الجمهورية الجزائرية الديموقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جـــامعـــة محمد الصديق بن يحي – جيجل-

Université de Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

كليـة عـــلوم الطـــبيعـة والحـــياة
قســـم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire de Master

En vue de l'obtention du diplôme : **Master académique en Biologie**
Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème

Analyse phyto-chimique et évaluation *in vitro* des activités biologiques des extraits hydro-éthanolique et aqueux d'*Urtica urens*.

Membres de Jury
Président : Pr. RECHRECH Hocine
Examinateur : Dr. ABBES Arbia
Encadreur : Mme BENASAM Moufida

Présenté par :
MEKAHLI Ismail
DJEDOUANI Zakaria

Année Universitaire 2020-2021

Numéro d'ordre : ……..

Remerciement

En premier lieu, nous tenons à remercier notre « Allah », notre créateur pour nous avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation. Toute œuvre qui résulte d'un effort humain est explicitement ou implicitement toujours le fruit d'une vaste collaboration. Ainsi, que tous ceux qui de près ou de loin ont pris une part active dans la réalisation de ce mémoire puissent trouver dans ces lignes l'expression de notre profonde gratitude.

En nous exprimant de la sorte, nous pensons tout particulièrement à notre Encadreur, « Mme Bensam.M », qui a bien voulu accepter et de diriger ce travail. Nous elle remercions vivement pour sa disponibilité, ses orientations.

Nos remerciements vont aussi aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail et pour leurs corrections qui ont permis d'améliorer ce manuscrit.

Nous remercions également tous les membres de laboratoire qui nous ont beaucoup aidés à réaliser ce travail dans des bonnes conditions.

À tous les étudiants de master 2 Biologie Moléculaire et Cellulaire de la promotion 2021

Enfin, nos plus vifs remerciements vont à nos parents pour leurs soutiens et pour nous avoir toujours encouragés dans ces études en nous offrant toutes les opportunités possibles.

** Merci**

Dédicace

En premier lieu, je remercie ALLAH le tout le puissant de m'avoir donné la volonté, la santé, et le courage pour réaliser ce travail.

Je dédie ce travail : A mes chaires parents,

Mon cher Papa,

Signe de fierté et d'honneur, ce travail est le vôtre, Inshallah du trouveras ici toute mon affection et ma profonde gratitude pour toutes ces années de sacrifice pour moi.

Mon cher Mama,

Nul mot parviendra, j'aimais à lui exprimer l'amour que je porte, ton amour, ta patience, ton encouragement et tes prières ont été pour moi le gag de la réussite. J'espère que ce travail soit à tes yeux le fruit de tes efforts et un témoignage de ma profonde affection.

A mais chers frères.

Aux membres des familles Mékahli.

À mes chers amis(es) et particulier.

À mon binôme « Zakaria » qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail.

Et à ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

À vous tous mercis.

ISMAIL.

Dédicace

En premier lieu, je remercie ALLAH le tout le puissant de m'avoir donné la volonté, la santé, et le courage pour réaliser ce travail.

Je dédie ce travail : A mes chaires parents. À mon cher papa qui nous a quittés très tôt et qui est toujours présent dans nos cœurs. Je ne t'oublierai jamais, je t'aime infiniment. Que Dieu, le tout puissant, te garde dans son vaste

paradis.

Ma cher Mama, je te dis un grand merci, je te souhaite tout le bonheur, que Dieu te protège et te garde pour moi. J'espère que ce travail soit à tes yeux le fruit de tes efforts et un témoignage de ma profonde affection.

A mais chers frères.

Aux membres des familles Djedouani

À mes chers amis(es) et particulier.

À mon binôme « Ismail » qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail.

Et à ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

À vous tous mercis.

Zakaria .

Introduction……..... 01

I. Synthèse bibliographique

I. 1. Généralités sur la plante d'*urtica urens*.....03
I .1.2. Description générale des Urticacées 03
I .1.1.3. Position systématique..... 04
I .1.1.4. Dénomination..... 04
I .1.1.5. Description botanique.....05
I .1.1.6. Composition chimique..... 05
I .1.1.7. Principale utilisations d'*Urtica urens L*..... 06
I. 2. Les métabolites secondaires..... 07
I .2.1. Les composes phénoliques..... 08
I .2.2. Classification des composes phénoliques.....08
I .2.2.1. Les phénols simples.....08
I .2.2.1.1. Acides phénoliques.....08
I .2.2.1.2. Les flavonoïdes.....09
I .2.2.2 Les phénols complexes.....10
I .2.2.2.1. Les tannins..... 10
I .2.3. Activités biologiques des polyphénols..... 11
I .3. Caractérisations des métabolites secondaires..... 12
I .3.1. Principe de la GC-MS..... 13
I .4. Stress oxydatif..... 13
I .4.1. Radicaux libres..... 14
I .4.1.1. Nature des radicaux libres..... 15
I .4.1.2. Origine d'ERO.....15
I .4.1.3. Principales cibles des ERO.....16
I .4.2. Les antioxydants..... 17
I .4.3. Détermination de la capacité antioxydante…… 17
I .5. Inflammation..... 18
I .5.1. Déclenchement de la réaction inflammatoire..... 19
I .5.2. Principales étapes de la réaction inflammatoire..... 19
I .5.3. Principales cellules et médiateurs de l'inflammation.....20
I .5.4. Activité anti-inflammatoire 21

I .5.4.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)..... 21
I .5.4.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)..... 22
I .5.4.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale..... 23

II. Matériel et méthodes

II .1. Matériel végétale..... 25
II .2. Préparation des extraits bruts..... 26
II .3. Analyse phyto-chimique des extraits..... 26
II .3.1. Dosage des polyphénols totaux.....26
II .3.2. Dosage des flavonoïdes totaux..... 26
II .3.3. Dosage des flavonols..... 27
II .3.4. Dosage des tannins..... 27
II .3.5. Analyse de la composition chimique des extraits d'*U.urens* par GC-MS 27
II .4. Evaluation des activités biologiques des extraits phénoliques de la plant étudiée …. 28
II .4.1. Mise en évidence de l'activité anti-radicalaire des extraits par le test DPPH.....28
II .4.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits *in vitro*.....29
II .4.2.1. Teste de stabilisation de la membrane des globules rouges..... 29
II .4.2.2. Préparation de la suspension de globules rouges..... 29
II .4.2.3. Hémolyse induite par la chaleur..... 29
II .5. Analyse statistique..... 30

III. Résultats et discussion

III .1. Rendement et caractérisation des extraits bruts d'*urtica urens* ……32
III .2. Teneur en composés phénoliques dans les extraits bruts.....33
III .3. Analyse de la composition chimique des extraits d'*U.urens* par GC-MS.....35
III .4. Effet anti-radicalaire des deux extraits d'*urtica urens*..... 40
III .5. Evaluation de l'activité anti- inflammatoire *in vitro*..... 41
III .5.1. Effet de l'extrait Hydro-éthanolique et aqueux sur la stabilisation de la membrane des globules rouges..... 41
Conclusion..... 45
Références bibliographiques.....
Annexes.....

Introduction générale

En 1978, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) s'est résolument engagée à la recherche et à la valorisation de la pharmacopée traditionnelle, car les plantes médicinales constituent une alternative idéale aux médicaments chimiques ayant des effets secondaires trop importants, ou spécialités trop chers à fabriquer ou à acheter pour les pays en voie de développement (OMS, 2003)

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (Maurice, 1997).

Malgré la nature hétérogène d'une biodiversité immense du continent africain en général et de l'Algérie en particulier, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes. C'est pourquoi, nous sommes intéressés à étudier une plante qui appartient à la famille des urticacées, cette dernière compte une soixantaine de genre dont le genre urtica celui-ci regroupe plus de 80 espèces différentes. Parmi les espèces qui nous intéresse, l*'urtica urens*, selon les régions elle est connue par plusieurs nom ; quorice قريص, horrig حريق dans notre région Jijeliènne (Alloun Kenza, 2007).

C'est à partir de ces données nous avons fixé les objectifs de notre travail qui vise à réaliser:

- la préparation et la caractérisation des extraits hydro-éthanolique et aqueux de la plante *Urtica urens.*
-l'analyse de la composition chimique des extraits par la GC-MS.
- la mise en évidence de l'activité anti radicalaire des extraits par le test du DPPH.
- l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits *in vitro* en utilisant le test de stabilisation de la membrane de globules rouges.

Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur la plante d'*Urtica urens*

I.1.2. Description générale des Urticacées

Les urticacées regroupent une cinquantaine de genres et près de 1000 espèces, réparties dans le monde entier. On distingue les urticacées avec poils urticants (genre *Urtica*) ou sans (genre *Parietaria* et *Boehmeria*) (Bertrand, 2010). Les Urticacées sont des plantes herbacées élancées à feuilles stipulées opposées par deux dont, l'épiderme porte des poils (protecteurs, sécréteurs ou urticants). Il existe une reproduction végétative (c'est-à-dire asexuée). 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. 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. Nous allons voir par la suite que l'ortie est une bonne représentante de cette famille puisqu'elle en possède les principales caractéristiques (Draghi, 2005).

L'ortie fait partie de la famille des urticacées. Cette dernière compte une cinquantaine genres, dont le genre Urtica. Celui-ci regroupe plus de 80 espèces différentes. *Urtica dioica L.* (la grande ortie) et *Urtica urens L.* (la petite ortie) Sont les espèces les plus utilisées pour leurs multiples propriétés (Lefief et Alex, 2012). Le mot urtica, qui futs le nom de la plante dans l'antiquité, vient du latin Urere (bruler). Par extention, urticaire, urtican, urtication se disent de toutes espèces de démangeaisons similaires à celles provoquées les piquer d'ortie (Bertrand, 2010). Les principales espèces du genre Urtica sont:

-*Urtica dioica L.*
-*Urtica urens L.* (Ortie brûlante ou « petite Ortie»)
-*Urtica pilulifera L.* (Ortie romaine ou « ortie à pilules»)
-*Urtica cannabina L.*
-*Urtica atrovirens Req.*
-*Urtica membranea Poiret.*

Les espèces *U.diocia* et *U.urens* sont connues pour posséder des propriétés médicinales. *U.urens* (Fig1) est largement répartie dans la région méditerranéenne. Cette plante est également connue à l'époque romaine comme ortie et en Algérie comme Qurraus (Afif et Abu-Irmaileh, 2000). Pendant des décennies, l'extrait de l'espèce *U.urens* a été utilisé longtemps dans des nombreux pays à travers le monde comme un médicament traditionnel pour le traitement de diverses maladies (Kavalali *et al*, 2003).

Fig.1. la plante *U. urens L* à son origine naturelle.

I.1.3. Position systématique

Urtica urens est positionnée comme ci-dessous suivant l'Angiosperme Phylogénie Group APGIII, 2009 :

Règne : Plantae

Embranchement : Angiosperme

Classe : Rosideae

Sous-classe : Rosideae dialycarpellées

Ordre : Rosales

Famille : Urticaceae

Genre : Urtica

Espèce : *Urtica urens L*

I.1.4. Dénomination

Le nom latin (universel) de l'ortie est *Urtica urens*. L'ortie se disait Urtica en latin mot venant lui - même du verbe urere qui signifier brûler par extension urticaire, se disent de toutes espèces démangeaisons similaires à celles provoquées par les piquantes d'orties (Bertrand, 2010). Le nom d'espèce urens est lié aux plantes dans lesquelles les fleurs mâles et femelles poussent du même pied (Valnet, 1992 et Bertrand, 2008). L'Ortie est connue sous différentes appellations :

- ✓ En arabe : الحريق, القريص.
- ✓ En français : petite ortie, ortie brulante, grièche, barbare et folle.
- ✓ En anglais : Small nettle.

- ✓ En allemand : Brennessel.
- ✓ En espagnole : Ortiga. (Beloued, 2005; Langlade, 2010).

I.1.5. Distribution botanique

Urtica urens est une plante annuelle de 20-60 cm, hérissée, d'un vert clair, tige dressée, souvent rameuse dès la base (Fig2) (Feng *et Al.*, 2021). Elle possède des feuilles assez petites, ovales, arrondies ou atténuées à la base, incisées-dentées. Leur pétiole plus court ou aussi long que le limbe, à 2 stipules lancéolées. Fleurs monoïques, les mâles et les femelles mêlées, les femelles bien plus nombreuses, en grappes subsessiles, souvent géminées, simples, plus courtes que le pétiole. Possède des graines de 2 mm décombres (Fig3). Elle est cultivée, dans toute la France et la Corse. Europe – Asie, Afrique et Amérique septentrionales (Najem *et al.*, 2021)

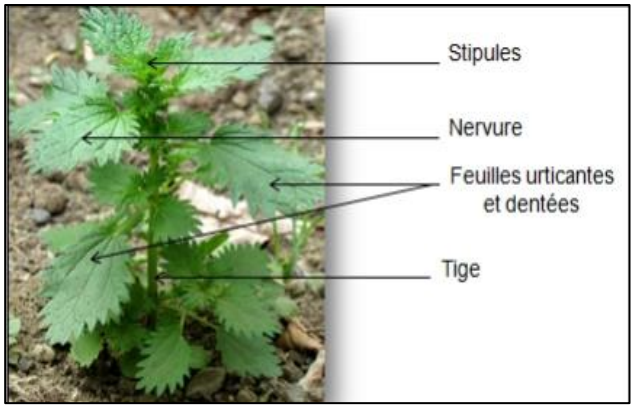


Fig.2. Structure d'*U. urens L.* (Wichtl et Robert, 2003).

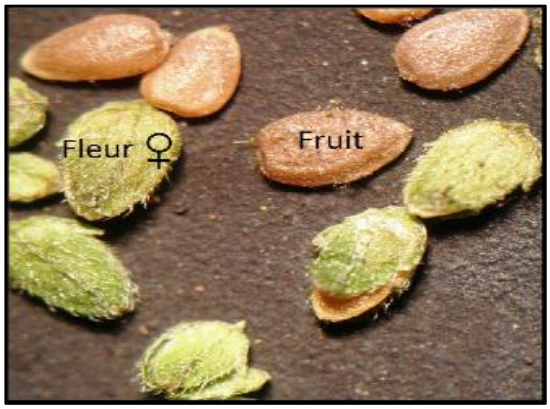


Fig.3. Fruit d'*U. urens L.* (Wichtl et Robert, 2003).

I.1.6. Composition chimique d'*Urtica urens L*

La composition chimique des différents organes de l'*Ortie urens*, à savoir les feuilles, les fruits, les racines et les poils, a été le sujet de nombreuses études depuis la seconde moitié du 19 ème siècle. La reconnaissance de l'importance médicinale des Orties a commencé au début du 20ème 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. La composition de l'*Ortie Urne* est intéressante, car les extraits de racines et de feuilles sont largement utilisés en médecine traditionnelle dans de nombreuses régions du monde. La partie chimiquement active de l'ortie contient près de 50 composés lipophiles dont la

structure chimique est connue (Ghedira *et al*., 2009). Sont présentes dans le tableau 1 les différents constituants chimiques de l'ortie.

Tableau.1. Principales constituants chimiques de l'ortie.

Groupes chimiques	**Constituants**
Neuromédiateurs	Histamine (0,1 à 0,56 %), Acétylcholine (1%), Sérotonine (0,02 %), Leucotriènes (Czaruetzki *et al.*, 1990).
Acides phénols	Acides caféique et ces esters, Acide chlorogénique, Acides coumarique, Acide syringique, Acide gallique, et Acide férulique (Proestos *et al.*, 2006).
Flavonoïdes	3-O glycosides et 3-O-rutinosides du Quercétol, du Kaempférol et de l'isorhamnétol (dans les fleurs). Quercétine et rutine (dans les feuilles) (Ji *et al*., 2007).
Minéraux	Calcium 3,24 g, Potassium 2,044 g, Phosphore 0,673 g, Magnésium 0,399 g, Fer 13,4mg, Manganèse 3,31 mg, Zinc 1,87 mg, Cuivre 1,59 mg, Bore 3,05 mg, Sodium 8,06 mg (Bertrand, 2010).
Vitamines	Vit A 21 µg, Vit B1 0,03 mg, Vit B2 0,12 mg, Vit B9 221 mg, Vit PP 1,45 mg, Vit K, Vit C 333 mg (Bertrand, 2010).
Autres constituants	Scopolétol, sitostérol, glycoprotéines, lipides, sucres, acides aminés libres, chlorophylle (Proestos *et al*., 2006).

I.1.7. Principale utilisations d'*Urtica urens L*

L'ortie représente une source inépuisable de composés chimiques et grâce à ces derniers, son utilisation est multiples et ne se limite pas qu'au domaine médical (Boyrie, 2016). En alimentation, les Romains et les Grecs consommaient de l'ortie. Elle était généralement cuisinée comme les épinards ou sous forme de soupe, de thé (Boyrie, 2016). En agriculture : le dérivé agricole d'*Urtica urens* est le purin qui est utilisé comme fertilisant ou bien en traitement préventif de certaines maladies ou invasions de parasites. Il sert de fongicide, d'insecticide. (Contre les acariens) (Draghi, 2005). Elle utilise aussi dans l'industrie, les tiges de l'ortie sont

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

I.1.7.1. En thérapie

I.1.7.1.1. Utilisation dans la thérapie traditionnelle

L'ortie est un remède traditionnel utilisé depuis des années contre l'anémie et le manque d'énergie : on dit que c'est un excellent fortifiant grâce à sa haute teneur en fer et autres minéraux. On dit aussi qu'elle stimule les fonctions digestives (lourdeurs et crampes d'estomac) (Wichtl et Anton, 2003). La tisane d'ortie est toujours proposée par les phytothérapeutes comme remède traditionnel pour la goutte et les rhumatismes.

En Allemagne, la tisane d'ortie est utilisée comme diurétique léger, mais elle n'est pas suffisamment puissante pour être associée à un traitement de l'hypertension ou les problèmes cardiaques. Alors qu'en Russie, l'ortie est aussi employée pour les troubles biliaires et hépatiques (Valnet, 1983).

I.1.7.1.2. Utilisation dans la thérapie actuelle

L'ortie appartient au monopole de la médecine. Elle fait partie de la liste des plantes médicinales réservées dans les pharmacopées du monde entier. Les propriétés médicinales de l'ortie ont été reconnues et la plupart des anciennes coutumes populaires ont été confirmées par des analyses et des expériences. L'ortie est utilisée dans une variété de médicaments allopathiques, et les recherches se poursuivent, et certaines utilisations empiriques sont encore confirmées (Yaner *et al*., 2008).

I.1.7.2. Autres utilisations

Extraction industrielle de la chlorophylle des feuilles et utilisation comme colorant alimentaire et comme colorant vert pour teindre les étoffes de laine, aussi l'huile de la graine était utilisée comme combustible dans les lampes (Gulsel et Kavalali, 2003). Le jus d'ortie est utilisé pour colmater les fuites dans les fûts en bois, à l'époque, les racines d'ortie a été utilisées par les Grecs et les Romains pour l'ébullition de la viande (Marie, 2005).

I.2. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures et leur distribution dans les organismes végétaux est limitée. Plus de 200 000 structures ont été définies

et présentent une diversité structurelle extraordinaire, mais le volume de production est faible (Hartmann., 2007). Ils sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, notamment une activité antibactérienne, anticancéreuse, antifongique, analgésique, anti-inflammatoire, diurétique, gastro-intestinale, antioxydants. Ils sont généralement divisés en trois catégories : les molécules phénoliques, les alcaloïdes et les terpénoïdes.

I.2.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des molécules hydrosolubles présentes dans toutes les parties des plantes supérieures : racines, tiges, feuilles, fleurs et fruits. Ils possèdent de multiples groupements phénoliques, c'est-à-dire qu'ils possèdent un ou plusieurs groupes hydroxyle (-OH) existent dans un noyau aromatique. Ils constituent le groupe de métabolites le plus important et le plus largement distribué dans le règne végétal (Boizot et Charpentier, 2006). Selon le nombre de cycles phénoliques contenus dans les polyphénols et les éléments structuraux reliant ces cycles entre eux, les polyphénols sont classés en plusieurs catégories (D'Archivio *et al.*, 2007).

I.2.2. Classification des composés phénoliques

Les principales catégories de composés phénoliques sont les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique) et les flavonoïdes, qui représentent plus de la moitié des polyphénols, tanins et coumarines. La classification des composés phénoliques est principalement basée sur la structure, le nombre de cycles aromatiques et les éléments structuraux qui combinent ces cycles. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et complexes (King et Yong, 1999 ; Tapiero *et al*., 2002).

I.2.2.1. Les phénols simples

I.2.2.1.1 Acides phénoliques

Ce sont les dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Les acides phénols et ces dérivés sont considérés comme responsables de l'activité cholérétique de l'artichaut et les propriétés antipyrétiques et anti-inflammatoires des dérivés salicylés. Les composés possédant les activités antioxydantes et anti-radicalaires sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique ((Hennebelle *et al.*, 2004 et Donatien, 2008)

a) Acides phénols dérivent de l'acide benzoïques

Les acides phénols en C6-C1 dérives hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs aussi bien sous forme libre que combines à l'état d'ester ou d'hétéroside. Ils sont principalement représentés par les acides p-hydroxy benzoïques, protocatechiques, vanilliques, galliques, syringiques, salicyliques, o-hydroxy benzoïques et gentisiques (Bruneton., 2009 et Boudjouref, 2011).

b) Acides phénols dérive de l'acide cinnamique

Ces acides possèdent une structure du type C6-C3, ils ont une distribution très large. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés. Les acides hydroxy cinnamiques sont plus communs que les acides hydroxy benzoïques et consistent principalement en acide p-coumarinique, caféique, férulique et sinapique... Ils sont repartis en coumarines, stilbènes (Skerget *et al.*, 2005 et Manach *et al.*, 2004).

I.2.2.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques et sont une classe majeure de métabolites végétaux secondaires. Ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbone constitué de deux cycles aromatiques qui sont relié entre eux par une chaine de C3 en formant ainsi un hétérocycle. Cette structure est généralement représentée selon le système C6-C3-C6, de type diphényle propane dont des groupements hydroxyles, oxygène, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule. Les flavonoïdes sont repartis en différentes catégories dont les plus importantes sont les flavonols, les flavones les flavanols, les isoflavones, les flavanones, et les anthocyanes (Maliev et Kuntic, 2007).

a) Les flavonols

Les flavonols contiennent un hétérocycle pyrone. Ce sont des pigments jaunes qui se trouvent sous forme glycosylée. La glycosylation se produit généralement à la position 3 du noyau C, mais elle peut également se produire sur les carbones C5, C7, C4', C3' et C5' (Crozier *et al.*, 2009 ; Moreno et AndPeinado, 2012).

b) Les flavones

Les flavones sont des sous familles des flavonoïdes dont la structure est basée sur la présence de la fonction carbonyle en C4. Ils ont une structure semblable à celle des flavonols

sans le groupement hydroxyle en C3. Les flavones ont des propriétés antitumorales (Cabrera *et al.*, 2007).

c) Les flavanones

Les flavanones ont une structure similaire à celle des flavones mais ne possèdent pas d'insaturation au niveau de l'hétérocycle. Les flavanones sont fréquemment rencontres chez les Myrtacees (Kone *et al*., 2018).

d) Flavan-3-ols

Les flavan-3-ols sont une sous classe de flavonoïdes qui se caractérise par leurs structures reconnaissables par la saturation des liaisons sur le cycle C et la présence d'un groupement hydroxyle en position 3 de ce cycle.

e) Isoflavones

Les isoflavones sont des isomères des flavonoïdes. Elles sont caractérisées par le fait que le cycle B est attaché au cycle C en position 3 plutôt qu'en position C2. Les iso-flavonoïdes possèdent un squelette flavonoïde réarrangé. Une variété de modifications structurelles de ce squelette conduit à une grande classe de composés qui comprend les isoflavones, les isoflavanones et la roténone (Crozier *et al.*, 2008).

f) Anthocyanes

Les anthocyanes sont des hétérosides oxygénés dont l'aglycone est appelé anthocyanidine. Les anthocyanes sont des sous classes des flavonoïdes au sens large dont la structure de base est l'ion flavylium (Crozier et *al*., 2008).

I.2.2.2. Les phénols complexes

I.2.2.2.1. Les tannins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes d'origine organique, hydrosolubles ayant un poids moléculaire. Ils dérivent de l'acide gallique et d'autres acides poly-phénoliques. Ils résultent de l'estérification, par ces acides, des fonctions alcooliques du glucose. Leur structure chimique est très variable mais comporte toujours une partie poly-phénolique (Bruneton, 1999).

a) Les tannins hydrolysables

Ils sont constitués par une molécule de sucre (le glucose le plus souvent) estérifié par l'acide gallique ou un de ses dérivés (acide ellagique, chébulique ou valonique). Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (Makkar, 2003).

b) Les tannins condensés

Ce sont des produits de la polymérisation de flavan-3-ols (catéchines) et flavan-3,4-diols (leuco anthocyanidines). Ils sont aussi désignés sous le nom de « tannins catéchiques » et ne sont hydrolysables que dans des conditions fortement acides (Peronny, 2005).

Il y'a d'autre composes complexes comme les Lignines et subérines qui résultant de la condensation de trois alcools phényl-propéniques.

I.2.3. Activités biologiques des polyphénols

Les polyphénols sont des molécules biologiquement actives, ils sont largement utilisés en thérapeutique. Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, antithrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux**,** anti-allergènes, vasodilatateurs et antioxydants (Fig.4) (Babar Ali *et al.*, 2007 et Falleh *et al.*, 2008)

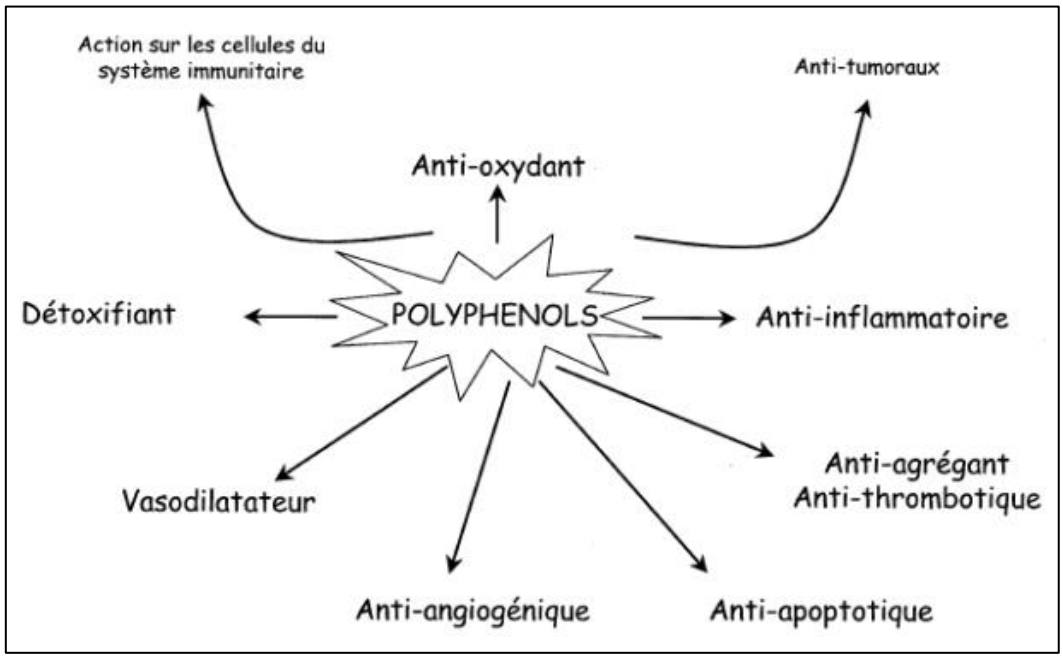


Fig.4. Effet biologiques des polyphénols (Martin *et al.*, 2002).

Les acides phénols, dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique ont des propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, anti-radicalaire, cholagogue, hépato-protectrices, cholérétique et immunostimulantes (Bruneton, 1999). Les coumarines sont connues pour leurs propriétés anti-œdémateuses, anti inflammatoires et analgésiques. De plus ils ont une action contre les troubles gastriques, les maladies virales et microbiennes (Garcia *et al*., 2000). Les tannins favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse. Ils tonifient la peau dans le cas des rides, en plus de leur propriété de précipiter les protéines (fongiques ou virales**)** (Kansol, 2009). Les flavonoïdes sont des composés qui possèdent de fortes propriétés antioxydantes. Des études ont montré qu'ils sont des inhibiteurs d'enzymes responsables de la production de radicaux. De même des effets antiallergiques, anti-inflammatoires, antiulcéreux, anti tumoraux et antimicrobiens, ont été démontrés (Singh *et al*., 2012).

I.3. Caractérisations des métabolites secondaires

Les plantes ayant révélé des activités biologiques font l'objet d'une étude chimique incluant la purification, l'isolement, et l'identification structurale de principes actifs ayant l'activité biologique initialement détectée (Kechida et Meghiche, 2019).

Les techniques chromatographiques sont des méthodes de séparation des mélanges en leurs constituants, mettant en jeu différents processus physicochimiques. La séparation repose sur des différences de comportement entre une phase mobile et une phase stationnaire. Selon la technique chromatographique, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leur adsorption et de leur désorption successive sur la phase stationnaire, soit de leur solubilité différente dans chaque phase (Sermakkani et Thangapandian, 2012).

L'isolement des principes actifs est généralement réalisé à l'aide de différentes méthodes de Chromatographie sur Couche Mince (CCM) et Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP), Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC-MS) (Safia, 2019).

La GC-MS est normalement utilisée pour l'analyse directe de composants existants dans les médecines traditionnelles et les plantes médicinales. Ces dernières années, les études sur GC-MS ont été de plus en plus appliquées pour l'analyse des plantes médicinales, car cette technique s'est avérée être une méthode précieuse pour l'analyse des huiles essentielles volatiles, acides gras, lipides et alcaloïdes (Wang *et al*., 2009).

I.3.1. Principe de la GC-MS

La GC-MS permet une évaluation quantitative et qualitative de la composition chimique des extraits des plantes, elle s'applique à des échantillons gazeux ou susceptibles d'être vaporisés sans décomposition dans l'injecteur. La phase mobile est un gaz (hélium, azote ou hydrogène), appelé gaz vecteur. Son principe est basé sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire. Si la chromatographie permet à elle de séparer correctement les différents constituants d'un mélange, il est délicat et difficile de donner une interprétation structurale permettant une identification certaine, car les paramètres déduits de la rétention sélective des solutés à travers la colonne sont lourds à manier et, dans la plupart des cas, peu reliés aux édifices moléculaires organiques. L'idée de coupler une autre méthode physique d'investigation après séparation chromatographique pour ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique, cas de la spectrométrie de masse (Kechida et Meghiche, 2019).

Le principe de la GC-MS consiste à transférer par un gaz vecteur les composés issus de la chromatographie gazeuse dans le spectromètre de masse dans lequel ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse. La comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs librairies de référence permet son identification à condition que la similitude des spectres, inconnus et référence, soit suffisante et que les indices de rétention soient identiques, dans des conditions opératoires comparables (Desjobert *et al.*, 1997 et Bruneton, 1999).

I.4. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération de radicaux libres et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages. Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire (Boyd *et al.*, 2003). Il résulte de la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire et/ou de l'insuffisance des mécanismes de défense antioxydants (Fig.5) (Wu *et al.*, 2013).

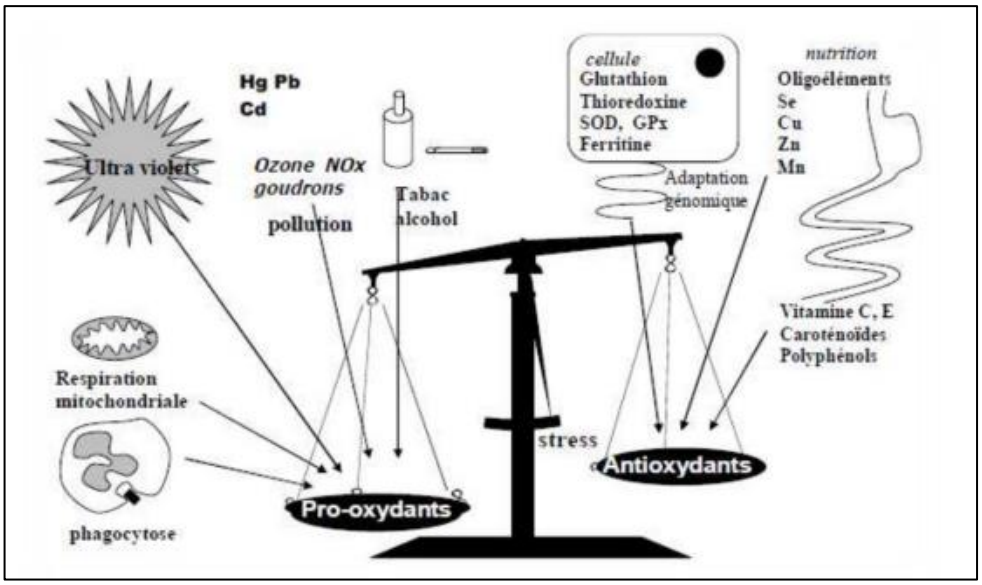


Fig.5. La balance d'équilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants (Favier, 2006).

En fait, de nombreux composés cellulaires sont sensibles à ce déséquilibre, même léger, ce qui peut entrainer l'apparition de nombreuses maladies, y compris les maladies inflammatoires et chroniques telles que le cancer, le diabète de type 2, l'Alzheimer et les maladies cardiovasculaires (Chedea *et al*., 2019).

I.4.1. Radicaux libres

Les dérivés actifs de l'oxygène, également connus sous le nom de ROS ou de radicaux libres oxygénés, sont des composés chimiquement instables porteurs d'électrons non appariés et qui réagissent avec d'autres molécules, les déstabilisant à leur tour, et induisent ainsi une réaction en chaîne (Favier, 2003).Ils sont produits dans toutes les cellules, même si certaines en fabriquent des quantités plus importantes. Ces composés chimiques sont dits oxydants responsables du phénomène d'oxydation des lipides, dénaturation des protéines, ils peuvent aussi causer des altérations au niveau d'ADN, augmentant les possibilités de mutation. Le radical hydroxyle (OH-) et le radical super oxyde (O2-) sont les radicaux les plus réactifs (Goudable et Favier, 1997 et Hubert *et al*., 1998).

L'oxygène est une molécule bi-radicalaire formée de deux atomes présentant sur leurs orbitaux externes deux électrons non appariés. Il est donc susceptible de capter facilement 1 puis 2 électrons pour être partiellement réduit en anion superoxyde (-O2), puis en peroxide

d'hydrogène (H_2O_2). Il est ainsi à l'origine de la formation d'espèces réactives oxygénées (ERO) (Sies, 1993 et Leiris, 2003).

Tableau 2: Principaux ERO et comparaison des pouvoirs oxydants (Crompton, 1999).

Nom	**Symbole**
Anion super oxyde.	$O_2^{\circ-}$
Radical hydroxyle.	°OH
Radical hydro peroxyde.	HOO
Peroxyde d'hydrogène.	H_2O_2
Hypochlorite.	ClO
Oxygène singulet.	$1O_2$
Peroxynitrite.	ONOO°
Radical alcoxyle.	RO°
Radical peroxyde.	ROO°
Radical oxyde nitrique.	NO°
Pouvoir oxydant: °OH > RO°>HOO°> ROO°> NO°	

I.4.1.1. Nature des radicaux libres

I.4.1.1.1. Espèces réactives dérivées de l'oxygène

On parle également de "radicaux oxygénés libres", l'oxygène possède deux électrons célibataires non appariés sur sa couche orbitale externe. Cette molécule est essentielle au bon fonctionnement de l'organisme (Pastre, 2005).

I.4.1.1.2. Espèces libres non oxygénées

Les espèces libres non oxygénées (ERN) sont les produits des réactions de certaines molécules avec les espèces réactives dérivées de l'oxygène. Ils peuvent à leur tour réagir avec d'autres molécules et être à l'origine de la multiplication des réactions d'oxydation et de la propagation de dommages oxydatifs (Pastre, 2005).

I.4.1.2. Origine d'ERO

Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal. Cette production augmente en rapport avec l'élévation de la consommation d'oxygène. Plusieurs

mécanismes et systèmes responsables de la production des radicaux libres ont été identifiés jusqu'à présent (Aurousseau, 2002 et Gauche *et al.*, 2006), parmi lesquels nous citons:

- Des fuites d'électrons au niveau de la chaine respiratoire de la mitochondrie.
- Des processus inflammatoires produits par les cellules phagocytaires actives.
- D'exposition a des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, la fume de cigarette et le rayonnement.

I.4.1.3. Principales cibles des ERO

Le stress oxydatif conduit à des endommagements cellulaires et tissulaires souvent irréversible, les cibles biologiques susceptibles aux attaques radicalaires sont les lipides, les protéines les glucides et les acides désoxyribonucléiques (Finkel et Holbrook, 2000). Les lipides, principalement leurs acides gras polyinsaturés, sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'attacher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyle. Cette réaction appelée la peroxydation lipidique (Hennebelle *et al.*, 2004).

Les protéines, l'action des radicaux libres a lieu sur les chaines latérales de certains acides aminés comme le thiol des cystéines. A proximité des sites de liaison d'ions métalliques peuvent se dérouler des réactions d'oxydations qui produisent des acides aminés anormaux. Les radicaux libres sont également responsables de la formation de ponts disulfures qui modifient la conformation des protéines et nuisent à leur activité biologique (activité enzymatique, transduction d'un signal ou système de transport) (Jacques et André, 2004).

Les ADNs nucléaires et mitochondriales sont très sensibles à l'attaque des ROS, les bases composant l'ADN, particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation par les radicaux libres. L'attaque radicalaire se manifeste soit directement en entraînant l'oxydation des bases et engendrant un grand nombre de bases modifiées, soit elle cible la liaison entre la base et le désoxyribose créant un site abasique, soit cible le sucre lui-même créant une coupure de simple brin. Le radical NO• et leur dérivés tels que NO•-2, ONOO-, N2O3 et HNO2 sont des agents mutagènes et ont la capacité d'introduire plusieurs modifications sur les bases d'ADN par des réactions de nitration, nitrosation, et désamination (Cuzzocrea, 2001). Les dommages d'ADN ont comme conséquence une transcription réduite d'ARNm et, en conséquence, une perte de fonction des biomolécules protéiques (Madamanchi *et al.*, 2005).

I.4.2. Les antioxydants

Les antioxydants sont des composés capables de réduire ou d'empêcher la destruction oxydative des composés biologiques (Balík *et al.*, 2009).Ils protègent les systèmes biologiques en utilisant différents mécanismes préventifs en tant que première ligne de défense tels que le piégeage des radicaux libres, la rupture des réactions en chaîne initiées par les radicaux libres et au final la réparation ou l'élimination des structures endommagées. Différents antioxydants sont impliqués pour maintenir l'équilibre du système biologique, y compris des antioxydants endogènes (enzymatiques et non enzymatiques), et des antioxydants alimentaires (Chedea *et al.*, 2019). Les deux types d'antioxydants agissent en synergie afin de maintenir ou rétablir l'homéostasie redox (Zujko *et al.*, 2012 et Mirończuk *et al.*, 2018).

Les denrées alimentaires sont considérées comme des sources naturelles contenant différents composés antioxydants comme les carbones, les vitamines C et E et les polyphénols (Guo *et al.*, 2017 ; Amarowicz *et al.*, 2019). Les polyphénols sont de puissants antioxydants naturellement présents dans le régime alimentaire, notamment dans les fruits, les légumes (Losada *et al.*, 2017). Les polyphénols neutralisent les radicaux libres en cédant un électron ou un atome d'hydrogène pour réduire le taux d'oxydation en inhibant la formation des radicaux libres ou en les piégeant (Marfella *et al.*, 2014).

I.4.3. Détermination de la capacité antioxydante

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et de la nature des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il existe plusieurs méthodes pour mesurer l'activité antioxydant (Fig.6). Le plus souvent il faut combiner les réponses des différents tests pour avoir une indication sur la capacité antioxydant de l'échantillon (Popovici *et al.*, 2009).

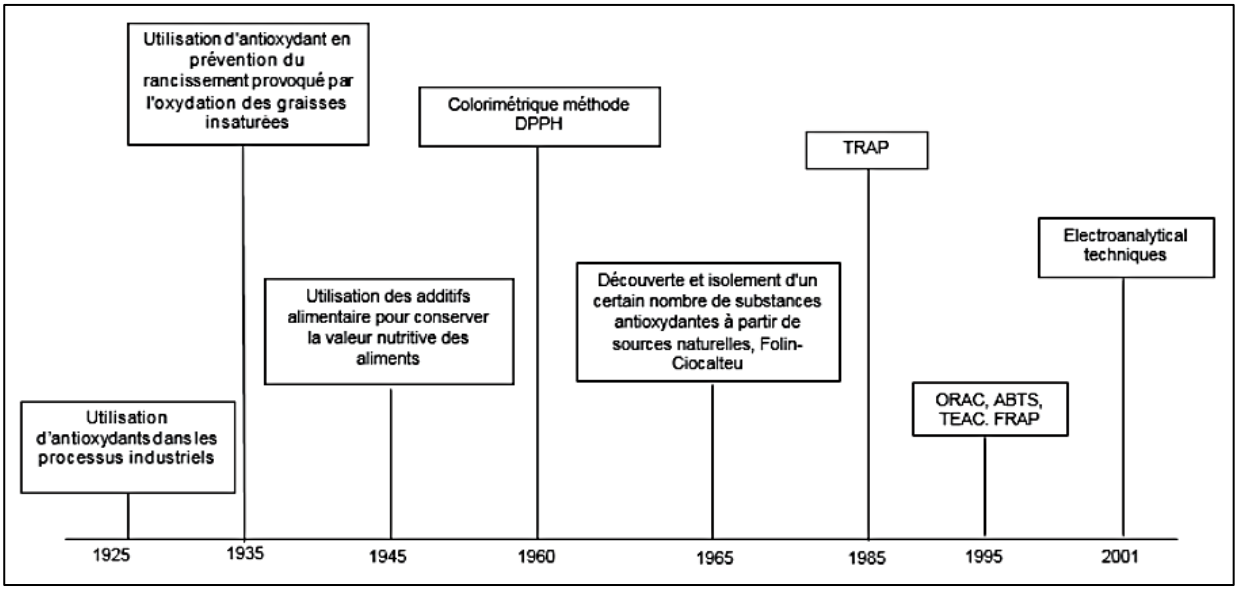


Fig.6. Chronologie des principaux développements de la recherche sur les antioxydants alimentaires (Cömert *et al.*, 2018).

I. 5. Inflammation

L'inflammation est une réponse physiologique des tissus vivants vascularisés à toute une série de stimuli, tels que les infections et les lésions tissulaires. C'est un processus complexe faisant partie de la réponse immunitaire innée. Cliniquement, elle se manifeste par quatre signes cardinaux à savoir rougeur, gonflement, chaleur et douleur (Punchard *et al.*, 2004). Ce phénomène est habituellement bénéfique, son but est d'éliminer les agents pathogènes et de réparer les lésions tissulaires, mais elle peut aussi se compliquer et devenir pathologique (Ferrero *et al.*, 2007). Il existe deux principaux types d'inflammation (Tableau3): l'inflammation aiguë et l'inflammation chronique (Rajagopala *et al.*, 2013).

Tableau.3. Principaux types d'inflammation (Stevens *et al.*, 2004).

Inflammation aiguë	Inflammation chronique
➢ Réponse physiologique immédiate à un agent pathogène de courte durée (quelques jours à quelques semaines). ➢ Caractérisée par une phase vasculaire, cellulaire, puis de réparation. ➢ Peut aboutir à une cicatrisation ou évoluer vers une inflammation chronique.	➢ Réponse physiopathologique qui se manifeste pendant plusieurs semaines à plusieurs années. ➢ Apparait lorsque la lésion de l'inflammation persiste ou lorsqu'une inflammation récidive de façon répétée dans le même organe.

I. 5.1. Déclenchement de la réaction inflammatoire

En réponse à un stress, la phospholipase A2 (PLA2) transforme les lipides membranaires en acide arachidonique (AA) (Fig.7). Ce dernier est à son tour métabolisé selon deux voix, celle des lipooxygénases (LOX) qui le transforme en leucotriènes et celle des cyclooxygénases (COX) qui le transforme en prostaglandines E2 (PGE2) (Min *et al.*, 1996). Ces deux produits ont un effet pro-inflammatoire par une production accrue des cytokines et d'autres médiateurs de l'inflammation qui diffusent dans les fluides extracellulaires et circulent dans le sang (Gruys *et al.*, 2005).

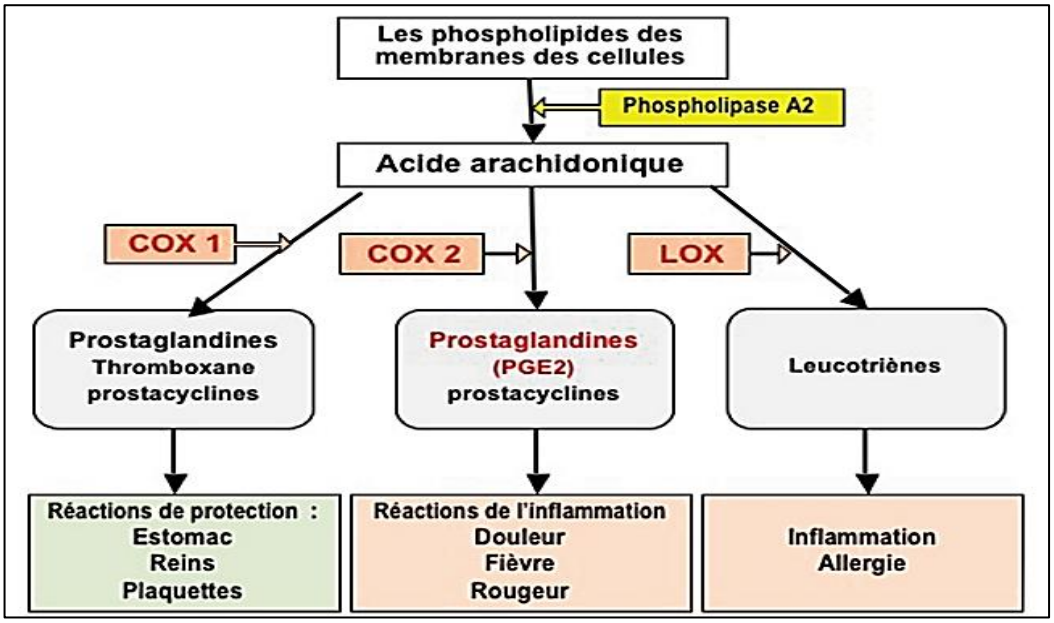


Fig.7. déclenchement de la réaction inflammatoire (Lelong *et al.*, 2013).

I. 5.2. Principales étapes de la réaction inflammatoire

Le déclenchement et le maintien de l'inflammation font appel à plusieurs médiateurs et modifications vasculaires permettant la réparation des tissus endommagés (Fig.8). Ces différents médiateurs et modifications s'organisent suivant un ordre chronologique des trois principales phases de l'inflammation (phase vasculaire, cellulaire et de réparation) (Rousselet *et al.*, 2005).

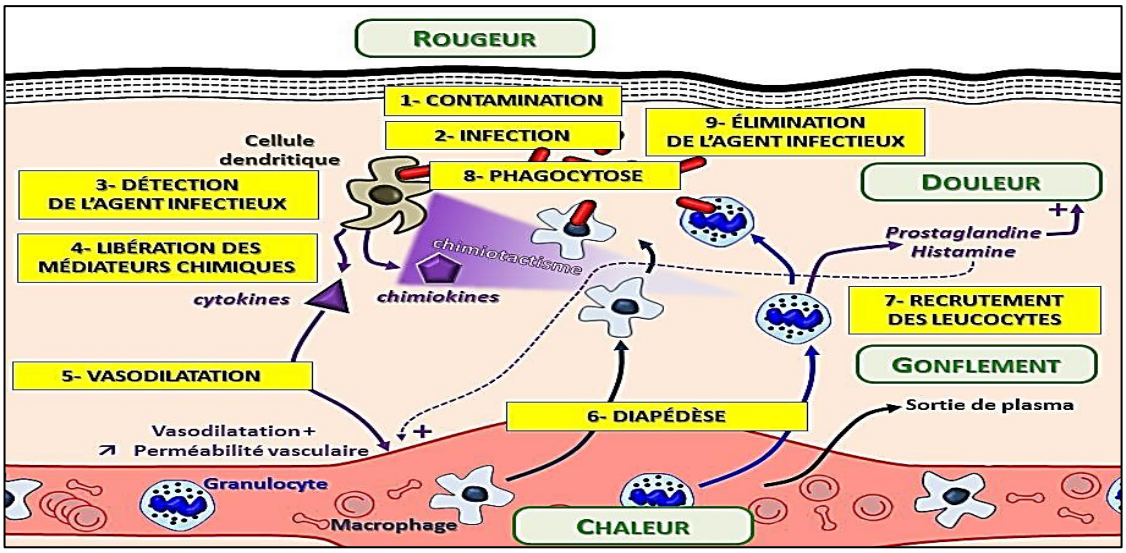


Fig.8. Médiateurs et événements cellulaires de la réaction inflammatoire (Rousselet *et al.*, 2005).

I. 5.3. Principales cellules et médiateurs de l'inflammation

Le processus inflammatoire se déroule dans le tissu conjonctif et les principales cellules intervenant dans les différentes phases (Abbal *et al.*, 2009). Ces cellules (Tablaeu4) vont collaborer les unes avec les autres selon des séquences successives, grâce à la production des médiateurs pro-inflammatoires actives libérés dans le sang ou dans le tissu conjonctif : enzymes, cytokines, immunoglobulines, complément, et de protéines servant de récepteurs (Kumar *et al.*, 2011).

Tableau.4. Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire (Hautz *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2012).

Cellule	Médiateur libéré	Effets
Mastocytes, basophiles, éosinophiles et plaquettes	Histamine	Augmente la perméabilité vasculaire, induit l'expression des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire.
Mastocytes et plaquettes	Sérotonine	Augmente la perméabilité vasculaire, dilate les capillaires et stimule la contraction des muscles lisses.

Plaquette, neutrophiles, monocytes et cellules endothéliales	Facteurs d'activation plaquettaire (PAF)	Vasodilatation, augmentent l'adhésivité de la paroi vasculaire, stimule l'agrégation des plaquettes, induit la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la libération des enzymes lysosomales.
Essentiellement par les leucocytes	Prostaglandine (PG)	Vasodilatation, renforce l'action de l'histamine, augmente la sensitivité des neurones et est responsable de la douleur.
Macrophages et les lymphocytes	Cytokines	Elles agissent sur des récepteurs membranaires, elles peuvent être pro-inflammatoires (Interleukines : IL-1β, IL-6, ou le Tumor Necrosis Factor:TNFα) ou encore anti-inflammatoires (IL10). Interviennent dans la réparation tissulaire.
Essentiellement par les leucocytes	Leucotriénes	Augmente la perméabilité vasculaire, induit la libération des enzymes lysosomales et la production des (ERO), attire et active les cellules inflammatoires.

I.5.4. Activité anti-inflammatoire

I. 5.4.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les AINS sont des médicaments symptomatiques actifs sur la fièvre, les douleurs par excès de nociception et la composante vasculaire de la réaction inflammatoire (Fig.9). Ces trois propriétés résultent pour l'essentiel de leur mécanisme d'action commun l'inhibition de l'isoenzyme COX-2 de la cyclo-oxygénase ou PG synthétase (Bannwarth, 2005). Ce qui conduit à la diminution de la production des prostaglandines notamment les PGE2 et PGI2 qui sont des médiateurs importants de l'inflammation (Duganath *et al*, 2010). Les AINS classique qui sont non – sélectifs inhibent les deux isoformes de la COX (COX1 et COX2), ce qui peut engendrer des effets secondaires parfois graves : l'inhibition des COX-1 induit des dégâts dans le tractus génito-urinaire mais ne présente pas d'effets bénéfiques significatifs. C'est donc l'inhibition de

COX-2 qui est responsable de l'effet anti-inflammatoire. Cette découverte a amené à développer une nouvelle génération d'AINS qui inhibent spécifiquement la COX-2, mais des études ont montré que les patients traités avec les nouveaux inhibiteurs de COX-2 ont développé des effets secondaires cardiovasculaires trop importants, c'est pour cela que cette classe n'est utilisée qu'en deuxième ou troisième ligne de traitement (Kint *et al.*, 2008 ; Bacchiet *et al.*, 2012). En plus, les AINS sont doués d'une capacité de stabiliser la membrane lysosomale ce qui constitue leur deuxième mécanisme d'action anti-inflammatoire (Oyedapo *et al.*, 2010).

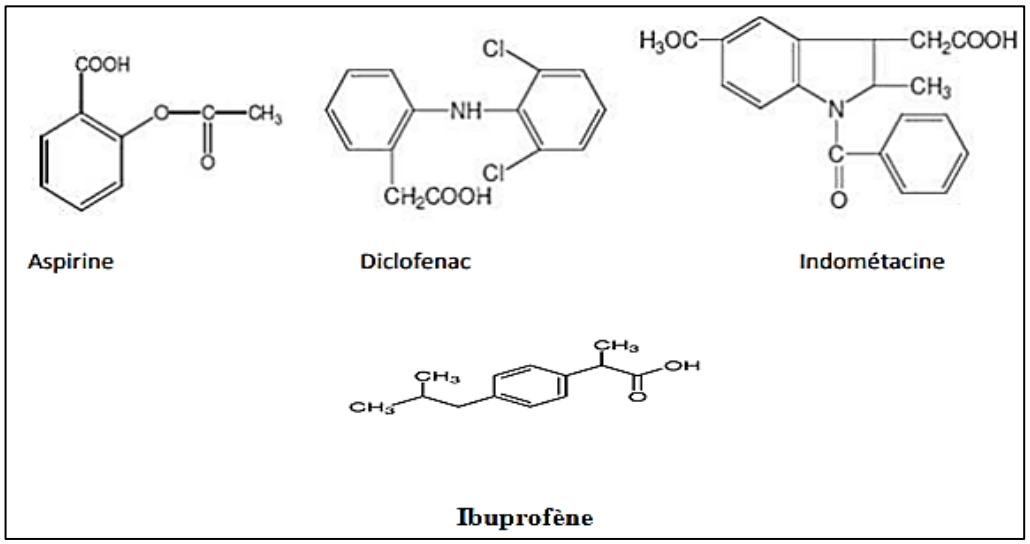


Fig.9. Structures chimiques des quelques anti-inflammatoires non stéroïdien (Yvan, 1997).

I.5.4.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les anti-inflammatoire stéroïdiens ou les corticoïdes sont des stéroïdes analogues de synthèse de la cortisone (Fig.10). Cette hormone sécrétée par les glandes surrénale (Carole et Hubert, 1998). Ils contribuent à la régulation du métabolisme, à la résistance au stress et à la diminution de la réaction inflammatoire (Philippe, 2008).

Les corticoïdes ont des mécanismes d'action originaux qui sont essentiellement génomiques (transcriptionnels) caractérisés par l'activation (transactivation) ou l'inhibition (transrépression) de nombreux gènes cible (Muster, 2005). Ils sont capables d'inhiber toutes les phases de la réaction inflammatoire. Ils inhibent la plupart des phénomènes immunitaires, ils inhibent notamment la production des eicosanoïdes (Par l'inhibition de la production des prostaglandines, et des leucotriènes par blocage de la phospholipase A2. Ce blocage est obtenu par l'induction de la synthèse de la lipocortine (protéine de 40 kKa) qui inhibe directement la phospholipase A2 (PLA2) (Monassier, 2005 ; Espinosa et Chillet, 2010).

Par leur action directe sur les vaisseaux, ils diminuent les phénomènes vasculaires de l'inflammation. Par leur effet antiprolifératif sur les histiocytes, monocytes, macrophages de tous les types, les lymphocytes, les plasmocytes, les fibroblastes et les polynucléaires neutrophiles, ils inhibent les phénomènes cellulaires précoces et tardifs de l'inflammation (Muster, 2005).

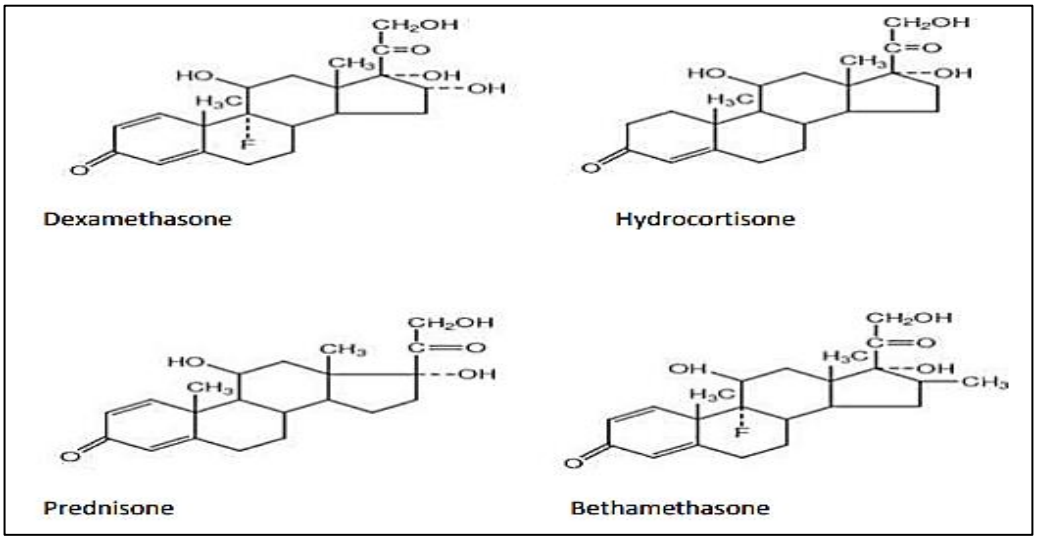


Fig.10. Structures chimique de quelques AIS (Yvan, 1997).

I. 5.4.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale

Les plantes constituent une source potentielle des molécules naturelles bioactives (tableau 5). Elles font l'objet d'études scientifiques rigoureuses pour leur éventuelle utilisation comme alternative, particulièrement pour la protection contre la peroxydation lipidique et le traitement des maladies inflammatoires (Bourkhiss *et al.*, 2010).

Tableau. 5. Exemples des plantes médicinales à activité anti-inflammatoires.

Nom scientifique	Nom commun	Partie Utilisée	Effets
Zingiber officinale	Ginger	Rhizomes	Analgésique et anti-inflammatoire, anticancéreux et antidiabétique (Mbaveng et Kuete, 2017)
Borago officinalis L	Bourrache	Fleurs	Antihypertenseur, diurétique et antipyrétique (Tewari *et al.*, 2019)
Curcuma longa L	Curcuma	Rhizomes	Anti-inflammatoire, Anticancéreux et Antioxydant (Cheng *et al.*, 2019)

Materiél et méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de la pédagogie, faculté des sciences de nature et de la vie, département de biologie moléculaire et cellulaire de l'université de Mohammed Esseddik ben Yahya, Jijel. Ce travail vise à évaluer les activités anti-radicalaire et anti-inflammatoire *in vitro* des deux extraits de la plante d'*Urtica urens.*

II.1. Matériel végétale

Ce travail a été effectué sur la partie aérienne (les feuilles) de la plante *Urtica urens L.* de la famille des Urticacées. La récolte de cette plante a été effectuée au niveau de la Wilaya de Jijel, en mois d'avril 2021 dans la région d'Oued Zhor, El Milia. La reconnaissance botanique de la plante a été réalisée par Mme KHANOUF Hanane à l'université de Mohammed Esseddik ben Yahya, Jijel.

II.2. Préparation des extraits bruts

La matière végétale est séchée à température ambiante dans un endroit sec, sous l'ombre et à l'abri du soleil pour mieux conserver les molécules sensibles à la chaleur et la lumière, pendant 15 jours. Ensuite, les échantillons séchés ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique de type Gourmet pour obtenir une poudre fine utilisée pour l'extraction. Pour extraire les composés phénolique, nous avons préparé deux types d'extraits : hydro-éthanolique et aqueux.

L'extraction hydro-éthanolique est réalisée selon le protocole décrit par Salehabadi *et al.* (2014), avec quelques modifications. Pour cela, 40 mg de poudre est macéré dans 400 ml d'une solution éthanolique 70 %. Le mélange est soumis à une agitation continue pendant 48 h en utilisant un agitateur magnétique. Le macérât obtenu est filtré par le papier Wathman puis évaporé à 45C° par un rotavapeur de type R-300.

L'extrait aqueux est préparé selon le protocole réalisé par Amine *et al*. (2017), on ajoute 15 g de poudre et 200 ml d'eau distillée sont mélangés et sont mis sous agitation magnétique pendant 48 h à température ambiante. Le mélange obtenu est filtré par le papier Wathman et le filtrat est évaporé dans l'étuve à 40C°.

Le rendement des deux extraits bruts est calculé par le rapport entre le poids de l'extrait brut obtenu et le poids de la matière végétale sèche. Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

Rendement d'extraction (%) = Pe / Ps x 100.

Où :

Pe : Poids de l'extrait brut en gramme (g).

Ps : Poids de la matière végétale sèche en gramme (g).

II.3. Analyse phyto-chimique des extraits

II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les deux extraits de la plante a été réalisé selon la méthode de Folin Ciocalteu (Heilerova *et al.*, 2003). Le principe repose sur le transfert des électrons en milieu alcalin à partir de composé phénoliques (oxydation des phénols) vers des complexes d'acide phosphomolybdique / phosphotungstique, qui deviennent bleus. Cette coloration possède une absorption maximum à 765 nm.

Brièvement, 0,2 ml de chaque extrait (250 µg/ml) est ajouté à 1,5 ml du réactif de Folin Ciocalteu dilué (1/10). Le mélange est reposé 5 minutes à l'obscurité. Ensuite, 1,5 ml de la solution Na_2CO_3 (7,5 %) est ajoutés. Après 90 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 750 nm. La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire (Y = a X + b) réalisée par un étalon, l'acide gallique à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon (annexe 1). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait brut (mg EAG/g EB). Tous les dosages sont réalisés trois fois.

II.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La méthode à l'$AlCl_3$ est employée pour déterminer la teneur en flavonoïdes des deux extraits (Huang *et al*., 2004). Le chlorure d'aluminium (AlCl) forme un complexe jaune stable avec les groupements hydroxyles (OH) des phénols. Ceci se traduit par le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissante comme donneur d'électrons (Dewanto *et al*,. 2002). Pour réaliser le dosage, 1,5 ml de chaque extrait (2 mg/ml) ont été ajoutés à un volume égal d'une solution de 2 % d'AlCl. Le mélange a été vigoureusement agité, et l'absorbance a été lue à 430 nm, après 30 minutes d'incubation à température ambiante.

Une courbe d'étalonnage (Y = a X + b) est effectuée en utilisant la quercétine comme standard à différentes concentrations et dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons des extraits (annexe 2). La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent de la quercétine par gramme d'extrait brute (mg EQ/g EB). Tous les dosages sont réalisés 3 fois.

II.3.3. Dosage des flavonols

La teneur en flavonols des extraits bruts a été déterminée en suivants la méthode d'abdel-Hameed (2009). Le dosage est basé sur la chélation des ions AL^{3+}. 1 ml de chaque extrait (2 mg/ml) a été mélangé avec le même volume d'$AlCl_3$ (2 %) et 3 ml d'acétate de sodium (CH3CO2Na) (5%). La densité optique a été lue à 440 nm après incubation pendant 30 min à température ambiante et à l'obscurité. Les résultats sont déduits à partir de la courbe d'étalonnage de la qurecétine faite en même condition (annexe 3) et sont exprimés en mg équivalant de la quercétine par g d'extrait brute (mg EQ/g EB). Tous les dosages sont réalisés 3 fois.

II.3.4. Dosage des tannins hydrolysables

Nous avons suivi la méthode de Mole et Waterman décrite en 1987 pour doser les tannins hydrolysables dans les extraits de la plante. Les tannins réagissant avec le chlorure ferrique et donnent une coloration bleue mesurée par la spectrophotométrie. 1 ml de chaque extrait (1 mg/ml) est mélangé avec 3,5 ml du $FeCl_3$ (0,01 %) préparé dans l'HCL (0,001M), après homogénéisation et incubation pendant 10 min, les absorbances sont mesurées à 660 nm. La teneur en tanins hydrolysables est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide tannique en même conditions (annexe 4). Les résultats sont exprimés en mg équivalant d'acide tannique par g d'extrait brut (mg EAT/g EB). Toutes les réactions sont réalisées 3 fois.

II.3.5. Analyse de la composition chimique des extraits d'*U.urens* par GC-MS

L'analyse GC-MS a été utilisée pour identifier la composition chimique des deux extraits hydro-éthanolique et aqueux d'*urtica urens L*. L'analyse CG/MS a été réalisée sur un spectromètre de masse Shimadzu QP2010, avec ionisation par impact électronique (70ev). Une colonne capillaire SE 30 (0,25x25mm) enrobée de 5% diphényle et 95% diméthyl polysiloxane a été utilisée. La température de la ligne de transfert était de 2500C. Le gaz vecteur utilisé était He avec un débit de 1,5 ml/min et un rapport de division de 20:0. L'identification des composants a

été déterminée par comparaison de leurs temps de rétention par rapport à ceux stockés dans la bibliothèque de spectre de masse NIST du système de données CG/MS. La détermination de la composition en pourcentage était basée sur la surface du pic.

II.4. Evaluation des activités biologiques des extraits phénoliques d'*U.urens*

II.4.1. Mise en évidence de l'activité anti-radicalaire des extraits par le test du DPPH

Nous avons évalué l'activité anti-radicalaire des deux extraits en utilisant la méthode du DPPH. Ce dernier est un radical libre relativement stable (Fig.11). Il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm. Sa couleur passe du violet au jaune lorsqu' il est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété anti-radicalaire. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez et Moreno, 2002).

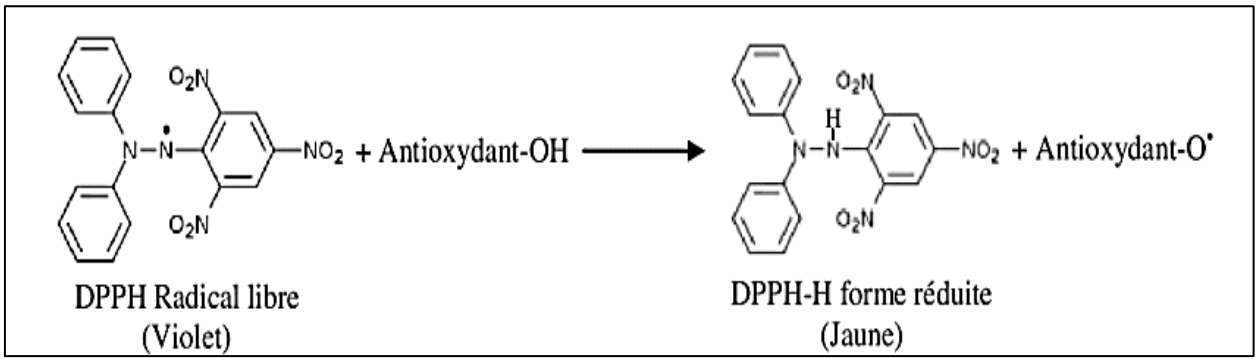


Fig.II.11 : Réduction du DPPH° par un antioxydant (Akrout *et al.*, 2009).

50 µl des solutions d'extraits ou standard (vitamine C) à différentes concentrations (5000, 2500, 1000, 500, 250, 150, 78,5 µg /ml) sont ajoutés à 1,95 ml d'une solution du DPPH (0,025 g/L). Le mélange est vigoureusement agité, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes. La longueur d'onde d'absorption maximale a été préalablement déterminée. Toutes les lectures sont effectuées à 515 nm. Le mélange contenant 50 µl d'éthanol pur et 1,95 ml du DPPH° est considéré comme contrôle négatif. Le test sont répétés 3 fois et l'activité anti-radicalaire des extraits est exprimée en pourcentage d'inhibition du DPPH° et calculée par la formule suivante (Bougandoura et Bendimerad., 2013) :

$$\text{Le pourcentage d'inhibition du DPPH : I\%} = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} \text{ X } 100$$

II.4.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits *in vitro*

II.4.2.1. Teste de stabilisation de la membrane des globules rouges

Le principe de ce test repose sur la capacité des deux extraits étudiés à stabiliser des globules rouges (GR) en se référant à une solution standard. Nous avons induit l'hémolyse des GR par une solution hypotonique à une température élevée, selon le protocole de Karl *et al en* 2012 et Sérémé *et al en* 2008. Nous avons utilisé les érythrocytes pour réaliser ce test par ce que ils sont faciles à isoler du sang et leur membranes ressemblent d'autres membranes cellulaires. Le milieu hypotonique induit la rupture des membranes de GR provoquant la libération de l'hémoglobine et d'autres composants internes dans le milieu extérieur (Labu *et al.*, 2015).

II.4.2.2. Préparation de la suspension de globules rouges

2 ml du sang recueilli est mélangé avec un volume égal de solution d'Alsever (2 % de glucose, 0,8 % de citrate de sodium, 0,5 % d'acide citrique et 0,42 % de chlorure de sodium dans l'eau distillée). Ensuite, le mélange est transféré à des tubes à centrifuges qui ont été centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 min. Le culot est lavé trois fois avec de l'eau physiologique (0,9 %). Le volume de globules rouges est mesuré afin de préparer une suspension de 10 % (v/v) de globules rouges, avec de l'eau physiologique et conservé à 4°C (Kosala *et al.*, 2018).

II.4.2.3. Hémolyse induite par la chaleur

Des différentes concentrations des extraits hydro-éthanolique et aqueux d'*Urtica urens* et de l'acide salisylique (standard) ont été préparées (1000, 500, 200, 100, 50 µg/ml) dans l'eau physiologie (contrôle négatif). Nous avons mélangé 0,5 ml de ces solutions séparément avec 1 ml de tampon phosphate iso-salin (pH 7,4, 0,15 M), 2 ml d'une solution hyposaline (0,36 %) et 0,5 ml de la suspension des globules rouges à 10 %. Tous les mélanges d'essai sont incubés à 56 °C pendant 30 min, puis centrifugés à 2500 tr/min pendant 10 min. Les surnageants sont récupérés et les absorbances sont lues à 560 nm. On a utilisé l'eau distillée à la place de la solution hypo-saline pour préparer le contrôle négatif provoquant une hémolyse à 100 % (Kosala *et al.*, 2018). Le pourcentage de la stabilisation de la membrane des GR ou de l'inhibition de l'hémolyse de GR est calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Le pourcentage de stabilisation (\%)} = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

II.5. Analyse statistique

Les résultats des différentes évaluations effectuées *in vitro* sont donnés sous forme de moyenne ± écart-types. L'évaluation statistique est effectuée en utilisant le test de Student à l'aide du logiciel Excel 2010. La valeur trouvée par le calcul de la valeur p peut indiquer que :

• $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative (ns);

• $0,05 > p > 0,01$ = la différence est significative (*);

• $0,05 > p > 0,001$ = la différence est hautement significative (**);

• $p < 0,001$ = la différence est très hautement significative (***).

Résultats
et discussion

III.1. Rendement et caractérisation des extraits bruts d'*Urtica urens*

Les extraits hydro-éthanolique et aqueux obtenus après évaporation à sec ont été pesés. Le rendement de ces extraits a été calculé et les détails des résultats de l'extraction sont représentés dans le tableau 6.

Tableau.6. Résultats de l'extraction hydro-éthanolique et aqueuse d'*Urtica urens*.

Plante	Partie utilisée	Extrait	Rendement	Aspect	Couleur
Urtica urens	Feuilles	hydro-éthanolique	33,33%	Visqueux	Vert
		aqueux	8,1%	Friable	Marron caramel

A partir des résultats obtenus dans tableau.6, on constate que l'extrait hydro-éthanolique donne le rendement le plus élevé.

L'extraction est la principale étape de la récupération et de l'isolation des composés phyto-chimiques à partir de matières végétales. L'efficacité de l'extraction dépend de la nature chimique des composés phyto-chimiques, de la méthode d'extraction utilisée, de la taille des particules dans l'échantillon, du solvant utilisé ainsi que de la présence de substances interférentes (Do *et al*, 2014). Les solvants polaires sont fréquemment utilisés pour récupérer des polyphénols à partir de matrices végétales. Les solvants les plus appropriés sont les mélanges aqueux contenant de l'éthanol, du méthanol, de l'acétone et de l'acétate d'éthyle (Dai et Mumper, 2010). L'extraction idéale de ces composés est faite à partir de éthanol (Naczk et Shahidi, 2004), car il permet d'obtenir un meilleur rendement d'extraction et il possède l'avantage d'être plus facile à éliminer (Ribérau-Gayon, 1968 ; Owen et Johns, 1999).

On note également que l'extraction est influencée par la méthode choisie en fonction des composés photochimiques à étudier. D'autres facteurs comme : le PH, la température, le rapporte quantité de matière au volume du solvant, les intervalles de temps, le nombre et les étapes d'extractions individuelles, jouent un rôle important dans cette procédure (Bonnaillie *et al*., 2012).

III.2. Teneur en composés phénoliques dans les extraits bruts

Les résultats de dosage de la teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols et tanins hydrolysables des extraits hydro-éthanolique et aqueux sont représentés dans le tableau 7.

Tableau.7. Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols et tanins hydrolysables des deux extraits d'*Urtica urens*.

	Extrait hydro-éthanolique	**Extrait aqueux**
Polyphénols totaux (mg EAG /g d'EB)	312,4±0,10	206±0,11
Flavonoïdes (mg EQ /g d'EB)	164±0,01	80±0,003
Flavonols (mg EQ /g d'EB)	75 ± 0,02	36,3 ± 0,008
Tanins hydrolysables (mg EQ /g d'EB)	86,5±0,003	49,7±0,002

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon la méthode de Folin Ciocalteu et les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique / g d'extrait brut de la plante (mg EAG /g d'EB), en utilisant l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (annexe 1).

Selon les résultats illustrés ci-dessus, on remarque que l'espèce *Urtica urens* est très riche en polyphénol totaux, les teneurs obtenus sont 312,4±0,10 mg EAG/g d'extrait brut hydro-éthanolique et 206 ± 0,11mg EAG/g d'extrait brut aqueux. On remarque que l'extrait hydro-éthanolique contient la teneur la plus élevée en polyphénols. Ces valeurs sont plus élevées à celles rapportées par Massara et *al* en 2017, qui ont trouvé une teneur de polyphénols égal à 31,41±0,31 mg GAE/g d'extrait brut hydro-éthanolique. Dans une autre étude menée par Karama *et al* en 2017 sur l'espèce d'*Urtica diocia,* la teneur des polyphénols dans l'extrait hydro-éthanolique était 116.9 ± 5.416 mg GAE/g. Cette valeur reste toujours inférieure à notre résultat.

Le dosage des flavonoïdes dans les deux extraits a été effectué par la méthode du chlorure d'aluminium. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de la quercétine / g d'extrait brut de la plante (mg EQ /g d'EB), en utilisant l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la quercétine (annexe 2).

Les résultats montrent que l'extrait hydro-éthanolique *d'Urtica urens* contient la teneur la plus élevée en flavonoïdes (164 ± 0,01 mg EQ/g EB). D'après les travaux réalisés sur le même genre d'*Urtica*, cette valeur est très élevée à celle obtenue par Karama *et al.*, (2017) (43 ± 0,019 mg EQ/g EB).

La teneur en flavonols des extraits bruts a été déterminée en suivants la méthode basée sur la chélation des ions AL^{3+}. Les résultats sont déduits à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine (annexe 3) et sont exprimés en mg équivalant de la quercétine par g d'extrait brute (mg EQ/g EB). Selon les résultats illustrés ci-dessus, on constate que la teneur en flavonols dans l'extrait hydro-éthanolique *d'Urtica urens* est considérable (75 ± 0,02 mg EQ/g EB) par rapport au extrait aqueux (36,3 ± 0,008 mg EQ/g EB).

Les flavonols sont une classe importante de la famille des flavonoïdes, des molécules qui ont une activité biologique intéressante comme les effets antioxydants (piégeage des radicaux libres), antimicrobiens, anti-inflammatoires, et ils ont été considérés comme des agents anticancéreux potentiels (Company *et al*., 2013).

Le dernier dosage que nous avons effectué est celui des tanins hydrolysables. Les résultats sont obtenus en se référant à la courbe d'étalonnage d'acide tannique (annexe 4) et sont exprimés en mg équivalant d'acide tannique par g d'extrait brut (mg EAT/g EB). Nos résultats présentés dans le tableau. 7 montrent que les deux extraits *d'Urtica urens* referment de bonnes quantités des tanins hydrolysables. Finalement et d'après les résultats obtenus, on constate que l'extrait hydro-éthanolique est très riche en composés phénolique par rapport au extrait aqueux de la même plante *Urtica urens*.

Les travaux conduits par Mulinacci *et al* 2004 ; Katalinic *et al* 2010 confirment nos résultats en indiquant que l'éthanol en combinaison avec l'eau permet une meilleure extraction des polyphénols totaux. L'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols par modulation de la polarité du solvant organique.

Cette augmentation est peut être due à l'affaiblissement des liaisons d'hydrogène dans les solutions aqueuses. Elle pourrait également être due à l'augmentation de la basicité et de l'ionisation des polyphénols dans de telles solutions (Sripad *et al.*, 1982). La solubilité des polyphénols dépend principalement du nombre de groupements hydroxyles, de poids moléculaire et de la longueur de la chaîne carbonique de squelette de base (Mohammedi et Atik., 2011). Il apparaît de notre travail que la grande majorité des polyphénols ne sont pas hydrosolubles. Par conséquent, pour obtenir des fractions riches en polyphénols, il est préférable d'employer des mélanges du solvant organique

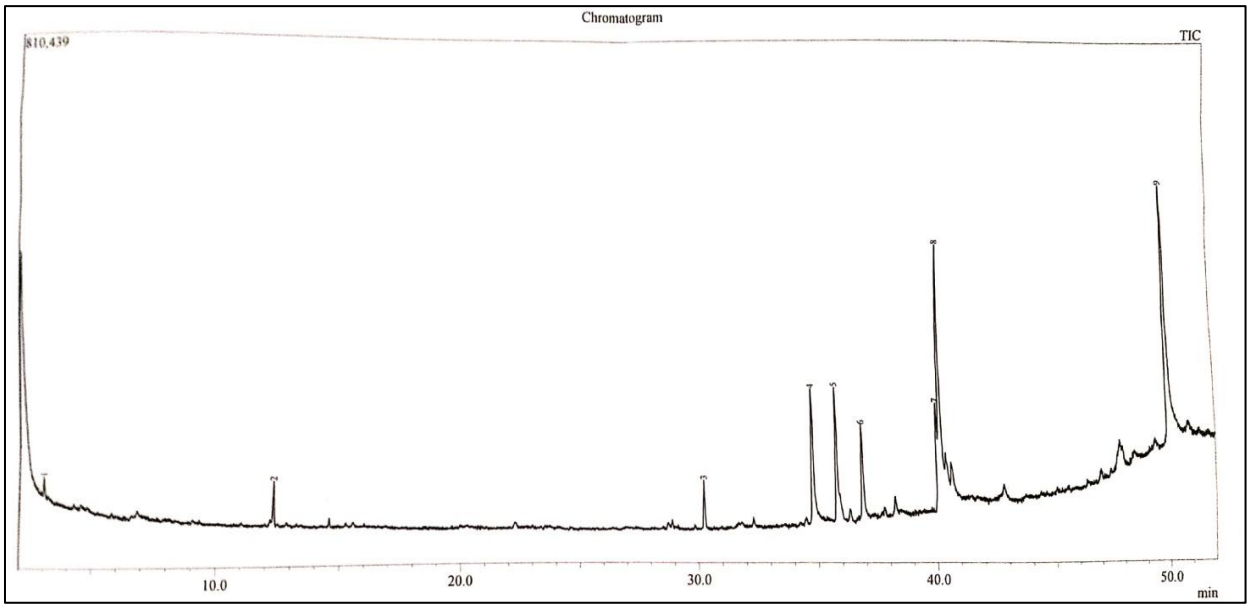
approprié avec de l'eau. L'éthanol et l'eau sont préférables car ils ont l'avantage d'être non polluants, moins chers et non toxiques par rapport à d'autres solvants comme le méthanol (Jokić *et al*, 2010).

On note que le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'un extrait à l'autre cela peut être attribué à plusieurs facteurs comme les conditions d'extraction en terme de température et le nombre d'étapes d'extraction (Tawaha *et al*, 2007) ainsi que l'état et l'origine de l'échantillon en terme de provenance géographique et le matériel végétal appartenant à des espèces différentes, aussi la saison de collecte et de cultivar (Ranalli *et al*, 2006; Falleh *et al*, 2008).

III.3. Analyse de la composition chimique des extraits d'*U. urens* par GC-MS

Nous avons utilisé la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse pour analyser la composition chimique fines des extraits hydro-éthanolique et aqueux de la plante *Urtica urens*.

(a)



(b)

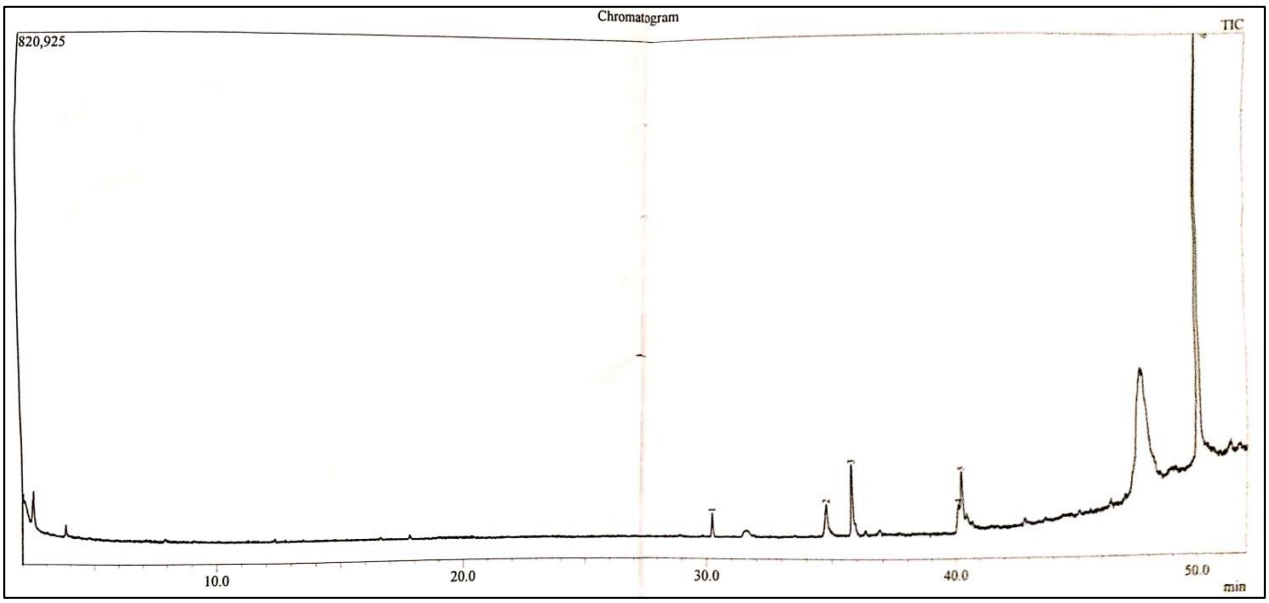


Fig.12. Analyse de la composition chimique de l'extrait hydro-éthanolique et aqueux d'*Urtica urens* par GC-MS. a) : extrait hydro-éthanolique, b) extrait aqueux. *1 µl de l'extrait hydro-éthanolique et aqueux d'Urtica urens ont été injectés dans l'appareil, avec un gaz vecteur de l'hélium, et soumis à une température progressive de 200-250 °C. L'identification des composants a été déterminée en se référant à la bibliothèque de spectre de masse NIST du système de données GC/MS. Les surfaces des pics représentent les concentrations relatives des composés trouvés dans les deux extraits.*

Les résultats présentés dans la Fig.12 montrent que la composition chimique de la plante *Urtica urens* varie d'un extrait à un autre. L'analyse des deux chromatogrammes a montré que les extraits hydro-éthanolique et aqueux comportent 9 (Fig.12.a) et 6 composés (Fig.12.b) respectivement.

Les composés trouvés dans les deux extraits avec leur temps de rétention (RT), formule moléculaire, poids moléculaire (PM), surface de pic en pourcentage, nature chimique et activités biologiques sont présentés dans les tableaux 8.

Tableau 8. Présentation des composés identifiés par GC-MS dans l'extrait hydro-éthanolique et aqueux d'*U. urens.*

Type d'extrait	Pic	Surface de pic (%)	R/T	Nom du composé	Formule moléculaire	PM (g/mol)	Nature du composé	Activité biologique
Extrait hydro-éthanolique	1	0,99	3,019	Eucalyptol	$C_{10}H_{18}O$	154,249	Acide gras	Activité anti-inflammatoire, anti-cancéreuse, antimicrobienne et antioxydant (Rahman *et al*., 2014)
	2	3,11	12,319	2,6-Octadien -1-ol, dimethyl- acetat,(E)	$CH_3CO_2CH_2CH$	196.29	Alcool	Aucune activité rapportée
	3	4,17	30,259	Hexadecanoic acid, methyl ester	$C_{17}H_{34}O_2$	270,45	Acide gras saturé	Antioxydante, Hypocholestérolémique, Nématicide (Sermakkani et Thangapandian., 2012)
	4	12,62	34,807	1-(+)-Ascorbic acid 2,6 dihexadecanoate	$C_{38}H_{68}O_8$	652,9	Vitamine C	Antibactérienne, anti- bronchique, anticancéreuse, antidiabétique, anti-inflammatoire, antioxydante, (Freire *et al*., 2005)
	5	11,12	35,807	9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)	$C_{19}H_{36}O_2$	296.48	Acide gras Ester méthylique	Antioxidante (Rahman *et al*., 2014)
	6	8,87	36,883	Phytol	$C_{20}H_{40}O$	296,53	Diterpene	Anti-inflammatoire, antibactérienne, anti-cancéreuse

								(Sermakkani et Thangapandian., 2012)
	7	5,20	40,074	Octadec-9-enoic acid	$C_{18}H_{34}O_2$	282.47	Acide gras insaturé	activité anti-inflammatoire, anti-cancéreuse., antimicrobienne, hypercholestérolémique (Rahman *et al*., 2014)
	8	20,17	40,218	9,12-Octadecadienoic (Z, Z)	$C_{18}H_{32}O_2$	280.44	Linoleic acid ester	Anti-inflammatoire, Nématicide, (Sermakkani et Thangapandian., 2012)
	9	33,75	49,962	1,2-benenedicarboxylic, mono (2-ethylhexyl) ester	$C_{16}H_{22}O_4$	278 ,34	Phthalate	Anti-microbienne (Oie *et al*., 1997)

Extrait aqueux	1	2,47	30,258	Hexadecanoic acid, methyl ester	$C_{17}H_{34}O_2$	270,45	Acide gras saturé	Antioxydante, HypocholestérolémiqueNématicide (Sermakkani et Thangapandian., 2012)
	2	5,49	34,790	n-Hexadecanoic acid.	$C_{16}H_{32}O_2$	256,4	Acide gras saturé.	Antioxydante, nématicide et hémolytique (Kumar *et al*., 2012)
	3	9,69	35,795	9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E).	$C_{19}H_{36}O_2$	296.48	Acide gras Ester méthylique	Antioxidante (Rahman *et al*., 2014)
	4	1,87	40,060	1-Pentadecanol.	$C_{15}H_{32}O$	228,41	Alcool	Antibactérienne (Almaraz-Abarca *et al*., 2007)

	5	6,62	40,199	9,12-Octadecadienoic (Z, Z)	$C_{18}H_{32}O_2$	280.44	Linoleic acid ester	Anti-inflammatoire, nématicide, hypocholestérolémique (Sermakkani et Thangapandian., 2012)
	6	73,86	49,962	1,2-benenedicarboxylic, mono (2-ethylhexyl) ester	$C_{16}H_{22}O_4$	278,34	Phthalate	Anti-microbienne (Oie *et al*., 1997)

Les composés majoritaires dans l'extrait hydro-éthanolique de la plante sont : le 1,2-benenedicarboxylic, mono (2-ethylhexyl) ester avec 33,75 %, le 9,12-Octadecadienoic (Z, Z) (20.17%), l'ascorbic acid 2,6 dihexadecanoate (12.62%), le 9-Octadecenoic acid, methyl ester (11.12%), le Phytol (8.87%), le Octadec-9-enoic acid (5.20%) et le Hexadecanoic acid, methyl ester (4.17%).

Les composés majoritaires dans l'extrait aqueux de la plante sont : le 1,2-benenedicarboxylic, mono (2-ethylhexyl) ester qui occupe 73,86%, le 9-Octadecenoic acid, methyl ester (9.69%), le 9,12-Octadecadienoic (Z, Z) (6.62%), le n-Hexadecanoic acid (5.49%) et le Hexadecanoic acid, methyl ester (2,47%).

On observe qu'il y a 4 composés communs entre l'extrait hydro-éthanolique et aqueux qui sont : le 1,2-benenedicarboxylic, mono (2-ethylhexyl) ester, le 9,12-Octadecadienoic (Z, Z), le 9-Octadecenoic acid, methyl ester et et le Hexadecanoic acid, methyl ester.

III.4. Effet anti-radicalaire des deux extraits de la plante

L'effet anti-radicalaire des extraits hydro-éthanolique et aqueux d'*Urtica urens* a été déterminé en utilisant le DPPH comme un radical libre et l'acide ascorbique comme standard (Fig.13).

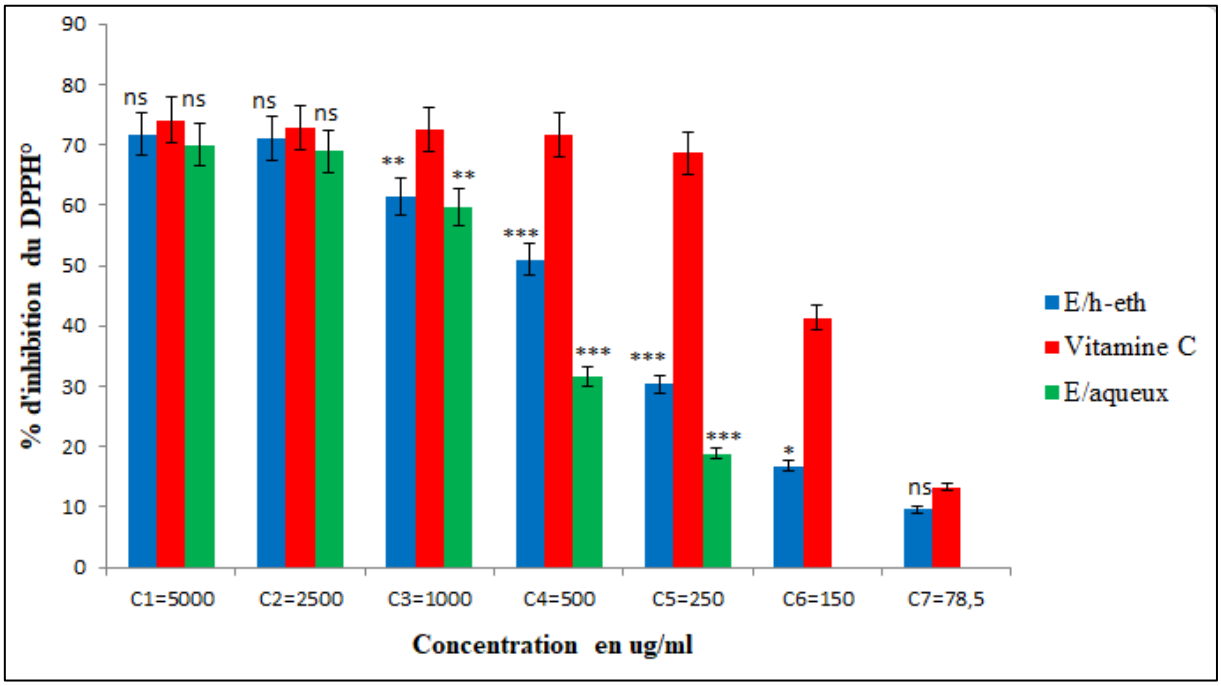


Fig.13. Pourcentage de réduction du radical libre DPPH° par les extraits hydro éthanolique et aqueux d'*Urtica urens* et l'acide ascorbique à différents concentrations. *Les valeurs sont données en moyenne ± Ecart type. Test de Student : (ns) désigne un effet non significatif, *p<0,05 désigne un effet*

*significatif, **p<0,01 désigne un effet hautement significatif, ***<0,001 désigne un effet très hautement significatif ; comparaison avec le standard (acide ascorbique).*

On observe que les deux extraits d'*Urtica urens* possèdent un effet piégeur très puissant vis-à-vis le radical DPPH. Cet effet est concentration dépendante. Les résultats montrent que l'extrait hydro-éthanolique présente le pouvoir anti-radicalaire le plus élevé par rapport à l'extrait aqueux avec 51,3% et 61,37% aux concentrations 500 et 1000 µg/ml. En effet, l'extrait hydro-éthanolique et aqueux donnent un effet antioxydant très important similaires à l'acide ascorbique (différence non significatif) aux concentrations 5000 et 2500 µg/ml est 71,72 % et 71,03% respectivement.

Des études ont montré que les molécules des polyphénols aident à augmenter l'activité anti-radicalaire (Bidie *et al*., 2011). Elles sont connues pour leur activité antioxydante qui neutralise fortement l'action de ROS (Gulluce *et al*, 2007). Les solvants utilisés pour l'extraction des polyphénols ont un effet sur la capacité de réduction du DPPH. Dans notre étude, nous avons trouvé que le système éthanol/eau est plus efficace que l'eau seule pour l'extraction des composés phénoliques, ce qui en relation avec les taux des polyphénols. En outre, l'analyse de la composition chimique des deux extraits par la GC-MS a montré leur richesse en composés ayant des activités antioxydants comme l'acide ascorbique, le 9-Octadecenoic acid, méthyl ester et le n-Hexadecanoic acid.

III.5. Evaluation de l'activité anti- inflammatoire *in vitro*

III.5.1. Effet de l'extraits hydro-éthanolique et l'extrait aqueux sur la stabilisation de la membrane des globules rouges

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire *in vitro* (l'effet anti-hémolytique) des extraits bruts de la plante *Urtica urens*, un test de stabilisation de membranes de GR a été réalisé. Ce test consiste à induire l'hémolyse de GR humains en utilisant une solution hypotonique et la chaleur, ce qui provoque la désorganisation des membranes et la libération de l'hémoglobine donnant au surnageant une coloration rouge en fonction de proportion d'hémolyse. Les résultats obtenus sont présentés dans la Fig.14.

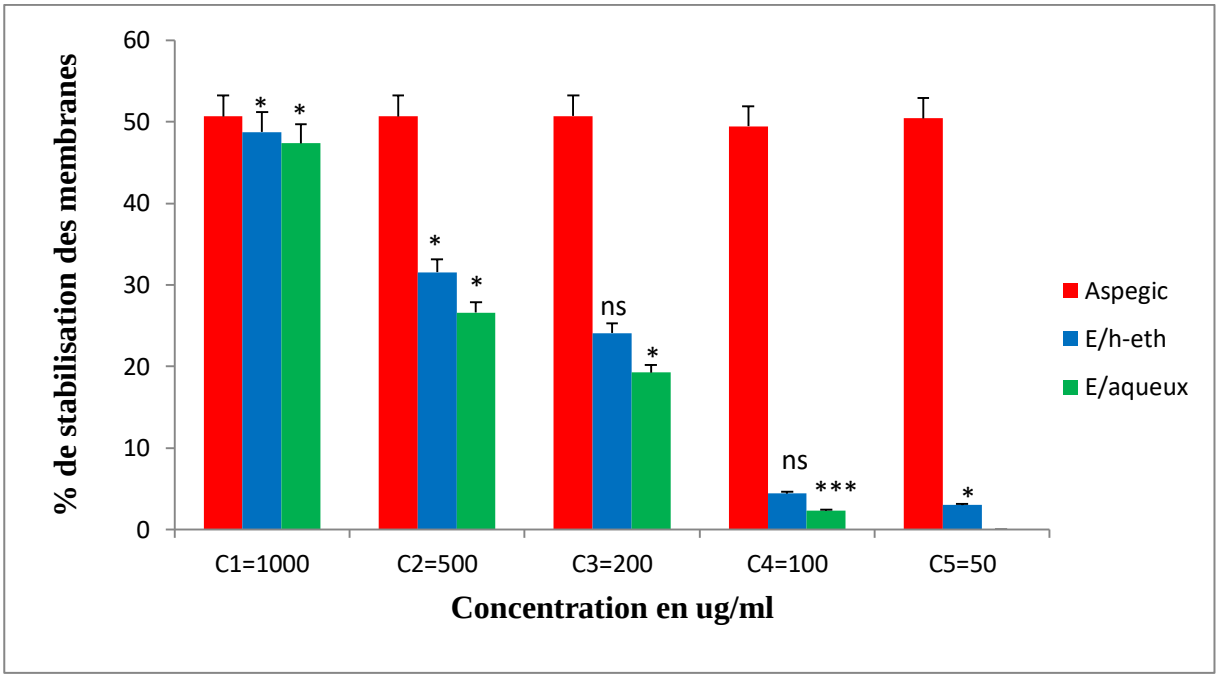


Fig.14. Pourcentage de stabilisation des membranes des globules rouges traités par les deux extraits d'*Urtica urens* et l'Aspégic à différentes concentrations. *Les valeurs sont données en moyenne ± Ecart type. Test de Student : (ns) désigne un effet non significatif, *p<0,05 désigne un effet significatif, **p<0,01 désigne un effet hautement significatif, ***<0,001 désigne un effet très hautement significatif ; comparaison avec le standard (Aspégic®).*

Les résultats obtenus montrent que les deux extraits de la plante ont assuré aux globules rouges une protection contre l'hémolyse hypotonique concentration dépendante. L'extrait hydro-éthanolique et aqueux présentent une activité maximale, 48,75% ± 0,081 et 47,36% ± 0,081 respectivement à une concentration de 1 mg/ml. On observe que l'effet du médicament anti-inflammatoire Aspégic® contre l'hémolyse est très important avec les faibles concentrations comme 50 ug/ml avec 50,41 %± 0,126 d'inhibition. Par contre, l'extrait hydro-éthanolique et l'extrait aqueux présentent un effet faible aux doses 100 et 200 ug/ml, et l'extrait aqueux ne présente aucun effet anti-hémolytique à la faible dose (50 ug/ml).

La stabilisation de la membrane des globules rouges a été utilisée comme méthode pour étudier l'activité anti-inflammatoire *in vitro*, car la membrane érythrocytaire est analogue à la membrane lysosomale (Anosike *et al*, 2012) et sa stabilisation implique que les extraits pourraient bien stabiliser les membranes lysosomales. La stabilisation des lysosomes est importante pour limiter la réponse inflammatoire en empêchant la libération de constituants lysosomaux de neutrophiles activés, tels que les enzymes bactériennes et les protéases, ce qui provoque une inflammation supplémentaire des tissus et des dommages lors de la libération de cellules supplémentaires. Les enzymes lysosomales libérées au cours de l'inflammation produisent divers troubles. L'activité extracellulaire de ces enzymes serait liée à une inflammation aiguë ou

chronique. Les médicaments non stéroïdiens (l'Aspégic®) agissent soit en inhibant ces enzymes lysosomales, soit en stabilisant la membrane lysosomale (Vadivu et Lakshmi, 2008).

En outre, les érythrocytes sont considérés comme des cibles majeures pour l'attaque des radicaux libres en raison de la présence à la fois d'une concentration élevée en acides gras polyinsaturés sur la membrane, et du transport de l'oxygène associé aux molécules d'hémoglobine rédox actives, qui sont de puissants promoteurs des espèces réactives de l'oxygène (Medzhitov, 2008). Selon Namoune *et al*, (2018) les polyphénols sont capables de protéger les érythrocytes au stress actif ou d'accroître leur résistance aux dommages causés par les oxydants.

L'activité anti-inflammatoire importante des deux extraits de notre plante peut être attribuée à la leur richesse en composés phénoliques et la présence de plusieurs molécules connues par leur activité anti-inflammatoire comme l'analyse par GC-MS a été montrée. On cite comme exemples, le 9,12-Octadecadienoic (Z, Z), phytol, et l'acide ascorbique.

Conclusion

Dans ce travail, l'extraction des composés phénoliques des deux extraits de la plante par macération à fournir un rendement importants de l'extrait brut. L'analyse phyto-chimique a révélé que les extraits hydro-éthanolique et aqueux d'*urtica urens*, riches en polyphénols et flavonoïdes. La GC-MS a été réalisée pour analyser et identifier les compositions chimiques des deux extraits de la plante, Les résultats montrent que la composition chimique de la plante *Urtica urens* varie d'un extrait à un autre. L'analyse des deux chromatogrammes a montré que les extraits hydro-éthanolique et aqueux comportent 9 et 6 composés respectivement.

Le DPPH a été utilisé pour tester le pouvoir anti radicalaire, les deux extraits d'*Urtica urens* possèdent un effet piégeur très puissant vis-à-vis le radical DPPH. Le potentiel anti–inflammatoire *in vitro* des deux extraits est préparés à partir des parties arénaires d'*U.urens* a été évalué. Pour cela, un modèle d'étude a été sélectionné, le test de la stabilisation de la membrane des érythrocytes. Les résultats obtenus montrent que les deux extraits de la plante ont assuré aux globules rouges une protection contre l'hémolyse hypotonique concentration dépendante. L'extrait hydro-éthanolique et aqueux présentent une activité maximale, 48,75% et 47,36% respectivement à une concentration de 1 mg/ml.

Comme perspective, Ce travail ne représente qu'une étude préliminaire et donc, nous recommandons de réaliser une étude photochimique très profonde sur la plante *Urtica urens*, d'effectuer des études complémentaires surtout *in vivo* afin d'évaluer ses activités anti-oxydantes et anti-inflammatoire et d'utiliser de techniques plus performantes comme l'HPLC pour une analyse fiable.

Références bibliographiques

-A-

Abbal M, Alric L, Cantagrel A, Delisle B. (2009). Réaction inflammatoire : Aspects Biologique et clinique. Conduite à tenir. Module 8 – Item 112:1-25.

Afif et abu-irmaileh B. (2000). Herbai medicine in jordan with special less commonly used medicinal herbs. J Ethnopharmacol. 72: 101-110.

Akrout, A., El Jani, H., Amouri, S., & Neffati, M. (2009). Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of Artemisia campestris L., Artemisia herba alba Asso, & Thymus capitatus Hoff. et Link. growing wild in the Southern of Tunisia. Recent Research in Science and Technology, 2(1).

Alloun, K 2007. Les plantes médicinales d'Algérie. berti éditions, Algérie. pp181-182.

Almaraz-Abarca, N., da Graça Campos, M., Avila-Reyes, J. A., Naranjo-Jimenez, N., Corral, J. H., & Gonzalez-Valdez, L. S. (2007). Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (Prosopis juliflora, Leguminosae). Journal of Food Composition and Analysis, 20(2), 119-124.

Amarowicz, Ryszard, et Ronald B. Pegg. 2019. « Natural Antioxidants of Plant Origin ». In Advances in Food and Nutrition Research, 90:181. Elsevier. https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.011.

Anosike, C. A., Obidoa, O., & Ezeanyika, L. U. (2012). Membrane stabilization as a mechanism of the anti-inflammatory activity of methanol extract of garden egg (Solanum aethiopicum). DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 20(1), 1-7.

APG III. (2009). an update of the Angiosperm Phylogeny Group Classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Botanical Journal of the Linnean Society, 161 (2), 105-121.

Aurousseau, B. " Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits". INRA Prod. Anim. (2002). Vol. 15 (1). pp. 67-82.

-B-

Babar Ali M, Hahn EJ, Paek KY. Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in Panax ginseng Bioreactor Root Suspension Cultures. Molecules. 2007; 12: 607-621.

Bacchiet, S., Palumbo, P., Sponta, A., & Coppolino, M. F. (2012). Clinical pharmacology of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a review. Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents), 11(1), 52-64.

Balík, J., M. Kyseláková, N. Vrchotová, J. Tříska, M. Kumšta, J. Veverka, P. Híc, J. Totušek, et D. Lefnerová. 2009. « Relations between Polyphenols Content and Antioxidant Activity in Vine Grapes and Leaves ». Czech Journal of Food Sciences 26 (Special Issue): 25‧32. https://doi.org/10.17221/246/2008-CJFS.

Bannwarth, B. (2005). Traitements anti-inflammatoires. Place des AINS classiques et des coxibs. EMC-Médecine, 2(5), 524-531.

Beloued, A. (2005). Plantes médicinales d'Algérie. N°: 4276 éd, Office des publications Universitaires, 296p.

Bertrand, B. " Les secrets de l'ortie ". De Terran. (2010). Vol. 1. p. 181.

Bertrand, B. (2008). Les secrets de l'ortie. 10e édition, édition de Terran.

Bidie A.P., N'guessan B.B., Yapo A.F., N'guessan J.D. et Djaman A.J. (2011). Activités antioxydantes de dix plantes medicinales de la pharmacopée ivoirienne. Article original. Sciences & Nature. 8 (1) : 1-11.

Boizot N., Charpentier J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composes phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques del'Inra. Pp. 79-82.

Bonnaillie, C., Salacs, M., Vassiliova, E., & Saykova, I. (2012). Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (Arachis hypogaea L.).

Boudjouref M. (2011). Etude de 1'activite antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris l. Memoire de magister. Université Ferhat Abbes-setif.

Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.) Briq. Nature & Technology, (9), 14.

Bourkhiss, M. B., Hnach, M., Paolini, J., Costa, J., Farah, A., & Satrani, B. (2010). Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de Tetraclinis articulata (Vahl) Masters du Maroc. Bulletin de la Société royale des sciences de Liège.

Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gray K., Horn E, McAnalley S. et McAnalley B. (2003). Etude pilote ouverte de l‟effet antioxydant d‟Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. GlycoScience & Nutrion 4, 7p.

Boyrie, J. (2016). Urtica urens : une plante aux usages multiples. n°109. Thèse du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de bordeaux.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie : Phytochimie. Lavoisier, 4eme édition., Paris. 901-904.

Bruneton, J. "Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales ". Medicals Internationals, Tech et Doc. (1999). pp. 647-673.

-C-

Cabrera, M., Simoens, M., Falchi, G., Lavaggi, M.L., Piro, O.E., Castellano, E.E., Vidal, A., Azqueta, A., Monge, A., de Ceráin, A.L., Sagrera, G., Seoane, G., Cerecetto, H., González, M., 2007. Synthetic chalcones, flavanones, and flavones as antitumoral agents : Biological evaluation and structure–activity relationships. Bioorg. Med. Chem. 15, 3356–3367.

Carole D, Hubert G. (1998). Santé animale : bovins,ovins,caprins . Educagri Edition, France : 220.

Chedea, Veronica Sanda, et Raluca Maria Pop. 2019. « Total Polyphenols Content and Antioxidant DPPH Assays on Biological Samples ». In Polyphenols in Plants, 169‧83. Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813768-0.00011-6.

Cheng, X., Li, H., Wu, P., Xu, L., Xue, J., & Wei, X. (2019). Two new bisabolane-type sesquiterpenoids from the cooking liquid of Curcuma longa rhizomes. Phytochemistry Letters, 29, 169-172.

Cömert, Ezgi Doğan, et Vural Gökmen. 2018. « Evolution of Food Antioxidants as a Core Topic of Food Science for a Century ». Food Research International 105: 7693. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.056.

Company, A., Lloret-Fillol, J., & Costas, M. (2013). Small Molecule Models for Nonporphyrinic Iron and Manganese Oxygenases. Comprehensive Inorganic Chemistry II, 487–564. doi:10.1016/b978-0-08-097774-4.00323-5.

Crompton, M. (1999). The mitochondria permeability transition pore and its cell death. Journal of Biochemical, 341: 233-249.

Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H., 2008. Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet. John Wiley & Sons.

Crozier, A., Jaganath, I.B. and Clifford, M.N. (2009). Dietary phenolic: chemistry, bioavailability and effects on health. Journal of Natural Product Reports, 26: 1001-1043.

Cuzzocrea S., Riley D.P., Caputi A.P. and Salvemini D., 2001: Antioxidant Therapy: A New Pharmacological Approach in Shock, Inflammation, and Ischemia/Reperfusion Injury. Pharmacol. rev. 53 (1), 135-159.

Czaruetzki, B.M., Thiele, T., Rosenbach, T. " Immunoreactive leukotrienes in nettle plants (urtica urens)". Int Arch Allergy Appl Immunol. (1990). Vol. 91 (1). pp. 43-46.

-D-

D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., et Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. Annali-Istituto Superiore di Sanita , 43 (4), 348.

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules, 15(10), 7313-7352.

Desjobert, J. M., Bianchini, A., Tomi, P., Costa, J., & Bernardini, A. F. (1997). Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrometrie de masse. Application a la valorisation des plantes de la flore corse. Analusis, 6(25), M13-M16.

Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. Journal of agricultural and food chemistry, 50(10), 3010-3014.

Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content,

and antioxidant activity of Limnophila aromatica. Journal of food and drug analysis, 22(3), 296-302.

Donatien K. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes — Extraction, Identification d'Alcaloïdes — Caractérisation, Quantification de polyphénols : Etude de leur activité antioxydante. Thèse de doctorat. Université de Bamako et Université de Paul Verlaine de Metz France. 2008.

Draghi, F. (2005). L'Ortie dioique: étude bibliographique. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Henri Poincare Nancy, 89p.

Duganath, N., Kumar, S. R., Kumanan, R., & Jayaveera, K. N. (2010). Activity of traditionally used medicinal plants. International Journal of Pharma and Bio Sciences, 1, 2.

-E-

Espinosa E, Chillet P. (2010). Immunologie. Ellipses édition marketing : 25-37.

-F-

Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M, Abdelly C. Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs, and their biological activities.C. R. Biologies. 2008; 331: 372-379.

Favier A., 2006. Stress oxydant et pathologies humaines. Ann. Pharm. Fr. 64: 390-396.

Favier, A. le stress oxydant. intérét conceptuel et experimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique". L'actualité chimique. (2003). pp. 108-115.

Feng, X. R., Ju, P. J., Chen, Y., Li, X. B., & Wang, M. Y. (2021). Analgesic alkaloids from Urticae Fissae Herba. Chinese Herbal Medicines.

Ferrero-Miliani, L., Nielsen, O. H., Andersen, P. S., & Girardin, S. (2007). Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1β generation. Clinical & Experimental Immunology, 147(2), 227-235.

Finkel T. and Holbrook N. J., 2000: Oxydants, oxidative stress and the biology of ageing. Nature, 408, 239-247.

Freire, R. S., Morais, S. M., Catunda-Junior, F. E. A., & Pinheiro, D. C. (2005). Synthesis and antioxidant, anti-inflammatory and gastroprotector activities of anethole and related compounds. Bioorganic & medicinal chemistry, 13(13), 4353-4358.

-G-

Garcia-Agaez, A.N., Apam, T.O.R., Delgado, H.P., Velazquez, G. et Maetinez-Vasquez, M., " Anti-intlammatory activity of coumarins from Decatropis bicolor on TPA ear mice mode! ". Planta Medica. (2000). Vol. 66. pp. 279-281.

Gauche, E., Hausswirth, C. " Stress oxydant, coinplémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice ". Science & Motricité. (2006). Vol. 58. pp. 43-66.

Ghedira, K., Goetz, P., & Le Jeune, R. (2009). Urtica dioica L., Urtica urens et/ou hybrides (Urticaceae). Phytothérapie, 7(5), 279.

Goudable J. et Favier A., 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition Clinique et Métabolisme**.** 11(2): 115-120.

Gruys, E., Toussaint, M. J. M., Niewold, T. A., & Koopmans, S. J. (2005). Acute phase reaction and acute phase proteins. Journal of Zhejiang University. Science. B, 6(11), 1045.

Gulluce M., Sahin F.,Sokmen M., Ozer H., Daferera D., Sokmen A., Polissiou M., Adiguzel A. and Ozkan H. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from Mentha longifolia L, ssp. Longifolia.. Journal of Agricultural and, Food Chemistry 103: 1449-1456.

Gulsel M. Kavalali. Urtica urens: Therapeutic and nutritional aspects of stinging nettles, University of Istanbul, Turkey, 2003.

Guo, Jing, Yahong Yuan, Pei Dou, et Tianli Yue. 2017. « Multivariate Statistical Analysis of the Polyphenolic Constituents in Kiwifruit Juices to Trace Fruit Varieties and Geographical Origins ». *Food Chemistry* 232: 552‧559. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.037.

-H-

Hartmann, T. 2007. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. Phytochemistry. P68, 2831–2846.

Hautz, T., Wolfram, D., Grahammer, J., Starzl, R., Krapf, C., Pratschke, J., ... & Schneeberger, S. (2012). Mechanisms and mediators of inflammation: potential models for skin rejection and targeted therapy in vascularized composite allotransplantation. Clinical and Developmental Immunology, 2012.

Heilerova, L., Buckova, M., Tarapcik, P., Silhar, S. and Labuda, J. (2003).

Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie. 2004 ; 1: 3-6.

Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie. 2004 ; 1: 3-6.

Huang D.J., Lin C., Chen H . J and Lin Y.H. (2004). Antioxidant and proliferative activities of sweet potato (Ipomoea botatas L Lam Tainong 57) constituents Bot. Bull. Acad. Sin. 45:179-186.

Hubert P., Servat E., Paturel J.E., Kouame B., Bendjoudi H., Carbonnel J.P. et LubesNiel H., 1998. La procédure de segmentation, dix ans après. Communication à la Conférence Internationale ABIDJAN'98, Variabilité des ressources en eau au XXème siècle, Abidjan (Côte d'Ivoire**).** IAHS Public**.** 1998(252): 267–273.

-J-

Jacques,B. André, R.(2004): Biochimie méthabolique.Ed ellipses.Paris.Pp 217-219-220-223-225.

Ji, T.F., Liu, C.H., et Wang. "Studies on the chemical constituants of Urtica diocia L. grown in Tibet autonomous region". Zhong Yao Cai. (2007). Vol. 30(6). pp. 662-664.

Jokić, S., Velić, D., Bilić, M., BuCić-koJić, A., PlANiNić, M., & ToMAS, S. (2010). Modelling of solid-liquid extraction process of total polyphenols from soybeans. Czech Journal of Food Sciences, 28(3), 206-212.

-K-

Kansol, M.M.R. "Étude éthnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso : cas de Leucas martinicansis (Jacquin) R. Brown, Hoshlundia

oppossta vahl et Otthosiphon pallidus royale ex bente. Mémoire pour obtenir un Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) en sciences biologiques. (2009).

Kavalali G, Tuncel H, Goksel S & Hatemi HH. (2003). Hypoglycemic activity of urtica pilulifera in streptozotocin-diabetic rats. J Ethnopharmacol. 84: 241-245.

Kechida, K., et Meghiche, M. (2019). Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce SaccocalyxSatureioides (Doctoral dissertation, Université Mohamed Boudiaf de M'Sila).

King A.M.Y., Young G. (1999). Characteristics and occurrence of phénolic phytochemicals. Journal of the American Dietetic Association'. 99(2):213-218.

Kint, J.T., Goldsby, A.R., Osborne, A.B.(2008). Immunologie. 6eme edition. p: 340-360.

Kone. K., Patrick, F. Olivier.20l8. Application des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l'identification des métabolites secondaires de trois plantes antidiabétiques et antihypertensives de la pharmacopée ivoirienne. Thèse de doctorat. institut national polytechnique. P I 9.

Kosala, K., Widodo, M. A., Santoso, S., et Karyono, S. (2018). In vitro and In vivo Anti-inflammatory Activities of Coptosapelta flavescens Korth Root's Methanol Extract. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 8(09), 042-048.

Kumar, V., Bhat, Z. A., Kumar, D., Bohra, P., & Sheela, S. (2011). In-vitro anti-inflammatory activity of leaf extracts of Basella alba linn. Var. alba. Int J Drug Dev Res, 3(2), 176-179.

Kumar, V., Bhat, Z. A., Kumar, D., Khan, N. A., & Chashoo, I. A. (2012). Evaluation of anti-inflammatory potential of leaf extracts of Skimmia anquetilia. Asian Pacific journal of tropical biomedicine, 2(8), 627-630.

-L-

Labu, Z. K., Laboni, F. R., Tarafdar, M., Howlader, M. S. I., & Rashid, M. H. (2015). Membrane stabilization as a mechanism of anti-inflammatory and thrombolytic activities of ethanolic extract of arial parts of Spondiasis pinanata (family: Anacardiaceae). Pharmacologyonline, 2, 44-51.

Langlade, V. (2010). L'Ortie dioïque, Urtica dioïca L.: étude bibliographique en 2010, Thèse de Doctorat en pharmacie, Université de Nante.

Lefief-Delcourt, Alix. "L'ortie c'est malin: santé, beauté,jardin, maison...toutes les vertus et les conseils pratiques de cette plante magique". Leduc. S. (2012). p. 160.

Leiris J. (2003). Biochemistry of free radicals. Heart Metabolism. 19: 40-44.

Lelong, H., Ly, C., & Blacher, J. (2013). Risque cardiovasculaire des anti-inflammatoires non stéroïdiens. Journal Européen des Urgences et de Réanimation, 25(3-4), 191-196.

Losada-Barreiro, Sonia, et Carlos Bravo-Díaz. 2017. « Free Radicals and Polyphenols: The Redox Chemistry of Neurodegenerative Diseases ». European Journal of Medicinal Chemistry 133: 379‑402. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.061.

-M-

Madamanchi N.R., Vendrov A. and Runge M.S., 2005: Oxidative Stress and Vascular Disease. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 25, 29.

Makkar, H.P.S. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. Small Ruminant Research. (49): 241-256.

Maliev, D. et Kuntic, V. "Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal flavonoid complexing reactions". Journal of the serbian chemical society. (2007). Vol. 72(10). pp. 921-939.

Manach C., Sealbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L, (2004). Polyphénols : food sources and bioavailability. The American journal of cliniecal nutrition. 79(5):727-747.

Marfella, Raffaele, Nunzia D'Onofrio, Ivana Sirangelo, Maria Rosaria Rizzo, Maria Carmela Capoluongo, Luigi Servillo, Giuseppe Paolisso, et Maria Luisa Balestrieri. 2014. « Polyphenols, Oxidative Stress, and Vascular Damage in Diabetes ». In Diabetes: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants, 145‑156. Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405885-9.00015-2.

Marie-Jo Vanstippen, La grande ortie (Urtica Dioica), Cercles des Naturalistes de Belgique (CNB) – Section Les Sources, 2005.

Martin S, Andriantsitohaina IL Mecanismes de la protection cardiaque etvasculaire des polyphenols au niveau de ('endothelium. Annales de cardiologie et d'angeiologie. 2002 ; 51: 304-315.

Maurice, N. (1997). L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle. Ed. Lavoisier, Paris.

Mbaveng, A. T., & Kuete, V. (2017). Zingiber officinale. In Medicinal Spices and Vegetables from Africa (pp. 627-639). Academic Press.

Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. Nature, 454(7203), 428.

Min, K. R., Kim, Y. K., Kang, S. H., Mar, W. C., Lee, K. S., Ro, J. S., ... & Kim, Y. S. (1996). Inhibitory Effects of Herbal Extracts on Cyclooxygenase Activity of Prostaglandin $ H_2. Synthase from Sheep Seminal Vesicle. Natural Product Sciences, 2(1), 56-74.

Mirończuk-Chodakowska, Iwona, Anna Maria Witkowska, et Małgorzata Elżbieta Zujko. 2018. « Endogenous Non-Enzymatic Antioxidants in the Human Body ». Advances in Medical Sciences 63 (1): 68‒78. https://doi.org/10.1016/j.advms.2017.05.005.

Mohammedi Z. and Atik F. Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from Tamarix aphylla (L.) karst. Inter. J. Pharma. Bio. Sci. Vol. 2. (2011). pp. 609-615.

Monassier L. (2005). Les Anti-Inflammatoires Steroidiens. Faculté de Médecine de Strasbourg, Module de Pharmacologie Clinique DCEM3-4.

Moreno, J., AndPeinado, R. (2012). Polyphenols, in Waltham, M.A., Enological Chemistry, First edition, Academic Press, London, Pp. 53-76.

Muster D. (2005) -Médicaments de l’inflammation. Edition Elsevier. p 21-29.

-N-

Naczk, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of chromatography A, 1054(1-2), 95-111.

Najem, M., Nassiri, L., & Ibijbijen, J. (2021). Origin of vernacular names of plants: case of toxic plants for medicinal use in the central Middle Atlas–Morocco. Interdisciplinary Science Reviews, 1-22.

-O-

Oie, L., Hersoug, L. G., & Madsen, J. O. (1997). Residential exposure to plasticizers and its possible role in the pathogenesis of asthma. Environmental Health Perspectives, 105(9), 972-978.

Organisation mondiale de la Santé (OMS). (2003). Rapport sur la santé dans le monde.

Owen, P. L., & Johns, T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. Journal of ethnopharmacology, 64(2), 149-160.

Oyedapo, O. O., Akinpelu, B. A., Akinwunmi, K. F., Adeyinka, M. O., & Sipeolu, F. O. (2010). Red blood cell membrane stabilizing potentials of extracts of Lantana camara and its fractions. International Journal of Plant Physiology and Biochemistry, 2(4), 46-51.

-P-

Pastre J., (2005). Intérêt de la supplémentassions en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de doctorat. Université Paul – Sabatier, Toulouse. p.22.

Peronny, S. 2005. La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI Ethologie.

Philippe V. (2008). Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou Corticoïdes. IFSI Bichat / René Auffray : 6.

Popovici, Cristina, Ilonka Saykova, et Bartek Tylkowski. 2009. « Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH », 14.

Proestos, C., Boziaris, I.S., Nycha, G.J.E. and Kamaitis M. "Analysis of flavonoids and phenolic acids in greek aromatic plants: investigation of their antioxydant capacity and antimicrobial activity". Food Chemistry. (2006). Vol. 95 (4). pp. 664-671.

Punchard, N. A., Whelan, C. J., & Adcock, I. (2004). The journal of inflammation.

-R-

Rahman, M. M., Ahmad, S. H., Mohamed, M. T. M., & Ab Rahman, M. Z. (2014). Antimicrobial compounds from leaf extracts of Jatropha curcas, Psidium guajava, and Andrographis paniculata. The Scientific World Journal, 2014.

Rajagopala, P.L., Sreejitha, K.R., Kironb, S.S., Robin, J., Saritha, M. (2013). Anti-inflammatory (in vitro) activity of the Leaves of Ficus gibbosa Blume by HRBC Membrane stabilization. Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS).7(4): 55-57.

Ranalli A., Contento S., Lucera L., Di Febo M., Marchegiani D .and Di Fonzo. (2006). Factors Affecting the Contents of Iridoid Oleuropein in Olive Leaves (Olea Europaea L.). Journal Agricultural and Food Chemistry. 54 : 434-440.

Ribéreau-Gayon, P. (1968). Les Composés phénoliques des végétaux: par Pascal Ribéreau-Gayon... Dunod.

Rousselet, M. C., Vignaud, J. M., Hofman, P., & Chatelet, F. P. (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire. Association française des enseignants et chercheurs en anatomie pathologie, 1-57.

-S-

Safia, M. G. A. (2019). Identification des métabolites secondaires d'Hyoscyamus muticus L. subsp. falezlez (Coss.) Maire, Solanaceae de la région d'Adrar et étude de leurs activités antioxydante et antifongique (Doctoral dissertation, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene).

Sanchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. Internationel Journal of Food Science Technology, 8: 121-137.

Sermakkani, M., & Thangapandian, V. (2012). GC-MS analysis of Cassia italica leaf methanol extract. Asian J Pharm Clin Res, 5(2), 90-94.

Sermakkani, M., et Thangapandian, V. (2012). GC-MS analysis of Cassia italica leaf methanol extract. Asian J Pharm Clin Res, 5(2), 90-94.

Sies H. (1993) – Strategies of antioxidant defense. Europe. Journal. Biochemistry. 215 : 213-219.

Singh, B., Nadkami, J.R., Vishwakarma, R.A., Bharate, S.B., Nivsarkar, M., Anandjiwala, S. 'The hydroalcoholic extract of Cassia alata (Linn.) leaves and its major compound rhein exhibits antiallergic activity via mast cell stabilization and lipoxygenase inhibition". Journal of Ethnopharmacology. (2012). Vol. 1(5). pp. 469-473.

Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., HraS A.R., Simonic M., Knez Z (2005). Phénols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activités. Food chemistry. 89(2). 191-198.

Sripad, G., Prakash, V., & Rao, M. N. (1982). Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents. Journal of Biosciences, 4(2), 145-152.

Stevens, A., Lowe, J., Young, B. (2004). Anatomie pathologique. Edition de boek. p : 2-25.

-T-

Tapiero H., Tew K.D., Ba G.N., Mathe G. (2002). Polyphénols : do they play a role in the prevention of human pathologies. Biomedicine & pharmacotherapy. 56(4): 200-207.

Tawaha K., Alali F.Q., Garaibeh M. and El-elimat T.(2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Journal of Agricultural and, Food Chemistry. 104 : 1372-1378.

Tewari, D., Bawari, S., Patni, P., & Sah, A. N. (2019). Borage (Borago officinalis L.). In Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements (pp. 165-170). Academic Press.

-V-

Vadivu, R., & Lakshmi, K. S. (2008). In vitro and in vivo anti-inflammatory activity of leaves of Symplocos cochinchinensis (Lour) Moore ssp Laurina. Bangladesh Journal of Pharmacology|, 3(2), 121-124.

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

Valnet, J. (1983). Phytothérapie : se soigner par les plantes. Librairie générale française.

-W-

Wang, Y., Yang, C., Li, S., Yang, L., Wang, Y., Zhao, J., & Jiang, Q. (2009). Volatile characteristics of 50 peaches and nectarines evaluated by HP–SPME with GC–MS. Food Chemistry, 116(1), 356-364.

Wichtl, M., & Anton, R. (2003). Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2 e éd. EMInter /Tec & Doc éditions, Paris, 382-386.

Wichtl, M., et Robert, A. ‘’Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique’’. TEC et DOC (2003). pp. 623 – 625.

Wu, Jing Qin, Thomas R. Kosten, et Xiang Yang Zhang. 2013. « Free Radicals, Antioxidant Defense Systems, and Schizophrenia ». Progress in NeuroPsychopharmacology and Biological Psychiatry 46: 200‑206. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.02.015.

Wu, Jing Qin, Thomas R. Kosten, et Xiang Yang Zhang. 2013. « Free Radicals, Antioxidant Defense Systems, and Schizophrenia ». Progress in NeuroPsychopharmacology and Biological Psychiatry 46: 200‑206. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.02.015.

-Y-

Yaner Za., Celik I., Ilhan F., Bal R. 2008; Efects of Urtica urens L. seed on lipid peroxidation , antioxidants and liver pathology in aflatoxin- induced tissue injury in rats. Food and chemical Toxicology 47; 418-424.

Yavan, A. Z. (1997). Türkiye’de İşsizlik: Yapısal ve Yapısal Olmayan Özellikleri. TÜSİAD Tartışma Dizisi-1, İstanbul.

-Z-

Zujko, Me, Am Witkowska, A Waśkiewicz, et E Sygnowska. 2012. « Estimation of Dietary Intake and Patterns of Polyphenol Consumption in Polish Adult Population ». Advances in Medical Sciences 57 (2): 375‑384. https://doi.org/10.2478/v10039-012-0026-6.

Annexes

Annexe 1 :

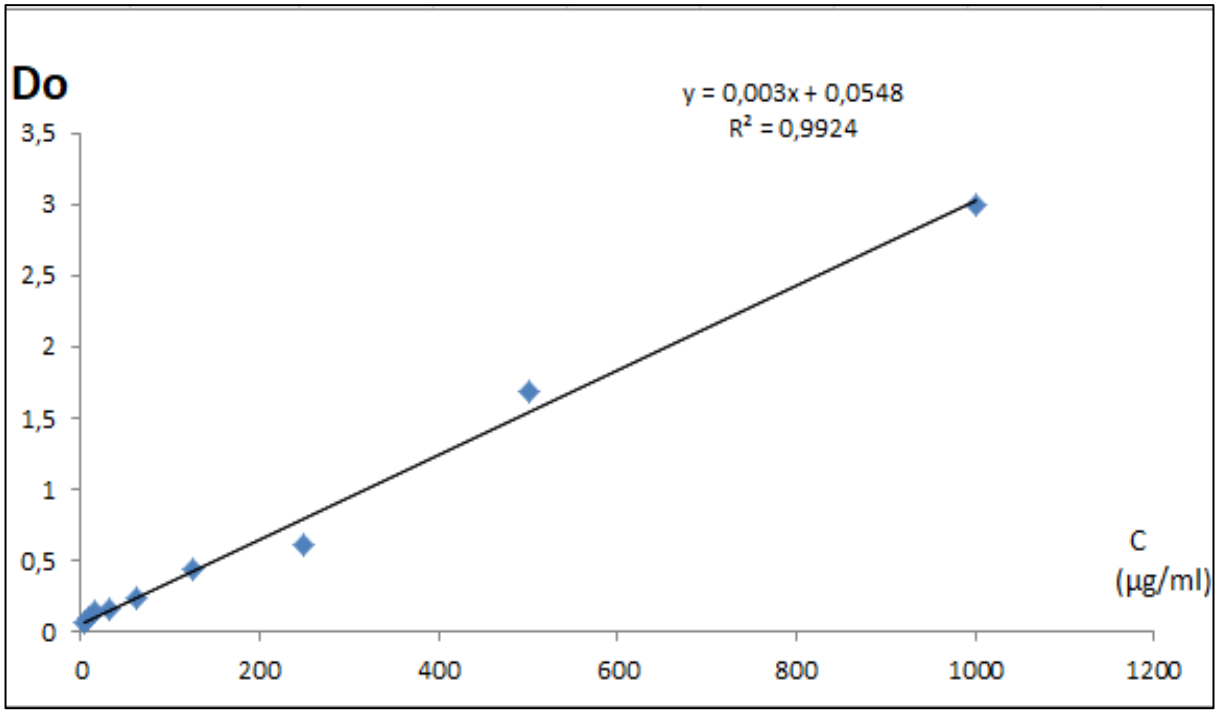


Fig.1. Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Annexe 2 :

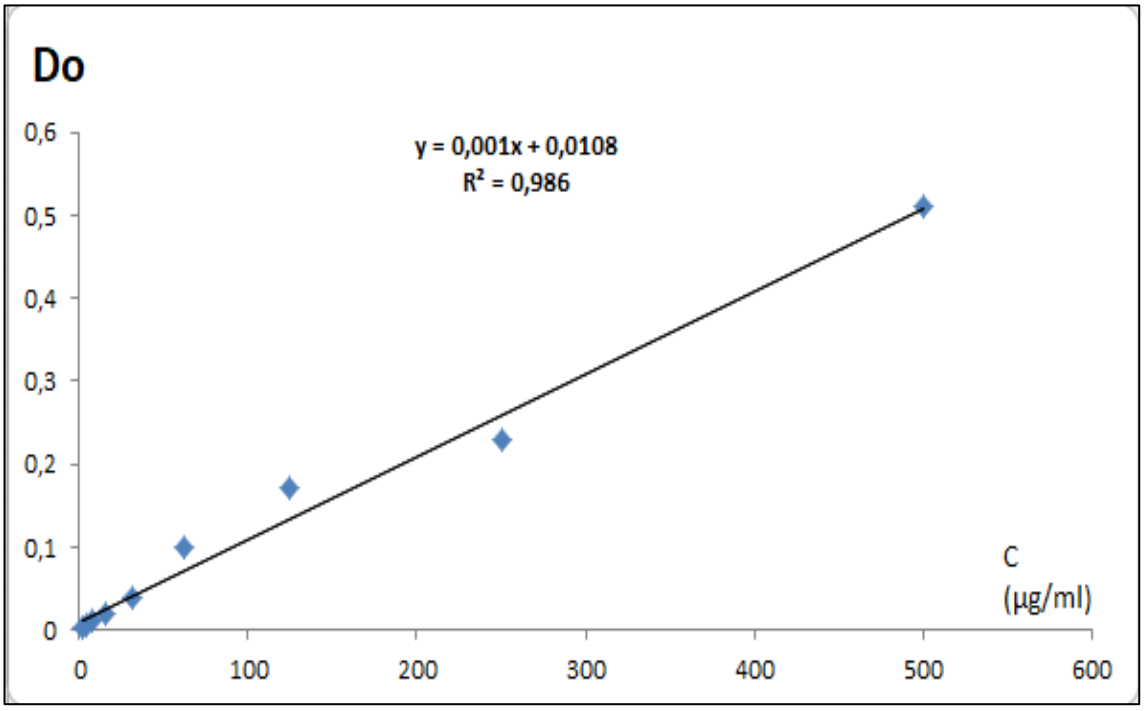


Fig.2. Courbe d'étalonnage de la Quercitine pour le dosage des flavonoïdes.

Annexe 3 :

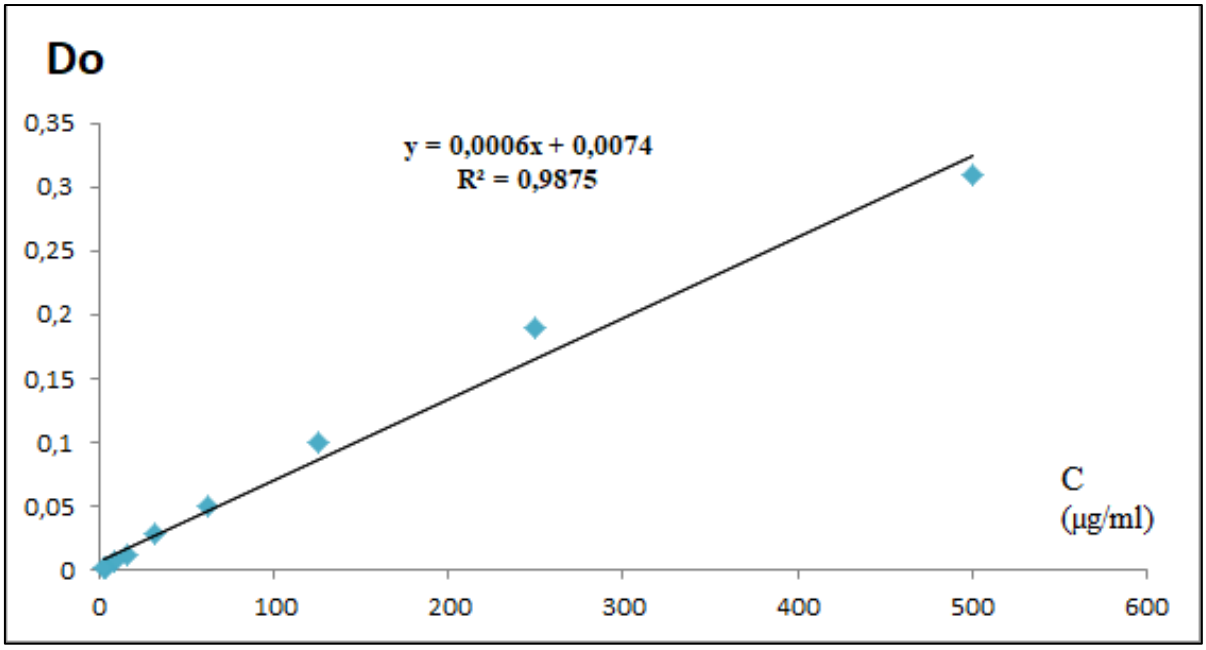


Fig.3. Courbe d'étalonnage de la Quercitine pour le dosage des flavonols.

Annexe 4 :

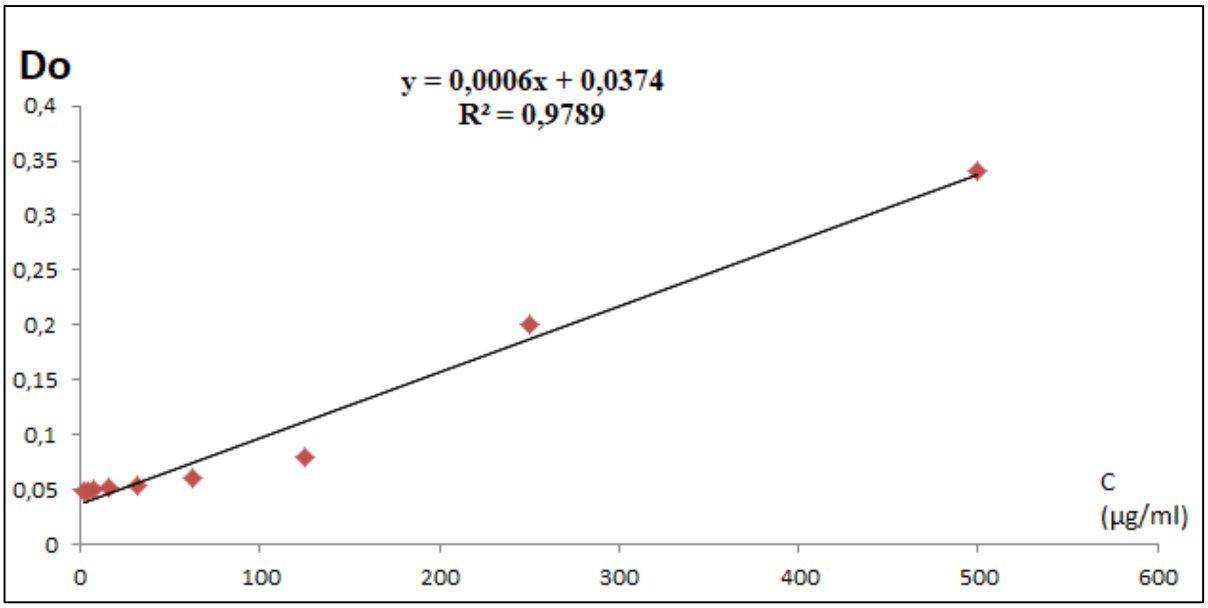


Fig.4. Courbe d'étalonnage de l'acide tannique.

Réalisé par : **MEKAHLI Ismail**
DJEDOUANI Zakaria

Dirigé par : **Mme. BENSAM Moufida**

Date de soutenance : 25/09/2020

Analyse phyto-chimique et évaluation *in vitro* des activités biologiques des extraits hydro-éthanolique et aqueux d'*Urtica urens*.

Résumé :

L'ortie (*Urtica urens*) est une plante herbacée, qui est très utilisée à des fins alimentaires, industrielles et thérapeutiques. Dans ce travail, nous avons évalué *in vitro* les activités anti-radicalaires et anti-inflammatoires des extraits hydro-éthanolique et aqueux des parties aériennes d'*Urtica urens*. L'analyse de la composition chimique par la GC-MS a révélé que les extraits hydro-éthanolique et aqueux comportent 9 et 6 composés respectivement. Le dosage des composés phénoliques a prouvé la richesse des deux extraits de la plante en polyphénols et en flavonoïdes. D'autre part, les résultats obtenus ont exhibé que les deux extraits d'*Urtica urens* possèdent un effet piégeur très puissant vis-à-vis le radical DPPH en indiquant que l'extrait hydro-éthanolique présente le pouvoir anti-radicalaire le plus élevé par rapport à l'extrait aqueux avec 51.3% et 61.37% aux concentrations 500 et 1000 µg/ml. On outre, l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des deux extraits a été évaluée via le test de stabilisation de la membrane des globules rouges. Les résultats obtenus ont montré que les deux extraits ont assuré aux globules rouges une protection importante contre l'hémolyse hypotonique concentration dépendante. L'extrait hydro-éthanolique et aqueux présentent une activité maximale égale à 48,75% ± 0,081 et 47,36% ± 0,081 respectivement, à une concentration de 1 mg/ml.

Mots clés : *Urtica urens*, extrait hydro-éthanolique, extrait aqueux, activité anti-radicalaire, activité anti-inflammatoire.

Summary:

Small nettle (*Urtica urens*) is an herbaceous plant, which is widely used for food, industrial and therapeutic purposes. In this work, we evaluated in vitro the anti-radical and anti-inflammatory activities of hydroethanolic and aqueous extracts of the aerial parts of *Urtica urens*. Analysis of the chemical composition by GC-MS revealed that the hydroethanolic and aqueous extracts contain 9 and 6 compounds respectively. The determination of phenolic compounds proved the richness of the two plant extracts in polyphenols and flavonoids. On the other hand, the results obtained showed that the two extracts of *Urtica urens* have a very powerful trapping effect vis-à-vis the DPPH radical by indicating that the hydroethanolic extract has the anti -Highest free radical compared to aqueous extract with 51.3% and 61.37% at concentrations of 500 and 1000 µg/ml. In addition, the in vitro anti-inflammatory activity of the two extracts was evaluated via the red blood cell membrane stabilization test. The results obtained showed that both extracts provided the red blood cells with significant protection against hypotonic hemolysis dependent concentration. Hydroethanolic and aqueous extract have a maximum activity of 48.75% ± 0.081 and 47.36% ± 0.081 respectively, at a concentration of 1 mg/ml.

Keywords: *Urtica urens*, hydroethanolic extract, aqueous extract, anti-radical activity, anti-inflammatory activity.

الملخص:

القريص (*Urtica urens*) عبارة عن نبات عشبي ، والذي يستخدم على نطاق واسع لأغراض غذائية وصناعية وعلاجية.
في هذا العمل، قمنا بتقييم الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات من المستخلصين المائي الكحولي والمائي للأجزاء الهوائية من *Urtica urens*. كشف تحليل التركيب الكيميائي بواسطة GC-MS أن المستخلصين المائي الكحولي والمائي تحتوي على 9 و6 مركبات على التوالي وقد أثبت تحديد المركبات ان كلا المستخلصين غنية بالبوليفينول و الفلافونويد .ومن ناحية أخرى، أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن كل المستخلصين من *Urtica urens* لهما تأثير قوي جدا فيما يتعلق بالجدر DPPH من خلال الإشارة إلى أن المستخلص المائي الكحولي يحتوي على نشاط اقوى ضد الراديكالية مقارنة مع بالمستخلص المائي بنسبة 51.3 ٪ و 61.37 ٪ بتركيزات 500 و 1000 ميكروغرام/مل. وبالإضافة إلى ذلك، تم تقييم النشاط المضاد للالتهاب في المستخلصين عن طريق اختبار تثبيت غشاء خلايا الدم الحمراء. وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن كلا المستخلصات وفرت لخلايا الدم الحمراء حماية كبيرة من انحلال الدم المتعلق بالتركيز. ويبلغ أقصى نشاط لهما 48.75%± 0.081 و47.36% ± 0.081 على التوالي ، بتركيز 1 ملغ/مل.

كلمات البحث: *Urtica urens*، المستخلص المائي الكحولي، المستخلص المائي، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهاب