

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحي جيجل



Faculté des Sciences de la Nature et
de la Vie

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière: Sciences Biologiques

Option : Sciences pharmacologiques

Thème

Évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioica* L.

Membres de Jury

Présidente: Dr. Salima AISSAOUI

Examinatrice: Dr. Abir REZZAGUI

Encadrante: Dr. Nada ZABAIYOU

Présenté par

Houda SOUKKO

Ilhem DERDOUR

Selma LEBSIR

Année Universitaire 2018-2019

Numéro d'ordre (bibliothèque) :.....



DÉDICACE

Je dédie ce mémoire

A mes parents,

La source de tendresse et l'exemple du dévouement, qui n'ont pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tout l'amour et les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner Depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Que Dieu vous protège et vous garde pour moi.

A mes chers frères Adel et sa femme Aziza, Karim, Ahmed, Mohammed et mes chères sœurs Imane, Samia, Louza et Roukia.

Je dédie ce travail aussi,

A ma tante Khadija et ma grand-mère Massaouda

A mes cousins Aziz, Radouan, Hakim, Mohamed, Hamza et cousines Sara, Bouchra

A Mahmoud, qui m'a toujours aidé et encouragé, qui était toujours à mes côtés, Merci infiniment.

Je dédie aussi ce mémoire à tous mes amies Ilham, Sara, Mona, Manel, Zohra et Wissam

Houda

Je dédie ce travail :

A mon cher père « Ahmed », mon ami, mon enseignant, mon conseiller et mon exemple dans

Cette vie,

Merci d'avoir cru en moi et de m'avoir accompagné durant toutes mes études, merci d'être mon père, je suis fière d'être ta fille.

A ma chère Maman « Zaghda », nul mot ne proviendra jamais à exprimer l'amour que je te porte. Ton amour, ta patience, tes encouragements et tes prières ont été pour moi le gage de la réussite.

Chères parents, je vous aime, que Dieu vous protège et vous garde pour moi

A mes agréables frères, Oussama, Hatem, Badis et mes adorables sœurs, Widad et la

Petite Soundous « Sousou », je j'aime beaucoup

A mes oncles (Amer et Hassan), mes tantes et toute la famille Derdour

A la mémoire de mes grands parents, j'aurais tout aimé que vous soyez présents ; que

Dieu ait vos âmes dans sa sainte miséricorde.

A la meilleure amie au monde, Dalal ; merci pour ta belle amitié.

Je dédie aussi ce mémoire à tous mes amis Meriem, Wafa, Hadjar,

Kawther, Houda et Miyada.....

Ilham

****Remerciements****

Nous remercions en premier lieu Allah, le Tout Puissant de nous avoir doté du courage, de la force et des capacités nécessaires pour pouvoir réaliser ce modeste travail.

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude au **Dr. Nada ZABAIYOU**, pour avoir accepté d'encadrer et diriger ce travail avec une grande rigueur scientifique, pour sa disponibilité et pour la confiance qu'elle nous a accordée tout en nous laissant libre dans notre choix. Nous la remercions ainsi pour ses pertinents conseils, ses orientations et pour les efforts qu'elle avait consentis avec beaucoup de sympathie et de patience, ce qui nous a permis de mener à terme ce projet.*

*Nous profitons de l'occasion pour remercier aussi les membres de jury **Dr. Salima AISSAOUI** et **Dr. Hassiba ROUIBAH** d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer notre travail.*

Nous tenons à remercier aussi :

- ❖ ***Dr. Safia HABILA** : pour sa gentillesse, son aide et ses grands efforts.*
- ❖ ***Dr. Hanane BOUTENNOUN** : pour ses grands efforts, ses conseils.*
- ❖ ***Dr. Asma LAHOUEL** : pour sa gentillesse et ses orientations.*
- ❖ ***Mr. Mohamed SEBTI** : d'avoir accepté d'identifier notre plante.*

*Nous tenons à remercier **Melle Imane, Mme Hayet et Mr. Mokhtar**, ainsi que toute l'équipe de laboratoire de pharmacologie pour sa gentillesse, son aide, sa disponibilité et surtout pour sa patience tout le long de notre travail merci pour tout.*

Enfin je remercie gracieusement toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Merci

Sommaire

Introduction

Rappel bibliographiques

1. Présentation d' <i>Urtica dioica</i> L.	05
1.1. Description Générale des Urticacées	05
1.2. Les différentes espèces de l'ortie	05
1.3. Dénomination, description botanique et systématique d' <i>Urtica dioica</i> L.	05
1.4. Distribution géographique et composition d' <i>Urtica dioica</i> L.	07
1.5. Activités biologiques d' <i>Urtica dioica</i> L.	08
1.6. Principales utilisations d' <i>Urtica dioica</i> L.	09
2. Activité antioxydante et anti-inflammatoire	10
2.1. Activité antioxydante	10
2.1.1. Stress oxydant et production des radicaux libres	10
2.1.2. Systèmes de défense antioxydante	11
2.1.3. Activité antioxydante d' <i>Urtica dioica</i> L.	12
2.2. Activité anti-inflammatoire	13
2.2.1. L'inflammation	13
2.2.2. La réponse inflammatoire	14
2.2.3. Les anti-inflammatoires	15
2.2.4. L'activité anti-inflammatoire d' <i>Urtica dioica</i> L.	16

Matériels et méthodes

1. Animaux et conditions d'élevage	18
2. Matériel végétal	18
2.1. Préparation de l'extrait méthanolique d' <i>Urticadioica</i> L.	19
3. Dosages des polyphénols totaux	19

4. Dosage des flavonoïdes	19
5. Dosage des tanins condensés	20
6. Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique d' <i>UrticadioicaL.</i>	20
6.1. Pouvoir de piégeage du radical DPPH	20
6.2. Pouvoir de piégeage du radical ABTS ^{•+}	21
6.3 Pouvoir réducteur du fer (Fe ³⁺)	21
6.4. Inhibition de l'auto-oxydation dupyrogallol	21
7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique d' <i>UrticadioicaL.</i>	22
7.1. Stabilisation de la membrane des globules rouges	22
7.1.1. Préparation de la suspension des globules rouges	22
7.1.2. Hémolyse induite par solution hypotonique	22
7.2. Test de dénaturation des protéines	23
7.3. Activité inhibitrice des protéases	23
7.4. Test de l'induction de l'œdème plantaire chez la souris	24
8. Etudes statistique	24
Résultats	
1. Rendement d'extraction d' <i>Urtica dioica L.</i>	27
2. Teneur en composés phénoliques des extraits méthanoliques d' <i>Urtica dioica L.</i>	27
3. Pouvoir de piégeage du DPPH [•] des extraits méthanolique d' <i>Urtica dioica L.</i>	29
4. Activité de piégeage du radical ABTS ^{•+} des extraits méthanoliques d' <i>Urtica dioica L.</i>	30
5. Pouvoir d'inhibition de l'auto-oxydation dupyrogallol des extraits méthanoliques d' <i>Urtica dioica L.</i>	31
6. Pouvoir de réduction du fer des extraits méthanoliquesd' <i>Urticadioica L.</i>	32

7. L'extrait méthanolique d' <i>Urtica dioica</i> L. possède une activité inhibitrice de la dénaturation des protéines	33
8. L'extrait méthanolique d' <i>Urtica dioica</i> L. possède une activité de stabilisation de la membrane des globules rouges	34
9. L'extrait méthanolique d' <i>Urtica dioica</i> L. possède une activité inhibitrice de l'action des protéases	35
10. L'extrait méthanolique d' <i>Urtica dioica</i> L. inhibe l'œdème induit par l'injection de la carragénine chez les souris	36
Discussion	40
Conclusion	50
Annexes	52
Références bibliographiques	54

Liste des figures

Fig.1 Différentes parties d' <i>Urtica dioica</i> L.	06
Fig.2 Principales espèces réactives produites dans l'organisme.	11
Fig.3 Activation de la voie NF- κ B au cours de la réponse inflammatoire.	14
Fig.4 Activité antiradicalaire vis-à-vis de radical DPPH'	29
Fig.05 Activité antiradicalaire vis-à-vis du radical ABTS ^{•+} des extraits méthanoliques des feuilles et des racines d' <i>Urtica dioica</i> L. et de l'acide ascorbique	30
Fig.06 Inhibition de l'auto-oxydation du pyrogallol par les extraits méthanoliques des feuilles et des racines d' <i>Urtica dioica</i> L. et de l'acide ascorbique	31
Fig.07 Pouvoir réducteur du fer des extraits méthanoliques des feuilles et des racines d' <i>Urticadioica</i> L. et de l'acide ascorbique	32
Fig.08 Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique des extraits méthanoliques des feuilles et des racines d' <i>Urtica dioica</i> L. et du diclofénac de sodium	33
Fig.09 Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse des extraits méthanoliques des feuilles et des racines d' <i>Urticadioica</i> L. et du diclofénac de sodium.	34
Fig.10 Pourcentage d'inhibition de l'action des protéases (trypsine)	35
Fig.11 Activité anti-inflammatoire des extraits méthanoliques d'UDL exprimée en pourcentage d'inhibition de l'œdème	38

Liste des tableaux

Tableau 1. Rendement d'extraction des extraits méthanoliques (Feuilles et racines d' <i>Urtica dioica</i> L.	27
Tableau 2. Teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés des deux extraits méthanoliques d' <i>Urtica dioica</i> L.	28
Tableau 3. Pourcentages d'augmentation de la taille de la patte des souris induite par l'injection de la carragénine au niveau de l'aponévrose plantaire des souris.	36

Liste des abréviations

ABTS	Acide 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique
ADN	Acide disoxyribonucléique
AINS	Anti- inflammatoire non stéroïdiens
AIS	Anti-inflammatoire stéroïdiens
AlCl₃	Chlorure d'aluminium
Ca²⁺	Calcium
COX	Cyclooxygénase
DPPH	2' 2-Di Phenyl-1-Picryl hydrazyl.
ERO	Espèces réactives de l'oxygène
Fe²⁺	Fer ferreux
Fe³⁺	Ions Ferriques
FeCl₃	Chlorure ferrique
FeSO₄	Sulfate de fer (sulfate ferreux)
GR	Globule rouge
HCl	Acide chlorohydrique.
HDL	High Density Lipoprotein
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
HPB	Hyperplasie prostatique bénigne
EC50	La concentration qui correspond à 50% d'efficacité
IL	Interleukines
IFN γ	Interféron γ
JAK/STAT	Janus kinase-signal transducer and activator of transcription
K₃Fe(CN)₆	Ferricyanure de potassium
LDL	Low Density Lipoprotein

MAPK	Mitogen-Activated Protein kinase
NF-κB	Nuclear Factor-kappa B
NADPH	Ubiquinone oxydo reductase
NO[°]	Oxyde nitrique
O₂	Oxygène
¹O₂	Oxygène singulet.
O₂⁻	Anion super oxyde
[•]OH	Radicale hydroxyle
ONOO[°]	Anion peroxydinitrite
PBS	Phosphat buffered saline
PG	Prostaglandines
pH	Potentiel hydrogène
rpm	Rotation par minute
SHBG	SexHormon Binding Globulin
SOD	Superoxyde dismutase
TCA	Trichloroacétique Acide
TNF	Tumor Necrosis Factor (facteur de nécrose tumorale)
UDL	<i>Urtica dioïca L.</i>

Introduction

Introduction

La relation entre les antioxydants et diverses maladies comme le cancer, les maladies inflammatoires, le diabète et les maladies cardiovasculaires, est un sujet qui retient actuellement l'attention de nombreux chercheurs. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) résultent des processus d'oxydation dans l'organisme vivant, dans le cadre du métabolisme cellulaire normal. Elles sont représentées par l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle. À faibles doses, elles sont utiles et jouent un rôle physiologique en intervenant dans les processus de signalisation cellulaire. Lorsque le système antioxydant endogène est déficient, les ERO endommagent les protéines, l'ADN et les lipides. Il est donc essentiel de rechercher et d'identifier des sources exogènes d'antioxydants susceptibles de réduire les effets des ERO (Andreicut et al., 2018).

L'inflammation est un processus biologique crucial pour le maintien de l'homéostasie cellulaire. Elle est indispensable pour combattre les agents pathogènes et pour réparer les tissus endommagés. Cependant, les processus inflammatoires sont également impliqués dans l'apparition et la persistance de nombreux troubles graves, tels que la polyarthrite rhumatoïde, l'asthme, les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, le diabète de type 2, les maladies neurodégénératives et le cancer (Fürst and Zündorf, 2014). Le répertoire actuellement disponible des agents anti-inflammatoires approuvés comprend principalement les anti-inflammatoires stéroïdiens et les anti-inflammatoires non stéroïdiens. Mais, malgré cet arsenal, le traitement n'est souvent pas assez efficace ou est entravé par des effets secondaires intolérables. Ainsi, la découverte de nouveaux composés anti-inflammatoires constitue toujours une nécessité (Fürst and Zündorf, 2014).

Les plantes médicinales représentent une source remarquable dans le traitement de diverses maladies humaines. Ils font actuellement l'objet des recherches modernes en raison de leur grande diversité chimique et biologique et de la diversité de leurs composés aux activités biologiques prometteuses (Ribeiro, 2018).

On estime que plus de 25 % des médicaments sont des médicaments à base de plantes. Ces médicaments ont une meilleure compatibilité avec le corps humain plus efficaces et produisant de moindres effets indésirables (Nidavani et Mahalakshmi, 2014).

Parmi les plantes les plus utilisées dans la médecine traditionnelle il y a *Urtica dioica* Linn (*Urtica dioica* L.) qui porte le nom commun de l'ortie (Ghedira et al., 2009). C'est une plante herbacée vivace, appartenant à la famille des *Urticacées* et du genre *Urtica*, utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement de plusieurs maladies tels que : la jaunisses, les

hémorragies et le rhumatisme (Bhuwan et al., 2014), et possède une bonne activité antioxydante (Bourgeois et al., 2016). Elle est riche en diverses molécules bioactives comme que les flavonoïdes, les tanins... (Safanah et al., 2014).

Peu d'études ont été réalisées sur l'activité antioxyante et anti-inflammatoire d'*Urtica dioica L.* et d'après nos connaissances aucun travail n'a été publié dans ce contexte étudiant les effets antioxydants et anti-inflammatoires d'*Urtica dioica L.* de Jijel. Le but de ce travail est donc :

- D'évaluer l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de deux parties de la plante *Urtica dioica L.* (feuilles et racines) de Jijel par des tests *in vitro*.
- D'évaluer l'activité anti-inflammatoire de ces deux extraits *in vitro* et aussi *in vivo* sur un modèle animal d'inflammation induite chez la souris *Wistar*.

Cette étude sera complétée par une étude phytochimique par la quantification des teneurs de ces extraits en composés bioactifs.

Rappels

bibliographiques

1. Présentation d'*Urtica dioica* L.

1.1. Description Générale des Urticacées

Les *Urticacées* sont des plantes herbacées, élancées à feuilles stipulées opposées par deux et à petites fleurs unisexuées. Les fleurs mâles possèdent quatre sépales et quatre étamines, les fleurs femelles sont formées de quatre sépales et d'un carpelle, et donnent naissance à un fruit sec "un akène". Cette famille rassemble 48 genres pour environ 1000 espèces que l'on retrouve répartis essentiellement en régions tropicales et en régions tempérées (Bertrand, 2002).

Deux espèces d'orties sont fréquemment rencontrées : la grande ortie (*Urtica dioica* L.) et la petite ortie (*Urtica urens* L.). Ces deux espèces de la famille Urticacée sont originaires de l'Eurasie (Semalty et al., 2017).

La caractéristique principale de la famille des urticacées est de présenter des poils urticants (acide formique) sur les feuilles (Crémer et al., 2008).

1.2. Les différentes espèces de l'ortie

Dans le genre *Urtica*, il existe une cinquantaine d'espèces, dont une trentaine en régions tempérées, huit en Europe et cinq en France. Les principales espèces du genre *Urtica* sont *U. dioica* L., *U. urens* L., *U. pilulifera* L., *U. atrovirens* et *U. membranacea* (Delahaye, 2015).

1.3. Dénomination, description botanique et systématique d'*Urtica dioica* L.

Le nom du genre *Urtica* vient de verbe latin *urere*, qui signifie piquer, et plus précisément de *uro*, qui signifie brûler par friction (Bourgeois et al., 2016).

En latin, le terme *dioïca* signifie « deux maisons ». Cette origine étymologique indique qu'il existe des pieds mâles et des pieds femelles (Semalty et al., 2017).

Urtica dioïca L. est connue sous plusieurs noms dans le monde. D'après Ghedira et al. (Ghedira et al., 2009), les noms vernaculaires d' *Urtica dioïca* L. sont les suivants :

Arabe : Elhourayga, Kabyle : Azagtouf, Français : Ortie, Ortie commune, Grande ortie, Ortie dioïque, Ortie vivace, Anglais: Common nettle, Stinging nettle, Nettle leaf, ...

Urtica dioïca L. appartenant à la famille des Urticacées et au genre *Urtica*. C'est une plante sauvage, dioïque, vivace et tempérée qui préfère les sols humides et riches en nutriments, les endroits éclairés, le climat chaud et doux et a tendance à pousser par grandes surfaces

(Bakhshae_et al., 2017). Ses feuilles sont brillantes, de couleur vert foncé, stipulées, opposées, pétiolés, ovales et dentés.

La tige d'*Urtica dioïca L.* est recouverte de poils glandulaires dressés contenant un liquide urticant riche en histamine, en acétylcholine et en sérotonine (Bourgeois et al., 2016 ; Semalty et al., 2017), (Figure 1).



Fig.1 Différentes parties d'*Urtica dioïca L.* (a) *Urtica dioïca* Linn. Plante entière; (b) fleur; (c) trichomes; (d) racines; (e) feuille (Joshi et al., 2014).

Selon Quézel et Santa (Quézel et Santa, 1963), *Urtica dioïca L.* appartient au :

- Règne : Plantae (plantes)
- Sous-règne : Tracheobionta (plantes vasculaire)
- Embranchement : Magnoliophyta (phanérogames)
- Sous-embranchement : Magnoliophytina (angiospermes)
- Classe : Rosidae
- Sous-classe : Rosidaealycarpellées.
- Ordre : Rosales.
- Famille : Urticacées, Urticaceae.
- Genre : *Urtica L.*

- Espèces : *Urtica dioica*.

1.4. Distribution géographique et composition d'*Urtica dioica* L.

Originnaire d'Eurasie, *Urtica dioica* L. s'est répandue dans toutes les régions tempérées et régions tropicales du monde. On la rencontre plus en Europe du Nord qu'en Europe du Sud, en Afrique du nord, en Asie et est largement distribuée en Amérique du Nord et du Sud (Joshi et al., 2014).

Des études *in vivo* et *in vitro* ont été réalisées sur la plante *Urtica dioica* L. et ont révélé la présence de différents constituants chimiques: huiles essentielles, flavonoïdes (la quercétine, l'isoquercitrine, l'astragaline, la rutine...), tanins, composés volatils, acides gras, polysaccharides, isolectines, terpènes (carotène), (Ait Haj Said et al., 2016), enzymes végétales, phénylpropanes, coumarines, acide formique, quantités élevées de chlorophylle, stérols, lignanes, terpénoïdes, sels de potassium, lectines, (Yilmaz et al., 2014) vitamines (A, C, B1 et B2...), protéines (albumines), silicium, potassium, calcium, acide butyrique et acide caféique (Ranjbari et al., 2016).

Les feuilles d'*Urtica dioica* L. constituent une bonne source d'acides aminés essentiels, d'acide ascorbique, des glucides, des éléments minéraux tels que le calcium, le potassium, le phosphore, le magnésium, le fer, le sodium et le zinc, d'acides gras comprenant l'acide alpha-linolénique, les caroténoïdes comme les isomères de la lutéine et les isomères du bêta-carotène, des phénols tels que l'acide férulique, l'acide gallique, l'acide syringique, des flavonoïdes (les catéchines et les épicatechines), et d'autres substances comprennent la violaxanthine, la néoxanthine et l'acide caféique (Gorgani et al., 2017).

En 2014, Safanah et al. (Safanah et al., 2014) ont montré que les feuilles d'*Urtica dioica* L. du Congo sont riches en alcaloïdes, flavonoïdes, polyphénols, saponines, terpènes, et anthocyanes. Une autre étude menée par Joshi et ses collaborateurs (Joshi et al., 2014), a montré que les poils urticants d'*Urtica dioica* L. contiennent de l'histamine, de l'acétylcholine, du 5-hydroxytryptamine (sérotonine) et de l'acide formique, qui sont responsables de l'effet urticant de la plante.

1.5. Activités biologiques d'*Urtica dioica* L.

Urtica dioica L. est une plante médicinale utilisée depuis des siècles en médecine traditionnelle comme remède naturel pour ses vertus thérapeutiques tels que l'arthrite, les rhumatismes et l'eczéma (Ait Haj Said et al., 2016).

Ces dernières années, plusieurs études ont été réalisées afin d'examiner et confirmer les propriétés médicinales de l'ortie et d'étudier les mécanismes biochimiques sous-jacents de ses activités. Néanmoins, des essais cliniques de confirmation chez l'homme sont encore nécessaires. L'usage intensif d'ortie en médecine et l'entrée de ses produits dans l'industrie pharmaceutique (comme des capsules orales et des solutions topiques, seuls ou en association avec d'autres plantes) incitent une connaissance précise des propriétés pharmacologiques de cette plante (Bakhshaei et al., 2017).

Une étude récente a montré que les composants chimiques de la racine d'*Urtica dioica* L. peuvent interférer avec le mécanisme impliqué dans la pathogenèse de l'hyperplasie bénigne de la prostate (HPB) (Bourgeois et al., 2016), par inhibition de l'activité enzymatique de la membrane des cellules prostatiques et donc l'arrêt de sa croissance mais aussi par la diminution de la production des œstrogènes.

Les lignanes, issues de l'extrait de racines inhibent non seulement la fixation des androgènes à leurs protéines transporteuses SHBG (Sex Hormon Binding Globulin), mais aussi la fixation de ces hormones à leurs récepteurs, inhibant ainsi leur activité proliférative sur les tissus prostatiques (Ait Haj Said et al., 2016).

Urtica dioica L. possède une excellente activité antioxydante, anti-inflammatoire, analgésique et antidiabétique. Cette dernière est due à l'inhibition de l'absorption intestinale du glucose et la stimulation de la sécrétion d'insuline et donc une activité protectrice sur les cellules β pancréatique (Ahangarpour et al., 2012).

Il est connu que le rapport LDL/HDL est un indicateur important des maladies cardiovasculaires et la concentration élevée du cholestérol dans le sang augmente le risque de développement d'athérosclérose. Il a été montré qu'*Urtica dioica* L. est capable de diminuer ce rapport à une faible concentration et que cette diminution peut être due à la réduction de leptines sériques. Ceci est très important pour la prévention de plusieurs maladies telle que : l'athérosclérose, l'hypertrophie des muscles lisses et bien sûr les maladies cardiovasculaire (El Haouari et Rosado, 2019).

Qayyum et ses collaborateurs (Qayyum et al., 2016) ont montré que l'extrait des feuilles d'*Urtica dioica L.* (UDL) contient des constituants antihypertenseurs et vasodilatateurs agissant à la fois sur les cellules endothéliales vasculaires et les cellules musculaires lisses et libère du NO afin de bloquer les mouvement de Ca^{2+} . Ces deux mécanismes soutiennent l'effet vasodilatateur de l'UDL et expliquent son activité antihypertensive.

Une étude réalisée par Salih et ses collaborateurs (Salih et al., 2014) a montré que *Urtica dioica L.* possède une activité anti bactérienne contre plusieurs bactéries telles que *staphylococcus aureus*, salmonella et pseudomonas par inhibition de leur croissance. Par contre, elle n'a montré aucun effet sur *E. coli*.

Par ailleurs, des études réalisées sur les feuilles d'*Urtica dioica L.* ont montré qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire à deux dose différents (50 et 100 mg/kg) et que cet effet obtenu est essentiellement attribué à la quercétine-3-O-rutinoside, au kaempherol-3-O-rutinosid et à l'isorhamnetin-3-O-glucoside. Les lectines isolées à partir d'*Urtica dioica L.* se sont révélées également être des agents immunomodulateurs très prometteurs, ayant aussi des effets anti-viraux et fongostatiques (Chrubasik et al., 2007).

Il a été également rapporté que *Urtica dioica L.* a également des effets contre l'hyperthyroïdie, la bronchite, l'Alzheimer, l'ulcère (Ait Haj Said et al., 2016), l'asthme (Semalty et al., 2017), l'anémie (Bouassida et al., 2017) et l'hémorragie (Sandru et al., 2016) mais les mécanismes moléculaires nécessitent d'être élucidés.

1.6. Principales utilisations d'*Urtica dioica L.*

Depuis l'antiquité, *Urtica dioica L.* a été utilisé dans plusieurs produits cosmétiques tels que les shampooings, les dentifrices et les crèmes, en raison de nombreux effets bénéfiques de leurs applications topiques sur la santé de la peau, en particulier l'effet anti-âge (Semelty et al., 2017).

Urtica dioica L. est aussi utilisée dans la fabrication des médicaments, des aliments, des colorants, dans l'industrie de textile et en teinture (Kjuma et al., 2015).

2. Activité antioxydante et anti-inflammatoire

2.1. Activité antioxydante

2.1.1. Stress oxydant et production des radicaux libres

Au cours des deux dernières décennies, des recherches biologiques s'intéressaient à étudier le concept « Stress oxydant » (Rahal et al., 2014). En 1991, Sies a défini la notion de stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactives de l'oxygène (ERO) dus à un déséquilibre lié soit à une production accrue des ERO, soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante (Defraigne et Pincemail, 2008).

Tan et ses collaborateurs (Tan et al., 2018) ont montré que le stress oxydant joue un rôle crucial dans l'apparition des maladies liées à l'âge notamment l'arthrite, le diabète, la démence, le cancer, l'athérosclérose, les maladies cardiovasculaires, l'obésité, l'ostéoporose et les syndromes métaboliques.

La réduction de l'oxygène moléculaire en eau au niveau de la membrane mitochondriale est un processus complexe qui peut conduire à la formation des espèces réactive de l'oxygène (Schoots et al., 2018).

Les ERO sont des radicaux libres, qui sont par définition des espèces chimiques possédant un électron célibataire sur leur couches périphériques ce qui leur confère un fort degré de réactivité (Migdale et Serres, 2011). Les ERO peuvent être des espèces radicalaires tels que le radical hydroxyle ($\cdot\text{OH}$) et le radical superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$) ou des espèces non radicalaires comme l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Semalty, 2017).

Les ERO peuvent être bénéfiques ou néfastes pour l'organisme. Les niveaux excessifs des ERO endommagent la plupart des macromolécules cellulaires tels que les protéines, les lipides et l'ADN et entraînent un état appelé stress oxydant (Perera et al., 2018), (Figure 2). La production de ces ERO au sein de l'organisme est un processus physiologique en réponse à divers facteurs exogènes tels que les infections, les toxines, le tabac, les rayonnements ionisants et les rayons ultraviolets (Thorin-Trescases et al., 2013).

Dans l'organisme, la mitochondrie représente le site majeur de production des ERO. Au cours du transfert d'électrons et au niveau de la chaîne mitochondriale environ 2 % d' O_2 consommé est transformé en anion superoxyde à cause des fuites d'électrons. Dans la mitochondrie il existe de nombreux sites où les ERO pourraient potentiellement être générées : le complexe I

(NADPH : ubiquinone oxydo réductase), le complexe III (upiquinol : cytochrome c réductase) et la chaîne de transport des électrons (ETC) (Reiter et al., 2018).

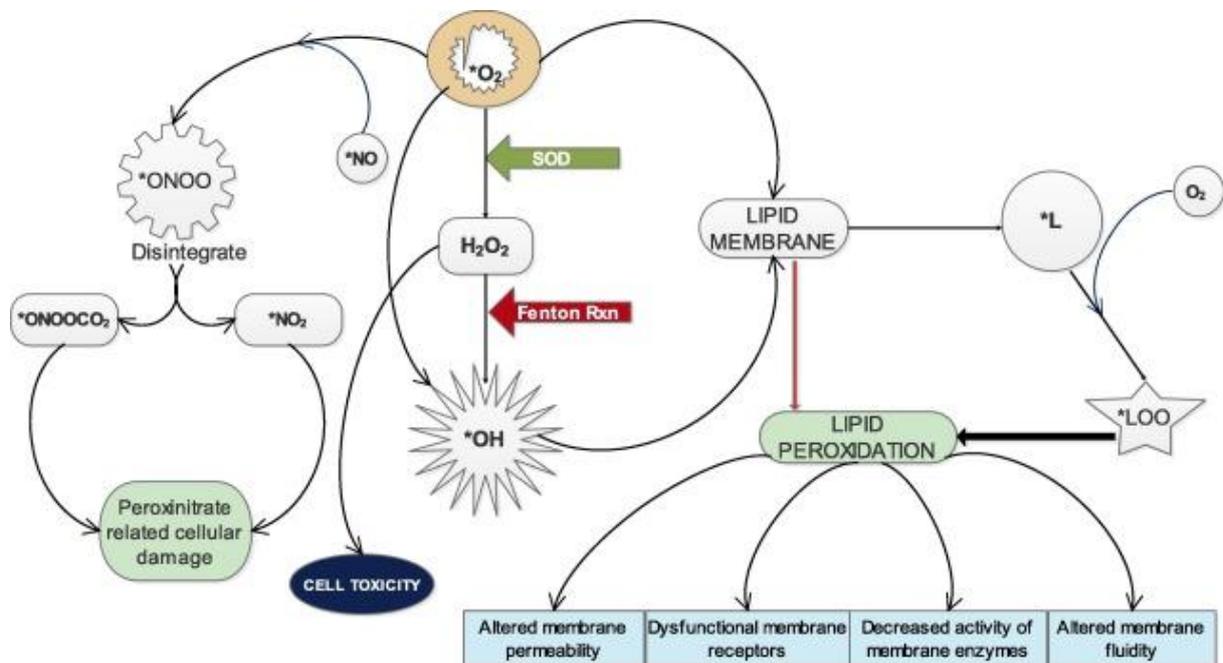


Fig.2 Principales espèces réactives produites dans l'organisme. ($*O_2$) anion superoxyde, radical hydroxyle ($*OH$), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), radical lipidique ($*L$), radical peroxy-lipidique ($*LOO$), peroxynitrate ($ONOO^-$), radical d'oxide nitrique ($*NO$), nitrosoperoxycarbonate ($ONOOCO_2^-$), radical dioxyde du nitrogène ($*NO_2^-$) (Ighodaro et Akinloye, 2018).

2.1.2. Systèmes de défense antioxydante

Différents mécanismes cellulaires de réparation, de défense et de maintien de l'homéostasie sont continuellement activés au cours de la vie. Ces mécanismes permettent d'établir un équilibre temporaire face aux agressions successives endogènes et exogènes (Semalty et al., 2017).

Le mécanisme de défense antioxydante est l'un des systèmes de défense qui permettent de prévenir l'organisme ou neutraliser les effets nocifs des ERO (Lushchak, 2014).

Les ERO sont présentes dans la cellule à de bas niveaux, leur concentration est régulée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par les systèmes antioxydants (Schoots et al., 2018). Ces derniers peuvent être endogènes ou exogènes. Les antioxydants endogènes peuvent être non enzymatiques, tels que le glutathion, l'acide alpha-

lipoïque, le coenzyme Q, la ferritine, l'acide urique, la bilirubine, la métallothionéine, la l-carnitine, la mélatonine, l'albumine ainsi que les cofacteurs des enzymes antioxydantes, ou enzymatiques, tels que la superoxyde dismutase qui transforme l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, la catalase qui décompose le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire, la glutathion peroxydase qui réduit les peroxydes, les thiorédoxines et les peroxyredoxines. Les peroxyredoxines régulent les niveaux de peroxyde induits par les cytokines et interviennent dans la transduction du signal cellulaire (Semalty et al., 2017).

Outre les antioxydants endogènes, enzymatiques et non enzymatiques, il existe également des antioxydants exogènes d'origine alimentaire représentés par les caroténoïdes, les tocophérols, la vitamine D, les acides phénoliques, les flavonoïdes et l'acide ascorbique. Leurs sources sont les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques et les compléments alimentaires. Ils jouent un rôle très important dans la lutte contre les espèces réactives oxygénées, lorsque les composés endogènes ne sont pas en mesure d'assurer une protection complète (Rajendran et al., 2014).

Les études épidémiologiques confirment que la consommation de fruits et de légumes riches en composés possédant une activité antioxydante élevée réduit l'incidence des états liés au stress oxydant. Les aliments contenant des antioxydants et les nutriments antioxydants jouent un rôle important dans la prévention contre diverses maladies (Pisoschi et al., 2016).

2.1.3. Activité antioxydante d'*Urtica dioica* L.

Des études ont été réalisées sur *Urtica dioica* L. et ont montré que l'extrait de ce dernière est riche de composés bioactifs responsables de l'activité antioxydante comme les polyphénols qui jouent un rôle important dans la stabilisation de la peroxydation lipidique et l'inhibition de la mutagenèse et la carcinogenèse (Semalty et al., 2017).

D'autres études ont rapporté que l'extrait méthanolique d'*Urtica dioica* L. possède une activité antioxydante significative, due à sa richesse en composés phénoliques, qui ont la capacité de piéger les ERO tels que l'oxygène singulet, le radical hydroxyle et l'oxyde nitrique (KassimGhaima et al., 2013 ; Sidaoui et al., 2015). L'étude de Katakai et al. (Katakai et al., 2012) sur des rats traités au tétrachlorométhane (ccl4) a montré qu'*Urtica dioica* L. diminue la peroxydation lipidique et augmente l'activité du système antioxydant. Cette activité antioxydante est corrélée à sa teneur en composés phénoliques.

Urtica dioica L. Peut également induire l'inhibition des enzymes de la dégradation de la matrice extracellulaire telles que l'élastase et la collagénase. Ces effets peuvent être attribués principalement à l'acide ursolique et la quercétine. L'acide ursolique, principalement accumulé dans les racines de l'ortie, est un inhibiteur bien connu de l'élastase alors que la quercétine, qui est principalement accumulée dans les feuilles, est l'un des antioxydants les plus importants (Das et al., 2018).

2.2. Activité anti-inflammatoire

2.2.1. L'inflammation

L'inflammation est un processus impliqué dans la pathogénèse et la progression de plusieurs maladies. Elle est générée lorsque des microorganismes infectieux (bactéries, virus, champignons...) envahissent le corps, ces microorganismes résident dans des tissus particuliers et/ou circulent dans le sang.

L'inflammation peut également se produire en réponse à des processus tels que les lésions tissulaires, le cancer, l'ischémie et la dégénérescence (Azab et al., 2016).

L'excès des ERO peut aussi entraîner une inflammation par la stimulation des cytokines et l'activation des enzymes pro-inflammatoires (la lipoxycgénase, l'hyaluronidase et la xanthine oxydase) (Perera et al., 2018).

Ce processus est caractérisé par une dilatation vasculaire, une perméabilité accrue des capillaires, une augmentation du flux sanguin et le recrutement des leucocytes. Les neutrophiles polymorphonucléaires sont parmi les premiers répondeurs leucocytaires à s'accumuler dans le site enflammé. Ces cellules sont cruciales en tant que première ligne de défense du système immunitaire inné en raison de leurs fonctions phagocytaires et microbicides en libérant différentes protéases et enzymes lysosomales. Ensuite, les cellules mononucléées, les monocytes et les macrophages pénètrent dans le site inflammatoire et éliminent les débris cellulaires et les neutrophiles polymorphonucléaires apoptotiques par phagocytose sans prolonger l'inflammation (Freire and Van Dyke, 2014).

2.2.2. La réponse inflammatoire

Les stimuli inflammatoires, précisément les cytokines proinflammatoires telles que le TNF, l'IL-1 β et l'IL-6 ainsi que les produits bactériens sont d'abord reconnus par les cellules hôtes par le biais de récepteurs membranaires spécifiques. Les interactions de ces récepteurs avec les stimuli appropriés ont pour résultat la transmission de signaux au noyau à travers l'activation de différentes voies de signalisation comme la voie NF- κ B (*nuclear factor kappa-B*), la voie JAK/STAT (*Janus kinase-signal transducer and activator of transcription*) et la voie des MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) où l'activation d'un ensemble sélectif de gènes aura lieu et qui conduit à la production de cytokines et de chimiokines inflammatoires (Ribeiro et al., 2018) (Figure 3).

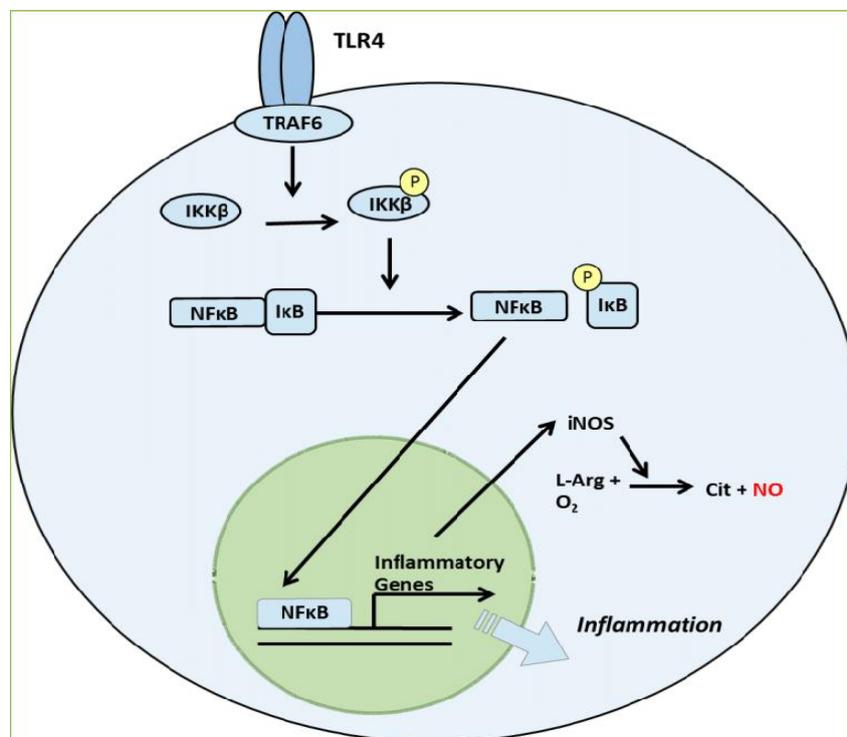


Fig.3 Activation de la voie NF- κ B au cours de la réponse inflammatoire. La voie canonique NF κ B est induite par une grande variété de signaux tels que les récepteurs TLR4 (*Toll Like Receptor*) (présenté à titre d'exemple) et un certain nombre de cytokines. L'induction de la voie implique un certain nombre d'adaptateurs (non représentés) qui provoquent la phosphorylation de la sous-unité IKK β d'IKK. À son tour, la phosphorylation par IKK β des protéines I κ B liées à NF κ B conduit à une ubiquitylation des protéines I κ B, ce qui va libérer le NF κ B qui va se transloquer dans le noyau où il se lie à l'ADN au niveau de séquences spécifiques appelées sites κ B et contrôle la transcription des gènes cibles (Le Sommer et al., 2015).

Une variété de médiateurs chimiques issus du système circulatoire, de cellules inflammatoires et de tissus lésés contribuent aussi activement à la réponse inflammatoire et l'ajustent. Les médiateurs chimiques libérés comprennent des amines vaso-actives telles que l'histamine et la sérotonine, un peptide (par exemple, la bradykinine) et des éicosanoïdes (par exemple, des thromboxanes, des leucotriènes et des prostaglandines) (Abdulkhaleq et al., 2018). L'acide arachidonique, qui représente le composant principal des phospholipides membranaires dans toutes les cellules, est l'un des substrats les plus importants dans la synthèse de médiateurs biologiquement actifs de l'inflammation appelés éicosanoïdes (Mak et al., 2013). Ce dernier comprend les produits de la 5-lipoxygénase (leucotriène et acide 5-hydroxyeicosatétraénoïque), des cyclooxygénases (prostaglandines et thromboxanes) et de la 12-lipoxygénase (acide 12-hydroxyeicosatétraénoïque) (Piomelli, 2013).

La cyclooxygénase est une enzyme impliquée dans la synthèse des protéinoïdes, notamment les prostaglandines proinflammatoires et le métabolisme de l'acide arachidonique, qui existe dans au moins deux isoformes: la cyclooxygénase-1 et la -2. La cyclooxygénase-1 est produite de manière constitutive dans la plupart des types de cellules de mammifère et des plaquettes. Elle est également sécrétée dans l'endothélium vasculaire, l'estomac, le cerveau antérieur, l'épithélium utérin et les reins. D'autre part, la cyclooxygénase-1 (et pas seulement la cyclooxygénase-2) a un rôle pathologique dans l'organisme de l'animal et peut également être stimulée au site de l'inflammation (Cronkite et Strutt, 2018).

2.2.3. Les anti-inflammatoires

Le traitement général de l'inflammation repose sur l'utilisation des anti-inflammatoires stéroïdiens (betaméthasone, prednisolone et dexaméthasone) et des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (aspirine, diclofénac, ibuprofène, indométhacine, naproxène et celecoxibe) (Sylvia et al, 2013).

Les anti-inflammatoires stéroïdiens sont dérivés du cortisol et ont une capacité à stabiliser les membranes et à diminuer la perméabilité capillaire ce qui empêche la perte des protéines plasmatiques dans les tissus.

Ils peuvent également interférer avec l'activation de la voie du complément et avec la formation et la libération des médiateurs chimiques dérivés d'acide arachidonique tels que les leucotriènes (Shaikh et al., 2012).

Les principales actions thérapeutiques des AINS sont liées à leur capacité à bloquer la synthèse des prostaglandines (PG) par l'inhibition des enzymes cyclooxygénases (COX-1 et COX-2). La

COX-1 produit des prostaglandines et du thromboxane A₂ qui contrôlent la barrière muqueuse dans le tractus gastro-intestinal, l'homéostasie rénale, l'agrégation plaquettaire et d'autres fonctions physiologiques. La COX-2 produit des PG liées à l'inflammation, à la douleur et à la fièvre. La COX-1 est exprimée dans les cellules normales, tandis que la COX-2 est induite dans les cellules inflammatoires. L'inhibition de la COX-2 représente l'effet recherché de la réponse anti-inflammatoire, antipyrétique et analgésique des AINS; tandis que l'inhibition de la COX-1 joue un rôle majeur dans les effets secondaires indésirables tels que les toxicités gastro-intestinales et rénales (Amjad, 2012, Wongrakpanich, 2018).

2.2.4. L'activité anti-inflammatoire d'*Urtica dioica* L.

Il a été montré que l'extrait des feuilles d'*Urtica dioica* L., exerce un pouvoir inhibiteur sur le système NFκB et réduit la synthèse des médiateurs lipidiques et des cytokines pro-inflammatoires (Roschek et al., 2009 ; Joshi et al., 2014).

Hashemi et ses collaborateurs (Hashemi et al., 2013) ont évalué l'effet anti-inflammatoire de l'extrait hydro alcoolique de la plante *Urtica dioica* L.. Le résultat confirme que cet extrait inhibe de 26 % l'œdème au niveau de la patte des rats à une dose de 400 mg/kg.

D'autre part, il a été aussi révélé que l'extrait des feuilles diminue la libération des interleukines IL-2 et IL41β, de l'interféron γ (IFNγ) et des facteurs TNF-α et TNF-κ (*TNF* : *Tumour necrosis factor*) (Yilmaz et al., 2014).

Matériels

&

Méthodes

Matériels et méthodes

Notre travail consiste à étudier l'effet antioxydant et anti-inflammatoire d'un extrait méthanolique d'*Urtica dioica L.*. L'ensemble des expérimentations (*in vitro* et *in vivo*) ont été effectuées au niveau du laboratoire de pharmacologie et à l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université de Jijel.

1. Animaux et conditions d'élevage

Les expérimentations animales ont été réalisées sur des souris femelles *Wistar* albinos (Institut Pasteur d'Alger) âgés de 30 jours et ayant un poids moyen de 25 g. Les animaux ont été maintenus dans des cages en plastique à une température située entre 20 et 25°C, avec accès libre à l'eau et à la nourriture.

2. Matériel végétal

Sur la base de leur utilisation traditionnelle, notre étude a été réalisée sur des échantillons des feuilles et des racines de l'ortie (*Urtica dioica L.*), qui ont été récoltés au début du mois de février 2019 dans la région de Chadia (Kaous) (Latitude N 36.755506, Longitude E 5.807074) à 10 km au Nord-Est de la wilaya de Jijel. Leur identification a été effectuée par Mr. Sebti M., enseignant bostaniste au niveau de l'université de Jijel : inflorescence en panicule ou en grappe ramifiée, plante vivace à souche traçante, monoïque en Algérie, ravins des montagnes humides, nitrophile. **AC: K1-2-3. AR: A1-2, Cosm. Mar, Alg, Tun, Lyb**, nom scientifique : *Urtica dioica L.* variété : Procera Mill, **AC:** assez commune en grande (**K1**) et petite (**K2**) kabylie jusqu'aux frontières algéro-tunisiennes (**K3**), **AR:** assez rare, **Cosm. :** Cosmopolite. Répartie sur Maroc, Algérie, Tunisie et Lybie (Quezel et Santa, 1963).

Après la récolte, la plante d'*Urtica dioica L.* a été lavée par l'eau de robinet pour éliminer la poussière, puis rincée par l'eau distillée pour éviter la présence des impuretés.

Le séchage d'*Urtica dioica L.* a été effectué pendant 10 jours à l'air libre et à l'abri de la lumière. Une fois séchés, nos échantillons (feuilles et racines) ont été broyés en poudre très fine à l'aide d'un mortier, tamisés à l'aide d'un tamis puis conservés à l'abri de la lumière et de l'humidité dans des flacons en verres hermétiquement fermés.

2.1. Préparation de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioica* L.

L'extrait de la matière végétale broyé (feuilles et racines) a été préparé selon le protocole décrit par Francišković et al. (Francišković et al., 2017). L'extraction a été effectuée par macération dans le méthanol 80% sous agitation continue et à l'abri de la lumière pendant 48h ; le macérât obtenu est filtré en utilisant le papier wattman. Le filtrat est évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif (Buchi R-300) à 40°C à 100-115 rpm. Les résidus secs ou extraits méthanoliques d'*Urtica dioica* L. (UDL) sont ensuite et le rendement d'extraction est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction en (\%)} = (E_1 / E_2) \times 100$$

E_1 = masse du résidu de l'extrait (g)

E_2 = masse de la poudre (g)

3. Dosages des polyphénols totaux

La teneur totale en polyphénols a été déterminée par spectrophotométrie suivant le protocole suivi par Heilerova et al. (Heilerova et al., 2003) en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu, ce dernier est un acide de couleur jaune qui réagit avec les résidus phénoliques afin de former un complexe coloré en bleu.

Un volume de 0.2 ml de chaque extrait méthanolique (feuilles et racines) a été mélangé avec 1.5 ml de la solution de Folin-Ciocalteu diluée à $1/10^{\text{ème}}$. Après 5 min d'incubation à l'obscurité, 1,5 ml de carbonate de sodium (7.5%) ont été ajoutés puis le mélange est incubé pendant 90 min à température ambiante et l'absorbance est lue à 750 nm au spectrophotomètre (Specord 50 plus).

La courbe d'étalonnage a été réalisée avec l'acide gallique à différentes concentrations (20 µg/ml-100 µg/ml) (Annexe I). Les résultats obtenus sont exprimés en (mg) équivalents d'acide gallique par (g) de poudre sèche de l'extrait méthanolique.

4. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes de chaque extrait méthanolique d'UDL a été évaluée selon la méthode décrite par Djeridane et al. (Djeridane et al., 2006). La technique repose sur la formation d'un complexe jaune lors l'addition de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Pour cela, 1 ml de chaque extrait méthanolique a été mélangé avec 1 ml d' $AlCl_3$ 2%.

L'absorbance a été lue à 430 nm et la teneur en flavonoïdes a été estimée en se référant à une courbe d'étalonnage préparée avec la quercétine à différentes concentrations (3.9µg/ml - 125µg/ml) (Annexe II).

Les résultats ont été exprimés en (mg) équivalents de quercétine par (g) de l'extrait.

5. Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés de chaque échantillon a été effectué selon la méthode de Skerget et al. (Skerget et al., 2005).

Un volume de 0.5 ml de chaque extrait méthanolique a été mélangé avec 2 ml du réactif butanol-HCl (77 mg de FeSO₄ dissout dans 500 ml de butanol-HCl (2v/3v)). Après incubation pendant 15 min à 95°C, l'absorbance a été lue à 530 nm.

Les résultats sont déterminés selon la loi de Beer-Lambert selon l'équation suivante : $[(Abs \times PM \times 1000) / \epsilon \times l] \times 1000$ en utilisant le poids moléculaire (PM) de la cyanidine (PM = 287,24 g/mol), $\epsilon = 34700 \text{ l.mol}^{-1}$, $l = 1 \text{ cm}$.

Les concentrations sont exprimées en (mg) équivalents de cyanidine par (g) de l'extrait.

6. Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioica L.*

6.1. Pouvoir de piégeage du radical DPPH

Le pouvoir de piégeage du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazine (DPPH) par les extraits méthanoliques d'*Urtica dioica L.* (EMUDL) a été mesuré selon la méthode décrite par Lope-lutz et al. (Lope-lutz et al., 2008). 50 µl de différentes concentrations (31,25- 62,5- 125- 250- 500- 1000- 2500- 5000 µg/ml) d'EMUDL ont été ajoutés à 1.95 ml de la solution de DPPH (60 µM). Le mélange a été incubé pendant 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière puis l'absorbance a été lue à 515 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions. L'acide ascorbique a été utilisé comme molécule de référence.

Le pourcentage d'inhibition du radical de DPPH a été calculé selon la formule suivante :

$$I\% = [(Abs_{ct} - Abs_E) / Abs_{ct}] \times 100$$

Abs_{ct} = Absorbance du contrôle négatif (blanc).

Abs_E = Absorbance de l'échantillon.

6.2. Pouvoir de piégeage du radical ABTS^{•+}

La détermination de piégeage du radical cationique ABTS^{•+} de nos extraits méthanoliques a été réalisée selon le protocole de (Pellegrini et al., 1999).

900 µl de la solution éthanolique du radical cationique ABTS^{•+} ont été mélangés avec un volume de 100 µl de nos extraits (3,91- 7,81- 15,63- 31,25- 62,5- 125- 250- 500- 1000 µg/ml). Le mélange est ensuite incubé pendant 30 min à température ambiante et à l'obscurité. La lecture de l'absorbance a été réalisée à 734 nm. L'acide ascorbique est utilisé comme molécule de référence.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition selon par la formule suivante :

$$I \% = [1 - (\text{Abs}_E - \text{Abs}_{ct})] \times 100$$

Abs_E = Absorbance de l'échantillon.

Abs_{ct} = Absorbance du contrôle négatif (blanc).

6.3 Pouvoir réducteur du fer (Fe³⁺)

La mesure du pouvoir réducteur est effectuée selon la méthode décrite par Oyaiz (Oyaiz, 1986).

Un volume de 1000 µl des extraits méthanoliques (7,81- 15,63- 31,25- 62,5- 125- 250- 500- 1000 µg/ml) est mélangé avec 2600 µl de tampon phosphate (pH = 6.6) et un volume égal de solution ferricyanure de potassium K₃Fe (CN)₆ 1%. Le mélange est incubé à 50 °C pendant 20 min. Après refroidissement, 2600 µl de TCA ont été ajoutés puis 2600 µl du surnageant sont prélevés et additionnés à un volume équivalent d'eau distillé et à 520 µl de chlorure ferrique (FeCl₃). L'absorbance a été lue à 700 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

6.4. Inhibition de l'auto-oxydation du pyrogallol

Le pouvoir inhibiteur de l'auto-oxydation du pyrogallol a été déterminé par la méthode de Zhong et al. (Zhong et al., 2010).

1 ml de chaque extrait méthanolique d'*Urtica dioica* L. (250- 500- 1000- 2000- 4000- 6000- 8000- 10000 µg/ml) a été ajouté à 2 ml du tampon Tris-HCl (pH 8,2). Après incubation de 20 min à 25 °C, 400 µl de pyrogallol (5 mM) ont été additionnés. Le mélange a été vigoureusement agité, et l'absorbance directement lue et suivie pendant 20 secondes à 325

nm. Un blanc a été préparé dans les mêmes conditions et l'acide ascorbique a été utilisé comme molécule de référence.

Le pourcentage d'inhibition de l'auto-oxydation du pyrogallol a été calculé selon la formule suivante :

$$I \% = [(P_{ct} - P_E) / P_{ct}] \times 100$$

P_E = Pente de l'échantillon.

P_{ct} = Pente contrôle négatif (blanc).

Le pouvoir de piégeage de l'anion superoxyde a été exprimé en IC50 : la quantité de l'échantillon nécessaire pour inhiber le pyrogallol à 50 %.

7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioica* L.

7.1. Stabilisation de la membrane des globules rouges

7.1.1. Préparation de la suspension des globules rouges

La préparation de la suspension des globules rouges a été réalisée selon la méthode de Govindappa et al. (Govindappa et al., 2011).

Le sang a été collecté à partir d'un lapin et mélangé à un volume égal d'une solution d'Alsever stérilisée (2 % de glucose, 0,8 % de citrate de sodium, 0,5 % d'acide citrique et 0,42 % de chlorure de sodium dans de l'eau). Après centrifugation à 3000 rpm/10 min, le culot a été lavées trois fois avec une solution iso-saline (NaCl 0,9 %, pH 7,2), puis reconstitué avec une solution iso-saline afin d'obtenir une suspension à 10 % (v/v). La solution a été conservée à 4 °C.

7.1.2. Hémolyse induite par solution hypotonique

Différentes concentrations des extraits méthanoliques d'UDL et du diclofénac de sodium ont été préparées (100, 250 et 500 µg/ml) dans une solution iso-saline. Ensuite, 1 ml du tampon phosphate (0.15 M, pH 7,4), 2 ml de la solution hyposaline (0,42%) et 0.5 ml de la suspension des érythrocytes (10 %) ont été ajoutés à chaque solution suivi d'une incubation à 56 °C pendant 30 min. Par la suite, les tubes sont centrifugés à 2500 rpm /10 min. Le surnageant a été récupéré et l'absorbance lue à 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le blanc (contrôle) a été préparé dans les mêmes conditions avec une solution isosaline.

Le diclofénac de sodium a été utilisé comme molécule de référence, avec les mêmes concentrations que l'extrait.

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition de l'hémolyse} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle (blanc).

At : absorbance de l'échantillon (test).

7.2. Test de dénaturation des protéines

L'inhibition de la dénaturation des protéines a été déterminée selon la méthode décrite par Gunathilake (Gunathilake et al., 2018).

Le mélange réactionnel contient 2,5 ml du PBS (pH 6.4), 450 µl de solution de BSA 1% et 50 µl de l'extrait à différentes concentrations (100, 250, 500 µg/ml). Après une incubation de 15 min à température ambiante, le mélange est réincubé à 70 °C pendant 5 min. Après refroidissement à température ambiante, l'absorbance a été lue à 600 nm. Un blanc a été préparé dans les mêmes conditions et le diclofénac de sodium a été utilisé comme traitement de référence.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle (blanc).

At : absorbance de l'échantillon (test).

7.3. Activité inhibitrice des protéases

L'activité inhibitrice des protéases des extraits de feuilles et des racines d'UDL a été évaluée selon le protocole décrit par Gunathilake (Gunathilake et al., 2018).

Le mélange réactionnel contient 1 ml de Tris-Hcl (20 mM), 0,06 mg de trypsine et 1 ml de l'échantillon à différentes concentrations (31.25 ; 62.5 ; 125 ; 250 ; 500 µg/ml). Après 5 min d'incubation à 37 °C, 1 ml de la caséine (0.8 %) a été ajouté. Le mélange est de nouveau incubé pendant 20 min à 37°C puis 2 ml d'acide perchlorique (70%) ont été ajoutés pour stopper la réaction. Après centrifugation à 3000 rpm/15 min, l'absorbance du surnageant a été

lue à 210 nm contre un blanc. Le diclofénac de sodium a été utilisé comme traitement de référence

Le pourcentage d'inhibition a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Le pourcentage d'inhibition (\%)} = (\text{Ac} - \text{At} / \text{Ac}) \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle (blanc).

At : absorbance de l'échantillon (test)

7.4. Test de l'induction de l'œdème chez la souris

Dans cette étude, un modèle expérimental de l'inflammation aigüe (l'œdème aigüe de la patte arrière droite des souris) induite par la carragénine a été utilisé pour évaluer l'effet anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique d'UDL. (Winter et al., 1962).

L'expérience a été réalisée sur un effectif de 36 souris réparties en 4 lots de 6 souris chacun.

Les souris sont mises à jeun 12 heures avant traitement. Le diamètre de la patte arrière droite a été mesuré pour chaque souris. Ensuite différents traitements ont été administrés par gavage gastrique (250 µl) à l'aide d'une sonde pour chaque souris comme suit :

Le lot 01 témoin (contrôle négatif) : Les souris de ce lot reçoivent de l'eau physiologique (NaCl à 0,9 %).

Le lot 02 standard (contrôle positif): Les souris de ce lot reçoivent un anti-inflammatoires de référence qui est diclofénac de sodium à une dose de 50 mg/Kg préparé dans le NaCl à 0,9 %.

Lot 03 et 04: Les souris de ce lot reçoivent l'extrait des feuilles d'UDL à 25 mg/kg et 50 mg/kg respectivement.

Lot 05 et 06 : Les souris de ce lot reçoivent l'extrait des racines d'UDL à 25 mg/kg et 50 mg/kg respectivement.

Après 45 min, les souris ont été injectées par voie sous cutanée dans la patte arrière droite avec 100 µl de carragénine (0,1 %). Le volume de l'œdème a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse digital chaque heure durant 4h.

L'activité anti-inflammatoire a été estimée par la détermination des pourcentages d'inhibition de l'œdème, calculé suivant la formule (Akhtar et al., 2016) :

$$\text{\% d'inhibition de l'œdème} = [(\text{Tc} - \text{Tt}) / \text{Tc}] \times 100$$

Tc : taille de la patte des souris contrôles.

Tt: taille de la patte des souris traitées (extraits ou diclofénac de sodium).

Le pourcentage d'augmentation de la taille de la patte a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'augmentation de la taille} = [(T_{t1} - T_{t0}) / T_{t0}] \times 100$$

T_{t0} : Taille initiale de la patte (Avant traitement).

T_{t1} : Taille de la patte après traitement.

8. Etude statistique

Tous les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD. Pour la comparaison entre les différents groupes, l'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel GraphPad Prism 8, par le test-t de Student quand il s'agit d'une expérience à deux paramètres et par le test ANOVA suivi du test de Tukey pour plus de deux paramètres * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Résultats

Résultats

Cette étude a été réalisée sur les extraits méthanoliques de deux parties de la plante *Urtica dioica L.* (Feuilles et racines). Après extraction et dosage de la teneur des extraits en polyphénols, flavonoïdes et tanins, leurs activités antioxydante et anti-inflammatoires ont été étudiées par divers tests *in vitro* et *in vivo*.

1. Rendement d'extraction d'*Urtica dioica L.*

Afin d'extraire les principes actifs (polyphénols, flavonoïdes et tanins) contenus dans les feuilles et les racines de la plante *Urtica dioica L.*, une extraction de type solide-liquide (macération) avec un solvant polaire (méthanol) a été utilisée.

Les résultats des taux de rendement des deux extraits d'*Urtica dioica L.* obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 1. Rendement d'extraction des extraits méthanoliques (Feuilles et racines) d'*Urtica dioica L.*

Extrait méthanolique	Poids de la poudre (g)	Poids d'EMUDL. (g)	Rendement d'extraction %
Feuilles	50	6,74	13,48 %
Racines	10	0,63 ***	6,3 % ***

Test-t de Student *** $p < 0,001$.

D'après les résultats présentés dans le tableau 1, le rendement d'extraction de chaque extrait est important, il est de 13,48 % pour les feuilles, significativement plus élevé que celui des racines ($p < 0,001$) égale à 6,3 %.

2. Teneur en composés phénoliques des extraits méthanoliques d'*Urtica dioica L.*

La teneur en polyphénols totaux a été effectuée par la méthode spectrophotométrique au réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus ont été estimés à partir d'une courbe d'étalonnage (annexe I) réalisée avec l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait.

L'analyse des résultats a montré que les feuilles d'*Urtica dioïca L.* sont plus riches en polyphénols ($100,22 \pm 1,083$ mg EAG/g extrait) par rapport aux racines ($17,24 \pm 0,050$ mg EAG/g extrait).

La spectrophotométrie permet aussi de quantifier la teneur en flavonoïdes dans les deux extraits méthanoliques d'UDL, exprimée en milligrammes équivalents de quercétrine par gramme d'extrait. La quantification a été faite en se référant à une courbe d'étalonnage à l'aide de la quercétine réalisée dans les mêmes conditions (annexe II).

Les résultats obtenus montrent que les feuilles d'UDL sont riches en flavonoïdes ($93,07 \pm 0,0054$ mg EQ/g extrait), mais cette teneur est faible dans les racines ($5,61 \pm 0,0040$ mg EQ/g extrait) ($p < 0,001$).

La teneur en tanins condensés (TCs) a été effectuée par la méthode de butanol-HCL qui est basée sur la réaction de dépolymérisation des TCs en milieu acide. Cette réaction conduit à la libération des anthocyanidines correspondants aux monomères clivés (Blain, 1998). Nos résultats ont montré que la teneur des proanthocyanidins de l'extrait méthanolique des feuilles est plus importante ($p < 0,001$) que celle des racines ($4,68 \pm 0,001$; $0,413 \pm 0,034$ μg équivalents de Cyanidine /g de matière sèche (μg Eq C/g M.S)).

Les résultats des teneurs des extraits méthanoliques d'*Urtica dioïca L.* en polyphénols, flavonoïdes et tannins condensés sont présentés dans le tableau s2.

Tableau 2 Teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés des deux extraits méthanoliques d'*Urtica dioïca L.*

Extrait méthanolique	Polyphénols totaux (GAE/ g extrait)	Flavonoïdes (QE/ g extrait)	Tanins condensés μg Eq C/g M.S
Feuilles	$100,22 \pm 1.083$	93.07 ± 0.0054	$4.68 \pm 0,001$
Racines	$17,24 \pm 0.050$ ***	5.61 ± 0.0040 ***	$0.413 \pm 0,034$ ***

Test-t de Student *** $p < 0,001$.

3. Pouvoir de piégeage du DPPH[•] des extraits méthanolique d'*Urtica dioica L.*

L'activité antioxydante des extraits méthanoliques des feuilles et des racines d'UDL. et celle de l'acide ascorbique (antioxydant de référence) vis-à-vis du radical DPPH[•] a été évaluée par méthode spectrophotométrique à 517 nm.

Les pourcentages d'inhibition obtenus ont révélé que les extraits méthanoliques des feuilles et des racines d'*Urtica dioica L.* possèdent une activité anti-radicalaire concentration dépendante (figure 4).

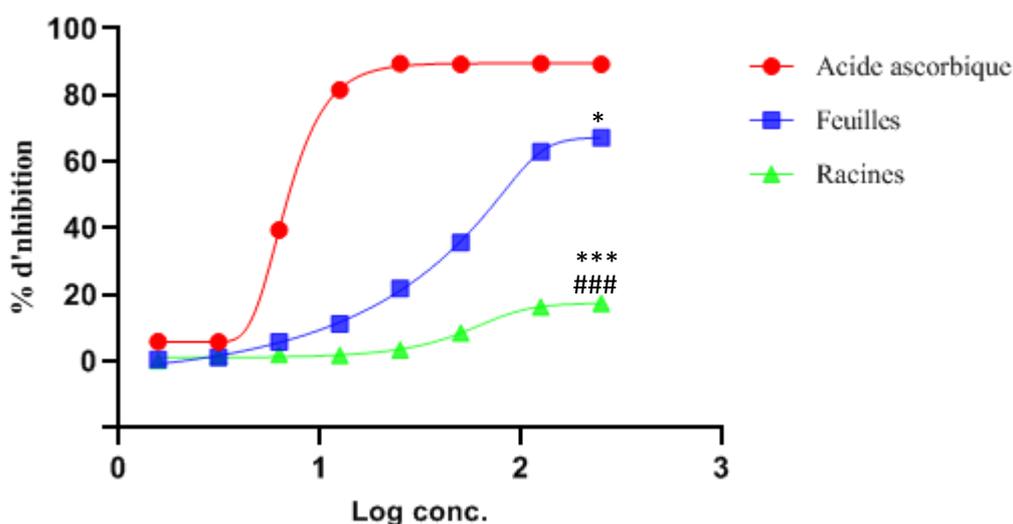


Fig.4 Activité antiradicalaire vis-à-vis de radical DPPH[•] des extraits méthanoliques des feuilles et des racines d'*Urtica dioica L.* et de l'acide ascorbique (31,25- 62,5- 125- 250- 500- 1000- 2500- 5000 µg/ml). La figure montre les variations des pourcentages d'inhibition (Moyenne ± S) de la réduction du DPPH[•] en fonction du log des concentrations finales (N=3). Test ANOVA suivi du test de Tukey *p<0,05 ; *** p< 0,001 (Comparaison avec l'acide ascorbique) ; ### p< 0,001 (entre les deux extraits).

Les résultats montrent que les pourcentages d'inhibition de DPPH[•] des deux extraits méthanoliques d'UDL sont inférieurs à celui de l'acide ascorbique pour toutes les concentrations utilisées. Cette inhibition atteint son maximum à la concentration la plus élevée (concentration initiale de DPPH = 5000 µg/ml) égal à 89,24 ± 0,0023 % pour l'acide ascorbique contre 67,19 ± 0,0012 % (p< 0,05) et 17,35 ± 0,0039 % (p<0,001) pour les extraits méthanoliques des feuilles et des racines respectivement. A cette concentration, le pouvoir inhibiteur de l'extrait méthanolique des feuilles est significativement plus élevé (p< 0,001) à celui des racines.

A partir des pourcentages d'inhibition, nous avons déterminé les IC₅₀ (Concentration nécessaire pour réduire 50 % le radical DPPH[•]) pour l'extrait méthanolique des feuilles et aussi pour l'acide ascorbique.

L'extrait méthanolique des feuilles d'UDL exerce un effet du piégeage du DPPH[•] à une IC₅₀ égale à $40,72 \pm 0,0014$ µg/ml supérieure ($p < 0,001$) à celle de l'acide ascorbique ($6,864 \pm 0,0016$ µg/ml).

L'extrait de racines possède un pouvoir concentration dépendant d'inhibition de la réduction du DPPH[•] mais insuffisant pour pouvoir calculer l'IC₅₀ correspondante.

4. Activité de piégeage du radical ABTS^{•+} des extraits méthanoliques d'*Urtica dioica* L.

Le pouvoir scavenger du radical ABTS^{•+} des deux extraits méthanoliques d'UDL (feuilles et racines) a été déterminé à différentes concentrations et comparé à celui de l'acide ascorbique utilisé comme antioxydant de référence. Les résultats obtenus montrent les changements des pourcentages d'inhibition de l'ABTS^{•+} en fonction du log de la concentration finale des extraits et de l'acide ascorbique et sont présentés dans la figure 5.

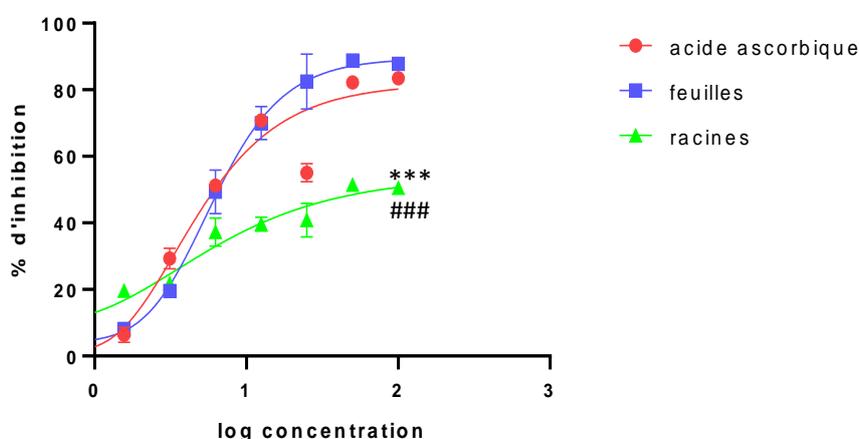


Fig.5 Activité antiradicalaire vis-à-vis du radical ABTS^{•+} des extraits méthanoliques des feuilles et des racines d'*Urtica dioica* L. et de l'acide ascorbique (3,91 ; 7,81 ; 15,63 ; 31,25 ; 62,5 ; 125 ; 250 ; 500 ; 1000 µg/ml). Les résultats représentent les variations des pourcentages d'inhibition de la réduction de l'ABTS^{•+} (Moyenne \pm SD) en fonction du log des concentrations finales (N=3). Test ANOVA suivi du test de Tukey, *** $p < 0,001$ (Comparaison avec l'acide ascorbique) ; ### $p < 0,001$ (comparaison entre les deux extraits).

Les résultats présentés dans la figure 5 montrent que le pourcentage d'inhibition du radical $ABTS^{\cdot+}$ est concentration dépendant. L'acide ascorbique, l'extrait méthanolique des feuilles d'UDL et l'extrait méthanolique des racines inhibent la réduction de l' $ABTS^{\cdot+}$ à $83,48 \pm 0,055 \%$, $87,45 \pm 0,017 \%$ et $48,79 \pm 0,0022 \%$ respectivement à la concentration maximale initiale de $1000 \mu\text{g/ml}$.

L'extrait méthanolique des feuilles possède un fort pouvoir de piégeage du radical $ABTS^{\cdot+}$ avec une IC_{50} égale à $6,58 \pm 0,0059 \mu\text{g/ml}$, égale ($p > 0,05$) à celle de l'acide ascorbique ($4,65 \pm 0,0043 \mu\text{g/ml}$). L'extrait méthanolique des racines a également un pouvoir de piégeage du radical $ABTS^{\cdot+}$ et agit d'une manière concentration dépendante, mais les pourcentages d'inhibition obtenus étaient insuffisants pour calculer l' IC_{50} correspondante.

5. Pouvoir d'inhibition de l'auto-oxydation du pyrogallol des extraits méthanoliques d'*Urtica dioica L.*

L'inhibition de l'auto-oxydation du pyrogallol par les extraits méthanoliques des feuilles et des racines d'*Urtica dioica L.* et de l'acide ascorbique a été déterminée à différentes concentrations (250, 500, 1000- 2000, 4000, 6000, 8000 et 10000 $\mu\text{g/ml}$). Les résultats montrent les variations des pourcentages d'inhibition de l'auto-oxydation du pyrogallol en fonction du log des concentrations finales et sont présentés dans la figure 6.

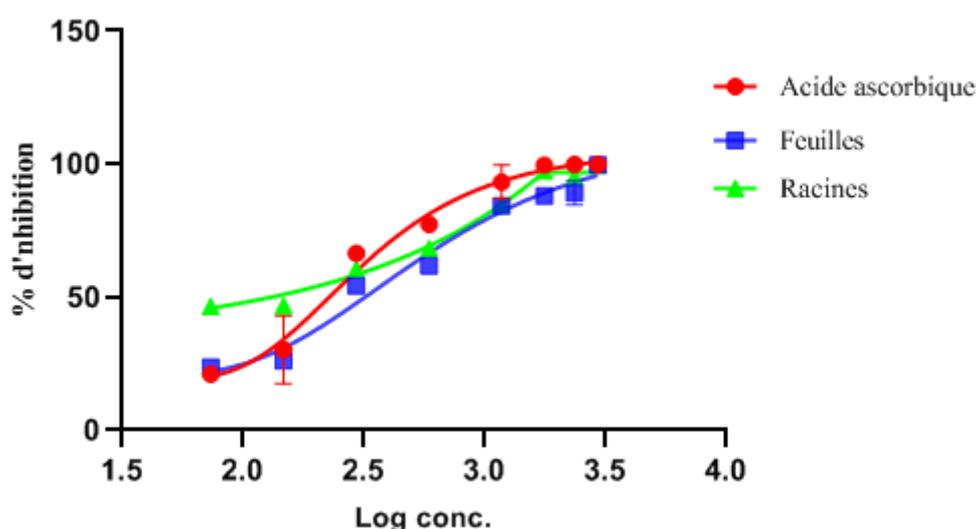


Fig.6 Inhibition de l'auto-oxydation du pyrogallol par les extraits méthanoliques des feuilles et des racines d'*Urtica dioica L.* et de l'acide ascorbique (250- 500- 1000- 2000- 4000- 6000- 8000- 10000 $\mu\text{g/ml}$). Les résultats représentent les variations des

pourcentages d'inhibition de l'auto-oxydation (Moyenne \pm SD) en fonction du log des concentrations finales (N=3). Test ANOVA suivi du test de Tukey.

D'après nos résultats, on remarque que les deux extraits d'*Urtica dioïca L.* présentent un effet important de piégeage de l'anion superoxyde à travers la stabilisation du pyrogallol de façon concentration dépendante par rapport à l'acide ascorbique avec un pourcentage d'inhibition maximale de $99,7 \pm 0,00023$ % ; $99,54 \pm 0,0013$ % et $99,72 \pm 0,0022$ % pour l'acide ascorbique, l'extrait des feuilles et l'extrait des racines respectivement à une concentration initiale de 10 mg/ml.

Le calcul des IC50 a montré que l'extrait méthanolique des feuilles possède une IC50 de $549,4 \pm 0,082$ μ g/ml inférieure ($p < 0,001$) de celle de l'acide ascorbique ($310 \pm 0,053$ μ g/ml). Par contre, et à l'inverse des résultats précédents, l'extrait méthanolique des racines possède un bon pouvoir d'inhibition de l'auto-oxydation du pyrogallol et donc de piégeage de l'anion superoxyde par rapport à celui de l'acide ascorbique ($p < 0,05$) et plus fort ($p < 0,05$) que celui des extraits méthanoliques des feuilles à une IC50 égale à $481,2 \pm 0,34$ μ g/ml

6. Pouvoir de réduction du fer des extraits méthanoliques d'*Urtica dioïca L.*

La détermination de l'activité réductrice de fer ferrique en fer ferreux en utilisant les extraits méthanoliques des feuilles et de racines d'UDL et l'acide ascorbique. Les résultats sont représentés dans la figure 7.

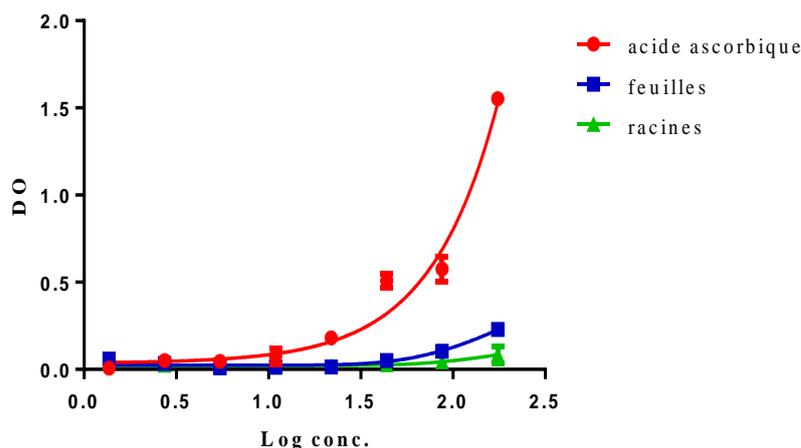


Fig.7 Pouvoir réducteur du fer des extraits méthanoliques des feuilles et des racines d'*Urtica dioïca L.* et de l'acide ascorbique (7,81 ; 15,63 ; 31,25 ; 62,5 ; 125 ; 250 ; 500 ; 1000 μ g/ml). Les résultats représentent les variations de la DO en fonction du log des concentrations finales (N=3).

Les résultats de la figure 7 présentent les changements de la DO en fonction du log des concentrations finales. On remarque que nos extraits de feuilles et de racines ont réduit le fer d'une manière concentration dépendante mais pas assez importante pour pouvoir calculer leur EC50. L'EC50 de l'acide ascorbique était égale à $186,7 \pm 0,0029 \mu\text{g/ml}$.

7. L'extrait méthanolique d'*Urtica dioica* L. possède une activité inhibitrice de la dénaturation des protéines

La méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines a été utilisée pour évaluer les propriétés anti inflammatoire des extraits méthanoliques d'*Urtica dioica* L. à différentes concentrations (100, 250, 500 $\mu\text{g/ml}$). Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 8.

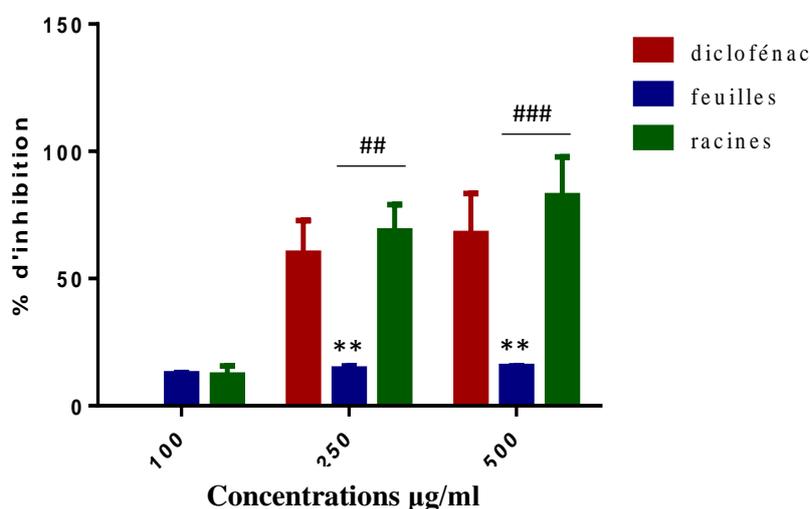


Fig.8 Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique des extraits méthanoliques des feuilles et des racines d'*Urtica dioica* L. et du diclofénac de sodium (100, 250 et 500 $\mu\text{g/ml}$). Les résultats représentent les moyennes \pm SD (N=3), Test ANOVA suivi du test de Tukey ** $p < 0,01$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$.

Le pouvoir d'inhibition de la dénaturation protéique de l'extrait méthanolique des racines est égal à celui du diclofénac de sodium ($p > 0,05$). Cette activité inhibitrice est plus grande à celle de l'extrait des feuilles ($p < 0,01$) qui atteint un taux de $67,55 \pm 2,3 \%$ à la concentration de 500 $\mu\text{g/ml}$ contre $15,44 \pm 0,012 \%$ à la même concentration pour l'extrait méthanolique des feuilles.

8. L'extrait méthanolique d'*Urtica dioica* L. possède une activité de stabilisation de la membrane des globules rouges

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire des extraits méthanoliques des feuilles et de racines d'*Urtica dioica* L., un autre test a été utilisé, il s'agit du test de stabilisation membranaire de globules rouges obtenues à partir d'un lapin. Ce test consiste à incuber une suspension de globules rouges de lapin, traitée avec une solution hypotonique avec les deux extraits méthanoliques d'UDL ou le diclofénac de sodium à différentes concentrations (100, 250 et 500 µg/ml). Les résultats sont représentés dans la figure 9.

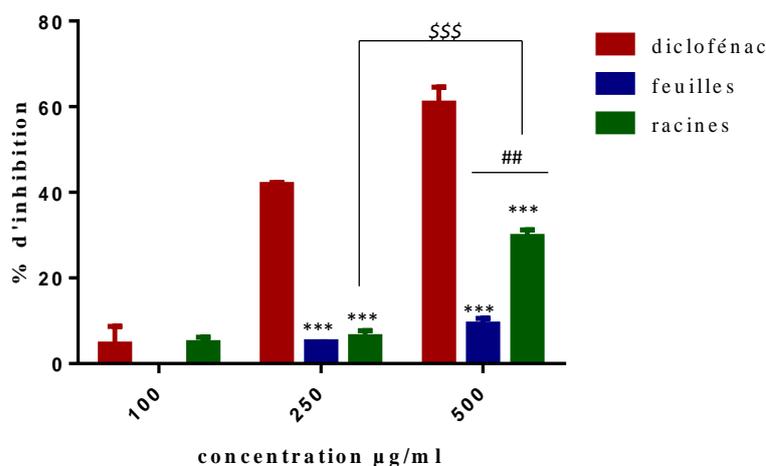


Fig.9 Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse des extraits méthanoliques des feuilles et des racines d'*Urtica dioica* L. et du diclofénac de sodium (100, 250 et 500 µg/ml). Les résultats représentent les moyennes \pm SD (N=3), Test ANOVA suivi du test de Tukey *** $p < 0.001$. ; ## $p < 0,01$; \$\$ $p < 0,01$.

L'étude du pouvoir inhibiteur de l'hémolyse des deux extraits méthanoliques d'UDL a montré qu'ils possèdent tous les deux une activité inhibitrice de l'hémolyse. Cette activité est concentration dépendante pour l'extrait des racines en augmentant la concentration de 250 à 500 µg/ml, égale à $5,3 \pm 0,09 \%$ et $29,12 \pm 0,0045 \%$ respectivement ($p < 0,01$).

On remarque que l'inhibition de l'hémolyse et donc la stabilisation de la membrane des globules rouges est plus grande ($p < 0,01$) dans les racines ($29,12 \pm 0,15 \%$) que dans les feuilles ($8,97 \pm 0,12 \%$) à la concentration de 500 µg/ml.

9. L'extrait méthanolique d'*Urtica dioica L.* possède une activité inhibitrice de l'action des protéases

Les résultats de l'activité inhibitrice de la protéase des extraits méthanoliques des feuilles et des racines d'*Urtica dioica L.* et de l'acide ascorbique (31,25 ; 62,5 ; 125 ; 250 et 500 µg/ml) est illustrés dans la figure 10.

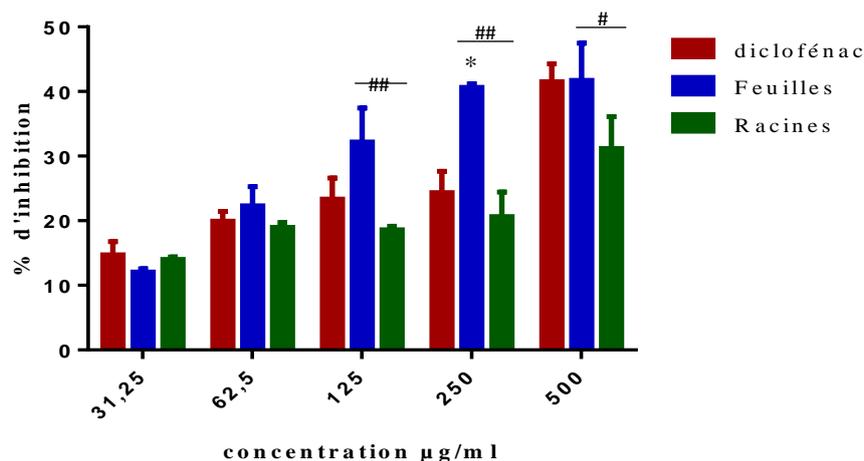


Fig.10 Pourcentage d'inhibition de l'action des protéases (trypsine) des extraits méthanoliques des feuilles et des racines d'*Urtica dioica L.* et du diclofénac de sodium (31.25, 62.5, 125, 250 et 500 µg/ml). Les résultats représentent les moyennes ± SD (N=3), Test ANOVA suivi du test de Tukey **p<0.01. ; # p<0,05 ; ## p <0.01.

Les résultats présentés dans la figure 10 montrent que les deux extraits méthanoliques des feuilles et des racines d'UDL possèdent une activité inhibitrice de l'action des protéases démontrée par l'inhibition de l'activité de la trypsine.

L'activité de l'extrait de feuilles est plus grande à celle des racines. Elle atteint un taux maximal d'inhibition de $41,70 \pm 3,21$ % à la concentration de 500 µg/ml contre un taux de $31,19 \pm 2,12$ % ($p < 0,05$) pour les racines et égale à celui du diclofénac de sodium ($40,23 \pm 0,97$ %) ($p > 0,05$).

10. L'extrait méthanolique d'*Urtica dioica* L. inhibe l'œdème induit par l'injection de la carragénine chez les souris

Chez la souris *Wistar*, l'injection de la carragénine 1 % au niveau de l'aponévrose plantaire de la patte arrière droite entraîne la formation d'un œdème dont la taille augmente au cours du temps. Nous avons mesuré la taille de cette patte pour chaque souris après une heure d'injection de la carragénine et durant 4 h. Les pourcentages d'augmentation de cette taille sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 3 Pourcentages d'augmentation de la taille de la patte des souris induite par l'injection de la carragénine au niveau de l'aponévrose plantaire des souris.

	Dose mg/kg	% d'augmentation			
		1h	2h	3h	4h
Témoin (Eau physiologique)		57,6 ± 0,10	70,06 ± 0,18	92,35 ± 0,18	87,16 ± 0,26
Diclofénac de sodium	50 mg/kg	66,63 ± 0,90	54,19 ± 0,11 *	58,62 ± 0,12 **	47,59 ± 0,08 ***
Feuilles	25 mg/kg	70,74 ± 0,20 \$\$	56,42 ± 0,15 * \$\$	64,51 ± 0,33 ** \$\$	63,87 ± 0,02 * \$\$\$
	50 mg/kg	36,8 ± 0,30 * ##	28,29 ± 0,18 *** ##	27,36 ± 0,05 *** ###	18,45 ± 0,12 *** ###
Racines	25 mg/kg	72,44 ± 0,27 ##	61,23 ± 0,40 * ##	67,09 ± 0,033 ** ###	60,92 ± 0,04 ** ###
	50 mg/kg	33,98 ± 0,11 * \$\$	24,46 ± 0,15 *** \$\$\$	25,3 ± 0,08 *** \$\$\$	19,07 ± 0,06 *** \$\$\$

Les souris ont été traitées par voie orale avec le véhicule (eau physiologique), le médicament de référence (diclofénac de sodium 50 mg/kg) et les extraits méthanolique des feuilles et des

racines d'UDL (25 mg/kg et 50 mg/kg) 45 min avant l'injection à l'aponévrose plantaire de souris de la carragénine 1% (100 µl). Le pourcentage d'augmentation de la taille de la patte arrière droite a été mesuré pour chaque heure durant 4h. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD, n= 06 souris dans chaque lot. Test ANOVA suivi du test de Tukey ; * p<0,05 ; ** p<0,01 ; *** p<0,001 (comparaison des lots traités avec le lot témoin). ## p<0,01 ; ### p<0,001 (Comparaison des lots traités par les extraits d'UDL avec le lot diclofénac de sodium), \$\$ p<0,01 ; \$\$\$ p<0,001 (comparaison entre les doses du même extraits).

D'après le tableau 3, on remarque que l'injection de la carragénine 1% induit une augmentation temps dépendante de la taille de la patte traitée au cours des 4 h qui suivent l'injection. Les pourcentages d'augmentation de la taille sont les plus élevés dans le lot traité par la carragénine seule, ce qui montre qu'elle constitue un bon modèle d'étude de l'inflammation.

L'administration des différents traitements par voie orale induit une diminution de la taille des pattes mesurée au cours du temps. Les taux de diminution varient selon l'efficacité du traitement anti-inflammatoire administré. Ceci a été surtout enregistré dans les lots de souris traitées par les extraits méthanoliques d'UDL à la dose de 50 mg/kg. Les différentes différences sont bien mentionnées dans le tableau 3.

A partir de ces résultats, nous avons calculé le pourcentage d'inhibition de l'œdème par les extraits méthanoliques des feuilles et de racines 25 mg/kg et 50 mg/kg d'*Urtica dioïca L.* et par le diclofénac de sodium (50 mg/kg). Les résultats sont représentés dans la figure 11.

Les résultats présentés dans la figure 11 montrent que les deux extraits méthanoliques (feuilles et racines) d'UDL possèdent un effet anti-inflammatoire d'inhibition de l'œdème induit par l'injection de la carragénine. Cette inhibition est plus significative que celle du diclofénac de sodium pour les deux extraits administrés à la dose de 50 mg/kg et ceci durant toute la durée du traitement. Les pourcentages d'inhibition atteignent des taux maximaux de $48,8 \pm 0,067$ %, $50,48 \pm 0,034$ % et $40,34 \pm 0,098$ % au bout de 4h pour les extraits méthanoliques de racines, de feuilles et le diclofénac de sodium respectivement.

Les deux extraits agissent du même niveau, aucune différence ($p > 0,05$) n'a été enregistrée entre les deux à la dose de 50 mg/kg ou 25 mg/kg. Par contre, les inhibitions obtenues avec la dose de 25 mg/kg étaient les plus faibles et sont inférieures à celle du diclofénac de sodium ($p < 0,05$).

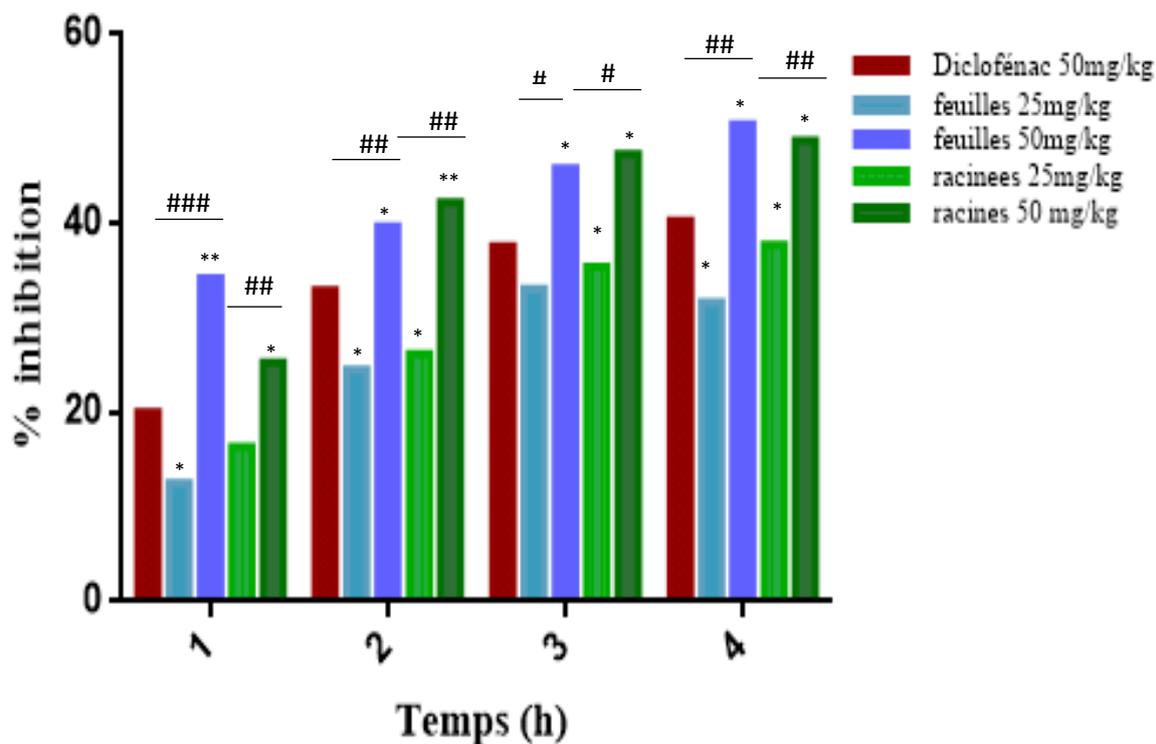


Fig.11 Activité anti-inflammatoire des extraits méthanoliques d’UDL exprimée en pourcentage d’inhibition de l’œdème induit par l’injection de la carragénine. Le véhicule (eau physiologique), le médicament de référence (diclofénac de sodium 50 mg/kg) et les extraits méthanoliques de feuilles et des racines d’UDL (25 mg/kg et 50 mg/kg) ont été administrés par voie orale 45 min avant l’injection au niveau de l’aponévrose plantaire de la patte arrière droite des souris d’une solution de carragénine 1% (100 µl) et la taille de la patte a été mesurée avant et chaque 1 h durant 4 h après injection de la carragénine. Les résultats sont exprimés en moyenne ± SD. n= 6. Test ANOVA suivi du test de Tukey, * p<0,05 ; ** p<0,01 ; # p< 0,05 ; ## p<0,01 ; ### p<0,001.

Discussion

Discussion

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique des deux parties (Feuilles et racines) de la plante *Urtica dioica L.* (UDL) par des tests *in vitro* et *in vivo* chez la souris *Wistar* albinos.

L'intérêt pour le développement des procédures d'extraction des composés bioactifs des plantes a augmenté ces dernières années, en raison du potentiel de l'application de ces composés dans les domaines alimentaires, chimiques et pharmaceutiques. La récupération des composés phénoliques à partir des matières végétales est fortement influencée par la procédure d'extraction (Shahid et al., 2015). Le choix du solvant est conditionné par le caractère polaire des composés phénoliques. La solubilité des polyphénols est étroitement liée au degré de polymérisation en raison de l'augmentation du nombre de groupes hydroxyles (-OH) (Bonnaillie et al., 2012), ainsi que l'interaction de ces composés phénoliques avec d'autres constituants et la formation de complexes insolubles. Pour cette raison, le méthanol a été recommandé et est fréquemment utilisé pour l'extraction des composés phénoliques (Falleh et al., 2008). Khoddami et al. (Khoddami et al., 2013) ont montré que le méthanol et l'eau et leur mélange à différents ratios sont les solvants les plus utilisés pour une meilleure récupération de composés phénoliques.

Les extraits utilisés dans notre expérimentation ont été obtenus après macération de la poudre fine de feuilles et de racines d'*Urtica dioica L.* (UDL) dans une solution hydro-méthanolique (80/20) permettant d'extraire les molécules bioactives. D'après les résultats obtenus le rendement d'extraction était de 13.48 % et 6.3 % pour les feuilles et les racines d'UDL respectivement par rapport au poids initial de la poudre. En comparaison avec une autre étude de Özkan et al., (Özkan et al., 2011), le rendement d'extraction des feuilles d'*Urtica dioica L.* était de 28.1 %. Orhan et ses collaborateurs (Orhan et al., 2012) ont montré que le rendement d'extraction des feuilles d'*Urtica dioica L.* était de 23.76 %. Cette différence dans le rendement d'extraction est influencée par plusieurs paramètres comme la distribution géographique, le choix du solvant d'extraction, la période de récolte et les conditions de séchage (Daudi et al., 2015).

La méthode de Folin-Ciocalteu a été utilisée pour déterminer la teneur en polyphénols contenus dans les deux extraits d'UDL. Nos résultats montrent que la teneur en polyphénols totaux dans l'extrait des feuilles et de racines d'UDL était de $100,22 \pm 1.083$ et $17,24 \pm 0.050$

mg EAG/g respectivement. Ces teneurs sont plus élevées que celles retrouvées par Orhan et al. (Orhan et al., 2012) (5.41 ± 0.01 mg EAG/g) et celles de Sidaoui et ses collaborateurs (Sidaoui et al., 2015) qui ont montré que la teneur en polyphénols des feuilles d'UDL est de 11.62 ± 1.75 mg EAG/g, en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction.

De plus, une étude réalisée sur les feuilles et les racines d'UDL a montré que la teneur en polyphénols est de 132.00 ± 6.5 et de 164.00 ± 8.4 mg EAG/g respectivement (Güder et Korkmaz, 2012).

Zoran et ses collaborateurs (Zoran et al., 2012) ont trouvé une teneur plus élevée qui atteint 332.19 ± 2.79 mg EAG/g de polyphénols dans l'extrait méthanolique des feuilles d'UDL.

Concernant le taux des flavonoïdes, nos résultats sont en accord avec ceux de Güder et Korkmaz (Güder et Korkmaz, 2012), qui ont trouvé que la teneur en flavonoïde des feuilles d'UDL est plus élevée (65.8 ± 3.5 mg EQ/g) par rapport à la teneur en flavonoïde de racines (21 ± 0.8 EQ/g).

En 2012, Zoran et ses collaborateurs (Zoran et al., 2012) ont montré que la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique des feuilles d'UDL était de 20.29 ± 0.48 EQ/g, cette teneur est relativement inférieure à la valeur obtenue dans notre étude. Ozkan et al. (Ozkan et al., 2011) ont rapporté que la teneur en flavonoïdes des feuilles d'URL est de 33.94 ± 1.91 EQ/g, en utilisant comme solvant d'extraction le méthanol. De plus, Karma et ses collaborateurs (Karma et al., 2017) ont révélé que la teneur en flavonoïde de l'extrait éthanolique des feuilles d'UDL est de 43 ± 0.01 EQ/g d'extrait.

Une autre étude réalisée par Kulcu et al. (Kulcu et al., 2019) a montré que la teneur en flavonoïde de l'extrait éthanolique, l'extrait d'héxane et l'extrait aqueux d'UDL sont de l'ordre de $142,19 \pm 0,83$; $42,56 \pm 0,05$; $27,16 \pm 0.29$ EQ/g d'extrait respectivement.

Toutes ces différences peuvent être dues au protocole d'extraction, la méthode de dosage, solvant utilisé pour l'extraction, le climat, les conditions de croissance, le stade de développement de la plante et le moment de récolte (Zeipina et al., 2015). Nencu et ses collaborateurs (Nencu et al., 2013) ont rapporté que la teneur en composés phénoliques est liée à la phase de maturation de la plante c'est-à-dire que la plante est plus riche en composés phénoliques lorsque elle est jeune.

Les tanins condensés (TCs) ont fait l'objet d'une attention considérable dans les domaines de la nutrition, de la santé et de la médecine, principalement en raison de leurs activités

physiologiques. Leurs activités biologiques telles que les activités antioxydantes, anticancéreuses et antimicrobiennes sont aussi bien documentées.

Les tanins condensés varient considérablement dans la distribution de la masse molaire. Par exemple, les tanins condensés dans les plantes peuvent être composés d'espèces moléculaires avec une large gamme de masses molaires allant jusqu'à 20 000 (Chen et al., 2014).

Dans cette expérimentation, le dosage des TCs a été réalisé par la méthode du butanol-HCl, qui est basée sur la réaction de dépolymérisation des TCs en milieu acide. Cette réaction conduit à la libération des anthocyanidines correspondants aux monomères clivés (Blain, 1998). Les résultats ont montré que la teneur en proanthocyanidines dans l'extrait méthanolique des feuilles est plus élevée $4.68 \mu\text{g} \pm 0,001$ ($p < 0,001$) par rapport que celle des racines $0.413 \pm 0,034 \mu\text{g}$ équivalent de Cyanidine /g de matière sèche ($\mu\text{g Eq C/g M.S}$).

Cette différence peut être due à la variation de la masse molaire des TCs dans chaque échantillon. Collin et Crouzet, 2011 (Collin et Crouzet, 2011) ont montré que l'acétone, et l'éthanol sont les deux solvants les plus recommandés pour récupérer sélectivement les acides tanniques de haut poids moléculaire tel que les proanthocyanidines.

La méthode DPPH^{*} a été largement appliquée pour estimer l'activité des antioxydants. Le DPPH^{*}, un radical libre stable de couleur pourpre, se transforme en un composé jaune stable lors de sa réaction avec un antioxydant (Mzid et al., 2017).

Dans cette étude, la capacité de l'extrait de feuilles et de racines d'UDL à piéger le DPPH^{*} a été évaluée. La capacité de réduction du DPPH^{*} a été déterminée par la diminution de son absorbance à 517 nm. Nos résultats montraient que les extraits méthanoliques des feuilles et des racines d'UDL possèdent un pouvoir de piégeage du radical DPPH^{*} concentration dépendant avec une IC₅₀ égale à $40,72 \pm 0,0014 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait de feuilles.

Le piégeage de DPPH^{*} par l'extrait méthanolique des feuilles d'UDL est supérieurs à celle de racines, cette distribution de pouvoir antiradicalaire est due à la teneur élevée de composés phénoliques dans les feuilles. D'après Bidie et al. (Bidie et al., 2011), les plantes qui possèdent une bonne activité antioxydantes contiennent de fortes teneurs en groupement phénoliques.

Nos résultats sont identiques à ceux de Zoran et al. (Zoran et al., 2012) et Orhan et al. (Orhan et al., 2012) qui ont révélé que l'activité antiradicalaire d'extrait des feuilles vis-à-vis du radical DPPH^{*} est relativement faible par rapport à celle de l'acide ascorbique.

Une étude réalisée par Güler et al. (Güler et al., 2013) sur l'effet antioxydant d'*Urtica dioica L.* par deux types de macération (aqueuse et éthanolique) a révélé des IC50 de 300 et 370 µg/ml pour les deux extraits respectivement.

En 2012, Albayrak et ses collaborateurs (Albayrak et al., 2012) ont constaté que le pourcentage d'inhibition de l'extrait de feuilles d'UDL à une concentration de 2 mg/ml est de 40 %.

Ces résultats montraient que l'activité antiradicalaire vis-à-vis de radical DPPH[•] est influencée par le choix de solvant d'extraction et la teneur en composé phénolique.

Comme le DPPH[•], la méthode ABTS^{•+} est largement utilisée pour évaluer la capacité antioxydante de diverses substances, notamment des extraits de plantes. Dans cette étude, nous avons montré que les deux extraits possèdent un pouvoir de piégeage de l'ABTS^{•+} par rapport à l'acide ascorbique (standard) avec des IC50 de l'ordre de 6.058 µg/ml pour les feuilles et 5.690 µg/ml pour les racines.

Les études antérieures ont aussi montré que l'extrait méthanolique d'*Urtica dioica L.* possède une activité antioxydante de piégeage du radical ABTS^{•+}. Nos résultats sont en accord avec ceux de Sidaoui et al. (Sidaoui et al., 2015) ont trouvé une IC50 égale à 5,3 µg/ml comparativement à l'acide ascorbique qui est égale à 1,84 µg/ml. Nos résultats sont meilleurs que ceux obtenus par Zoran et ses collaborateurs (Zoran et al., 2012) qui ont trouvé une IC50 égale à 23,55 µg/ml.

Le pyrogallol est un polyphénol qui génère le radical anion superoxyde (Bruges et al., 2018) et donne une couleur violette (Chen et al., 2005). Il est instable et réagit facilement avec le dioxygène dans des solutions à pH 7,4 pour former la purpurogalline (Honda et al., 2017) puis l'anion superoxyde (Henry et al., 1989). Ce dernier est l'un des précurseurs des radicaux hydroxyles, qui initie indirectement la peroxydation lipidique (Zhang et al., 2010).

Dans notre étude, les extraits méthanoliques des feuilles et des racines d'*Urtica dioica L.* présentaient une activité inhibitrice d'autoxydation de pyrogallol, mais cette activité est inférieure à celle de l'acide ascorbique.

L'étude de Güder et Korkmaz (Güder et Korkmaz, 2012) suggère que le pourcentage d'inhibition de l'anion superoxyde par l'extrait des feuilles et des racines d'*Urtica dioica L.* est de 72.9 % et 91.1 % respectivement, Ces résultats ont indiqué que l'extrait d'UDL avait un effet visible sur le piégeage du radical anion superoxyde.

En plus, l'étude de Xu et al., 2013 (Xu et al., 2013) a montré que certains flavonoïdes comme la chryisine qui est présente dans les feuilles et les racines d'*Urtica dioica L.* (Bouali et al., 2014) inhibent la formation des intermédiaires de l'autoxydation du pyrogallol et sont capables de piéger l'anion superoxyde.

La méthode de l'estimation du pouvoir réducteur est basée sur la réduction du complexe Fe^{3+} TPTZ (complexe incolore) en Fe^{2+} -tripyridyltriazine (complexe de couleur bleue) formé par l'action d'antioxydants donneurs d'électrons à faible pH. Cette réaction est contrôlée en mesurant le changement d'absorbance à 593 nm (Rajurkar et Hande, 2011).

Nos résultats ont montré la présence d'un faible pouvoir réducteur pour les deux extraits d'UDL concentration dépendant.

Ces résultats sont comparables à ceux qui sont trouvées par Zoran et al (Zoran et al., 2012), qui ont démontré que l'extrait d'*Urtica dioica L.* représente un pouvoir réducteur très faible 7.50 ± 0.43 par rapport au l'acide ascorbique, 143.09 ± 11.2 mM (Fe II)/g respectivement.

Ozkan et al (Ozkan et al., 2011) ont démontré que le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioica L.* est de 38.65 ± 3.43 mmol (Fe II)/g.

L'étude de Katakai et al (Katakai et al., 2012), confirme aussi que l'extrait méthanolique des feuilles d'*Urtica dioica L.* possède un pouvoir réducteur est moins élevé que celui du standard (tocophérol) et qu'il est concentration dépendant (Katakai et al., 2012).

Cette étude conclut qu'*Urtica dioica L.* est considérée comme une source potentielle d'antioxydants naturels. La présence de composés actifs pourrait être responsable de leurs effets thérapeutiques. Les propriétés antioxydantes sont attribuées aux flavonoïdes en raison de leurs groupes hydroxyle qui pouvant agir surtout en tant que piègeurs de radicaux libres (Mzid et al., 2017).

L'infiltration cellulaire, due au rôle central joué par les leucocytes, est un aspect important de la réponse inflammatoire (Umapathy et al., 2010). Les enzymes lysosomales libérées au cours de l'inflammation produisent divers troubles qui entraînent des lésions des tissus en endommageant les macromolécules et induisent la peroxydation lipidique des membranes (Pungle et al., 2018). La stabilisation de la membrane lysosomale est importante pour limiter la réponse inflammatoire en inhibant la libération de constituants lysosomaux de neutrophiles activés telle que les enzymes bactéricides et les protéases (Chippada et al., 2011). Comme la membrane des globules rouges est semblable à celle de la membrane lysosomale, l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges peut fournir des informations sur le processus inflammatoire

(Umapathy et al., 2010). La stabilisation de ces membranes cellulaires peut retarder ou inhiber la lyse et la libération ultérieure du contenu cytoplasmique, ce qui minimise à son tour les lésions tissulaires. Par conséquent, les substances qui contribuent de manière significative à la protection de la membrane cellulaire contre les substances nocives sont importantes pour inhiber la progression de l'inflammation (Gunathilakeet al., 2018).

La stabilisation de la membrane érythrocytaires de la lyse membranaire induite par une solution hypotonique peut être considérée comme une mesure *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire des médicaments ou des extraits de plantes (Chippada et al., 2011). D'après les résultats de notre expérimentation, l'extrait méthanolique d'*Urtica dioica L.* des feuilles et de racines présente une stabilisation de la membrane érythrocytaire d'une manière concentration dépendante. Les racines possèdent un pouvoir de stabilisation des membranes plus important que celui des feuilles ($p < 0,01$) mais inférieur à celui du diclofénac de sodium utilisé comme médicament de référence atteignant un maximum de $29,12 \pm 0,15$ % contre $8,97 \pm 0,12$ % pour les feuilles à la concentration de 500 $\mu\text{g/ml}$.

Les racines d'UDL sont connues pour leur contenance en stérols comme le β -sitostérol et le stigmastérol, ... On pense que leur pouvoir de stabilisation de la membrane lysosomale est dû à la présence de ces stérols qui agissent sur la fluidité membranaire (Mamta et Preeti, 2014).

Le diclofénac est l'un des médicaments non stéroïdiens, qui agit en inhibant la synthèse de prostaglandines et de thromboxane, en inhibant l'action des deux isoformes de l'enzyme membranaire cyclooxygénase (COX-1 et COX-2) (Ahmad et al., 2013).

En plus de leur action inhibitrice des cyclooxygénases, les anti-inflammatoires non stéroïdiens agissent soit en stabilisaient les membranes lysosomales, soit en inhibaient les enzymes lysosomales (Kumari et al., 2015).

L'inhibition des protéases a été impliquée dans les réactions anti-inflammatoires. Les neutrophiles sont connus pour être une source de protéase qui transporte dans leurs granules lysosomaux de nombreuses sérines protéases (Govindappa et al., 2011). Pour étudier l'activité des inhibiteurs de la sérine protéase, nous avons étudié l'activité inhibitrice de l'extrait méthanolique des feuilles et de racines d'UDL. Nos résultats ont montré que l'extrait méthanolique des feuilles d'UDL possède une activité d'inhibition de l'action des protéases égale à celle du diclofénac de sodium et significativement plus élevée à celle de l'extrait méthanolique des racines ($p < 0,05$).

La dénaturation des protéines est bien documentée dans la littérature est due à un processus inflammatoire ressemblant à l'arthrite (Umapathy et al., 2010). La dénaturation des protéines

est une cause bien connue d'inflammation dans des conditions telles que la polyarthrite rhumatoïde (Padmanabhan et Jangle, 2012). Cette protection contre la dénaturation des protéines était le premier mécanisme d'action des AINS étudié (Mizushima et al., 1964).

Les lésions tissulaires au cours de la vie pourraient être assimilées à la dénaturation des constituants protéiques des cellules ou de la substance intercellulaire. Par conséquent, la capacité d'une substance à inhiber la dénaturation d'une protéine signifie un potentiel apparent d'activité anti-inflammatoire (Osman et al., 2016). D'après nos résultats, l'extrait méthanolique de racines permet d'inhiber la dénaturation de BSA à un pourcentage de $67.55 \pm 2,3$ % au même degré que le diclofénac ($p > 0,05$). Cette protection de la dénaturation des protéines est concentration dépendante.

L'inflammation induite par le carragénine est un modèle utilisé *in vivo* pour la détermination d'agents anti-inflammatoires non stéroïdiens actifs (Samuel et al., 2011). Cette technique a été sélectionnée en raison de sa simplicité d'exécution, de sa rapidité d'induction des symptômes caractéristiques de l'inflammation (développement de l'œdème dans l'heure qui suit l'injection, avec un effet maximal au bout de 4 heures) et également en raison de sa reproductibilité (Chatter Riahi et al., 2011). La carragénine est un polysaccharide sulfaté extrait à partir des algues, utilisé pour provoquer l'œdème par l'induction de la libération des médiateurs inflammatoires et pro-inflammatoires (prostaglandines, leucotriènes, histamine, bradykinine, TNF α , etc.) (Amdekar et al., 2012). L'œdème de la patte induit par la carragénine est un événement biphasique. La phase initiale est attribuée à la libération d'histamine et de sérotonine, tandis que la deuxième phase de l'œdème est due à la libération de prostaglandines, des protéases du lysosome (Asongalem et al., 2004 ; Silva et al., 2005), ce qui explique l'augmentation de la taille des pattes des souris obtenue après la première heure suivant son injection. Cette phase est sensible à la fois aux agents anti-inflammatoires stéroïdien et non stéroïdien utile sur le plan clinique (Amdekar et al., 2012).

Le prétraitement des souris par le diclofénac de sodium (50 mg/kg) et les extraits méthanoliques des feuilles et des racines d'UDL (25 mg/kg et 50 mg/kg) a montré que les deux extraits méthanoliques d'UDL induisent une inhibition remarquable de l'inflammation induite par la carragénine à partir de la première heure suivant son injection caractérisée par la réduction de la taille de la patte des souris. Les extraits méthanoliques des feuilles et des racines d'UDL présentent des pourcentages d'inhibition maximaux à la dose de 50 mg/kg par rapport à la dose 25mg/kg et au diclofénac de sodium (50 mg/kg).

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait des feuilles d'*Urtica dioïca L.* à la dose de 400 mg / kg a montré la présence d'une réduction de l'inflammation d'une manière significatif ($p < 0.05$) par rapport au médicament (Indométacine 10mg/kg) (Hajhashemi et al., 2013)

Une autre étude menée par Liao et al. (Liao et al., 2016) suggère que le gel à base des racines d'*Urtica dioïca L.* (200 mg/kg) présentait un pourcentage d'inhibition plus élevé que celui du gel à base d'indométacine (10 mg/kg).

D'une manière générale, le mécanisme anti-inflammatoire des composés phénoliques est dû à leurs actions sur plusieurs niveaux de la réaction inflammatoire, en inhibant le métabolisme de l'acide arachidonique, les mécanismes de la transduction du signal impliqués dans l'activation des cellules inflammatoires (Iwalewa et al., 2007), la synthèse des cytokines pro-inflammatoires, l'expression des molécules d'adhésion et la génération des espèces réactives de l'oxygène (Oskouei et al., 2015).

Bakhshae et al. (Bakhshae et al., 2017) ont rapporté que l'adénine, le nicotinamide, la synéphrine et l'osthole, présents dans *Urtica dioïca L.* possèdent des propriétés anti-inflammatoires et anti-allergènes. Tous ces composés se sont révélés avoir des effets anti-inflammatoires importants. Il est intéressant de noter que la synéphrine, un alcaloïde qui a longtemps été utilisé comme décongestionnant nasal, est utilisée en médecine traditionnelle chinoise pour le traitement de l'allergie saisonnière et d'autres troubles inflammatoires. Plus récemment, il a été démontré que l'extrait d'*Urtica dioïca L.* induit l'inhibition *in vitro* de plusieurs événements inflammatoires. Ceux-ci incluent l'activité antagoniste et agoniste du récepteur de l'histamine qui bloque la production et la libération d'histamine, l'inhibition de la tryptase des mastocytes empêchant la dégranulation des mastocytes et la libération consécutive des cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires et l'inhibition de la cyclooxygénase (COX-1 et COX-2) qui sont impliquées dans l'induction de nombreux phénomènes inflammatoires.

Il est bien connu aujourd'hui que les polyphénols et plus précisément les flavonoïdes sont les molécules responsables de l'activité antioxydante des extraits de plantes (Bouali et al., 2014). Les résultats de notre étude ont montré une richesse de l'extrait de feuilles d'UDL en polyphénols et flavonoïdes par rapport à l'extrait de racines. Ceci peut expliquer la différence des pouvoir antioxydants enregistrés entre les deux extraits et la faiblesse du pouvoir de ce dernier.

Parmi les molécules présentes dans les extraits de feuilles, il y a la quercétine, le kampférol, la chrysin et la naringénine (Bouali et al., 2014). La quercétine est un flavonoïde connu pour son fort pouvoir antioxydant. Elle est capable de piéger le DPPH et l'ABTS^{•+} grâce à sa capacité de céder un électron ou un atome d'hydrogène (Dolatabadi et al., 2014). Le kampférol est aussi capable de piéger le DPPH et le radical ABTS^{•+} (Houng et al., 2017 ; Deng et al., 2019).

L'extrait méthanolique de racines, malgré sa faible teneur en flavonoïdes, il a un fort pouvoir anti-inflammatoire. Une molécule spécifique est présente dans ces racines, c'est un tannin appelé acide vallique. Ce dernier est doué d'une forte activité anti-inflammatoire à travers l'inhibition du recrutement des neutrophiles, de la production des cytokines et de l'activation de la voie NFκB (Calixto-Campos et al., 2015). Elles sont aussi caractérisées par la présence des lectines, à activité immunomodulatrice et anti-inflammatoire en inhibant la production du TNF-α et par conséquent la voie NF-κB. Lorsqu'elles sont administrées, ces lectines entraînent une inhibition de 12h de l'œdème induit chez les rats (Wagner et al., 1994).

Conclusion
&
Perspectives

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours une source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Et comme la phytothérapie suscite un renouveau d'intérêt, nous sommes intéressés dans ce travail à étudier l'activité antioxydante et anti-inflammatoire des extraits méthanoliques des feuilles et des racines de la plante *Urtica dioica L.*

L'étude phytochimique a montré que l'extrait des feuilles est plus riche en polyphénols, flavonoïdes et en tanins par rapport à l'extrait de racines.

L'étude du pouvoir antioxydant a été réalisée par des tests *in vitro* et ont montré que l'extrait de feuilles possède un plus fort pouvoir antioxydant par rapport à l'extrait de racines. Ils ont un pouvoir de piégeage de différents radicaux libres comme le radical DPPH[•], le radical ABTS^{•+} et d'inhibition de l'auto-oxydation du pyrogallol.

Cette étude a permis de montrer aussi que les deux extraits possèdent un fort pouvoir anti-inflammatoire :

- L'extrait de racines agit principalement en inhibant la dénaturation des protéines et en induisant la stabilisation de la membrane des globules rouges à travers l'inhibition de leur hémolyse et ce, d'une manière concentration dépendante

- L'extrait de feuilles agit principalement par l'inhibition de l'action des protéases. Les deux extraits (50 mg/kg) possèdent le même pouvoir d'inhibition de l'œdème induit chez la souris *Wistar* par injection de la carragénine égale à $48,8 \pm 0,045$ % pour les racines et $50,48 \pm 0,132$ % pour les feuilles plus efficacement que le diclofénac de sodium.

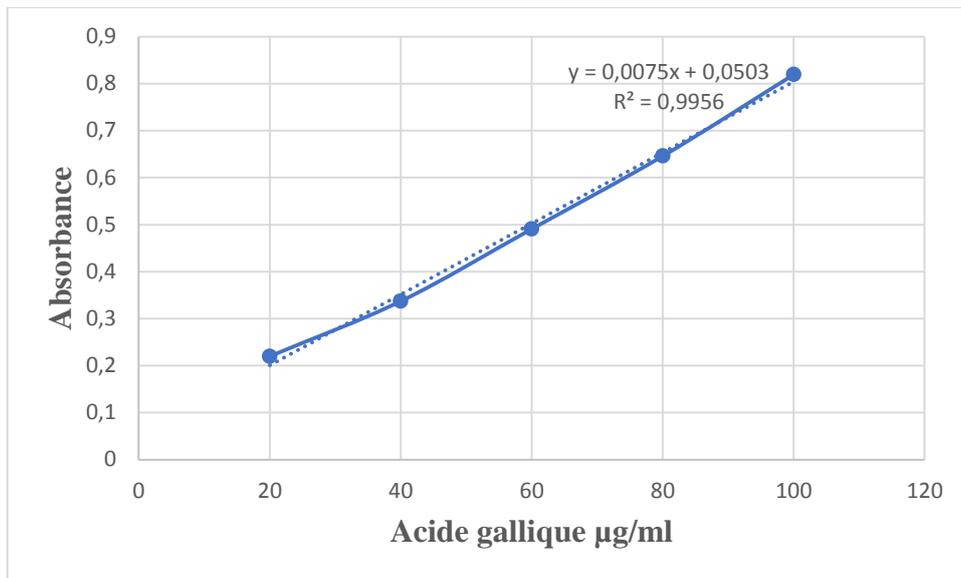
Ces résultats ont confirmé les utilisations potentielles d'*Urtica dioica L.* en médecine traditionnelle algérienne.

Perspectives

Vue l'importance des résultats obtenus, il serait intéressant de compléter ce travail par l'étude de la composition chimique détaillée d'*Urtica dioica L.*, l'étude des mécanismes moléculaires responsables des effets obtenus, et l'identification de la (les) molécule(s) responsables de ces effets.

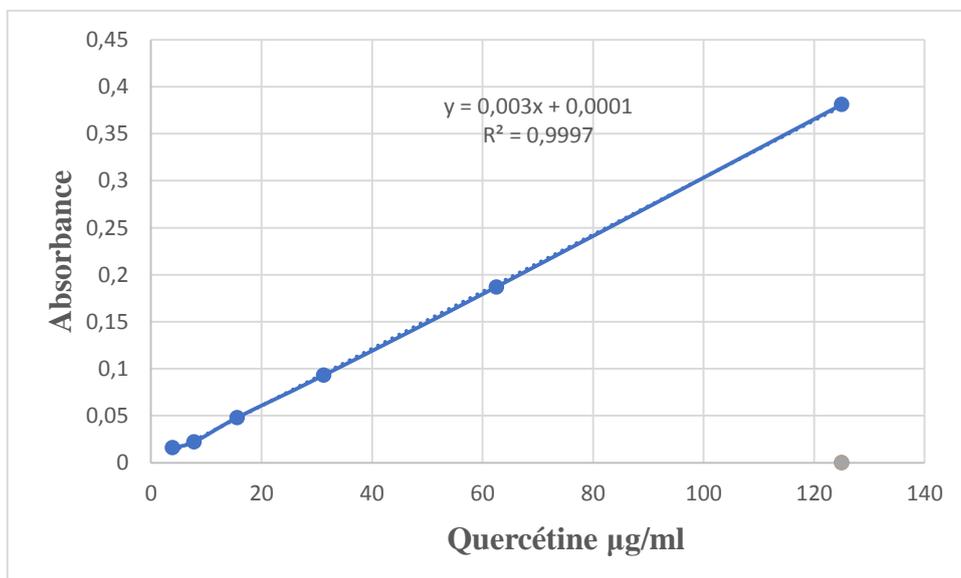
Annexes

Annexe 1



Annexe 1 Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Annexe 2



Annexe 2 Courbe d'étalonnage de la quercétine.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

Abdulkhaleq L.A., Assi M.A., Abdullah R., Zamri-Saad M., Taufiq-Yap Y. H., and Hezmee M.N. M., 2018. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *World*; 11(5): 627-635.

Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxy des dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7), 636-643.

Ahangarpour, A., Mohammadian, M., & Dianat, M. (2012). Antidiabetic effect of hydroalcoholic Urticadioica leaf extract in male rats with fructose-induced insulin resistance. *Iranian journal of medical sciences*, 37(3), 181.

Ahmad, I., Quresh, T., Sadique, U., Khan, S. A., & Ahmed, S. (2013). Hematological effects of diclofenac sodium in goat. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 23(1), 103-107.

Ait Haj, S. A., Sbai El Otmani, I., Derfoufi, S., & Benmoussa, A. (2016). mise en valeur du potentiel nutritionnel et thérapeutique de l'ortie dioïque (*Urticadioica* L.). *HEGEL*.

Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., & Albayrak, S. (2012). Antioxidant and antimicrobial activities of different extracts of some medicinal herbs consumed as tea and spices in Turkey. *Journal of Food Biochemistry*, 36(5), 547-554.

Andreicut, A. D., Pârvu, A. E., Mot, A. C., Pârvu, M., Fischer Fodor, E., Cătoi, A. F., ... & Irimie, A. (2018). Phytochemical analysis of anti-inflammatory and antioxidant effects of *Mahonia aquifolium* flower and fruit extracts. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018.

Azab, A., Nassar, A., & Azab, A. (2016). Anti-inflammatory activity of natural products. *Molecules*, 21(10), 1321.

Bakhshae, M. (2017). efficacy of supportive therapy of allergic rhinitis by stinging nettle (*Urticadioica*) root extract: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 16(Suppl), 112.

Bertrand Bernard Les secrets de l'Ortie. - 7ème édition Editions de Terran, 2002.- 128p.- (Collection Le Compagnon Végétal ; n01)

Bidié, A. P., N'guessan, B. B., Yapo, A. F., N'guessan, J. D., & Djaman, A. J. (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature*, 8(1-2), 1-12.

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

Bourgeois, C., Leclerc, É. A., Corbin, C., Doussot, J., Serrano, V., Vanier, J. R., ... & Hano, C. (2016). Nettle (*Urticadioica* L.) as a source of antioxidant and anti-aging phytochemicals for cosmetic applications. *Comptes Rendus Chimie*, 19(9), 1090-1100.

Büger, P. A., & Schilling, J. H. (2018, March). Application of the ion microprobe mass analyser to the analysis of biological materials. In *The Analysis of Biological Materials: The Proceedings of a Conference Held in Pretoria, South Africa, October 1977, by the Spectroscopic Society of South Africa* (p. 39). Elsevier.

- Calixto-Campos, C., Carvalho, T. T., Hohmann, M. S., Pinho-Ribeiro, F. A., Fattori, V., Manchope, M. F., ... & Verri Jr, W. A. (2015). Vanillic acid inhibits inflammatory pain by inhibiting neutrophil recruitment, oxidative stress, cytokine production, and NFκB activation in mice. *Journal of natural products*, 78(8), 1799-1808.
- Carvalho, A. R., Costa, G., Figueirinha, A., Liberal, J., Prior, J. A., Lopes, M. C., ... & Batista, M. T. (2017). Urtica spp.: Phenolic composition, safety, antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food research international*, 99, 485-494.
- Chen, H., Zhang, M., & Xie, B. (2005). Components and antioxidant activity of polysaccharide conjugate from green tea. *Food Chemistry*, 90(1-2), 17-21.
- Chen, X. X., Shi, Y., Chai, W. M., Feng, H. L., Zhuang, J. X., & Chen, Q. X. (2014). Condensed tannins from *Ficus virens* as tyrosinase inhibitors: structure, inhibitory activity and molecular mechanism. *PLoS One*, 9(3), e91809. Chrubasik, J. E., Roufogalis, B. D
- Chrubasik, S. (2007). Evidence of effectiveness of herbal anti-inflammatory drugs in the treatment of painful osteoarthritis and chronic low back pain. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(7), 675-683.
- Chippada, S. C., & Vangalapati, M. (2011). Antioxidant, anti-inflammatory and anti-arthritis activity of *Centella asiatica* extracts. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences (JCBPS)*, 1(2), 260.
- Collin, S., & Crouzet, J. (2011). *Polyphénols et procédés: transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire*. Lavoisier.
- Crémer, S., Knoden, D., Stilmant, D., & Luxen, P. (2008). Le contrôle des populations indésirables de rumex, chardons et orties dans les prairies permanentes. *Les livrets de l'agriculture*, 17, 86.
- Cronkite, D. A., & Strutt, T. M. (2018). The regulation of inflammation by innate and adaptive lymphocytes. *Journal of immunology research*, 2018.
- Daoudi, A., Sabiri, M., Bammou, M., Zair, T., Ibijbjen, J., & Nassiri, L. (2015). Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica*: *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L. *Journal of Applied Biosciences*, 87(1), 8094-810
- Das, M., Kundu, D., Singh, J., Rastogi, A., Mukherjee, G., & Chatterjee, A. (2018). Rejuvenation of Metabolic Cascades for Controlling Aging through Bioactive Compounds: A Review. *J Nutri Food Sci Forecast*, 1 (1), 1003.
- Defraigne, J. O., & Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63, 10-19.
- DeFranco, A. L., Robertson, M., & Locksley, R. M. (2009). *Immunité: la réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires*. De Boeck Supérieur.
- Delahaye, J. Utilisations de l'ortie- *Urtica dioica* L. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Rouen UFR de médecine et de pharmacie, 2015. pp 227.

- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.
- El Haouari, M., & Rosado, J. A. (2019). Phytochemical, anti-diabetic and cardiovascular properties of *Urtica dioica* L. (Urticaceae): A Review. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 19(1), 63-71.
- Eteraf-Oskouei, T., Allahyari, S., Akbarzadeh-Atashkhosrow, A., Delazar, A., Pashai, M., Gan, S. H., & Najafi, M. (2015). Methanolic extract of *Ficus carica* Linn. leaves exerts antiangiogenesis effects based on the rat air pouch model of inflammation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372-379.
- Flores-Ocelotl, M. R., Rosas-Murrieta, N. H., Moreno, D. A., Vallejo-Ruiz, V., Reyes-Leyva, J., Domínguez, F., & Santos-López, G. (2018). *Taraxacum officinale* and *Urtica dioica* extracts inhibit dengue virus serotype 2 replication in vitro. *BMC complementary and alternative medicine*, 18(1), 95.
- Francišковиć, M., Gonzalez-Pérez, R., Orčić, D., Sánchez de Medina, F., Martínez-Augustin, O., Svirčev, E., ... & Mimica-Dukić, N. (2017). Chemical Composition and Immunomodulatory Effects of *Urtica dioica* L. (Stinging Nettle) Extracts. *Phytotherapy research*, 31(8), 1183-1191.
- Freire, M. O., & Van Dyke, T. E. (2013). Natural resolution of inflammation. *Periodontology 2000*, 63(1), 149-164
- Fürst, R., & Zündorf, I. (2014). Plant-derived anti-inflammatory compounds: hopes and disappointments regarding the translation of preclinical knowledge into clinical progress. *Mediators of inflammation*, 2014.
- Furuno, K., Akasako, T., & Sugihara, N. (2002). The contribution of the pyrogallol moiety to the superoxide radical scavenging activity of flavonoids. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25(1), 19-23.
- Ghaima, K. K., Hashim, N. M., & Ali, S. A. (2013). Antibacterial and antioxidant activities of ethyl acetate extract of nettle (*Urtica dioica*) and dandelion (*Taraxacum officinale*). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(5), 96.
- Ghedira, K., Goetz, P., & Le Jeune, R. (2009). *Urtica dioica* L., *Urtica urens* et/ou hybrides (Urticaceae). *Phytothérapie*, 7(5), 279.
- Govindappa, M., Channabasava, R., Sowmya, D. V., Meenakshi, J., Shreevidya, M. R., Lavanya, A., ... & Sadananda, T. S. (2011). Phytochemical Screening, Antimicrobial and in vitro Anti-inflammatory Activity of Endophytic Extracts from *Loranthus* sp. *Pharmacognosy Journal*, 3(25), 82-90.

Güder, A., &Korkmaz, H. (2012). Evaluation of in-vitro antioxidantproperties of hydroalcoholic solution extractsUrticadioica L., MalvaneglectaWallr. andtheir mixture. *Iranian journal of pharmaceuticalresearch: IJPR*, 11(3), 913.

Gülçin, I., Küfrevioğlu, Ö. İ., Oktay, M., &Büyükokuroğlu, M. E. (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesicactivities of nettle (Urticadioica L.). *Journal of ethnopharmacology*, 90(2-3), 205-215.

Gunathilake K.D.P.P., Ranaweera K.K.D.S. and VasanthaRupasinghe H.P., 2018.In Vitro Anti-Inflammatory Properties of Selected Green Leafy Vegetables.*Biomedicines*; 6 (107): 1-10.

Hajhashemi, V., &Klooshani, V. (2013). Antinociceptive and anti-inflammatoryeffects of Urticadioicaleafextract in animal models. *Avicenna journal of phytomedicine*, 3(2), 193.

Heilerova, L., Silhar, S., Buckova, M., &Tarapcik, P. (2003). Comparison of antioxidativeactivity data for aqueousextracts of lemonbalm (*Melissa officinalis*), oregano (*Origanumvulgare*), thyme (*Thymus vulgaris*), and agrimony (*Agrimoniaeupatoria*) obtained by conventionalmethods and the DNA-basedbiosensor. *Czech Journal of Food Sciences-UZPI (CzechRepublic)*.

Honda, S., Fukuyama, Y., Nishiwaki, H., Masuda, A., &Masuda, T. (2017). Conversion to purpurogallin, a key step in the mechanism of the potent xanthine oxidaseinhibitoryactivity of pyrogallol. *Free Radical Biology and Medicine*, 106, 228-235.

Horde P, « Ortie - Vertus » issu de Sante-Medecine (sante-medecine.comment ca marche.net), « Health on the Net » (HONcode) destinée aux sites Web médicaux et de santé juin2014). (2014).

Ighodaro O.M.,Akinloye O.A., 2018. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine* ; 54 (4) : 287-293.

Jean-Blain, C. (1998). Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins. *Revue de Médecine vétérinaire*, 149(10), 911-920.

Joshi, B. C., Mukhija, M., & Kalia, A. N. (2014). Pharmacognosticalreview of Urticadioica L. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 8(4).

Juma, K. K., David, M. N., & Joseph, J. N. N. (2015). A Review of the Biochemical. *Hematological and Histological Modulations in Acetaminophen*.

KatakiMS,urugamani M., Rajkumari A., Mehr PS, Awasthi D,YadavRS., 2012. Antioxidant, Hepatoprotective andAnthelmintic Activities of Methanol Extract of Urticadioica L. Leaves.*PharmCrops*;3:38-46.

Khoddami A, Wilkes M.A, Roberts T.H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18, 2328-2375.

Kukrić, Z. Z., Topalić-Trivunović, L. N., Kukavica, B. M., Matoš, S. B., Pavičić, S. S., Boroja, M. M., &Savić, A. V. (2012). Characterization of antioxidant and antimicrobialactivities of nettleleaves (Urticadioica L.). *Apteff*, 43, 1-342.

Külcü, D. B., Gökışık, C. D., & Aydın, S. (2019). An Investigation of Antibacterial and Antioxidant Activity of Nettle (*Urticadioica* L.), Mint (*Menthapiperita*), Thyme (*Thymeserpyllum*) and *Chenopodium album* L. Plants from Yaylacık Plateau, Giresun, Turkey. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7(1), 73-80.

Kumari, C. S., Yasmin, N., Hussain, M. R., & Babuselvam, M. (2015). Invitro anti-inflammatory and anti-arthritic property of rhizoporamucronataleaves. *Int J Pharma SciRes*, 6(3), 482-5.

Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactiveoxygenspecies, oxidative stress and its classification. *Chemico-biological interactions*, 224, 164-175.

Mak, T.W., Saunders, M.E. and Jett, B.D., 2013. *Primer to the Immune Response*. Newnes.

Mangambu, M. D. D., Mushagalusa, K. F., & Kadima, N. J. (2014). Contribution à l'étude photochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, RD Congo). *Journal of Applied Biosciences*, 75(1), 6211-6220.

Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.

Mizushima, Y. (1964). Inhibition of proteindenaturation by antirheumatic or antiphlogistic agents. *Arch Int PharmacodynTher*, 149, 1-7.

Mzid, M., Ben Khedir, S., Ben Salem, M., Regaieg, W., & Rebai, T. (2017). Antioxidant and antimicrobialactivities of ethanol and aqueousextractsfrom *Urtica*urens. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 775-781.

Namjoui, A., Heidarian, E., & Rafieian-Kopaei, M. (2018). Effects of *Urticadioica* hydroalcoholicextract on bloodserum glucose and lipid profiles of female Wistar rats with long-termestrogendeficiency. In *VeterinaryResearch Forum* (Vol. 9, No. 4, p. 349). Faculty of VeterinaryMedicine, UrmiaUniversity, Urmia, Iran.

Nematgorgani, S., Agah, S., Shidfar, F., Gohari, M., & Faghihi, A. (2017). Effects of *Urticadioica*leafextract on inflammation, oxidative stress, ESR, bloodcell count and quality of life in patients withinflammatoryboweldisease. *Journal of HerbalMedicine*, 9, 32-41.

Nencu, I., Vlase, L., Istudor, V., & Mircea, T. (2015). Preliminary researchregarding *Urtica*urens L. and *Urticadioica* L. *aminoacids*, 63, 5.

Nidavani, R. B., & Mahalakshmi, A. M. (2014). Pharmacology of *Tectona grandis* Linn.: Short Review. *International Journal of Pharmacognosy and PhytochemicalResearch*, 6(1), 86-90.

Orhan, D. D., ÖZÇELİK, B., HOŞBAŞ, S., & Vural, M. (2012). Assessment of antioxidant, antibacterial, antimycobacterial, and antifungalactivities of some plants used as folk remedies in Turkeyagainst dermatophytes and yeast-like fungi. *Turkish Journal of Biology*, 36(6), 672-686.

Osman, N. I., Sidik, N. J., Awal, A., Adam, N. A. M., & Rezali, N. I. (2016). In vitro xanthine oxidase and albumindenaturation inhibition assay of *Barringtonia racemosa* L. and total phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in goutyarthrititis. *Journal of intercultural ethnopharmacology*, 5(4), 343.

- Özen, T., & Korkmaz, H. (2003). Modulatory effect of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) leaf extract on biotransformation enzyme systems, antioxidant enzymes, lactate dehydrogenase and lipid peroxidation in mice. *Phytomedicine*, 10(5), 405-415.
- Ozkan, A., Yumrutas, O., Saygideger, S. D., & Kulak, M. (2011). Evaluation of antioxidant activities and phenolic contents of some edible and medicinal plants from Turkey's flora. *Advances in Environmental Biology*, 231-237.
- Padmanabhan, P., & Jangle, S. N. (2012). Evaluation of in-vitro anti-inflammatory activity of herbal preparation, a combination of four medicinal plants. *Int J Basic Appl Med Sci*, 2(1), 109-116.
- Perera, H. D. S. M., Samarasekera, J. K. R. R., Handunnetti, S. M., Weerasena, O. V. D. S. J., Weeratunga, H. D., Jabeen, A., & Choudhary, M. I. (2018). In vitro pro-inflammatory enzyme inhibition and anti-oxidant potential of selected Sri Lankan medicinal plants. *BMC complementary and alternative medicine*, 18(1), 271.
- Picard, M., & McEwen, B. S. (2018). Psychological stress and mitochondria: a systematic review. *Psychosomatic medicine*, 80(2), 141.
- Piomelli, D., 2013. Arachidonic Acid in Cell Signaling. Springer Science and Business Media, New York.
- Pisoschi A.M., Pop A., Cimpeanu C., and Predoi G., 2016. Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*; ID 9130976, pp36
- Qandil, A. (2012). Prodrugs of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), more than meets the eye: a critical review. *International journal of molecular sciences*, 13(12), 17244-17274.
- Quenzel P., Santa S. Nouvelle flore d'Algérie Edition du centre national de la recherche scientifique. Ed Tome II. Paris France. 603 p, 1963
- Qayyum, R., Qamar, H. M. U. D., Khan, S., Salma, U., Khan, T., & Shah, A. J. (2016). Mechanisms underlying the antihypertensive properties of *Urtica dioica*. *Journal of translational medicine*, 14(1), 254.
- Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., & Dhama, K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed research international*, 2014.
- Rajendran P., Nandakumar N., Rengarajan T., Palaniswami R., Gnanadhas EN., Lakshminarasiah U., Gopas J. and Nishigaki I., 2014. Antioxidants and human diseases. *Clinica Chimica Acta*; 436, 332-347,
- Ranjbari, A., Azarbayjani, M. A., Yusof, A., Mokhtar, A. H., Akbarzadeh, S., Ibrahim, M. Y., and Dehghan, F. (2016). In vivo and in vitro evaluation of the effects of *Urtica dioica* and swimming activity on diabetic factors and pancreatic beta cells. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), 101.

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Reiter, R., Tan, D., Rosales-Corral, S., Galano, A., Zhou, X., & Xu, B. (2018). Mitochondria: central organelles for melatonin's antioxidant and anti-aging actions. *Molecules*, 23(2), 509.
- Riahi, R. C., Tarhouni, S., & Kharrat, R. (2012). Criblage de l'effet anti-inflammatoire et analgésique des algues marines de la mer méditerranée.
- Ribeiro, V. P., Arruda, C., Abd El-Salam, M., & Bastos, J. K. (2018). Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: A review. *Pharmaceutical biology*, 56(1), 253-268.
- Roschek B.J., Fink R.C., McMichael M., Alberte R.S., Roschek B.J., Fink Ryan C., Matthew M., Randall S.A., 2009. Nettle extract (*Urtica dioica*) affects key receptors and enzymes associated with allergic rhinitis. *Phytother Res*; 23:920-926.
- Salih, H., Li, Z. H., Al-Amri, M., & Zubairy, M. S. (2014). Salih et al. reply. *Physical Review Letters*, 112(20), 208902.
- Samantha Le Sommer, Martina Pesaresi, Cristina Martin-Granados, Mirela Delibegovic, 2015. Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) in the immune system. *Inflammation & Cell Signaling*; 2: e965. pp10.
- Şandru, C. D., Niculae, M., Popescu, S., Paştui, A. I., Páll, E., & Spinu, M. (2016). *Urtica dioica* alcoholic extract increases the cell-mediated innate immune potential in chickens. *Industrial Crops and Products*, 88, 48-50.
- Schoots, M. H., Gordijn, S. J., Scherjon, S. A., van Goor, H., & Hillebrands, J. L. (2018). Oxidative stress in placental pathology. *Placenta*, 69, 153-161
- Semalty, M., Adhikari, L., Semwal, D., Chauhan, A., Mishra, A., Kotiyal, R., & Semalty, A. (2017). A Comprehensive Review on Phytochemistry and Pharmacological Effects of Stinging Nettle (*Urtica dioica*). *Current Traditional Medicine*, 3(3), 156-167.
- Shahid, M. O. H. A. M. M. A. D., Yusuf, M. O. H. D., & Mohammad, F. (2016). Plant Phenolics: A Review on Modern Extraction Techniques. *Analytical and Processing Techniques*, 41, 1-23.
- Shaikh S., Verma H., Yadav N., Jauhari M. and Bullangowda J., 2012. Applications of Steroid in Clinical Practice: A Review. *Anesthesiology*; ID 985495, pp 11.
- Sidaoui, F., Belghith Igueld, S., Barth, D., Trabelsi-Ayadi, M., & Cherif, J. K. (2015). Study of Tunisian nettle leaves (*Urtica dioica* L.): mineral composition and antioxidant capacity of their extracts obtained by maceration and supercritical fluid extraction. *Ijppr*, 7, 707-713.
- Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., & Knez, Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*, 89(2), 191-198.
- Tan, B. L., Norhaizan, M. E., & Winnie-Pui-Pui Liew, H. S. (2018). Antioxidant and oxidative stress: A mutual interplay in age-related diseases. *Frontiers in pharmacology*, 9.

Thorin-Trescases, N., Voghel, G., Farhat, N., Drouin, A., Gendron, M. È., & Thorin, É. (2013). Âge et stress oxydant-Vers un déséquilibre irréversible de l'homéostasie endothéliale. *médecine/sciences*,26(10), 875-880.

Umapathy, E., Ndebia, E. J., Meeme, A., Adam, B., Menziwa, P., Nkeh-Chungag, B. N., and Iputo, J. E. (2010). An experimentalevaluation of Albucasetosaaqueousextract on membrane stabilization, proteindenaturation and white bloodcell migration during acute inflammation. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(9), 789-795.

Vogl, S., Picker, P., Mihaly-Bison, J., Fakhrudin, N., Atanasov, A. G., Heiss, E. H., and Kopp, B. (2013). Ethnopharmacological in vitro studies on Austria's folk medicine—An unexploredlore in vitro anti-inflammatoryactivities of 71 Austriantraditionalherbaldrugs. *Journal of Ethnopharmacology*, 149(3), 750-771.

Wagner, H., Willer, F., Samtleben, R., & Boos, G. (1994). Search for the antiprostaticprinciple of stingingnettle (*Urticadioica*) roots. *Phytomedicine*, 1(3), 213-224.

Wongrakpanich, S., Wongrakpanich, A., Melhado, K., & Rangaswami, J. (2018). A comprehensive review of non-steroidal anti-inflammatory drug use in the elderly. *Aging and disease*, 9(1), 143.

Winter CA., Risely EA. And Nuss GW1962.Carrageenin induced oedema in hind paw of the rats as an assay for anti-inflammatory drugs. *ProcSocExpBiolMed*;11:544 – 547.

Yilmaz B., BasarÖ.,AktasB. andAltinbasA., 2014. Effects of urticadioica extract on experimental acute pancreatitismodel in rats. *Int JClinExpMed*;7:1313-1318.

Zeipiņa, S., Alsiņa, I., Lapse, L., andDūma, M. (2015). Antioxidantactivity in nettle (*Urticadioica* L.) and gardenorache (*Atriplexhortensis* L.) leavesduringvegetationperiod. *Chemical Technology*, 66(1), 29-33.

Zhong, X. K., Jin, X., Lai, F. Y., Lin, Q. S., & Jiang, J. G. (2010). Chemical analysis and antioxidantactivities in vitro of polysaccharide extractedfrom *Opuntia ficus indica* Mill. cultivated in China. *Carbohydrate Polymers*, 82(3), 722-727.

ZouariBouassida, K., Bardaa, S., Khimiri, M., Rebaï, T., Tounsi, S., Jlaïel, L., &Trigui, M. (2017). Exploring the *Urticadioica*leaveshemostatic and wound-healingpotential. *BioMedresearch international*, 2017.

Evaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique d'Urtica dioica L.

Résumé

Le stress oxydant et la réponse inflammatoire constituent deux phénomènes impliqués dans la physiopathologie de diverses maladies. La découverte et le développement permanent de nouvelles molécules et agent thérapeutiques constituent toujours une nécessité. Notre étude vise à évaluer l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de deux parties (feuilles et racines) d'un extrait méthanolique d'*Urtica dioica L.* D'abord l'étude de la composition chimique a montré que l'extrait des feuilles est plus riche en polyphénols, flavonoïdes et tanins que celui des racines. L'évaluation de l'effet antioxydant a montré que l'extrait des feuilles possède un plus fort pouvoir antioxydant de piégeage de DPPH[·] (IC50 = 67,19 ± 0,0012 µg/ml), de l'ABTS^{·+} (IC50= 6,58 ± 0,0059 µg/ml) et de pyrogallol (IC50= 549,4 ± 0,082 µg/ml), avec une IC50 de 481,2 ± 0,34 µg/ml pour les racines, contre ce dernier. Tous les deux extraits possèdent un fort pouvoir anti-inflammatoire. L'extrait des racines agit principalement en inhibant la dénaturation des protéines et l'hémolyse d'une manière concentration dépendante alors que l'extrait des feuilles agit principalement par l'inhibition de l'action des protéases. Les deux extraits (50 mg/kg) possèdent le même pouvoir d'inhibition de l'œdème induit chez la souris *Wistar* par injection de la carragénine égale à 48,8 ± 0,045 % pour les racines et 50,48 ± 0,132 % pour les feuilles. Notre extrait méthanolique constitue un bon agent antioxydant et anti-inflammatoire.

Mots clés : *Urtica dioica L.*, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, feuilles, racines.

Abstract

Oxidative stress and inflammatory response are two phenomena involved in the pathophysiology of various diseases. The discovery and development of new molecules and therapeutic agents are always a necessity. Our study aims to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory activity of two parts (leaves and roots) of a methanolic extract of *Urtica dioica L.*. First, the study of the chemical composition showed that the extract of the leaves is richer in polyphenols, flavonoids and tannins than roots. The evaluation of the antioxidant effect showed that the leaf extract had a stronger antioxidant DPPH[·] (IC50 = 67.19 ± 0.0012 µg / ml), ABTS^{·+} (IC50) = 6.58 ± 0.0059 µg / ml) and pyrogallol (IC50 = 549.4 ± 0.082 µg / ml) scavenger activity, with an IC50 of 481.2 ± 0.34 µg / ml for the roots against pyrogallol. Both extracts have a strong anti-inflammatory power. The root extract acts primarily by inhibiting protein denaturation and hemolysis in a concentration-dependent manner while the leaf extract acts primarily by inhibiting the action of proteases. The two extracts (50 mg /kg) have the same inhibition capacity against carrageenan inducing edema in *Wistar* mice equal to 48.8 ± 0.045 % for the roots and 50.48 ± 0.132% for the leaves. Our methanolic extract is a good antioxidant and anti-inflammatory agent.

Key words: *Urtica dioica L.*, antioxidant activity, inflammatory activity, leaves, roots.

ملخص

الإجهاد التأكسدي والاستجابة الالتهابية هما ظاهرتان مشتركتان في الفيزيولوجيا المرضية لمختلف الأمراض. إن الاكتشاف والتطوير المستمر لجزيئات وعوامل علاجية جديدة أمر ضروري دائماً. تهدف دراستنا إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للالتهابات من جزئين (الأوراق والجذور) من مستخلص الميثانول من *Urtica dioica L* أولاً، أظهرت دراسة التركيب الكيميائي أن مستخلص الأوراق أغنى في البوليفينول والفلافونويد والعفص. أظهر تقييم تأثير مضادات الأكسدة أن مستخلص الأوراق يحتوي على مضادات الأكسدة القوية ضد DPPH[·] (IC50) = 67,19 ± 0,0012 ميكروغرام / مل، + ABTS^{·+} (IC50) = 6,58 ± 0,0059 ميكروغرام / مل، والبروجالول (IC50 = 549.4 ± 0.082 ميكروغرام / مل) مع IC50 = 481.2 ± 0.34 ميكروغرام / مل للجذور ضد هذا الأخير. كل من المستخلصات تمتلك قدرة قوية مضادة للالتهابات. يعمل مستخلص الجذور في المقام الأول عن طريق تثبيط تمسخ البروتين وانحلال الدم بطريقة تعتمد على التركيز بينما يعمل مستخلص الأوراق بشكل أساسي عن طريق تثبيط عمل البروتياز. يتمتع المستخلصان (50 مغ / ك) بنفس القدرة على تثبيط الانتفاخ المستحثة في الفأر عن طريق حقن الكاراجينان بما يعادل 48.8 ± 0.045 % للجذور و 50.48 ± 0.132 % للأوراق.

الكلمات المفتاحية: نشاط المضاد للأكسدة، النشاط الالتهابي، الأوراق، الجذور، الحرايق *Urtica dioica L.*