et l'organisme dans lequel elle évolue, de façon à pouvoir ensuite utiliser ces résultats à des fins thérapeutiques.   |
| <b>Phénol</b>                          | Métabolismes secondaires très répandues dans le règne végétal.   |
| <b>Photosynthèse</b>                   | Processus qui permet aux plantes de synthétiser leur matière organique en exploitant l'énergie solaire. Elle utilise l'énergie lumineuse pour fabriquer sucre.   |
| <b>Plante adaptogène</b>               | C'est une plante augmentant la capacité du corps à s'adapter aux différents stress, quelles que soient leurs origines.   |
| <b>Plante annuelle</b>                 | Plante effectuant son cycle de vie sur une année.  |

---

|   |  |
|---|--|
| <b>Plantes herbacées</b>                  | Sont des plantes dont les tiges meurent à la fin de la saison de croissance.   |
| <b>Plante Nitrophile</b>                  | C'est nitrophile ce qui aime les composés azotés et en particulier les <u>nitrates</u>   |
| <b>Rapport frontale (R<sub>f</sub>) :</b> | La distance parcourue par la molécule sur celle parcourue par la phase mobile c'est-à-dire le front du solvant qui est compris entre 0 et 1. |
| <b>Spermatophyte :</b>                    | Plante à grains.   |
| <b>Stress biotique</b>                    | Stress résultant des effets de certains facteurs biotique (Ex : bactérie, champignons, virus ...).   |
| <b>Tanins</b>                             | Substance poly-phénolique non azotée.  |
| <b>Tétramère</b>                          | C'est un oligomère composé de quatre sous unités.  |

Année universitaire : 2016/2017

Présenté par : Bennouar Yousra  
Chekakta Sihem

## Etude phytochimique et biologique chez l'espèce *Urtica dioica* au niveau des deux parties : racinaire et aérienne

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du Diplôme de Master en métabolisme  
Secondaire et Molécules Bioactives

### Résumé :

Ce travail concerne l'étude phytochimique de l'espèce *Urtica dioica*, appartenant à la famille des Urticacées, portant sur deux parties de la plante : la partie racinaire et la partie aérienne. Le but de ce travail est de confirmer la richesse de l'ortie en métabolites secondaires particulièrement les flavonoïdes. Les différents tests réalisés, montrent la richesse d'*Urtica dioica* en composés phénolique et plus particulièrement en flavonoïdes.

Parallèlement une étude biologique a été effectuée sur quatre souches bactériennes et deux souches fongiques. Les résultats obtenus ont montré qu'il y'a une activité antibactérienne plus marquée chez l'espèce *Bacillus subtilis* (avec un diamètre d'inhibition de 26 mm).

**Mots clés :** *Urtica dioica*, Urticacées, Flavonoïdes, Activité biologique, Partie aérienne, Partie racinaire.

### Jury d'évaluation :

|                            |                |                         |
|----------------------------|----------------|-------------------------|
| <b>Président du jury :</b> | Chibani Salih  | MCB-UFM Constantine 1.  |
| <b>Rapporteur :</b>        | Labani Zelikha | MCB-UFM Constantine 1.  |
| <b>Examineur :</b>         | Nebbache Selwa | MAA-UFM Oum El Bouaghi. |

**Date de soutenance : 19/06/2017**