REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA



Faculté de **T**echnologie

Mémoire de fin d'études de Master

Filière : Génie des procédés pharmaceutiques

Spécialité : Génie des procédés pharmaceutiques

Evaluation de l'activité biologique des extraits organiques et aqueux issue de *l'UrticaDioica L.*

Présenté par :

SI MOUSSA Belkais

Soutenu publiquement le 25/06/2025 Devant le jury composé de :

Présidente	FERGANI. Z	MCA	Université de Médéa
Examinatrice	TASSIST. A	MCA	Université de Médéa
Encadrante	BENKIAR. A	MCB	Université de Médéa
Co-Encadrante	TERKMANE. N	MCB	Université de Médéa

Année Universitaire : 2024/2025

Remerciements et Dédicaces

Remerciements

Je rends grâce à **Allah,** avec une louange abondante et pure, pour l'accomplissement de cette faveur, et pour m'avoir accordé la force et la volonté nécessaires à l'achèvement de ce travail modeste.

J'adresse également mes remerciements les plus sincères à ma famille pour son soutien, son accompagnement et son amour inconditionnel. Je tiens aussi à remercier ma personne préférée pour ses encouragements, sa présence à mes côtés et ses paroles motivantes.

J'exprime ma profonde gratitude à mon encadrante, Madame BENKIAR A., pour son soutien, ses orientations, ses conseils, ainsi que pour sa présence constante et son engagement à mes côtés tout au long de ce travail.

Je remercie également Madame TERKEMANE N. pour son accompagnement dans la partie pratique ainsi que pour le soutien moral qu'elle m'a apporté.

Je tiens aussi à remercier sincèrement mes amies Naziha et Kaouther pour leur précieux soutien, leur aide constante et leur présence bienveillante durant toute la période de réalisation de ce projet

J'adresse mes plus sincères remerciements à toute l'équipe du laboratoire au sein duquel j'ai réalisé mon travail pratique.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude aux membres du jury pour l'opportunité qui m'a été offerte de présenter ce mémoire, en espérant qu'il sera à la hauteur de leurs attentes.

Je remercie chaleureusement toute l'équipe de SAIDAL pour leur accueil. J'adresse une mention spéciale à Monsieur CHABANE A., Monsieur ZOUAMBIA F., Mademoiselle Abir, ainsi qu'à toute l'équipe du laboratoire de microbiologie, pour leurs encouragements, leur assistance, leur disponibilité et la qualité de leurs conseils.

Enfin, je tiens également à remercier toutes les personnes, ainsi que mes amies, qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, sans oublier tous les étudiants du Master 2 en Génie des Procédés Pharmaceutiques, promotion 2025, pour leur collaboration et leur esprit de camaraderie.

Dédicaces

*Avant tout, je rends grâce à **Allah**, le Tout-Puissant, de m'avoir accordé le courage et la patience nécessaires à la réalisation de ce travail, malgré les difficultés rencontrées en cours de route.*

En signe d'amour et de profonde affection, je dédie ce modeste travail, avec une immense fierté, à toutes les personnes qui me sont chères :

À mes chers parents:

À ma chère mère Souad, la lumière de mon cœur, en hommage à ses sacrifices, sa patience et ses efforts constants pour que je sois ce que je suis aujourd'hui. Elle est ma complice de toujours et mon tout.

À mon cher père Abderrahmane, mon pilier et mon soutien, en reconnaissance de ses efforts, de sa fatigue et de ses sacrifices pour me voir réussir.

À mon grand-père Zoubir, qu'Allah le protège et lui accorde longue vie.

À ma grand-mère Fatima Zahra, qu'Allah lui fasse miséricorde.

À mon grand-père Mohamed et à ma grand-mère Khira, qu'Allah leur fasse miséricorde.

À mes oncles Ayoub, Majid et Amine, qu'Allah vous protège et vous garde toujours à mes côtés.

À mon oncle Chérif, qu'Allah le protège et le préserve.

À mes chères tantes : Zakia, Amina et Farah.

À mes chers Mokhtar Abdalla et Amal Sallam, pour vos prières sincères, vos encouragements constants et votre présence indéfectible à mes côtés.

À mon compagnon de route et âme sœur, mon fiancé, Ahmed.

À mes chers cousins et cousines, enfants de mes tantes et oncles.

À la famille Si Moussa, à la famille Bensalem, et à la famille Abdalla.

À mes chères amies Naziha et Kaouther.

À moi-même, pour tous les moments où j'ai voulu abandonner, mais où j'ai continué malgré tout.

Belkais

Résumés

الملخص:

في إطار تثمين التراث النباتي، يهدف هذا العمل إلى تقييم وتحسين النشاط البيولوجي للمستخلصات المستخرجة من أوراق نبات القراص*Urtica dioica L.* شملت هذه التقييمات كلًّا من النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهابات داخل أنبوب الاختبار(in vitro) ، النشاط المضاد للبكتيريا، بالإضافة إلى النشاط الإنزيمي. كما تم تحديد محتوى المستخلصات من البوليفينولات والفلافونويدات باعتبارها جزيئات نشطة بيولوجيًا ذات أهمية.

تتمثل المرحلة الأولى من الدراسة في استخلاص المركبات النشطة بيولوجيًا من أوراق نبات القراص، باستخدام نوعين من طرق الاستخلاص: الاستخلاص بالإيثانول والاستخلاص بالمحلول المنظم. وفي إطار البحث عن أفضل الظروف، تم تقييم عدة عوامل. بالنسبة للاستخلاص بالمحلول المنظم، تمت دراسة تأثير كل من درجة الحرارة (درجة حرارة الغرفة، 40 °م، 50 °م، 60 °م) ومدة الاستخلاص (24 ساعة، 48 ساعة، 72 ساعة). أما بالنسبة للاستخلاص بالإيثانول، فتمت دراسة تأثير تركيز الإيثانول (100%، 90%، 80%، 70%، 60%، 50%) ومدة الاستخلاص (24 ساعة، 48 ساعة، 72 ساعة). وقد أظهرت التحاليل الكمية أن المستخلصات غنية بالمركبات النشطة بيولوجيًا. حيث أظهر المستخلص المحضر بالمحلول المنظم (عند 60 °م ولمدة 72 ساعة) محتوى من البوليفينولات الكلية بلغ **112.468** ملغ مكافئ حمض الغاليك/غرام من المادة الجافة النباتية، ومحتوى من الفلافونويدات بلغ **12.98** ملغ مكافئ كيرسيتين/غرام من المستخلص الجاف. بالمقابل، أظهر المستخلص الإيثانولي (بتركيز 90% ولمدة 48 ساعة) تركيزات أعلى بشكل ملحوظ بلغت **184.116** ملغ مكافئ حمض الغاليك/غرام من المادة الجافة النباتية في البوليفينولات، و**912.72** ملغ مكافئ كيرسيتين/غرام من المستخلص الجاف في الفلافونويدات.

أظهرت نتائج تقييم النشاط المضاد للأكسدة، من خلال اختبار تثبيط الجذور الحرةDPPH ، أن مستخلصي أوراق القراص سواء الإيثانولي أو المحضر بالمحلول المنظم يمتلكان قدرة قوية على مقاومة الأكسدة، حيث بلغت قيمIC50 على التوالي **2.62** و**2.85** ملغ/مل. أما بالنسبة للنشاط المضاد للالتهابات داخل أنبوب الاختبار، فقد تميز المستخلص المحضر بالمحلول المنظم (60 °م، 72 ساعة) بفعالية أكبر في تثبيط انحلال كريات الدم الحمراء **74.66%**,مقارنة بالمستخلص الإيثانولي (90%، 48 ساعة) الذي بلغت نسبة التثبيط فيه **49.66%**، مما يدل على نشاط مضاد للالتهابات أفضل.

وفيما يتعلق بالنشاط المضاد للبكتيريا، أظهر المستخلص الإيثانولي لنبات القراص نشاطًا أوسع ضد البكتيريا والفطريات، في حين استهدف المستخلص المحضر بالمحلول المنظم فقط البكتيريا موجبة الغرام. أما النشاط الأنزيمي (الليباز)، فقد بلغ ذروته في المستخلص المحضر بالمحلول المنظم عند 40 °م بعد 72 ساعة**(2000 وحدة/ل)**، بينما أظهر المستخلص الإيثانولي (90%) أعلى نشاط بعد 72 ساعة أيضًا**(2200 وحدة/ل).** علاوة على ذلك، تم تنقية إنزيم الليباز المستخرج من المستخلص المحضر بالمحلول المنظم جزئيًا بنجاح، حيث أظهر نشاطًا نوعيًا مرتفعًا.

الكلمات المفتاحية:

Urtica dioica L.، النشاطات البيولوجية، البوليفينولات، الفلافونويدات، مضاد للأكسدة، IC50، مضاد للبكتيريا، مضاد للفطريات، النشاط الإنزيمي، مضاد للالتهابات.

Résumé :

Dans le cadre de la valorisation du patrimoine végétal, le présent travail vise à évaluer et à optimiser l'activité biologique des extraits obtenus à partir des feuilles *d'Urtica dioica L.*Cette évaluation a porté sur l'activité antioxydante, l'activité anti-inflammatoire in vitro, l'activité antibactérienne, ainsi que l'activité enzymatique. De plus, j'ai déterminé la teneur en poly-phénols et flavonoïdes, en tant que molécules bioactives d'intérêt.

La première étape de mon étude consiste à l'extraction des composés bioactifs à partir des feuilles de *Urtica dioica L*, en utilisant deux types d'extraction : éthanolique et tamponnée.Dans une perspective d'optimisation, plusieurs paramètres ont été évalués. Pour l'extraction tamponnée, j'ai étudié l'effet de la température (température ambiante, 40°C, 50°C, 60°C) ainsi que du temps d'extraction (24h, 48h, 72h). Concernant l'extraction éthanolique, l'optimisation a porté sur la concentration d'éthanol (100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%) et sur la durée d'extraction (2 h, 48h, 72h).L'analyse quantitative a révélé que les extraits obtenus sont riches en composés bioactifs. L'extrait tamponné (60°C, 72h) a présenté une teneur en polyphénols totaux de **112.468** mg EAG/g MVS et en flavonoïdes de **12.98** mg EQ/g d'extrait sec. En revanche, l'extrait éthanolique (90%, 48h) a montré des concentrations nettement plus élevées, atteignant **184.116** mg EAG/g MVS en polyphénols et **912.72** mg EQ/g d'extrait sec en flavonoïdes. L'évaluation de l'activité antioxydante, à travers le piégeage du radical libre DPPH, a révélé que ces extraits éthanolique et tamponné des feuilles *d'Urtica dioica L*. présentent un fort pouvoir antioxydant. Avec de IC50 de **2.62** et de **2.85**mg/mL respectivement. En ce qui concerne l'activité anti-inflammatoire in vitro, l'extrait tamponné (60°C, 72h) s'est révélé plus efficace que l'extrait éthanolique (90%, 48h) pour inhiber l'hémolyse (74.66%, 49.66% respectivement.), démontrant ainsi une meilleure activité anti-inflammatoire. Et pour l'activité antibactérienne, l'extrait éthanolique *d'Urtica dioïcaL.*présente une activité antimicrobienne plus étendue que l'extrait tamponné, agissant sur diverses bactéries et champignons, tandis que l'extrait tamponné ne cible que les bactéries Gram positives. L'activité lipasique des extraits tamponnés atteint son pic à 40°C après 72h **(2000 U/L)**, tandis que l'extrait éthanolique (90%) montre la meilleure activité après 72h **(2200 U/L).** En plus, La lipase extraite de l'extrait tamponné a été partiellement purifiée avec succès, montrant une activité spécifique élevée.

Mots clés :*Urtica dioica L.*, activité biologiques, poly-phénols, flavonoïdes, anti-oxydante, IC50, antibactérienne, antifongique, l'activité enzymatique, pouvoir anti-inflammatoire.

Abstract:

As part of the valorization of plant heritage, the present study aims to evaluate and optimize the biological activity of extracts obtained from the leaves of *Urtica dioica L*. This evaluation focused on antioxidant activity, in vitro anti-inflammatory activity, antibacterial activity, as well as enzymatic activity. In addition, the contents of polyphenols and flavonoids bioactive molecules of interest were determined.

The first step of the study involved the extraction of bioactive compounds from *Urtica dioica L.* leaves, using two extraction methods: ethanolic and buffered. For optimization purposes, several parameters were assessed. In the case of buffered extraction, the effects of temperature (room temperature, 40°C, 50°C, and 60°C) and extraction duration (24h, 48h, and 72h) were investigated. For ethanolic extraction, optimization focused on ethanol concentration (100%, 90%, 80%, 70%, 60%, and 50%) and extraction time (24h, 48h, and 72h). Quantitative analysis revealed that the obtained extracts are rich in bioactive compounds. The buffered extract (60°C, 72h) showed a total polyphenol content of **112.468** mg GAE/g dry plant material and a flavonoid content of **12.98** mg QE/g dry extract. In contrast, the ethanolic extract (90%, 48h) exhibited significantly higher concentrations, with**184.116** mg GAE/g dry plant material in polyphenols and **912.72** mg QE/g dry extract in flavonoids.

Evaluation of antioxidant activity through DPPH radical scavenging assay revealed that both ethanolic and buffered extracts of *Urtica dioica L*. leaves possess strong antioxidant capacity, with IC50 values of 2.62 and 2.85 mg/mL, respectively. Regarding in vitro anti-inflammatory activity, the buffered extract (60°C, 72h) was more effective in inhibiting hemolysis **74.66%** compared to the ethanolic extract (90%, 48h) with **49.66%,** thus demonstrating better anti-inflammatory potential.

As for antibacterial activity, the ethanolic extract exhibited broader antimicrobial effects against various bacteria and fungi, whereas the buffered extract was active only against Gram-positive bacteria. Lipase activity in the buffered extracts peaked at 40°C after 72h**(2000U/L),** while the ethanolic extract (90%) showed its highest enzymatic activity after 72h**(2200U/L)** as well. Moreover, lipase extracted from the buffered extract was successfully partially purified, exhibiting high specific activity.

Keywords: *Urtica dioica L*., biological activities, polyphenols, flavonoids, antioxidant, IC50, antibacterial, antifungal, enzymatic activity, anti-inflammatory potential.

Table de matière

REMERCIEMENTS

DÉDICACE

RESUMES

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE …… **1**

PARTIE I : SYNTHESEBIBLIOGRAPHIQUE

I. 1 Plantes médicinales……. 3

I.2. Principes actifs des plantes médicinales …….…… 3

I.2.1. Métabolites primaires……...……... 3

I.2.2. Métabolites secondaires . …..…… 3

I.2.2.1. Les composés phénoliques . …….…….... 5

Les acides phénoliques . ……..……... 6

Les Flavonoïdes . ……...…….…..... 7

Les tanins.……...…...…….. 8

Les stilbènes . ……... 9

I.2.2.2. Activités biologiques des composés phénoliques…….…….... 10

I.3. La famille des Urticacées…….. 11

I.4. *Urticadioica L.* ……...…… 11

I.4.1 Dénomination ……. 12

I.4.2. Position systématique …...…… 12

I.4.3. Origine et répartition géographique . …….……. 12

a. Milieu de vie ……... 13

b. L'étymologie ……... 15

I.4.4. Description botanique de l'Ortie dioïque.…… 15

I.4.4.1. La partie souterraine ….……..……..... 16

I.4.2.2. Les parties aériennes...……. 18

a. Les feuilles . ...……..…….. 18

b. La tige . ……...….. 20
c. Poils urticants ……..……...…… 21
d. Les fleurs ……..…….…….. 22
e. Le fruit …… 24
I.5. Les activités biologiques d'*Urtica dioïca L.*……..……... 24
I.5.1. Pouvoir enzymatique ……... 24
I.5.1.1. Les enzymes . ……..……. 24
I.5.1.2. Classification des enzymes ……..... 25
a. Les protéases ……...……..... 25
b. Polyphénol oxidase ……. 25
c. Lipases végétales ……..... 26
I.5.2. Pouvoir antioxydant ……..……... 26
a. Les radicaux libres ……...…….. 26
b. Les antioxydants ……. 26
c. Stress oxydatif.……. 27
d. Pouvoir antioxydant de l'ortie …….. 27
I.5.3. Pouvoir anti-inflammatoire ……. 28
I.5.4. Pouvoir antimicrobien.……... 29
I.6.Usages d'*Urtica dioïca L.*……..... 30
I.6.1. En médecine ……..... 30
I.6.2. En alimentaire ……..... 30
I.6.3. En agriculture ……..... 30
I.6.4. En industrie ……... 30

Partie II : ETUDE EXPERIMENTALE

Matériels & Méthodes

II.1. Durée et site d'étude . ……. 31
II.2. Objectif d'étude ……. 31
II.3. Matériels et produits utilisés …….. 32
II.3.1 Matériels biologiques.…… 32
II.3.1.1 Matériel végétal ……..... 32
Récolte du matériel végétal ……..……. 32

II.3.1.2 Souches microbiennes ……..…… 33
II.3.2 Matériels non biologiques…….. 34
II.3.2.1 Appareillage et verreries.……..…. 34
II.3.2.2Produits utilisés ……...……... 35
II.4. Méthodes.……..... 35
II.4.1. Préparation du matériel végétal.……...….. 35
II.4.1.1. Lavage ……... 35
II.4.1.2. Séchage ……..…… 36
II.4.1.3. Détermination du taux d'humidité ……..……..... 36
II.4.1.4. Perte à la dissection …….. 37
II.4.2.Préparation des extraits végétaux……..... 37
II.4.2.1 Découpage ……..…. 37
II.4.2.2. Macération ……..... 38
II.4.2.3. Extraits aqueux …….…… 39
II.4.2.4. Extraits éthanoliques ……...…… 40
II.4.2.5. Filtration ……..……. 41
II.4.2.6. Conservation ……..……..... 41
II.4.2.7. Calcul du rendement ……...…….…… 42
II.4.3. Analyse physicochimique …… 42
II.4.3.1. Densité relative ……..……... 42
II.4.3.2. Indice de réfraction …….. 43
II.4.3.3. Potentiel d'hydrogène pH..... 44
II.4.4. Analyse quantitative ……..... 45
II.4.4.1. Dosage des poly-phénols totaux..... 45
II.4.4.2. Dosage des flavonoïdes 46
II.5. Évaluation des activités biologiques des extraits végétaux préparés …. 47
II.5.1. Activité anti-oxydante..... 47
Détermination d'IC50 …… 48
a. Préparation de la solution de DPPH ……...……. 49
b. Préparation des extraits ……... 49
c. Préparation des blancs 50
d. Préparation de la solution de contrôle 50

II.5.2. Activité anti-inflammatoire in vitro ……. 51

II.5.2.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro par la méthode de stabilisation des membranes (Activité anti-hémolytique) ……... 51

a. Préparation de la suspension des globules rouges 52

b. Hémolyse induite par solution hypotonique..... 52

II.5.3. Activité antimicrobienne 54

II.5.3.1. Les solutions utilisées 55

II.5.3.2. Milieux de culture 55

II.5.3.3. Préparation de l'inoculum 55

II.5.3.4. Préparation et ensemencement aseptique de boîtes de Pétri 56

II.5.3.5. Préparation des disques 57

II.5.3.6. Lecture des résultats 57

II.5.4. Activité enzymatique 59

II.6 Purification de l'enzyme 61

Résultats & discussion

III.1 Caractérisation de la matière végétale ……..... **63**

III.1.1 Taux d'humidité de la matière végétale..... **63**

III.2. Les Caractéristiques physicochimiques des extraits …… **65**

III.2.1. La densité relative……..... **65**

III.2.2. L'indice de réfraction..... **66**

III.2.3. Le pH..... **67**

III.3. Analyse quantitative ……. **68**

III.3.1. Dosage des polyphénols totaux…….. **68**

III.3.1.1. Rendement des extraits végétaux à forte teneur en polyphénols … **71**

III.3.2 Dosage des flavonoïdes …… **73**

III.4. Etude des activités biologiques …… **75**

III.4.1. Activité antioxydante in vitro …… **75**

III.4.2. Activité anti-inflammatoire ……... **78**

Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro par la méthode de stabilisation des membranes (Activité anti-hémolytique)…… **78**

III.4.3. Activité antibactérienne et antifongique …… **80**

III.4.4.Activité enzymatique..... **86**

III.4.4.1. Purification de l'enzyme…….. **89**

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE..... **90**

Références bibliographiques

Liste Des Abréviations

% : Pourcentage

DPPH• : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

E.coli : Escherichia coli

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

$H_3PMo_{12}O_{40}$: acide phosphomolybdique

$H_3PW_{12}O_{40}$: acide phosphotungstique

IC50 : Concentration inhibitrice 50%

mg : Milligramme

mg EAG/g : Milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme

mg EQ/g : Milligrammes équivalents de la quercétine par gramme

mL : Millilitre

mm : Millimètre

MVS : Masse de la matière végétale sèche

OE : extrait éthanolique d'ortie

OE 10 : extrait éthanolique d'ortie 1/10

OE 100 : extrait éthanolique d'ortie 1/100

OT : extrait tamponné d'ortie

OT 10 : extrait tamponné d'ortie dilué 1/10

OT 100 : extrait tamponné d'ortie dilué 1/100

pH : Potentiel hydrogène

S.aureus : Staphylococcus aureus

SOD : Superoxyde dismutase

Liste des figures et des tableaux

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure I.1	Relation entre le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire.	4
Figure I.2	Classification des composés phénoliques.	5
Figure I.3	La Structure de base des composés phénoliques	6
Figure I.4	Structures et dérivés des acides phénoliques : acides benzoïques et hydroxy-cinnamiques	7
Figure I.5	Structure de base des flavonoïdes	7
Figure I.6	Structures et groupements chimiques des flavonoïdes	8
Figure I.7	Structure chimique des tanins	9
Figure I.8	Structure chimique du trans-resvératrol, un composé de lafamille des stilbènes	10
Figure I.9	Principaux insectes consommateurs de L'ortie dioïque	14
Figure I.10	Caractéristiques du climat et de l'environnement parfaits pour la croissance d'Urticadioïca *L.*	14
Figure I.11	Planche botanique de l'Ortie dioïque (*Urticadioica L.*)	16
Figure I.12	Racines *d'Urticadioïca L.*	17
Figure I.13	Le rhizome pâle de l'ortie piquante mesure environ 5 mm d'épaisseur, avec plusieurs nouvelles pousses et des racines beige clair pouvant atteindre 10 cm de longueur	17
Figure I.14	Feuille d'Ortie	19
Figure I.15	Les feuilles d'ortie piquante mesurent 4,5 cm de large : la feuille du haut représente la face ventrale (supérieure), tandis que celle du bas correspond à la face dorsale (inférieure)	19
Figure I.16	La tige d'ortie	20
Figure I.17	La tige coupée de 8 mm de large ; creuse avec 4 profondes rainures	20
Figure I.18	Structure de l'aiguille urticante de l'ortie	21
Figure I.19	Structure moléculaire de l'acide formique	22
Figure I.20	(a) La plante femelle, (b) La plante male	22
Figure I.21	(a) Diagramme floral de la fleur femelle, (b) Diagramme floral fleur mâle	23

Figure I.22	Graine avec ses feuilles	24
Figure I.23	Origine de stress oxydatif	27
Figure II.1	Vue par satellite d'Ortie Kotiten, site de prélèvement de matière végétale, Médéa, Algérie	32
Figure II.2	Matériel végétal utilisé (feuilles de l'ortie récoltées)	32
Figure II.3	Les feuilles de l'ortie récoltées (à gauche : avant séchage, à droite : après séchage)	36
Figure II.4	Pesé de l'échantillon pour la détermination du taux d'humidité	37
Figure II.5	Découpage des feuilles de l'ortie séchées à l'air libre	37
Figure II.6	Pesé de la matière végétale pour la préparation des extraits	38
Figure II.7	Extraction par macération	39
Figure II.8	Extrait tamponné	39
Figure II.9	Extrait éthanolique	40
Figure II.10	Filtration des extraits	40
Figure II.11	Conservation des extraits végétaux préparés	41
Figure II.12	Mesure de la densité relative à l'aide d'un pycnomètre de 10 mL	42
Figure II.13	Réfractomètre	43
Figure II.14	Outils de mesure du pH : papier de tournesol neutre et échelle de pH	44
Figure II.15	Dosage des poly-phénols des extraits	45
Figure II.16	Dosage des flavonoïdes des extraits	46
Figure II.17	Passage du radical libre DPPH• à sa forme réduite DPPH-H	47
Figure II.18	Solution éthanolique de DPPH	48
Figure II.19	Les extraits éthanoliques avant incubation	49
Figure II.20	Les extraits éthanoliques après incubation	49
Figure II.21	Les blancs des extraits	50
Figure II.22	Solution contrôle	50
Figure II.23	Préparation de suspension érythrocytaire	52
Figure II.24	Extraits tamponnés et éthanoliques dilués (1/100) et lestémoins négatif etpositif après l'incubation	53

Figure II.25	Les milieux de culture utilisés	54
Figure II.26	Préparation de l'inoculum	55
Figure II.27	Ensemencement aseptique de boîtes de Pétri	56
Figure II.28	Placement des disques à la surface des boites	56
Figure II.29	Les échantillons après l'incubation	57
Figure II.30	Préparation de l'émulsion	58
Figure II.31	Mesure de la température des échantillons dans un bain glacé	59
Figure II.32	Incubation des échantillons à 37°C	59
Figure II.33	Dosage acide-base	60
Figure II.34	Les étapes de la purification de l'enzyme	62
Figure III.1	Taux d'humidité des Feuilles fraîches et séchées à l'air libre	64
Figure III.2	La matière sèche des Feuilles fraîches et séchées à l'air libre	64
Figure III.3	La courbe d'étalonnage de l'acide gallique	68
Figure III.4	La variation de la concentration en polyphénols des extraits tamponnés en fonction de la température et le temps	69
Figure III.5	La variation de la concentration en polyphénols des extraits éthanoliques en fonction de la température et le temps	69
Figure III.6	Les masses d'extraction des extraits tamponnés et éthanoliques	72
Figure III.7	Les rendements des extraits tamponnés et éthanoliques	72
Figure III.8	Courbe d'étalonnage de la Quercétine	73
Figure III.9	Courbe d'étalonnage de l'acide férulique.	75
Figure III.10	Pourcentage d'inhibition du radical libre (Activité antioxydante) en fonction des concentrations d'extrait tamponné (60°c, 72 h) de *l'Urtica dioica L.*	76
Figure III.11	Pourcentage d'inhibition du radical libre (Activité antioxydante) en fonction des concentrations d'extrait éthanolique (90%, 48 h) de *l'Urtica dioica L*	76
Figure III.12	Effet des extraits *d'Urtica dioïca L.* sur l'inhibition de l'hémolyse des érythrocytes in vitro	78
Figure III.13	Pouvoir antimicrobien et antifongique des extrait tamponnés et éthanoliques *d'Urticadioica L.*et les antibiotiques Gectapen/Nystatine : (a) *Escherichia Coli* ; (b) *Staphylococcus Epidermidis* ; et (c) *Aspergillus Brasiliensis*	80

Figure III.14	Pouvoir antimicrobien des extrait tamponnés et éthanoliques *d'Urticadioica L.* sur : (a) *Bacillus Subtilis* ; (b) *Pseudomonas Aeruginosa* ; (c) *Escherichia Coli* ; (d) *Staphylococcus aureus ;* (e) *Staphylococcus Epidermidis.*	82
Figure III.15	Pouvoir antifongique des extrait tamponnés et éthanoliques *d'Urticadioica L.* sur : (a) *Saccharomyces Cerevisiae* ; (b) *Aspergillus Brasiliensis* ;(c) *Candida Albicans*	84
Figure III.16	Activité enzymatique des extraits tamponnés des feuilles *d'Urtica dioica L.*	87
Figure III.17	Activité enzymatique des extraits éthanoliques des feuilles *d'Urtica dioica L*	88

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau I.1	Quelques activités biologiques de composés phénoliques	10
Tableau I.2	La position systématique de l'ortie	12
Tableau I.3	Tableau des constituants chimiques des parties aériennes (feuilles de l'ortie)	19
Tableau I.4	Classification des enzymes	25
Tableau I.5	Rôle biologique des principales enzymes chez Urtica dioica	26
Tableau II.1	Les souches bactériennes testées	33
Tableau II.2	Les souches fongiques testées	33
Tableau II.3	Les appareils et les verreries utilisés	34
Tableau II.4	Les produits utilisés	34
Tableau III.1	Taux d'humidité et la matière sèche du matériel végétal	63
Tableau III.2	Les valeurs de la densité relative des extraits tamponnés	65
Tableau III.3	Les valeurs de la densité relative des extraitséthanoliques	65
Tableau III.4	Les valeurs de l'indice de réfraction des extraits tamponnés	66
Tableau III.5	Les valeurs de l'indice de réfraction des extraits éthanoliques	66
Tableau III.6	Rendements et masses d'extraction	71
Tableau III.7	Résultats du dosage des Flavonoïdes des extraits *d'Urtica dioica*L. préparés	73
Tableau III.8	Résultats D'IC50 des extraits tamponnés et éthanoliques et de l'acide férulique	77
Tableau III.9	Les résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance des souches bactériennes vis-à-vis de l'antibiotique Gectapen	80
Tableau III.10	Les résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance des souches bactériennes vis-à-vis de l'antibiotique de la Nystatine	81
Tableau III.11	Résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance des souches bactériennes vis-à-vis des extraits éthanoliques, tamponnés d'ortie dioïque	82

Tableau III.12	Résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance des souches fongiques vis-à-vis des extraits éthanoliques, tamponnés d'ortie dioïque	84
Tableau III.13	Paramètres de purification de la lipase d'extrait tamponné(40°C, 72H) des feuilles *d'Urtica dioïca L.*	89

INTRODUCTION GENERALE

La phytothérapie traditionnelle, transmise de génération en génération chez les populations rurales, est aussi riche et variée que les ressources biologiques. Actuellement, eu égard à ses effets secondaires moins agressifs que les médicaments chimiques, ainsi que son accessibilité, cette pratique médicinale traditionnelle reste très répandue dans divers pays du monde en développement et son usage ne cesse de croître dans les pays industrialisés. De plus, 25% des médicaments modernes sont préparés à base de plantes qui ont au départ été utilisées traditionnellement **(Lazli et al. 2019).**

Dans le monde, les plantes ont toujours été utilisées comme médicaments. Les médicaments à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques. Les industries pharmaceutiques sont de plus en plus intéressées par l'étude ethnobotanique des plantes. L'Afrique dispose d'une diversité importante de plantes médicinales. Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la grande majorité des populations rurales en Afrique, où plus de 80 % de cette population s'en sert pour assurer les soins de santé. Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent, pour assurer leurs soins de santé primaires et leur subsistance. Ces communautés utilisent la plupart des espèces végétales, tant ligneuses qu'herbacées, comme médicaments. Les plantes médicinales demeurent toujours une source de soins médicaux dans les pays en voie de développement en l'absence d'un système médical moderne **(Bouzid, Chadli, et Bouzid 2017).**

Depuis la nuit des temps, les plantes constituent une source majeure de molécules bioactives, notamment les composés phénoliques, capables de prévenir ou de traiter diverses maladies. Toutefois, la teneur et l'activité des poly-phénols varient en fonction de plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques. Parmi ces composés, les flavonoïdes se distinguent par leurs nombreuses activités biologiques, telles que leurs actions anti-inflammatoire, anti-oxydante et antimicrobienne **(Falleh et al. 2021 ; Lindenschmidt et al. 1986).**

L'Algérie possède une des flores les plus diversifiées et les plus originales du bassin méditerranéen. Cette flore compte 3 139 espèces répartis dans près de 150 familles parmi lesquelles 653 espèces sont endémiques, soit un taux d'endémisme d'environ 12,6 % **(Kazi**

Tani, Le Bourgeois, et Munoz, s. d.). Parmi cette diversité végétale, on retrouve la famille des Urticacées, connue pour ses nombreuses vertus thérapeutiques et son utilisation en médecine traditionnelle. Cette famille comprend une cinquantaine de genres et près de 700 espèces réparties à travers le monde, dont plusieurs sont présentes en Algérie, notamment le genre *Urtica*, communément appelé ortie.

Il existe plusieurs espèces d'ortie mais nous allons nous intéresser à *Urtica dioica L.* plus particulièrement. En dehors de sa piqûre désagréable, l'ortie peut être une plante très intéressante, possédant de nombreuses vertus et pouvant être utilisée dans divers domaines **(Boyrie 2016).** Bien qu'elle soit souvent considérée comme une « mauvaise herbe », l'ortie est une plante que nos ancêtres savaient apprécier, et qui trouve aujourd'hui des applications variées en agriculture, en alimentation, en cosmétique, en teinturerie, dans l'industrie textile, ainsi qu'à des fins médicinales.

Dans le cadre de la valorisation de cette plante médicinale, cette étude vise à déterminer les conditions optimales d'extraction, notamment la température, le temps d'extraction et la concentration en éthanol, permettant d'obtenir un rendement maximal en composés phénoliques et en lipase. Pour ce faire, les teneurs en poly-phénols et flavonoïdes ainsi que les activités biologiques des extraits ont été évaluées en utilisant deux solvants d'extraction distincts.

Mon travail comprend essentiellement deux parties :

La première partie est consacrée à l'étude bibliographique, dans laquelle sont présentés les composés phénoliques et leurs principales activités biologiques, ainsi que des généralités sur l'espèce étudiée.

La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale, qui comprend la présentation du matériel utilisé ainsi que des protocoles appliqués pour l'extraction et la caractérisation des deux types d'extraits (tamponnés et éthanoliques). Elle inclut également le dosage des composés phénoliques et flavonoïdes, ainsi que l'évaluation de leurs activités anti-oxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire in vitro, et lipasique. Cette partie se termine par l'analyse des résultats obtenus et leur interprétation.

Enfin, une conclusion générale récapitulant les principaux enseignements, ainsi que par l'ouverture sur des perspectives de recherche ultérieures.

PARTIE I : SYNTHESEBIBLIOGRAPHIQUE

I.1.Plantes médicinales :

Ce sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles.Le groupe consultatif de l'OMS qui a formulé cette définition affirme également qu'une telle description permet de distinguer les plantes médicinales dont les propriétés thérapeutiques et les composants ont été établis scientifiquement des plantes considérées comme médicinales**(Abayomi 2010).**

Les plantes se caractérisent par deux types de métabolismes : le métabolisme primaire procure les constituants de base (les sucres et leurs dérivés, les lipides et les protéines) en quantité élevée, et le métabolisme secondaire fournit des métabolites en faibles quantités, mais dont les applications dans différents domaines, en particulier à intérêt pharmaceutique et cosmétique, voir nutritionnel, sont de la plus grande importance **(HADDOUCHI et BENMANSOUR 2008).**

Elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. En outre une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille ou fleur **(Dutertre 2011).**

I.2. Principes actifs des plantes médicinales :

Chaque plante est composée de milliers de substances actives en présentant un principe actif qui est une molécule possédant un intérêt thérapeutique **(Cieur et Carillon 2012)**. C'est une molécule dotée d'un pouvoir préventif ou curatif pour l'homme et/ou l'animal **(Chabrier 2010).**

I.2.1. Métabolites primaires :

Les métabolites primaires rassemblent les protéines, les lipides, les carbohydrates. Ces composés possèdent une fonction intrinsèque qui est directement impliquée dans le développement et la reproduction d'un organisme ou d'une cellule **(Bendif 2017).**

I.2.2. Métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des molécules bios synthétisées à partir des métabolites primaires qui participent à la coévolution des plantes avec d'autres organismes vivants. Ces composés secondaires de différente diversification, qui sont utilisés par l'homme pour la thérapie humaine ou animale sont connus sous le nom de principe actif

(Krief 2003). Ils sont réputés depuis fort longtemps pour leurs propriétés phytothérapeutiques.

Depuis quelques années, l'humanité s'intéresse également à leurs effets biologiques et à leurs capacités anti-oxydantes**(BOUCHENAK et al. 2018).**

D'après leur biosynthèse, les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois classes :Polyphénols ; terpénoïdes;stéroïdeset alcaloïdes **(Hennebelle, Sahpaz, et Bailleul 2004).**

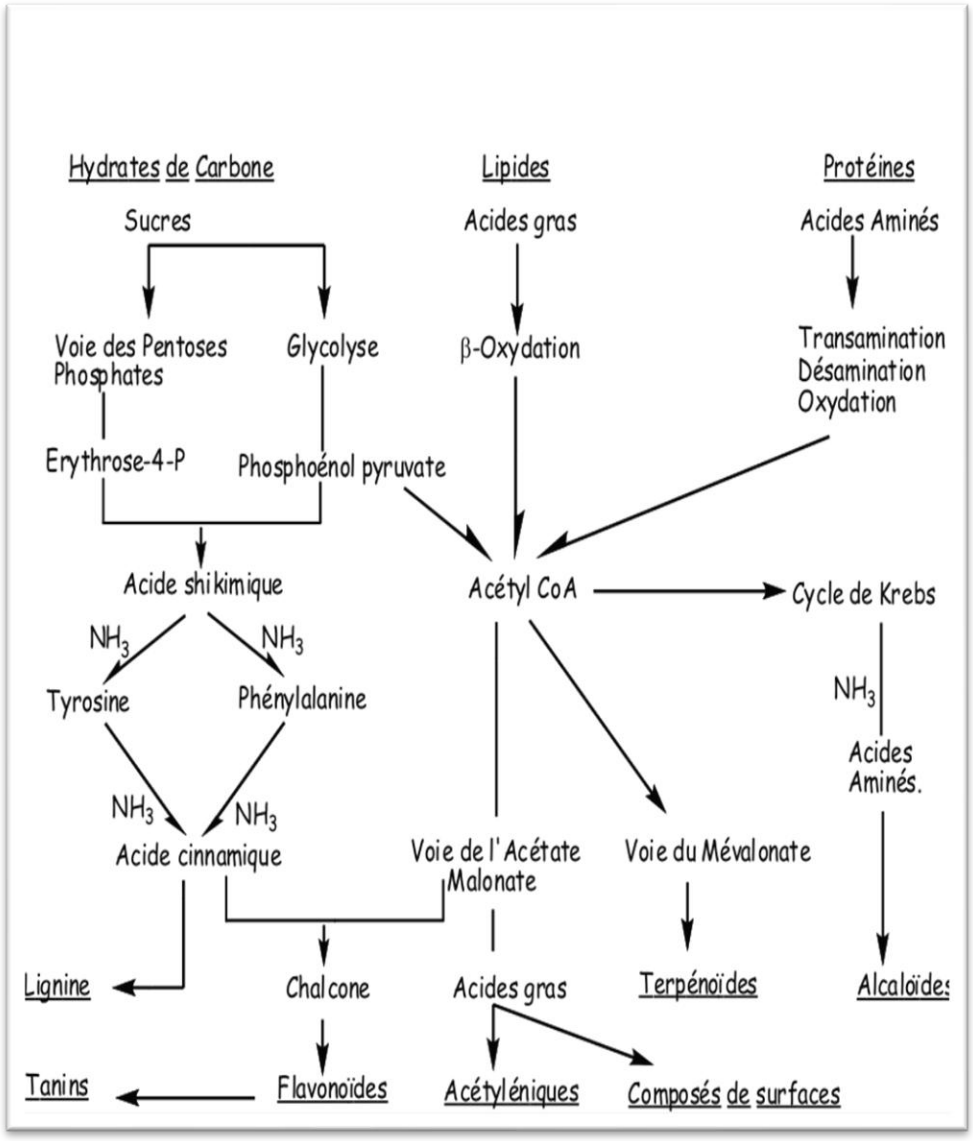


Figure I.1 : Relation entre le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire **(Inconnue)**

La quantité de métabolites secondaires diffère selon les caractéristiques spécifiques de l'écosystème où la plante est située. Ils sont essentiels pour l'adaptation de la plante à son environnement.

I.2.2.1. Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique non azoté portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide et sont exclusivement synthétisés dans le règne végétal **(Collin et Crouzet 2011).** Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) **(Toubal 2018).**

Ils sont divisés en plusieurs classes, notamment les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques et acides hydroxycinnamiques), les flavonoïdes (flavonols, flavones, flavanols, flavanones, isoflavones et proanthocyanidines), les stilbènes et les lignanes, qui se retrouvent dans les plantes et les aliments d'origine végétale. Les substances phénoliques jouent un rôle crucial dans la qualité des fruits grâce à leur influence sur le goût, la teinte et les bénéfices nutritionnels des fruits **(El Gharras 2009).**

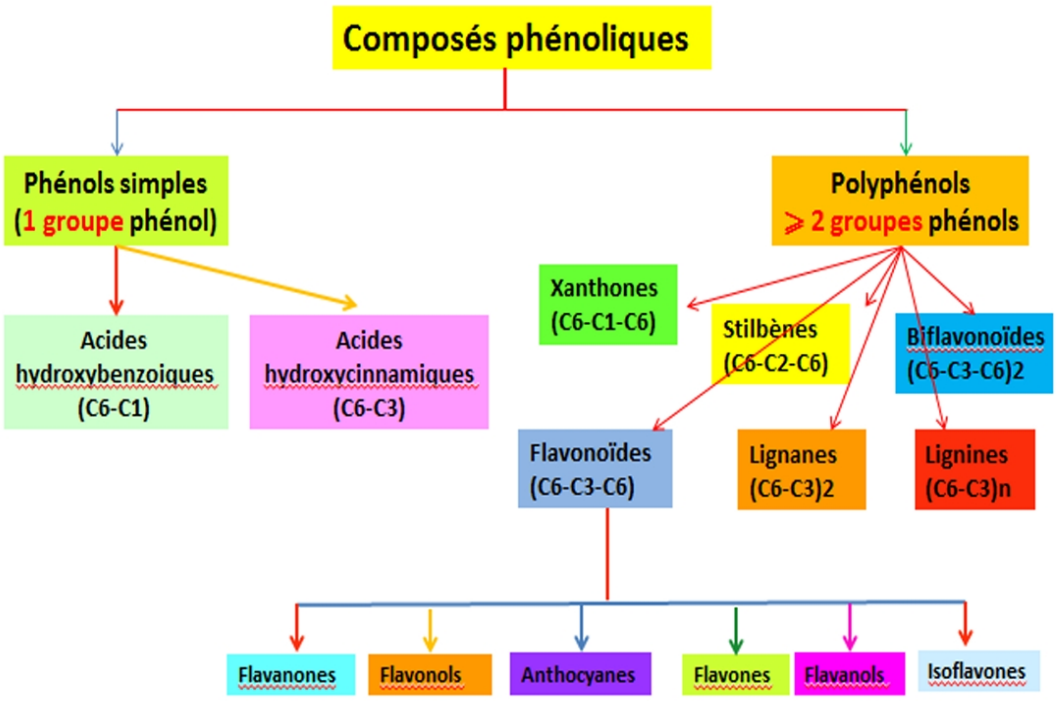


Figure I.2 : Classification des composés phénoliques **(Inconnue)**

Les substances phénoliques proviennent de la vaste voie métabolique de l'acide shikimique ou shikimate ainsi que de celle du malonate-acétate **(Toubal 2018).**

L'élément essentiel qui les distingue est la présence d'au moins un noyau aromatique auquel est attaché au moins un groupe hydroxyle, qu'il soit libre ou lié à une autre fonction telle qu'un éther, un ester ou un hétéroside **(Obame 2009).**

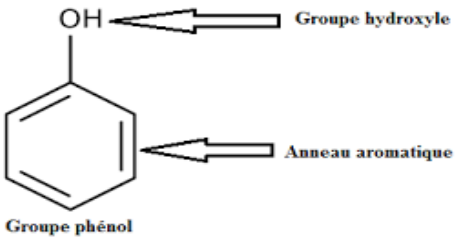
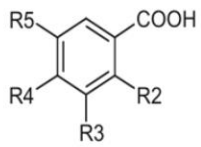


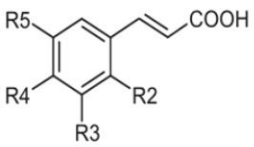
Figure I.3 : La Structure de base des composés phénoliques**(Inconnue)**

❖ **Les acides phénoliques :**

Les acides phénoliques forment de petites structures moléculaires comprenant un noyau de benzène et au moins un groupe hydroxyle. Ils peuvent également subir une estérification et s'associer à des glucides sous forme d'hétérosides. Leur production biologique provient de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1) et de l'acide hydroxycinnamique(C6-C3).Ces phénols, qui ont une propension à s'isomériser et à se polymériser, montrent une bonne solubilité dans des solvants polaires**(Wichtl et Anton 2003).** Les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque sont l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide gentisique et l'acide gallique. Les acides hydroxycinnamiques communs sont les acides caféique, p-coumarique, férulique et sinapique **(Chira et al. 2008).**

Acides phénoliques





acides benzoïques	**R2**	**R3**	**R4**	**R5**	**acides hydroxycinnamiques**
acide p-hydroxybenzoïque	H	H	OH	H	acide p-coumarique
acide protocatéchique	H	OH	OH	H	acide caféique
acide vanillique	H	OCH_3	OH	H	acide férulique
acide gallique	H	OH	OH	OH	
acide syringique	H	OCH_3	OH	OCH_3	acide sinapique
acide salicylique	OH	H	H	H	
acide gentisique	OH	H	H	OH	

Figure I.4 : Structures et dérivés des acides phénoliques : acides benzoïques et hydroxycinnamiques**(Chira et al. 2008).**

❖ **Les Flavonoïdes :**

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques comprenant 15 atomes de carbone formant une structure C6-C3-C6, soit deux noyaux aromatiques reliés par un pont de 3 carbones. Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Il existe plusieurs groupes de flavonoïdes, dont les principaux sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines **(Chira et al. 2008).**

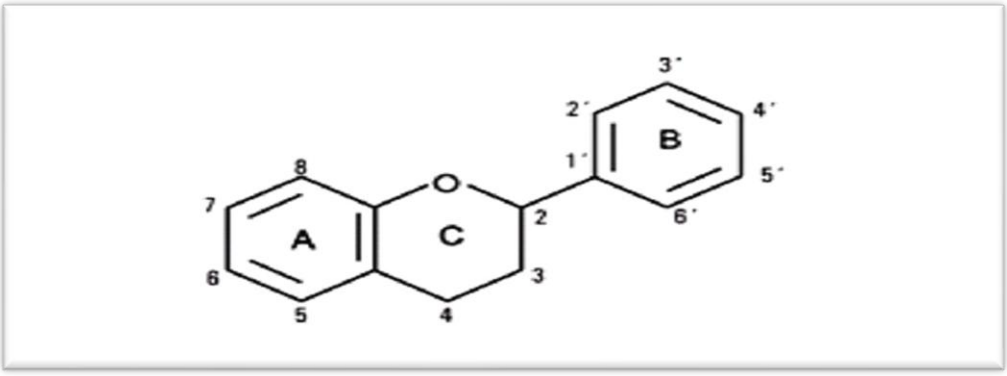


Figure I.5 :Structure de base des flavonoïdes **(Dacosta 2003)**

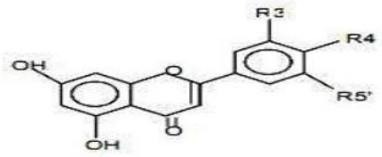
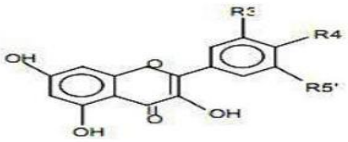
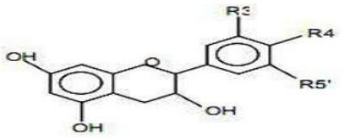
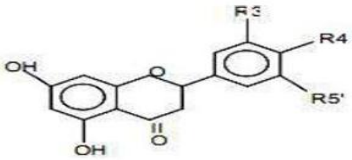
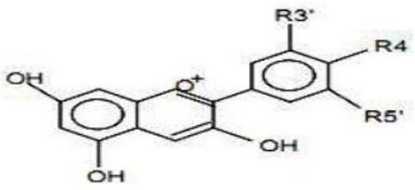
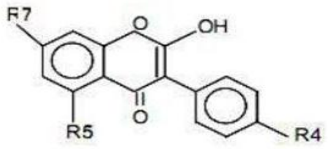
Classe	Structures chimique	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH_3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanone		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
		R4'	**R5**	**R7**	
Isoflavones		OH	OH	OH	Genisteine
		OH	H	O-Glu	Daidezine

Figure I.6 : Structures et groupements chimiques des flavonoïdes. **(Bruneton 1999)**

❖ **Les tanins :**

Ce sont des substances polyphénoliques hydrosolubles. On les trouve en abondance dans le monde végétal, notamment parmi les Conifères, la famille des Fagaceae, les Rosaceae et celle des Fabaceae **(Toubal 2018).** Les tanins ont des masses moléculaires allant de 500 à 5000 Da et présentent une diversité de structures qui constitue la base de leur classification en deux familles :

- Les tanins condensés (proanthocyanidines), qui sont des oligomères du squelette flavan-3-ol ;

- Les tanins hydrolysables, qui sont des esters, généralement liés au D-glucose, de l'acide gallique et de ses dérivés **(Baxter et al. 1997).**

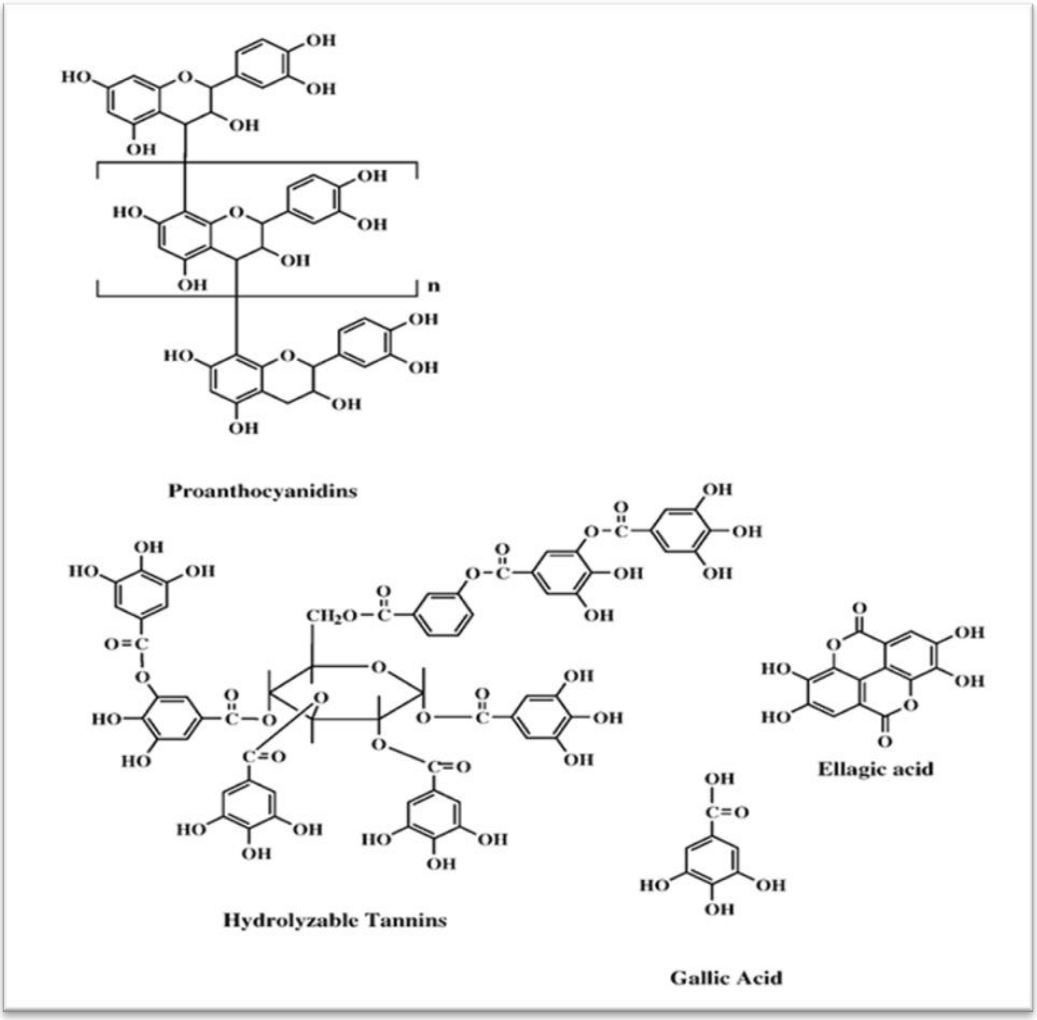
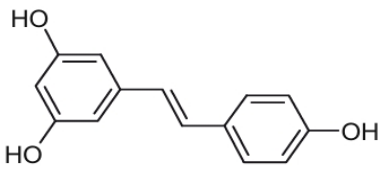


Figure I.7 : Structure chimique des tanins **(Naczk et Shahidi 2004)**

❖ **Les stilbènes :**

Les stilbènes sont des composés polyphénoliques qui ont une structure C6-C2-C6, deux noyaux benzéniques reliés par un pont méthylène. Les végétaux les synthétisent en réaction à des agressions fongiques, bactériennes ou virales. Ceci a été prouvé pour le trans-resvératrol **(Chira et al. 2008).**

Stilbénes



Trans-resvératrol

Figure I.8 : Structure chimique du trans-resvératrol, un composé de la famille des stilbènes **(Chira et al. 2008)**

I.2.2.2. Activités biologiques des composés phénoliques :

Les polyphénols suscitent un intérêt particulier dans deux secteurs : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire. **(Hennebelle, Sahpaz, et Bailleul 2004)**

Les polyphénols possèdent un large éventail d'activités biologiques in vitro (antibactériennes, anti-cancérigène, anti-inflammatoire, antioxydante etc…) liées à leur caractère réducteur et à leur affinité pour les protéines et les ions métalliques.(Achat 2013) L'effet protecteur des polyphénols a été attribué à leurs propriétés antioxydantes, susceptibles de prévenir des dommages oxydatifs moléculaires et cellulaires induisant diverses pathologies**(Amiot, Riollet, et Landrier 2009)** et leur interaction possible avec de nombreuses enzymes. **(Ronald Ross Watson, Victor R Preedy, et Zibadi 2013)**

Tableau I.1 : Quelques activités biologiques de composés phénoliques

Selon **(Achat 2013 ; Hennebelle, Sahpaz, et Bailleul 2004 ; Perumal Samy et Gopalakrishnakone 2010 ; Nsemi 2010)**

Composé phénolique	Activité biologique
Acide phénolique	Antimicrobienne, antipyrétiques, anti-ulcéreuses, antiparasitaires antifongiques, antioxydantes
Flavonoïdes	Anti-inflammatoires, antispasmodiques, antiallergiques, analgésiques, hypotenseurs, antivirales, diurétiques, ostéogène, antioxydantes, anti-atherogéniques.
Tanins	Antimicrobienne
Coumarines	Protectrices vasculaires, Protectrices vasculaires, antiinflammatoires, anti parasitaires, analgésiques et anti-œdémateus

I.3. La famille 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 son formées de quatre sépales et d'un carpelle, et donnent naissance à un fruit sec: un akène **(Draghi 2005)**.

Les *Urticaceae* sont répandues dans la plupart des régions tropicales, mais sont faiblement représentées en Australie. Quelques genres, en particulier Urtica, sont originaires des régions tempérées **(« Plantes et botanique : Famille des Urticaceae » 2020).**

Les Urticacées qui comprennent une cinquantaine de genres et de 700 espèces. On distingue les Urticacées avec poils urticants (genre Urtica) ou sans **(genres Parietaria et Boehmeria)**. Les principales espèces du genre Urtica sont :

- *Urticadioica L.*
- *Urticaurens L.* (Ortie brûlante ou « petite Ortie »)
- *Urticapilulifera L.* (Ortie romaine ou « ortie à pilules »)
- *Urticacannabina L.*
- *Urticaatrovirens Req.*
- *Urticamembranea Poiret*

Ce sont les espèces *U. dioica* et *U. urens* qui sont connues possédant des propriétés médicinales **(Draghi 2005).**

I.4. *Urticadioica L.* :

Il y a de nombreuses variétés d'ortie, cependant, nous nous concentrerons uniquement sur les attributs *d'Urticadioica L.* tant sur le plan botanique que chimique. Sa teneur élevée en différents composés lui donne ses multiples propriétés qui seront détaillées ultérieurement.

Urticadioïca L. considérée comme une « mauvaise herbe », est une des rares plantes que l'on peut reconnaître les yeux fermés vu son contact irritant **(Draghi 2005)**. L'effet irritant de l'ortie provient de ses tiges qui renferment de l'acide formique **(Camille et Christine 2009).**

I.4.1 Dénomination :

- En Latin : *Urticadioica L.*Syn ;
- En Anglais : Nettle, Common Nettle, StingingNettle, TallNettle, SlenderNettle, GreaterNettle.**(Camille et Christine 2009) ;**
- En Français : Grande Ortie, Ortie commune, Ortie vivace, Ortie dioïque ;
- En Allemand : Brennessel, Grosse-Brennessel, Grosse Nessel, Donnernessel ;
- En Espagnol : Ortigamayor ;
- En Italien : Ortica, Orticamaschia, Orticone**(GARNIER G., BEZANGER D.L., DEBRAU 1961) ;**
- En arabe : Horaïg, Bent en nar, Bou zegdouf ;
- En berbère : Rimezrit, Azekdouf, Harrous**(Beloued 2001).**

I.4.2. Position systématique :

Selon l'Angiosperme Phylogénie Group APGIII en (2009) la position systématique de L'ortie est illustrée dans le tableau ci-contre :

Tableau I.2 : La position systématique de L'ortie**(APG III 2009)**

Règne	**plantae (plantes)**
Sous règne	Tracheobionta (plantes vasculaires).
Embranchement	Magnoliophyta (phanérogames).
Sous-embranchement	Magnoliophytina (angiospermes).
Classe	Rosideae.
Sous-classe	Rosideaedialycarpellées.
Ordre	Rosales.
Famille	Urticaceae.
Genre	Urtica.
Espèce	Urticadioica L.

I.4.3. Origine et répartition géographique :

L'ortie est une herbacée vivace aujourd'hui naturalisée sur tous les continents où il y a des zones tempérées. Préférant un sol riche en azote, elle peut s'élever jusqu'à un mètre, et sa floraison, peu spectaculaire, se produit de juin à septembre. Elle colonise

volontiers les abords des lieux habités qui sont négligés **(Ghedira, Goetz, et Le Jeune 2009)**. Originaire d'Eurasie, l'ortie s'est répandue dans toutes les régions tempérées du monde. On la rencontre plus en Europe du sud, en Afrique du nord, en Asie et largement distribuée en Amérique du nord et du sud **(Brosse et al. 2003)** .

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

a. Milieu de vie :

L'Ortie est une plante qui « aime » le voisinage des habitations, les décombres et lieux incultes : c'est une plante qualifiée de « rudérale » **(Draghi 2005).**

Urticadioïca L. est une plante nitrophile qui est à la recherche de l'azote (surtout des nitrates NO_3^-) des déchets organiques décomposés dont elle va se servir pour synthétiser des protéines de très grande valeur. En contre partie, elle rééquilibre le terrain qu'elle habite.

L'ortie, également qualifiée de plante ferreuse, régularise la teneur en fer du sol et s'avère même, bénéfique pour toutes les autres plantes qui y poussent **(BOYRIE 2016)**. Elle ne pousse jamais seule, mais en grands massifs compacts à l'abri desquels s'installe de nombreux insectes **(Draghi 2005).**

C'est une plante qui préfère le plein soleil mais qui supporte la mi-ombre. Grâce à son appareil photosynthétique, elle est en mesure de subsister dans des conditions de luminosité très variables. Elle a surtout besoin d'eau au début de sa croissance. Une fois son système racinaire développé, elle résiste bien à la sécheresse **(BOYRIE 2016).**

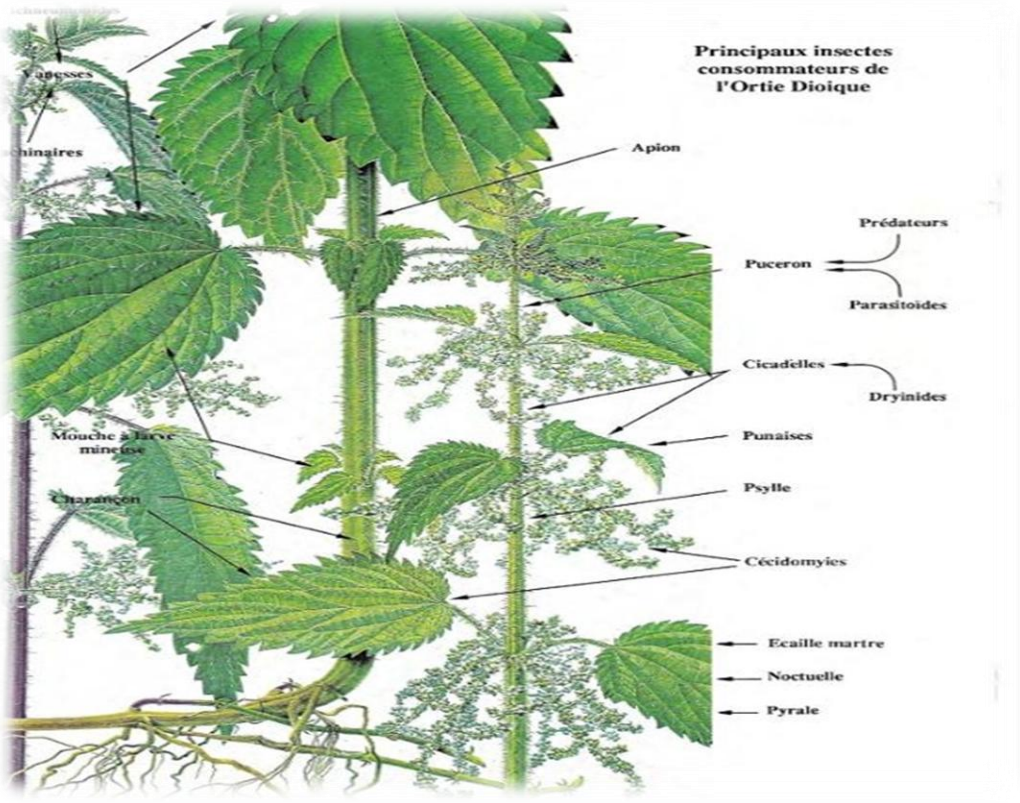


Figure I.9 : Principaux insectes consommateurs de L'ortie dioïque**(Toulemonde 2021)**

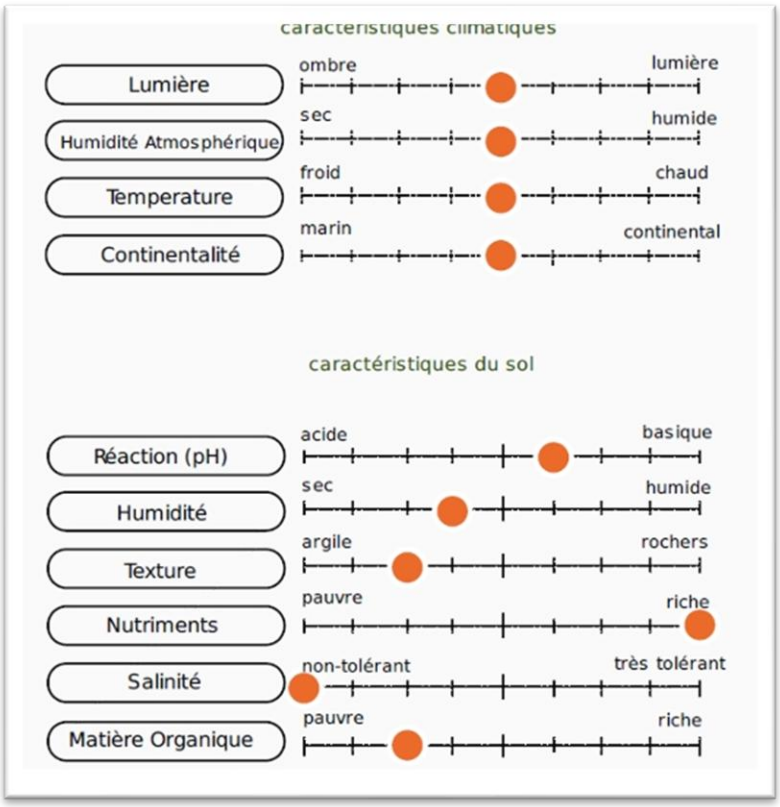


Figure I.10 : Caractéristiques du climat et de l'environnement parfaits pour la croissance *d'Urticadioïca L.***(« eFlore », s. d.).**

b. L'étymologie :

- **Urtica** vient du latin : brûler, en effet les poils font des piqûres brûlantes ;
- **Dioïdica**veut dire : plante dioïdique**(GARNIER G., BEZANGER D.L., DEBRAU 1961)**, ce qui signifie que les fleurs mâles et femelles se trouvent sur des pieds séparés **(Camille et Christine 2009) ;**
- Dans Urticadioïca le « L » fait référence à la classification de Carl Von Linné (1707-1778)**(Langlade 2010)**

I.4.4. Description botanique de l'Ortie dioïque :

Plante herbacée vivace, elle se propage rapidement grâce à ses organes souterrains constitués par des rhizomes cylindriques de 3 à 10 mm d'épaisseur et de longues racines de 1 à 5 mm d'épaisseur pourvues d'un chevelu de fines racines **(BOYRIE 2016)**) mesurant de 0.6 à 1.2 m de haut à tiges robustes dressées, à feuilles opposées , ovoïdes et acuminées, recouvertes de poils urticants et hérissés **(Ghedira, Goetz, et Le Jeune 2009)**. Elles répandent une faible odeur herbacée ; leur saveur est aigrelette et astringente**(BOYRIE 2016).** Les fleurs unisexuées, verdâtres, portées par des pieds différents, forment de longues grappes dressées, rameuses. La plante est dioïque, et porte des fleurs staminées et des fleurs pistillées sur des pieds différents ; les très petites fleurs unisexuées (parfois bisexuées) verdâtres sont disposées à l'aisselle des feuilles et réunies en grappes allongées et rameuses, souvent géminées dans chaque aisselle ; la fleur comprend quatre sépales, pas de pétales, quatre étamines ou un pistil presque réduit à l'ovaire ovoïde et surmonté d'un stigmate en pinceau. Le fruit est un akène **(Ghedira, Goetz, et Le Jeune 2009).**



Figure I.11 : Planche botanique de *l'Ortie dioïque* (*Urticadioica L)* –(A) parties aériennes, (l) fleur femelle, (2) fleur mâle, (3) inflorescence en grappes pendantes, (4) fleur femelle (agrandie), fleur male (agrandie) (7) poils urticants, (6) akène, (7) poils urticants **(Draghi 2005).**

On distingue la partie souterraine et la partie aérienne qui comprend l'appareil végétatif et l'appareil reproducteur :

I.4.4.1. La partie souterraine :

La tige souterraine rampante, ramifiée, produit chaque année de robustes tiges dressées tétragones, pouvant atteindre 1.20 m de hauteur **(GARNIER G., BEZANGER D.L., DEBRAU 1961).**

L'ortie est composée de racines et de rhizomes vivaces de couleur jaune. Avec les graines, les rhizomes participent à la propagation de l'ortie **(BOYRIE 2016)**. Ils fixent l'azote de l'air grâce à l'action de micro-organismes (***Rhizobium frankia***) qui vivent en

symbiose avec l'ortie **(Langlade 2010).** Les rhizomes sont des morceaux irréguliers, tordus de 5 mm d'épaisseur, brun gris, avec des fibres allongées.En coupe, elle est creuse et la surface est blanche.Au niveau de la cassure on observe des fibres.Elle est sans odeur, ni saveur caractéristique **(Bocquet 1991).** Les racines sont de deux sortes :

- Des racines traçantes, émettant des radicelles, permettant à l'ortie de s'étoffer.
- Des racines pivotantes qui permettent un bon ancrage du pied de l'ortie et une meilleure résistance aux conditions climatiques comme la sécheresse **(BOYRIE 2016)**



Figure I.12 : Racines d'*Urticadioïca L*. **(Anton, Bernard, et Wichtl 2003)**

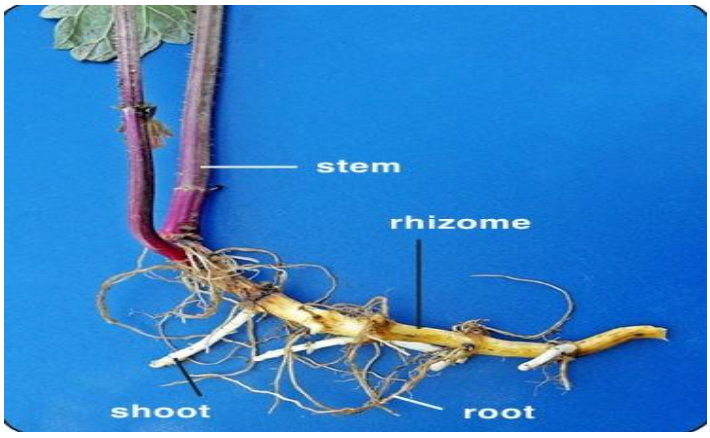


Figure I.13 : Le rhizome pâle de l'ortie piquante mesure environ 5 mm d'épaisseur, avec plusieurs nouvelles pousses et des racines beige clair pouvant atteindre 10 cm de longueur **(Reaume 2010)**

Par ces rejets, elle multiple et perpétue la plante **(Bonnier 1914)**

Composition chimique des racines

Les différentes études ont montré que les racines renfermaient de nombreuses molécules appartenant à différentes familles chimiques **(Draghi 2005)**

- La molécule la plus intéressante sur le plan pharmacologique présente dans les racines d'*Urtica dioïca L*. est la lectine *Urticadioïca* Agglutinine (UDA);
- Des acides gras. (Acide palmitoléique, acide oléique, acide gadoléique, acide linoléique, acide α-linolénique) ;
- Des polysaccharides : 2 glycanes, 2glucogalacturonanes, arabinogalactane **(BOYRIE 2016) ;**
- Des céramides ;
- Des terpènes diols et des terpènes diols glucosides ;
- Des stérols et stérols glucosides ;
- Des composés phénoliques ;
- Les dérivés terpéniques **(Draghi 2005).**

I.4.2.2. Les parties aériennes :

a. Les feuilles :

Urticadioica L. est constitué de feuilles simples, charnues, tombantes, dentelées, grossièrement en forme de cœur et terminée par une pointe. Les feuilles et la tige sont recouvertes de poils urticants blancs **(Langlade 2010)**. Ses feuilles de couleur vert foncé en raison de leur richesse en chlorophylle **(Schaffner 1993; Moutsie 2008)**, opposées deux à deux, grandes, ovales ou lancéolées et pointues à l'extrémité du limbe. Elles sont portées par une tige ligneuse, droite, simple (non ramifiée), dressée, robuste et quadrangulaire, couverte de poils courts ainsi que de longs poils urticants**(BOYRIE 2016).** Elles mesurent environ 1,5-20 cm de long par 0.6-12 cm de largeur **(Reaume 2010).**



Figure I.14: Feuille d'Ortie **(Toulemonde 2021).**



Figure I.15 : Les feuilles d'ortie piquante mesurent 4,5 cm de large : la feuille du haut représente la face **ventrale** (supérieure), tandis que celle du bas correspond à la face **dorsale** (inférieure)**(Reaume 2010)**

- **Composition chimique des feuilles :**

Tableau I.3 : Tableau des constituants chimiques des parties aériennes (feuilles) de l'ortie **(Ghedira, Goetz, et Le Jeune 2009)**

Familles de constituants chimiques	Constituants chimiques
Neuromédiateurs	Histamine (0,1 à 0,56 %), acétylcholine(1 %), sérotonine (0,02 %), leucotriènes (présence contestée), choline acétyltransférase
Acides phénols	Acide caféique et ses esters (acidecaféyl-malique, 1,6 %), acideChlorogénique, acide néochlorogénique
Flavonoïdes	3-glucosides et 3-rutinosides du quercétol, du kaempférol et de l'isorhamnéto
Autre constituants	Scopolétol, sitostérol, glycoprotéines,lipides, sucres, acides aminés libres,traces de nicotine, vitamine C,

	Chlorophylle, vitamine K, vitamine A, Vitamine B1 (Thiamine), Vitamine B9 (acide folique) Huile essentielle (Carvacrol, carvone, naphthalene, (E)-anethol, hexahydrofarnesylacetone, (E)-geranylacetone, (E)-β-ionone and phytol). Tanins
Minéraux (cendres 18 %)	Calcium, potassium, silicates

b. La tige :

La tige d'*Urticadioïca L.* est dressée, robuste, non ramifiée, et à section quadrangulaire. Elle peut atteindre 1.5 m de hauteur et couvertes de poils urticants**(Wichtl et Anton 2003)** et des poils courts très fibreuses porte des feuilles opposes ovales acuminées fortement dentées sur les bords à grosse dents ovales triangulaires **(Schaffner 1993).**



Figure I.16 : La tige d'ortie (**Toulemonde 2021**)



Figure I. 17 : La tige coupée de 8 mm de large ; creuse avec 4 profondes rainures **(Reaume 2010)**

Composition chimique de la tige :

- Les composés phénoliques (les lignines, les flavonoïdes, les acides-phénols.) ;
- Les acides gras saturés (acide palmitique) et insaturés (acide palmitoléique, acide linoléique et linolénique) **(BOYRIE 2016).**

c. Poils urticants :

L'ortie dioïque est donc caractérisée par la présence de poils unicellulaires de forme conique sur la face supérieure des feuilles et sur la tige, constitués d'un bulbe incrusté de silice et surmontés par une pointe recourbée. Transparent et effilé, le poil est comparable à une ampoule. Le petit renflement sphérique se brise comme du verre (les poils sont imprégnés de silice) au moindre frottement : la « pointe de verre » se plante alors comme une aiguille dans l'épiderme, libérant le liquide urticant. Ce liquide est libéré au moindre choc après rupture de l'extrémité des poils, qui deviennent ainsi une véritable aiguille hypodermique **(Draghi 2005).**

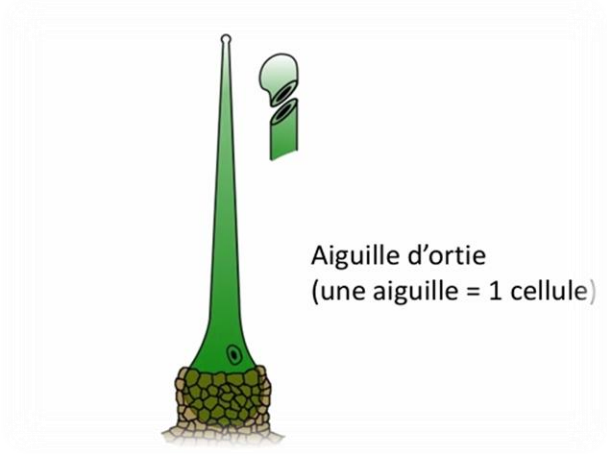


Figure I.18 : Structure de l'aiguille urticante de l'ortie **(Toulemonde 2021)**

La molécule principalement en cause de cet effet irritant chez l'ortie est l'acide formique. L'acide formique pur est liquide, incolore, d'une odeur piquante. Il est très corrosif et engendre de fortes brûlures sur la peau **(BOYRIE 2016).**

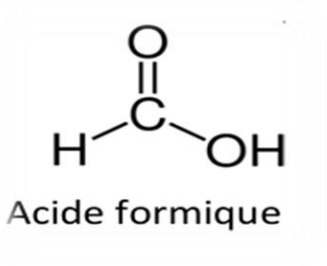


Figure I.19 : Structure moléculaire de l'acide formique **(BOYRIE 2016)**

L'Ortie perd ses propriétés urticantes en séchant et en cuisant. Elle ne pique pas lorsqu'elle est dans l'eau **(BERTRAND 2002b).**

- **Composition chimique des poils urticants**

Le liquide des poils contenait au moins trois composés qui pourraient être à l'origine des réactions de muscle lisse : l'acétylcholine, à une concentration de 1 %, l'histamine, à une concentration de 1 pour 500 à 1 pour 2000, et la 5-hydroxy-tryptamine (la sérotonine). On trouve également une petite quantité de leucotriènes **(Draghi 2005).** Ils contiennent entre autre de la bétaïne, de l'acide formique et de l'acide butyrique**(BOYRIE 2016).**

d. Les fleurs :

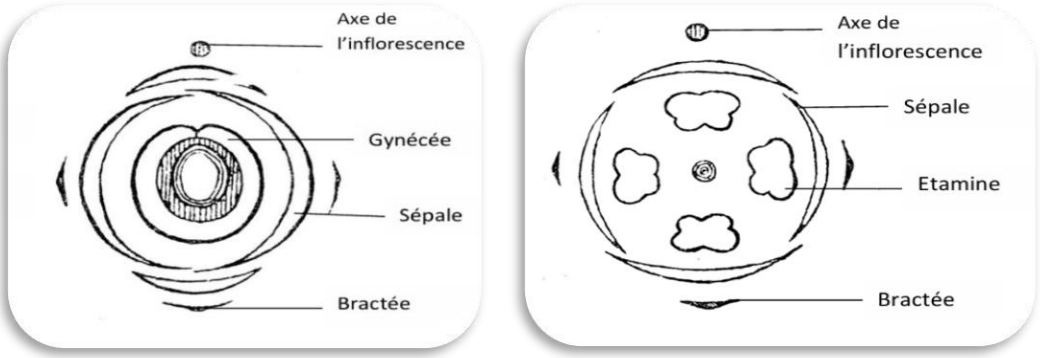
La plante est dioïque, et porte des fleurs staminées et des fleurs pastillées sur des pieds différents; les très petites fleurs unisexuées (parfois bisexuées) verdâtres sont disposées à l'aisselle des feuilles et réunies en grappes allongées et rameuses, souvent géminées dans chaque aisselle **(Ghedira, Goetz, et Le Jeune 2009).**

La fleur femelle est verdâtre et comporte un ovaire uniloculaire, uniovulé, surmonté d'un style et d'un stigmate en pinceau. La fleur mâle est jaunâtre (anthères à grains de pollen jaunes) et comporte quatre étamines à filets longs, élastiques et repliés dans le bouton floral**(Draghi 2005).**La floraison est estivale : les fleurs fleurissent de juin à octobre **(BOYRIE 2016).**



(a) **(b)**

Figure I.20 : **(a)** La plante femelle, **(b)** La plante male **(BOYRIE 2016).**



(a) **(b)**

Figure I.21 : (a) Diagramme floral de la fleur femelle, (b) Diagramme floral fleur mâle **(BOYRIE 2016)**

- **Composition des fleurs :**

Les fleurs d'*Urticadioïca L.*contiennent le sitostérol, sitostérol glucoside et la scopolétine**(Orčić et al. 2014**). Des glycosides de flavonols(kaempherol-3-O-glucoside, and -3-O-rutinoside ; quercetin-3-O-glucoside, and -3-O-rutinoside, isorhamnetin-3-O-glucoside, -3-O-rutinoside and -3-Oneohesperidoside) ont été aussi identifiés dans des extraits méthanoliques des fleurs. Les fleurs femelles contiennent de l'acide chlorogénique et de l'acide caféyl-malique **(Akbay et al. 2003).**

Les pieds mâles et femelles ont un taux comparable en flavonoïdes. La teneur en acides polyphénoliques est plus élevée chez les pieds mâles.

e. Le fruit :

Le fruit d'*Urticadioïca* est constitué d'un akène, formé dans un calice persistant, contient une graine provenant des panicules à maturité, leur couleur sable à jaune – brun, de forme aplatie, ovoïde et pointue, mesure 1.0 à 1.5 mm de long sur 0.7 à 1.0 mm de large. Son extrémité pointue porte des restes de stigmates pénicillés. Ces fruits sont très souvent entourés de deux petites feuilles extérieures, étroites, et de deux feuilles intérieures plus grandes, larges et de couleurs vertes **(Anton, Bernard, et Wichtl 2003).**



Figure I.22 : Graine avec ses feuilles **(BOYRIE 2016)**

- **Composition des fruits et des graines :**

Les fruits mûrs renferment environ 30 % d'huile grasse, constituée d'acides gras, principalement l'acide linoléique à un taux de 74 à 83%.La graine contient en plus les vitamines C, E, B1 (thiamine), B2 (riboflavine), B3 (niacine), B6 (pyridoxine), et de nombreux minéraux : fer, zinc, cuivre, calcium, phosphore, magnésium, manganèse, sodium, potassium, et sélénium **(BOYRIE 2016).**

I.5. Les activités biologiques d'*Urtica dioïca L*:

I.5.1. Pouvoir enzymatique :

I.5.1.1. Les enzymes :

Les enzymes sont des protéines qui exercent une activité catalytique spécifique d'un très grand nombre de réactions chimiques **(Navarre et Langlade 2010).** Elles sont présentes dans les cellules de tous les organismes vivants où elles jouent un rôle essentiel dans plusieurs procédés métaboliques. Autre fonction importante, les enzymes sont

responsables de la dégradation des molécules complexes en molécules plus facilement assimilables **(Meunier 1999)**

Les enzymes sont spécifiques du type de réaction catalysée et d'un seul substrat ou d'un petit ensemble de substrats fortement apparentés **(GRANNER 2008).** Les principaux facteurs du milieu qui contrôlent la fonction des enzymes sont la température, le pH et l'activité de l'eau etc. En générale, leur activité croît de manière exponentielle avec l'élévation de la température du milieu réactionnel jusqu'aux environs de 60 – 70°C, au-delà de cet intervalle, elles perdent leur activité. Leurs pH optimum varient avec la nature des enzymes et des réactions **(Feillet 2000).**

I.5.1.2. Classification des enzymes :

Tableau I.4: Classification des enzymes selon **(Feillet 2000)**

Classe	Réactions catalysées
EC 1 Oxydoréductases	Oxydo-réduction (transfert d'oxygène)
EC 2 Transférases	Transfert de groupes fonctionnels
EC 3 Hydrolases	Coupure une molécule avec fixation d'eau (hydrolyse)
EC 4 Lyases	Coupure autre que l'hydrolyse
EC 5 Isomérases	Remaniement interne d'une molécule
EC 6 Ligases	Synthèses de nouvelles molécules par addition d'éléments

a. Les protéases :

Les protéases sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse des protéines dans des sites bien spécifiques **(Kumar et al. 2008)**, en scindant la liaison peptidique qui lie deux acides aminés dans une chaîne peptidique **(Scriban 1999).**

b. Polyphénol oxidase :

Les polyphénols oxidases, également connue sous le nom de tyrosinase, phénolase, catéchol oxydase, monophenol oxydase, cresolase et catécholase, est une enzyme présente dans de nombreux tissus végétaux ainsi que chez certains animaux supérieurs, y compris les insectes et les humains. Chez les plantes supérieures, cette enzyme protège la plante

contre les insectes et les micro-organismes. Lorsqu'une plante est blessée, elle forme une barrière imperméable de mélanine qui empêche toute nouvelle attaque microbienne et limite la dessiccation **(Whitaker 1995).**

c. Lipases végétales :

Chez les plantes, les lipases se trouvent dans les céréales, les fruits, les feuilles, Cependant, la principale source de l'enzyme est les graines où les triglycérides sont stockés dans des structures intracellulaires appelées oléosomes (ou oil bodies), car dans les graines il y a généralement une grande concentration d'huile, qui sera une source d'énergie pour le développement ultérieur de la plante **(Filho, Silva, et Guidini 2019; Fickers et al. 2005).**

Tableau I.5 : Rôle biologique des principales enzymes chez *Urtica dioica L.* selon **(Yediel Aras et al. 2025; Gülçin et al. 2004; Chauhan et al. 2024; Kregiel, Pawlikowska, et Antolak 2018)**

Type d'enzyme	Rôle principale
Urticantes (hydrolases, protéases)	Défense, piqûre douloureuse
Métaboliques (amylases, déshydrogénases, peroxydase)	Croissance et énergie
Antioxydante (SOD, catalase)	Protection cellulaire
Médicinales (protéases, lipases)	Effets anti-inflammatoires et digestifs

I.5.2. Pouvoir antioxydant :

a. Les radicaux libres :

Un radical libre (RL) est une espèce chimique qui possède un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe. La présence d'un électron non apparié confère à ces molécules une grande instabilité, c'est-à-dire qu'elles sont extrêmement réactives et que leur durée de vie est courte **(Carange 2010).** Ils sont nuisibles pour l'organisme en raison de leur capacité à réagir facilement avec les macromolécules biologiques, entraînant leur modification oxydative et leur dysfonctionnement **(Di Meo et Venditti 2020).**

b. Les antioxydants :

Le terme «antioxydant» désigne toute molécule capable de stabiliser ou de désactiver les radicaux libres avant qu'ils n'attaquent les cellules **(Eboh 2014).**

Les antioxydants ont la capacité de prévenir l'oxydation des protéines, des glucides, des lipides et de l'ADN, même à des concentrations relativement faibles, ce qui permet de protéger les cellules contre les dommages des radicaux libres**(Martemucci et al. 2022).**

Il est possible de classer les antioxydants en deux groupes en fonction de leur origine, les antioxydants enzymatiques (la catalase (CAT), la peroxydase (POD), la superoxyde dismutase (SOD), les glutathion peroxydases (GPX) et les ascorbate peroxydases (APX)) et les antioxydants non enzymatiques (glutathion, l'ascorbate, les tocophérols et les composés phénoliques) **(Beaudeux et al. 2006; Sharma et al. 2022).**

c. Stress oxydatif :

Le stress oxydatif est une condition pathologique qui survient lorsque la production de radicaux libres excède la capacité des systèmes antioxydants à les éliminer, créant ainsi un déséquilibre nuisible pour l'organisme **(Zhang et al. 2023).**C'est un déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants **(Berger 2006).**

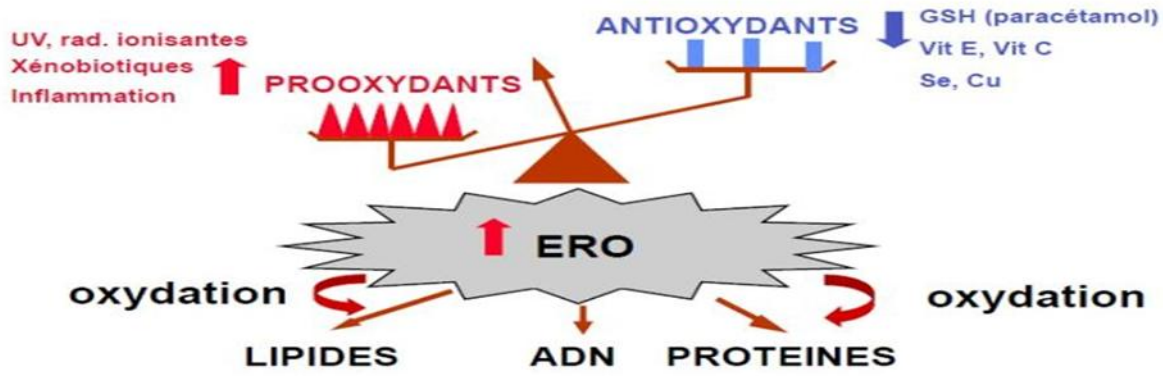


Figure I.23 : Origine de stress oxydatif **(Dangles 2020)**

(ERO) Espèces Réactives de l'Oxygène

d. Pouvoir antioxydant de l'ortie :

Les qualités anti-oxydantes de l'ortie ont pu être mises en évidence **(Toldy et al. 2005).** Les composants phénoliques apparaissent comme responsables de l'activité anti-oxydante des extraits aqueux d'orties **(Cetinus et al. 2005)**et d'autre études de **Ghaima, Hashim, et Ali** et en plus, **Sidaoui** qui ont rapporté que l'extrait méthanolique d'*Urtica dioica L.* possède une activité anti-oxydante qui est due à sa richesse en composés phénoliques, qui ont la capacité de piéger les espèces réactives de l'oxygène (ERO) tels que l'oxygène

singulet, le radical hydroxyle et l'oxyde nitrique.**(Ghaima, Hashim, et Ali 2013 ; Sidaoui et al. 2015)**

Les divers mécanismes antioxydants de ces extraits peuvent être attribués à leur forte capacité à donner de l'hydrogène, à leur capacité à chélater les métaux et leur efficacité à piéger le peroxyde d'hydrogène les superoxydes et les radicaux libres **(Cetinus et al. 2005).**

Urtica dioica L. peut également inhiber 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 usolique qui est principalement accumulé dans les racines de l'ortie, mais aussi à la quercétine, qui est principalement accumulée dans les feuilles **(Das, Gompper, et Winkler 2018).** C'est pourquoi les extraits d'ortie peuvent être utilisé comme une source naturelle d'antioxydant en tant que complément alimentaire possible ou dans l'industrie pharmaceutique **(Langlade 2010).**

I.5.3. Pouvoir anti-inflammatoire :

L'activité anti-inflammatoire est probablement due à l'inhibition de la production de cyclooxygénase, lipoxygénase et de cytokine **(Capasso et al. 2003).** L'étude de l'extrait hydroalcoolique de feuilles d'*Urtica dioïca L* a démontré une réduction dose-dépendante de la sécrétion de cytokines à activité anti-inflammatoire. Sur le plan pharmacologique, in vitro, les dérivés de l'acide caféique et les extraits hydroalcooliques de la grande ortie inhibent la biosynthèse des enzymes de la cascade arachidonique, des métabolites de leucotriènes et des prostaglandines impliqués dans le processus inflammatoire.**(Wichtl et Anton 2003; Fleurentin 2008).**

Wagner et ses collaborateur sont démontré qu'une fraction polysaccharidique d'un extrait aqueux de racine d'ortie, contenant 4 polysaccharides différents inhibait le développement d'un œdème de patte de rat induit à un même degré que l'Indométacine **(Wagner et al. 1994),**.

D' après l'équipe de **Roschelk** l'extrait d'ortie inhibe également la formation de prostaglandines en freinant l'activité de la Cyclooxygénase-1 (COX-1), de la Cyclooxygénase-2 (COX-2) et de la synthèse de prostaglandine D(2) hématopoïétique (HPGDS), qui sont des enzymes clés dans les voies pro-inflammatoires **(Roschek et al. 2009)**.

De plus, Dar et son équipe, ont conclu que les résultats obtenu par les extraits d'*Urtica dioïca L.* sur les maladies inflammatoires et notamment la polyarthrite rhumatoïde serait due à la fois à l'acide caféique, aux flavonoïdes, aux poly-phénols et à la forte teneur en silicium **(Dar et al. 2013)**.

I.5.4. Pouvoir antimicrobien :

L'activité antibactérienne in vitro est une évaluation de l'efficacité d'un agent antibactérien contre des micro-organismes **(Cowan 1999).**

Les plantes médicinales sont connues pour leur propriété de produire certains composés chimiques naturellement toxiques pour les bactéries **(Basile et al. 1999).** En plus, il a été rapporté que les extraits de ces plantes et beaucoup d'autres préparations phyto-chimiques riches en flavonoïdes ont possédé une activité antimicrobienne **(Cushnie et Lamb 2005).** Plusieurs études montrent que les constituants chimiques des feuilles d'*Urtica dioïca L.* tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes et les terpènes sont actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons **(Dar et al. 2013).** D'après les études de l'équipe Gülçin de, l'extrait aqueux des feuilles d'*Urtica dioïca L*. est actif contre *Streptococcus faecalis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans*et *Escherichia coli* **(Gülçin et al. 2004)**.

Il a été démontré que l'extrait de racines d'ortie avait une activité antifongique et anti-microbienne et qu'il agissait en synergie avec la chitinase en inhibant la croissance fongique. In vitro, l'extrait de racines d'ortie a inhibé la croissance de plusieurs champignons pathogènes et saprophytes contenant de la chitine **(Mikaeili, Karimi, et Modaresi 2013; Hadizadeh, Peivastegan, et Kolahi 2009).**

Le mécanisme d'action des poly-phénols est sans doute très complexe, parmi les hypothèses avancées :

- L'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes ;
- La séquestration du substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer ;
- L'inhibition du métabolisme microbien **(Mila et Scalbert 1994).**

I.6.Usages d'*Urtica dioïca L.* :

I.6.1. En médecine :

L'Ortie dioïque est inscrite sur la liste des plantes médicinales retenues comme telles par la Pharmacopée Française (10ème édition, 1993, liste A). Et rentre dans la composition d'une multitude de médicaments allopathiques ou homéopathiques.

L'Ortie est un remède traditionnel stimule les fonctions digestives et améliore l'attention intellectuelle et agit favorablement sur l'anxiété et les états dépressifs et utilise contre l'anémie et le manque d'énergie. Cette plante médicinale contient de vitamines B2, B5, d'acide folique, de silice et de zinc qui permet de lutter contre les ongles cassants, la chute des cheveux et favorise leur repousse. Le traitement de l'acné est possible en raison de l'effet anti-inflammatoire du zinc présent dans l'Ortie **(Draghi 2005).**

Selon **Toubal** elle est aussi considérée comme anti-hyperglycémique, anti-inflammatoire anti-oxydante antimicrobienne, antiulcéreuse, analgésique, cardiovasculaire, diurétique et un traitement pour les douleurs rhumatismales, le froid, et les toux , ainsi que pour les insuffisances hépatiques **(Toubal 2018)**.

I.6.2. En alimentaire :

La Grande ortie est également très utilisée à des fins alimentaires :elle est simple à digérer, contient une quantité élevée de minéraux (surtout de fer), de la vitamine C, une forte concentration de provitamine A, et elle est bien pourvue en protéines **(Toubal 2018).** Les feuilles de l'ortie sont comestibles, et peuvent être mangées crues ou en légumes, dans des gratins et en soupe **(François 2009).**

I.6.3. En agriculture :

D'après **Draghi**, le purin de la Grande ortie s'utilise soit comme fertilisant, soit en traitement préventif de certaines maladies ou invasions de parasites. Il sert de fongicide (contre le mildiou), d'insecticide (contre les pucerons et acariens) et d'activateur ou de régulateur de croissance des végétaux **(Draghi 2005)**.

I.6.4. En industrie :

La grande ortie est utilisée pour l'extraction industrielle de la chlorophylle qui est employée comme colorant alimentaire (E 140) et également comme agent aromatisant dans certains dentifrices et chewing-gums **(Teuscher, Anton, et Lobstein 2005).**

Les tiges de la grande ortie sont intégrées en industrie pour la fabrication de tissu, teinture, colorants (grâce à leurs richesses en chlorophylles), et papier **(Toubal 2018).**

Partie II

ETUDE EXPERIMENTALE

Matériels
&
Méthodes

II.1. Durée et site d'étude :

Mon projet a été effectué entre Février et Mai 2025 dans les lieux suivants :

- Laboratoires du pôle universitaire de Ouezra, faculté de Technologies, Médéa, Algérie ;
- Laboratoires de microbiologie et de physico-chimie du complexe antibiotical SAIDAL de Médéa.

II.2. Objectif d'étude :

Ce travail expérimental a pour objectif d'optimiser les conditions d'extraction, de déterminer les caractéristiques biologiques et d'évaluer les activités biologiques des extraits tamponnés et éthanoliques des feuilles d'ortie.

Pour ce faire, j'ai suivi les points suivants :

- Préparations des extraits végétaux éthanoliques et tamponnés des feuilles d'ortie ;
- Analyse physicochimique des extraits préparés ;
- L'évaluation de la teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes des extraits végétaux préparés de la plante ;
- L'évaluation de l'activité anti-oxydante des extraits tamponnés et éthanoliques présentant la teneur la plus élevée en polyphénols totaux en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH ;
- L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro des extraits végétaux tamponnés et éthanoliques présentant les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux ;
- La mise en évidence du pouvoir antimicrobien des extraits préparés présentant la teneur la plus élevée en polyphénols totaux sur différentes souches bactériennes et fongiques ;
- L'évaluation de l'activité enzymatique des extraits tamponnés et éthanoliques et la purification de l'enzyme à partir de l'extrait présentant l'activité enzymatique la plus élevée.

II.3. Matériels et produits utilisés :

II.3.1 Matériels biologiques :

II.3.1.1 Matériel végétal :

Récolte du matériel végétal :

Mon travail a été effectué sur la partie aérienne (feuilles) de l'espèce végétale *Urtica dioïca L.* (la grande ortie) de la famille des Urticacées. La plante *Urtica dioïca L.* a été récoltée durant le mois de Janvier 2025 au niveau de la région (Kotiten) dans la wilaya de Médéa.

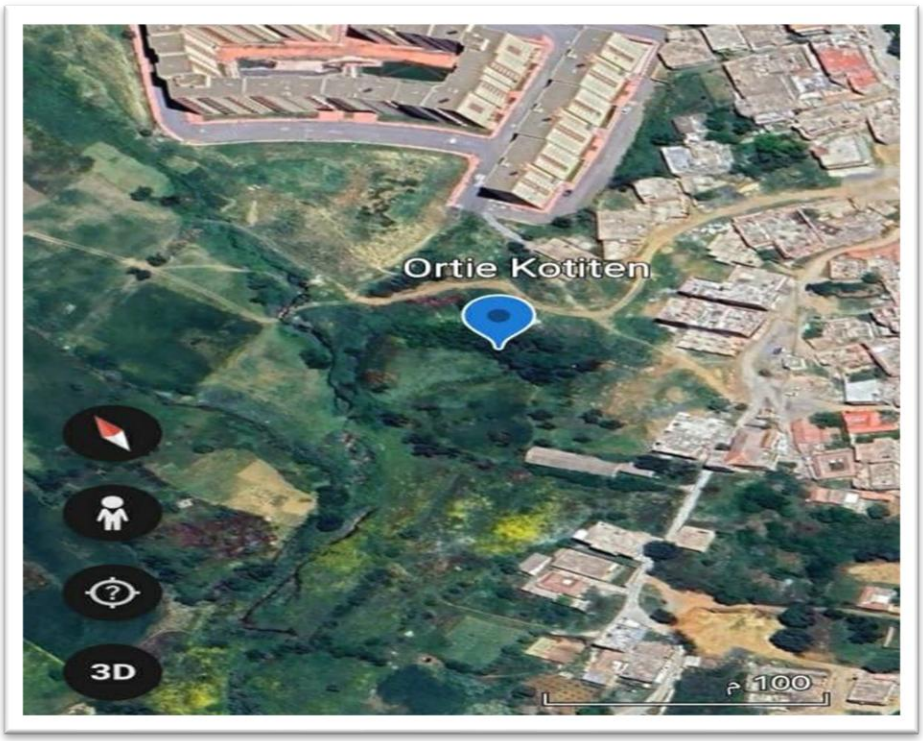


Figure II.1 : Vue par satellite d'Ortie Kotiten, site de prélèvement de matière végétale, Médéa, Algérie**(Google, 2025)**



Figure II.2 : Matériel végétal utilisé (feuilles de l'ortie récoltées) **(photo originale)**

En raison des caractéristiques irritantes de la végétation, il faut porter une attention particulière. Dans ce cadre, il est recommandé de porter des gants et des habits de protection pour prévenir les irritations de la peau.

II.3.1.2 Souches microbiennes :

L'activité antimicrobienne in vitro des extraits étudiés a été évaluée sur des souches bactériennes et fongiques qui ont été fournies par le groupe SAIDAL de Médéa. Les caractéristiques et les références des souches utilisées sont récapitulées dans les tableaux ci-dessous :

Tableau II.1 : Les souches bactériennes testées

Souches bactériennes	Type de la bactérie	Références
Bacillus Subtilis	Bacille / Gram +	ATCC 6633
Escherichia Coli	Bacille / Gram -	ATCC 8739
Pseudomonas Aeruginosa	Bacille / Gram -	ATCC 9027
Staphylococcus aureus	Cocci / Gram +	ATCC 6538
Staphylococcus Epidermidis	Cocci / Gram +	ATCC12228

Tableau II.2 : Les souches fongiques testées

Souches fongiques	Type de champignons	Références
Aspergillus Brasiliensis	Moisissures	ATCC 16404
Candida Albicans	Levures	ATCC 10231
Saccharomyces Cerevisiae	Levures	ATCC 9763

II.3.2 Matériels non biologiques :

II.3.2.1 Appareillage et verreries :

Tableau II.3 : Les appareils et les verreries utilisés

Appareil	Verreries
Etuve (MEMMERT)	Dessiccateur
Pompe à vide	Béchers
Centrifugeuse (Rotanta 460 R)	Erlenmeyer
Secoueur « incubateur-agitateur » (Infitek)	Éprouvette
Agitateur magnétique	Fioles
Balance analytique (JOANLAB)	Verre de montre
Refractomètre (Infitek)	Flacons
Spectrophotomètre UV-visible (UVmini-1240)	Pipette graduée / pipette jaugée
Homogénéisateur (Ultra-Turrax)	Boite de pétri
Micropipette 200 µl	Tube à essai
Pycnomètre	Burette
Incubateur	Entonnoirs / entonnoir Büchner

II.3.2.2Produits utilisés :

Tableau II.4 : Les produits utilisés

Réactifs	Formule chimique	Masse molaire (g/mol)
Éthanol	C_2H_5OH	46.068
Hydroxyde de sodium	NaOH	39.997
Phosphate de monopotassium	KH_2PO_4	136.086
Huile d'olive	/	/
Gomme Arabique	/	/
Acétone	C_3H_6O	58.08
Chlorure de calcium	$CaCl_2$	110,98
Carbonate de sodium	Na_2CO_3	105,9888
Chlorure d'aluminiumHexahydraté 99%	$AlCl_3$, $6H_2O$	241.43
Acétate de sodium	$C_2H_3NaO_2$	82,0343
Acide gallique	$C_7H_6O_5$	170.12
Quercétine	$C_{15}H_{10}O_7$	302.236
DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)	$C_{18}H_{12}N_5O$	394,32
Phénolphtaleine	$C_{20}H_{14}O_4$	318.32
Eau physiologique 0.9%	NaCl	58.44
Eau physiologique 0.36%	NaCl	58.44
Folin-Ciocalteu	C_6H_6O	94.11124
Déclofénac	$C_{14}H_{11}C_{l2}NO_2$	296.148

II.4. Méthodes :

II.4.1. Préparation du matériel végétal :

II.4.1.1. Lavage :

Les feuilles de la plante *Urtica dioica L*. récoltées ont été lavées et rincées avec de l'eau du robinet afin d'éliminer les grosses particules (poussières) qui y étaient présentes.

II.4.1.2. Séchage :

Le séchage des plantes médicinales est, normalement, effectué juste après la récolte, il permet de réduire la teneur en eau afin de limiter la dégradation dus aux enzymes et autres agents biologiques tels que les moisissures et les microbes **(Berton 2001).**

Les feuilles récoltées ont été soigneusement mises à sécher à température ambiante, à l'ombre, à l'air libre et à l'abri de l'humidité afin de mieux conserver les molécules sensibles à leur exposition, pendant une durée de 10 à 15 jours.



Figure II.3 : Les feuilles de l'ortie récoltées (à gauche : avant séchage, à droite : après séchage) **(Photo originale)**

II.4.1.3. Détermination du taux d'humidité :

L'humidité de la plante a été déterminée par la méthode de séchage à l'étuve selon **(Kavanagh 1981)**.

Mode opératoire :

Selon **Chemists** ,une quantité de 2 g de poudre de feuilles a été placée dans un creuset en porcelaine préalablement pesé à vide. Le creuset contenant l'échantillon a ensuite été mis dans une étuve réglée à 103 ± 2 °C pendant 24 heures. Après cette période, il a été refroidi dans un dessiccateur contenant un agent déshydratant (comme du gel de silice), puis pesé de nouveau afin de déterminer la perte en eau **(Chemists 1980)**. Le taux d'humidité est donné par la formule ci-dessous :

$$H\% = \left[\frac{m_2 - m_1}{m_1}\right] \times 100 \qquad \textbf{II.1}$$

- H % : Taux d'humidité ;
- m_2 : masse de (l'échantillon + creuset) en gr avant le séchage ;
- m_1 : masse de (l'échantillon + creuset) en gr après le séchage.



Figure II.4 : Pesé de l'échantillon pour la détermination du taux d'humidité **(Photo originale)**

II.4.2. Préparation des extraits végétaux :

II.4.2.1 Découpage :

Dans cette étude, des extraits de feuilles d'ortie (*Urtica dioïca L*) ont été préparés à partir de feuilles finement découpées. Pour chaque condition, 2,5 g de matière végétale ont été introduits dans 50 mL de solution.



Figure II.5 : Découpage des feuilles de l'ortie séchées à l'air libre **(Photo originale)**



Figure II.6 : Pesé de la matière végétale pour la préparation des extraits **(Photo originale)**

II.4.2.2. Macération :

Celle–ci est préparée en plaçant la matière végétale avec la totalité du liquide d'extraction dans un récipient hermétique, à une température ambiante, et en le laissant reposer pendant un temps plus au moins long de quelques heures à plusieurs jours, en le secouant de temps à autre. Les extraits liquides sont obtenus après une précipitation ou une filtration de la matière végétale **(Abayomi 2010).**

La macération à chaud fait partie des techniques œnologiques majeures est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. La température et la durée de la macération sont des paramètres qu'il faut adapter aux macérât souhaités **(Sacchi, Bisson, et Adams 2005).**

Les plantes peuvent également macérer dans l'alcool, dans la glycérine, ou dans un autre solvant. Un solvant est un liquide qui retient les principes actifs de la plante. Il convient de bien sélectionner le solvant en fonction de la plante que l'on utilise **(Nogaret 2011).**

Les extraits ont été obtenus par macération, en utilisant deux types de solvants : une solution tampon phosphate (0.1M, pH 7) et des solutions éthanol/eau ont été préparées à partir d'éthanol absolu.

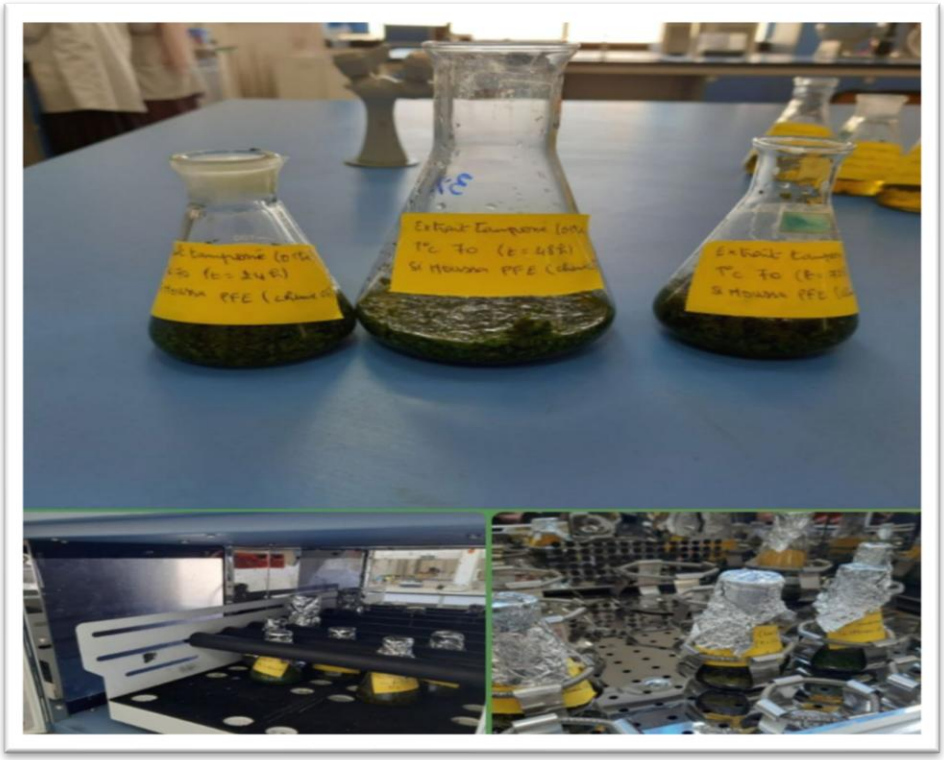


Figure II.7 : Extraction par macération **(Photo originale)**

II.4.2.3. Extraits aqueux :

Une solution tampon phosphate (0.1M, pH 7) a été utilisée. Les échantillons ont été incubés sous agitation dans un agitateur thermique (secoueur) à différentes températures (température ambiante, 40 °C, 50 °C et 60 °C). Tous les échantillons ont été soumis à trois durées de macération : 24 heures, 48 heures et 72 heures.



Figure II.8 : Extrait tamponné **(Photo originale)**

II.4.2.4. Extraits éthanoliques :

Des mélanges éthanol/eau à différentes fractions (100 %, 90 %, 80 %, 70 %, 60 % et 50 %) ont été utilisés comme solvants. Tous les échantillons ont été incubés à température ambiante pendant 24 heures, 48 heures et 72 heures.

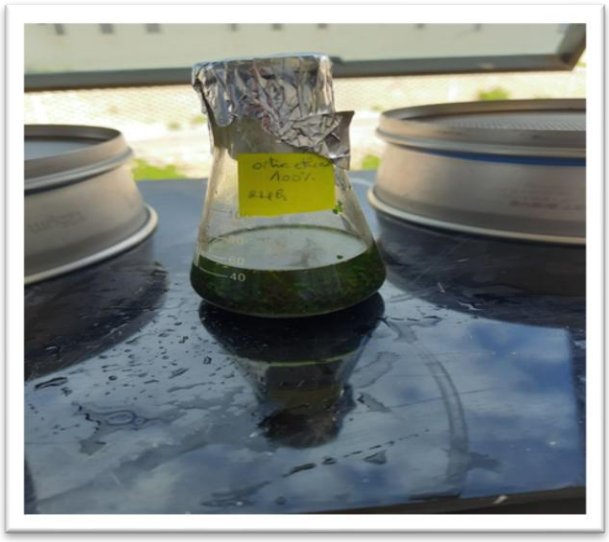


Figure II.9 : Extrait éthanolique **(Photo originale)**

II.4.2.5. Filtration :

Après incubation, les extraits ont été récupéré par filtration sous vide à l'aide d'un entonnoir Büchner. Les filtrats ont été ensuite collectés.

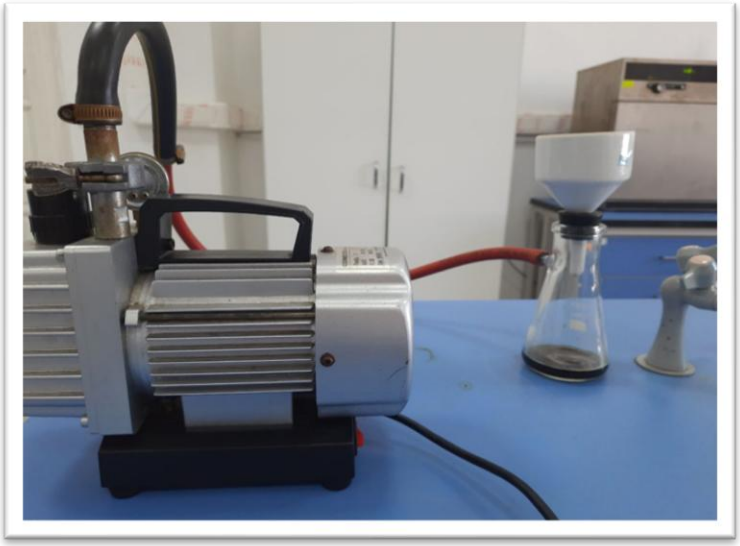


Figure II.10 : Filtration des extraits **(Photo originale)**

II.4.2.6. Conservation :

Les extraits, une fois filtrés, ont été placés dans des flacons ambrés pour les protéger de la lumière, puis stockés à 4 °C.



Figure II.11 : Conservation des extraits végétaux préparés **(Photo originale)**

II.4.2.7. Calcul du rendement :

Le rendement d'extraction est le rapport entre la masse de la matière première végétale après séchage et la masse de la même matière première végétale avant séchage exprimé en pourcentage :

$$R(\%) = \frac{m}{m'} \times 100 \qquad \textbf{II.2}$$

- R% : Rendement en pourcentage ;
- m : La masse de la matière première végétale après séchage ;
- m': La masse de la matière première végétale avant séchage.

II.4.3. Analyse physicochimique :

II.4.3.1. Densité relative :

La densité relative est le rapport de la masse d'un volume de liquide par la masse du même volume d'eau. La densité n'a pas d'unité, elle varie avec la température.

Mode opératoire :

La densité relative d'un liquide a été déterminée à l'aide d'un pycnomètre en comparant sa masse à celle de l'eau distillée pour un même volume, dans des conditions de température constantes de 20 °C. Le pycnomètre a d'abord été pesé à vide, puis rempli successivement avec les extraits et avec de l'eau distillée, en effectuant une pesée à chaque fois.

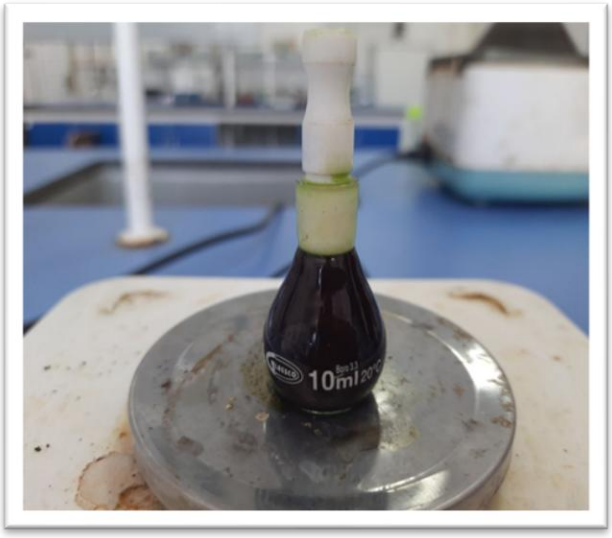


Figure II.12 : Mesure de la densité relative à l'aide d'un pycnomètre de 10 mL**(Photo originale)**

La densité relative a été calculée à partir des différences de masse, en supposant un volume constant du pycnomètre, selon la formule suivante :

$$d = \frac{m_{el} - m_v}{m_{eau} - m_v} \quad \textbf{II.3}$$

- d : Densité relative ;
- m_{el} : La masse du pycnomètre rempli d'extrait en gr ;
- m_{eau} : La masse du pycnomètre rempli d'eau distillée en gr ;
- m_v : La masse du pycnomètre vide en gr.

II.4.3.2. Indice de réfraction :

L'indice de réfraction est le reflet de la "résistance" du milieu à la pénétration de la lumière ; il est égal au rapport de la célérité de la lumière à la vitesse de propagation de la lumière dans un milieu.

L'indice de réfraction d'une substance donnée varie avec la longueur d'onde de la lumière incidente et avec la température **(*JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 65* 2012).**

Mode opératoire :

Pour déterminer l'indice de réfraction de l'eau distillée à l'aide d'un réfractomètre, il convient d'abord de procéder à l'installation correcte de l'appareil conformément aux consignes du fabricant. À 20 °C, l'indice de réfraction attendu pour l'eau distillée est de 1,333. Une fois l'appareil prêt, le prisme principal est ouvert afin d'y déposer, avec précaution, 2 à 3 gouttes des extraits, centrées sur la surface du prisme primaire. Le prisme secondaire est ensuite refermé délicatement afin de permettre la formation d'un film homogène et mince de liquide entre les deux surfaces optiques. Il est essentiel de laisser le système atteindre une température stable avant d'effectuer la lecture, afin de garantir la fiabilité des résultats**.**



Figure II.13 : Réfractomètre**(Photo originale)**

L'indice de réfraction est calculé par la relation suivante :

$$\eta D20 = \eta DT + 0.00045\ (T - 20) \quad \textbf{II.4}$$

- ηD20 : Indice de réfraction à 20 °C ;
- ηDT : Indice de réfraction à la température de mesure ;
- T : Température de mesure (°C).

II.4.3.3. Potentiel d'hydrogène pH :

Le pH représente la concentration des ions hydrogène dans une solution. Il est défini comme le logarithme négatif de l'activité de ces ions. Ce potentiel hydrogène est une mesure essentielle pour évaluer l'acidité ou la basicité d'une solution, car il régit de nombreux équilibres physico-chimiques.

$$pH = -\log_{10}[H^+] \quad \textbf{II.5}$$

Mode opératoire :

Pour mesurer le potentiel d'hydrogène des extraits préparés, on a utilisé un papier pH, on doit homogénéiser l'extrait et tremper une bandelette de papier pH dans l'extrait filtré pendant environ 2 à 3 secondes. Ensuite on compare immédiatement la couleur de la bandelette avec l'échelle colorimétrique fournie pour déterminer la valeur approximative du pH.



Figure II.14 : Outils de mesure du pH : papier de tournesol neutre et échelle de pH **(Photo originale)**

II.4.4. Analyse quantitative :

II.4.4.1. Dosage des poly-phénols totaux :

Le dosage des poly-phénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique décrite par **Singleton et Rossi** utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu **(Singleton et Rossi, 1965).** Ce dernier, mélange de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), est réduit en présence de polyphénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23})**(Ribéreau-Gayon 1968).** La coloration bleue produite est proportionnellement à la teneur en phénol totaux.

Mode opératoire :

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **Singleton et Rossi,** avec quelques modifications **(Singleton et Rossi, 1965)**. Un volume de 200 µL d'extrait à des différentes concentrations a été introduit dans des tubes à essais puis 1mL du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans l'eau distillée), après 4 min, 800 µL d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5 % est ajouté. Les tubes sont agités et incubés pendant 120 minutes à l'abri de la lumière. L'absorbance a été mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique 0,2 mg/ml, à différentes concentrations.

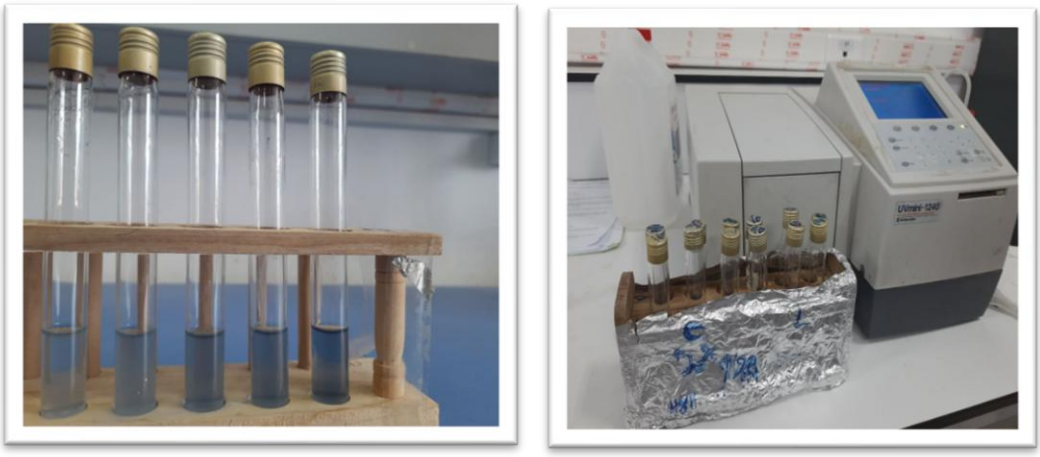


Figure II.15 : Dosage des poly-phénols des extraits **(Photo originale)**

La quantité de poly-phénols est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique. Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalant d'acide gallique par gramme d'extrait sec.

$$TP = \frac{ve \times c \times k}{me} \quad \textbf{II.6}$$

TP : teneur en polyphénols,

V_e : Volume d'échantillon (mL),

C : Concentration lue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/mL),

k : Facteur de dilution,

m_e : Masse de l'échantillon. (g extrait sec ou g MVS).

II.4.4.2. Dosage des flavonoïdes :

La détermination des flavonoïdes totaux a été effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium, elle entraîne la formation d'un complexe brunâtre qui absorbe à 510 nm. En utilisant la quercétine comme standard.

Mode opératoire :

Les teneurs en flavonoïdes des extraits ont été mesurées à l'aide d'une méthode colorimétrique décrite par **Pourmorad** avec quelques modifications**.**

Un volume de 0,5 mL d'une solution de l'extrait préparée à une concentration de 1 mg/mL, a été mélangé à 1,5 mL d'éthanol. À ce mélange, ont été ajoutés successivement 0,1 mL d'une solution de chlorure d'aluminium hexahydraté ($AlCl_3 \cdot 6H_2O$) à 10 % (m/v), 0,1 mL

d'acétate de sodium 1 M, et 2,8 mL d'eau ultrapure. La solution obtenue a été agitée vigoureusement, puis incubée à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance du mélange a ensuite été mesurée à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. **(Pourmorad et al,2006)**

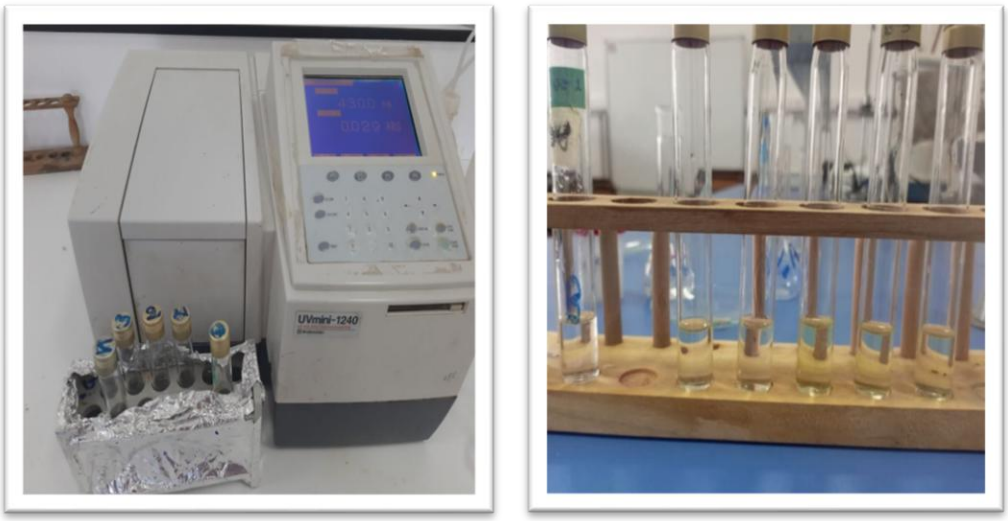


Figure II.16 : Dosage des flavonoïdes des extraits **(Photo originale)**

La teneur des flavonoïdes totaux (TF), exprimée en milligramme équivalent de la quercétine par gramme de matière sèche, est calculée par l'équation :

$$TF = \frac{v_e * c * k}{m_e} \quad \textbf{II.7}$$

- TF : Teneur en flavonoïde (mg EQ/g MS),
- V_e : Volume d'échantillon (mL),
- C : Concentration lue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/mL),
- K : Facteur de dilution,
- m_e: Masse de l'échantillon. (g extrait sec ou g MVS)

II.5. Évaluation des activités biologiques des extraits végétaux préparés :

II.5.1. Activité anti-oxydante :

Pour évaluer l'activité anti-oxydante des extraits naturels in vitro, différentes méthodes ont été utilisées. Ces procédés font intervenir des mélanges d'espèces oxydantes telles que les radicaux libres ou les complexes métalliques oxydés, et des échantillons contenant l'antioxydant qui inhibe la production de radicaux libres.

Les extraits tamponnés et éthanoliques ont été testés pour leur pouvoir antioxydant par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Pour évaluer l'activité anti-oxydante, j'ai utilisé la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle).

La molécule de DPPH est considérée comme un radical stable grâce à la délocalisation de l'électron dans la molécule ; cette dernière donne une couleur violette profonde caractérisée par une bande d'absorption à 517 nm. Lorsqu'une solution de DPPH est mélangée à celle d'une substance capable de donner un atome d'hydrogène, il en résulte une forme réduite (diphénylpicrylhydrazine), avec perte de couleur violette **(Bouhlel et al. 2007).**

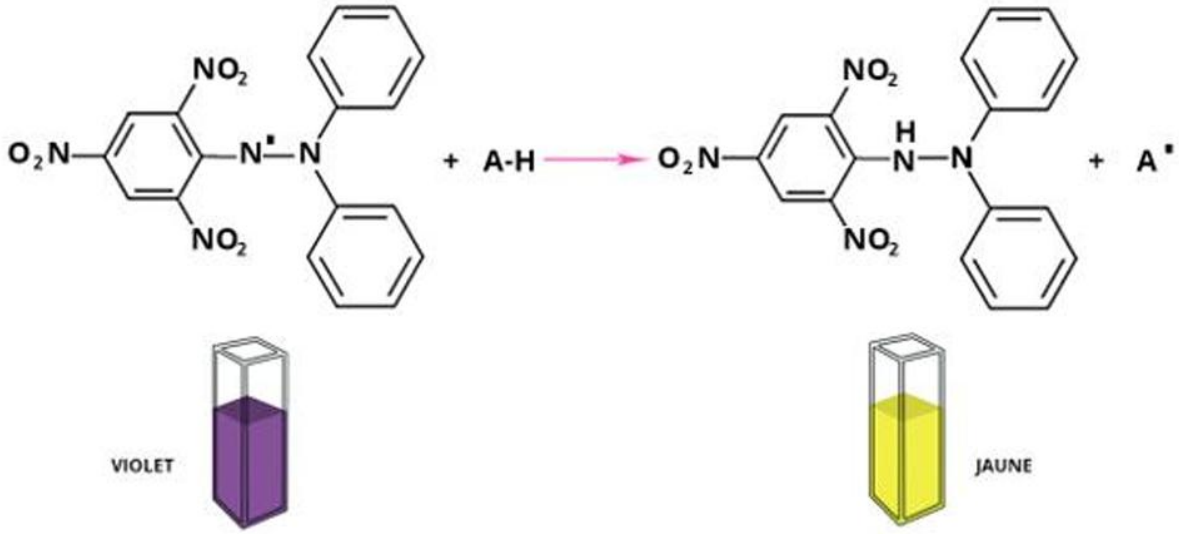


Figure II.17 : Passage du radical libre DPPH• à sa forme réduite DPPH-H**(Maillard, s. d.)**

Le degré de décoloration indique le potentiel de récupération des composés antioxydants. **(Nyau et al. 2015)**

Détermination d'IC50 :

L'activité anti-oxydante des extraits est exprimée par la concentration inhibitrice à 50 %. IC50 définit la concentration de l'extrait exigée (µg/mL) pour réduire 50 % des radicaux libres (DPPH) dans des conditions expérimentales employées **(Stamenic et al. 2014).** Pour chaque extrait ou standard de référence, une courbe de régression linéaire (y= ax+b) est établie afin de calculer l'IC50 qui permettra la caractérisation du pouvoir antioxydant des extraits **(Saffidine 2018).**

Mode opératoire :

Le test de piégeage du radical DPPH• a été utilisé pour évaluer l'activité anti-radicalaire, conformément à la méthode décrite par l'équipe du laboratoire de physico-chimie du complexe antibiotical de SAIDAL.

a) Préparation de la solution de DPPH :

Une solution éthanolique de DPPH a été fraîchement préparée en dissolvant 4 mg de DPPH dans 100 mL d'éthanol. Cette solution a été conservée au réfrigérateur, à l'abri de la lumière, afin de prévenir toute dégradation.

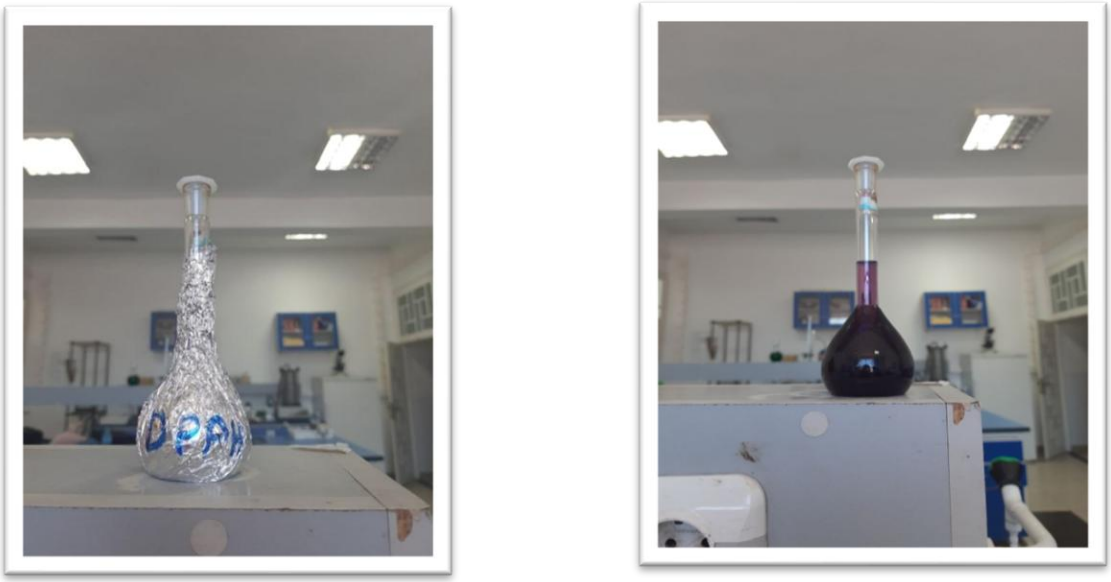


Figure II.18 : Solution éthanolique de DPPH **(Photo originale)**

b) Préparation des extraits :

Un volume de 3,9 mL de la solution de DPPH a été mélangé à 0,1 mL d'extraits éthanoliques ou tamponnés, préalablement dilués à différentes concentrations dans leurs solvants respectifs : éthanol à 90 % ou tampon phosphate.

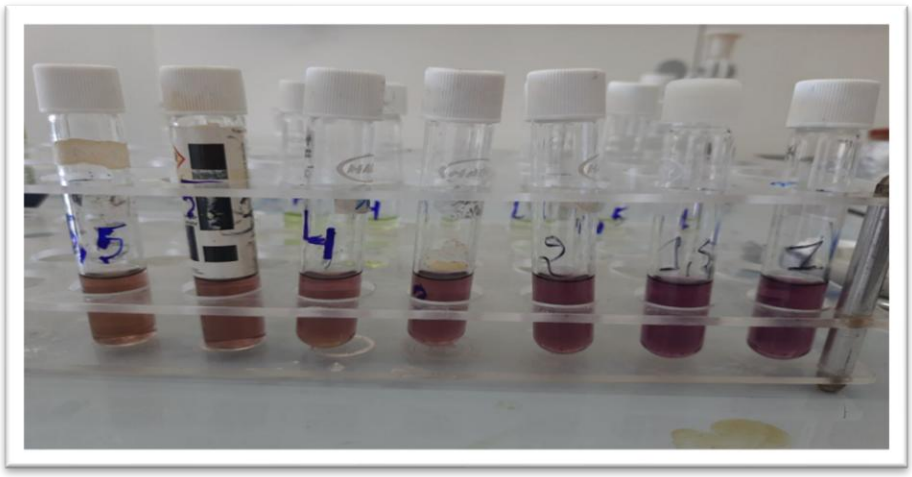


Figure II.19 : Les extraits éthanoliques avant incubation **(Photo originale)**

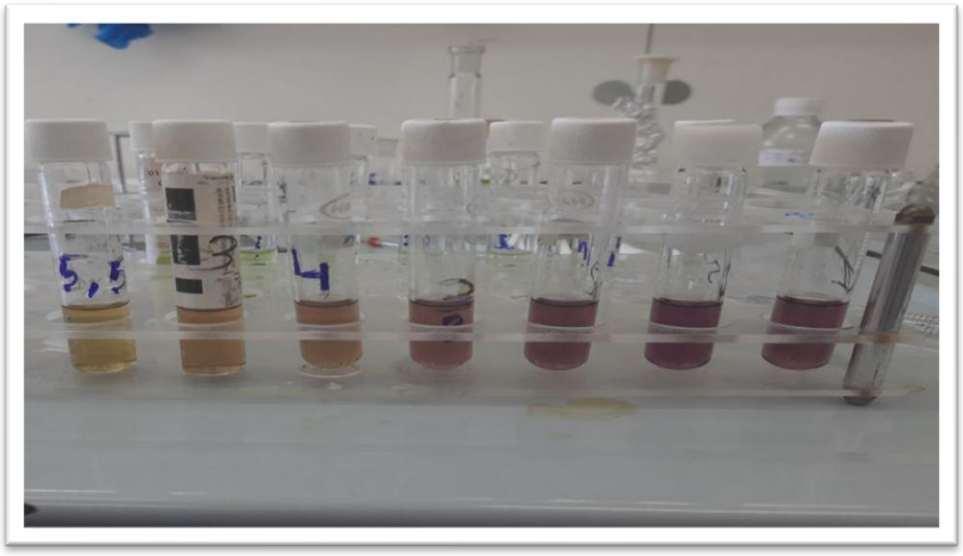


Figure II.20 : Les extraits éthanoliques après incubation**(Photo originale)**

c) Préparation des blancs :

Blanc : pour le blanc, un volume de 3,9 mL d'éthanol absolu a été mélangés à 0,1 mL du solvant correspondant (tampon phosphate (0,1 M, pH 7), ou éthanol à 90 %).

Blancs des extraits : Pour chaque concentration d'extrait, un blanc constitué. Un volume de 3,9 mL d'éthanol absolu a été ajoutés à 0,1 mL d'extrait, préalablement dilué dans son solvant respectif.

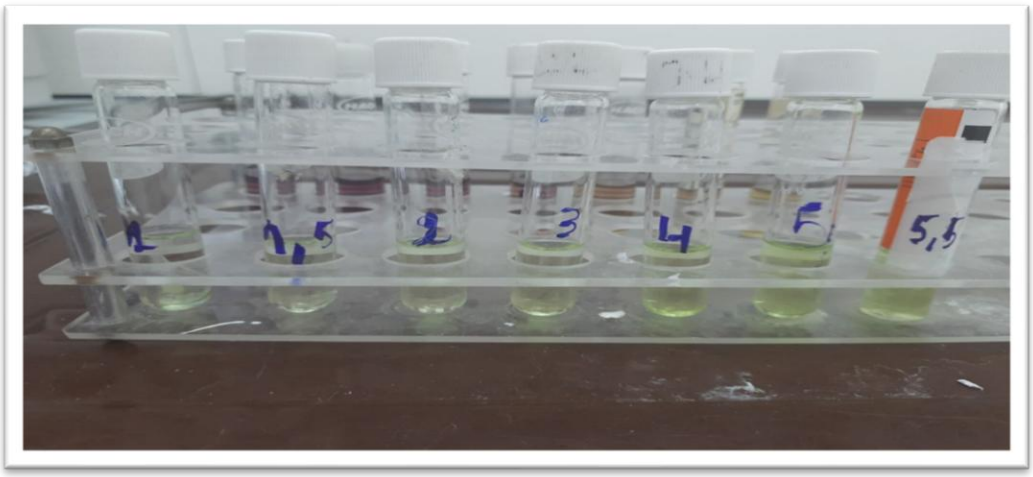


Figure II.21 : Les blancs des extraits **(Photo originale)**

d) Préparation de la solution de contrôle :

Un volume de 3,9 mL de la solution de DPPH a été mélangé à 0,1 mL de solvant, soit du tampon phosphate (0,1 M, pH 7), soit de l'éthanol à 90 %.

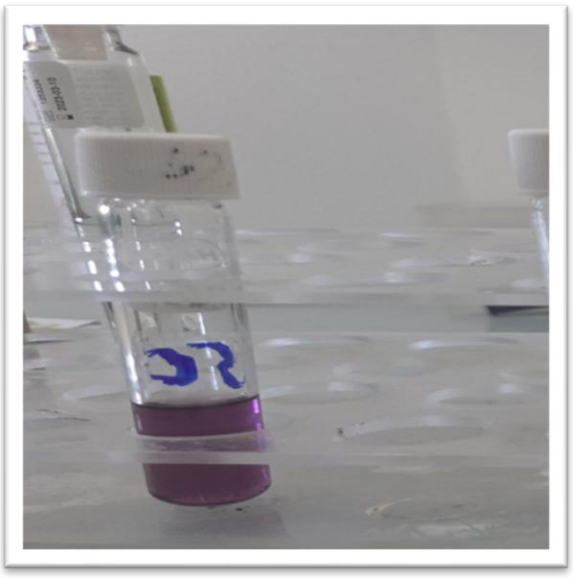


Figure II.22 : Solution contrôle **(Photo originale)**

Après incubation à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante, les absorbances ont été mesurées à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Cette incubation a été réalisée pour l'ensemble des préparations : le blanc, les blancs des extraits, les extraits dilués, ainsi que la solution de contrôle.

L'évaluation de l'activité anti-oxydante a été réalisée en utilisant l'acide férulique comme composé de référence.

L'activité anti-radicalaire est exprimée en pourcentage de DPPH réduit selon la formule :

$$AA(\%) = \frac{(ABS\ sc - (ABS\ ext - ABS\ be))}{(ABS\ sc)} \times 100 \qquad \textbf{II.8}$$

- ABS sc : Absorbance de la solution de contrôle ;
- ABS ext : Absorbance des extraits ;
- ABS be : Absorbance des blancs des extraits.

II.5.2. Activité anti-inflammatoire in vitro :

II.5.2.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro par la méthode de stabilisation des membranes (Activité anti-hémolytique) :

L'activité anti-inflammatoire peut être évaluée in vitro à l'aide des membranes des érythrocytes, en raison de leur similarité structurelle avec les membranes lysosomales. Ainsi, la capacité des extraits à stabiliser la membrane érythrocytaire peut être extrapolée à une action stabilisatrice sur les membranes lysosomales. Cette stabilisation est considérée comme un indicateur pertinent de l'activité anti-inflammatoire in vitro.

L'exposition des érythrocytes à une solution saline hypotonique combinée à une élévation de la température induit la rupture de leur membrane plasmique, entraînant la libération du contenu cytoplasmique, notamment l'hémoglobine. L'intensité de l'hémolyse est ensuite quantifiée par la mesure spectrophotométrique de l'absorbance de l'hémoglobine libérée.

Ce test permet d'évaluer l'effet inhibiteur des extraits végétaux étudiés sur l'hémolyse des érythrocytes, en se basant sur la quantification de l'hémoglobine libérée.

a) Préparation de la suspension des globules rouges :

Le sang est prélevé auprès de donneurs sains n'ayant consommé aucun anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) au cours des deux semaines précédant l'expérience **(Gandhidasan, Thamaraichelvan, et Baburaj 1991)**

Mode opératoire :

La méthode suivie repose sur le protocole établi par **Shobana et Vidhya,** avec des adaptations mineures. Le sang est d'abord prélevé dans des tubes héparinés afin d'éviter la coagulation. Il est ensuite centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes pour séparer les

globules rouges du plasma. Le culot globulaire obtenu est récupéré, puis lavé trois fois à l'eau physiologique (0.9 %). Après chaque lavage, une centrifugation de 5 minutes à 3000rpm est effectuée, jusqu'à obtention d'un surnageant clair. Enfin, une suspension de globules rouges à 10 % est préparée à l'aide de l'eau physiologique (0.9 **%)(Shobana et Vidhya, 2016).**



Figure II.23 : Préparation de suspension érythrocytaire **(Photo originale)**

b) Hémolyse induite par solution hypotonique :

Mode opératoire :

Dans des tubes à hémolyse, sont introduits successivement : 1 mL de tampon phosphate (0,1 M, pH 7), 2 mL de solution hyposaline (NaCl 0,36 %) et 0,5 mL des extraits végétaux (tamponnés ou éthanoliques) préalablement dilués au 1/100. Après homogénéisation, 0,5 mL d'une suspension érythrocytaire à 10 % est ajouté à chaque tube.

Le diclofénac sodique est utilisé comme standard de référence, tandis que le témoin (contrôle positif) contient de l'eau distillée à la place de la solution hyposaline, afin d'induire une hémolyse totale (100 %).

L'ensemble des tubes est ensuite incubé à 37 °C pendant 30 minutes, puis centrifugé à 2500 rpm pendant 5 minutes. L'évaluation de la teneur en hémoglobine libérée dans le surnageant se fait par lecture de l'absorbance à 560 nm.

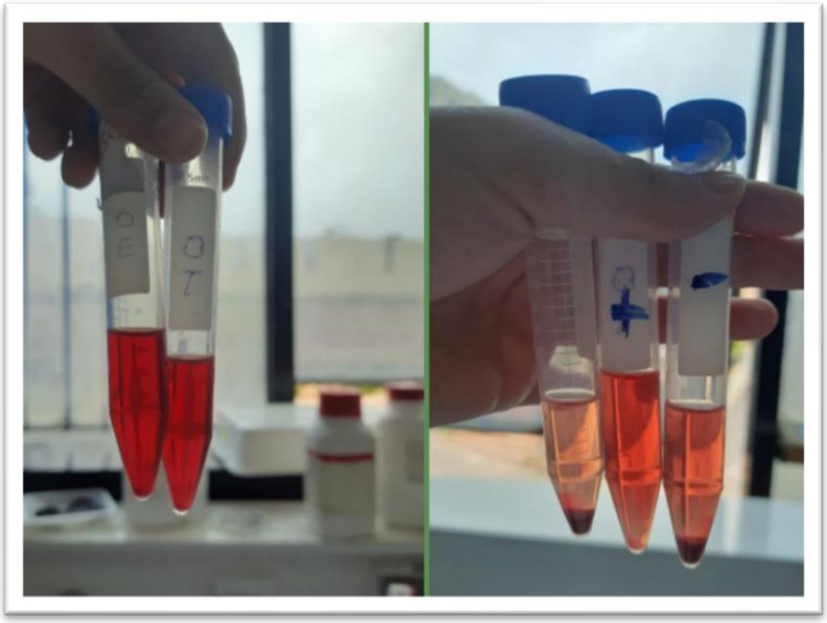


Figure II.24 : Extraits tamponnés et éthanoliques dilués (1/100) et les témoins négatif et positif après l'incubation **(Photo originale)**

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

$$Hémolyse(\%) = \frac{DO\ extrait - DO\ témoin\ négatif}{DO\ témoin\ positif} \times 100 \qquad \textbf{II.9}$$

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Protection}\% = 100\% - \text{Hémolyse}\% \quad \textbf{II.10}$$

II.5.3. Activité antimicrobienne :

L'objectif de cette étude biologique est de déterminer lequel des extraits préparés possèdent une activité inhibitrice sur les bactéries et une activité fongicide. L'évaluation de cette activité a été réalisée par la méthode de diffusion sur disque, aussi appelée antibiogramme.

L'antibiogramme est un examen bactériologique de référence permettant de cultiver les bactéries issues d'un prélèvement en vue de leur identification, puis de tester la sensibilité des colonies obtenues à différents antibiotiques. Cette technique permet non seulement de prédire la sensibilité d'une bactérie à un ou plusieurs antibiotiques à des fins thérapeutiques, mais également de surveiller l'épidémiologie des résistances bactériennes. Elle donne des résultats qualitatifs, mais a aussi l'ambition de donner des résultats quantitatifs par la mesure précise des diamètres des zones d'inhibition **(Thabaut et Durosoir 1979).**

II.5.3.1. Les solutions utilisées :

Les solutions utilisées comprenaient les extraits préparés, ainsi que leurs solutions diluées (1/100). Les solvants purs, à savoir l'éthanol à 90 % et le tampon phosphate (0.1M, pH=7), ont également été utilisés séparément comme témoins afin d'évaluer leur effet éventuel sur la croissance microbienne.

II.5.3.2. Milieux de culture :

Les bactéries ont été ensemencées sur un milieu de culture à base de gélose tryptone soja (TSA), tandis que les champignons ont été cultivés sur un milieu à base de gélose Sabouraud**.**

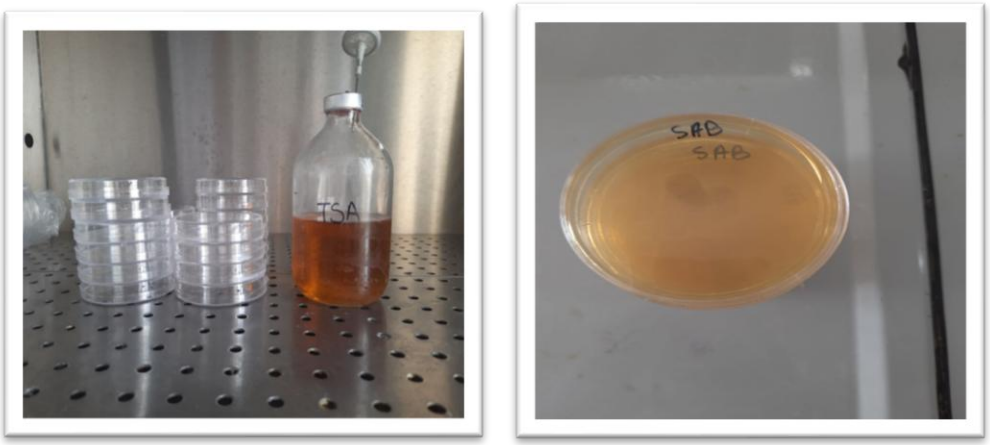


Figure II.25 : Les milieux de culture utilisés **(Photo originale)**

II.5.3.3. Préparation de l'inoculum :

Des colonies bactériennes bien isolées et présentant une morphologie identique ont été prélevées à l'aide d'un écouvillon stérile à embout coton, conditionné dans un tube plastique stérile. L'écouvillon a ensuite été immergé dans une solution physiologique

stérile à 0,9 %. La suspension obtenue a été homogénéisée par agitation afin d'obtenir une densité optique comprise entre 0,08 et 0,10 à 625 nm, correspondant à une concentration de 10^7 à 10^8UFC/mL selon le standard de McFarland.

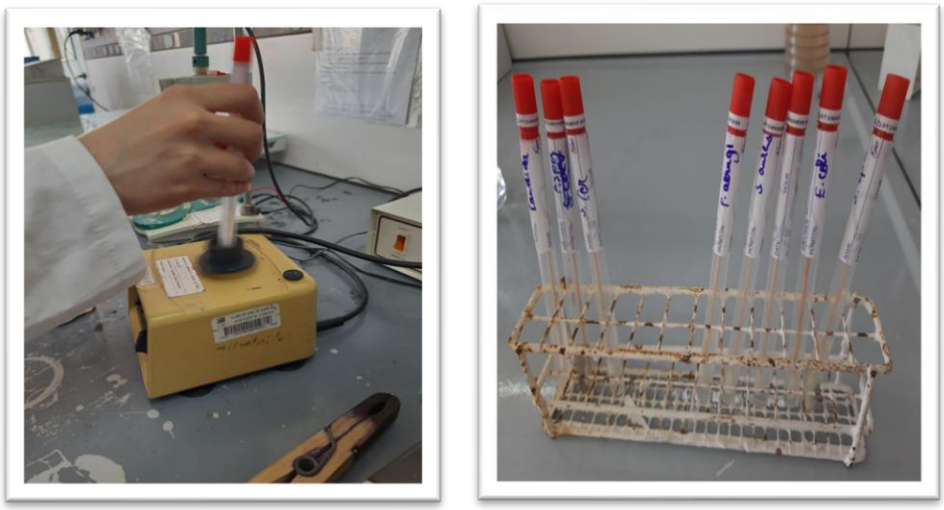


Figure II.26 : Préparation de l'inoculum **(Photo originale)**

II.5.3.4. Préparation et ensemencement aseptique de boîtes de Pétri :

Les milieux de culture gélosés TSA (Tryptic Soy Agar) pour les bactéries et gélose Sabouraud pour les champignons, sont fondus au bain-marie dans des conditions aseptiques. Une fois liquéfiés, ils sont distribués dans des boîtes de Pétri stériles à raison de 20 mL par boîte. Après solidification complète du milieu, un écouvillon stérile est imbibé de la suspension microbienne préparée précédemment. L'ensemencement est ensuite réalisé par stries serrées, de haut en bas, de manière à obtenir un tapis microbien homogène recouvrant toute la surface du milieu.

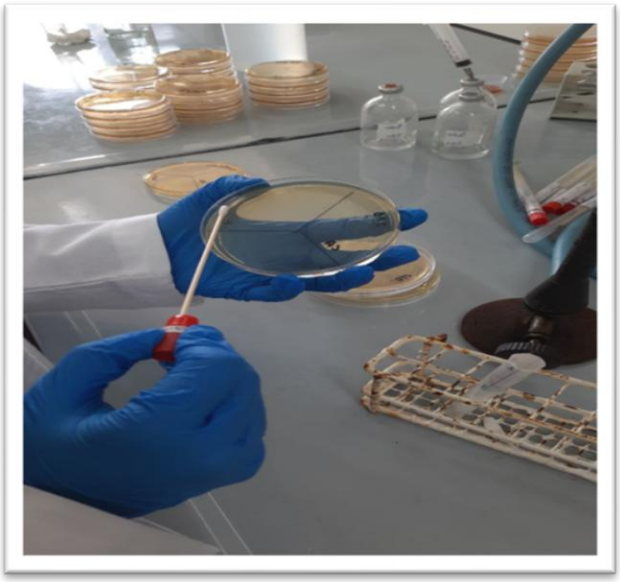


Figure II.27 : Ensemencement aseptique de boîtes de Pétri **(Photo originale)**

II.5.3.5. Préparation des disques :

À l'aide d'une pince stérile, un à trois disques de diffusion sont placés à la surface des boîtes inoculées, chacun ayant été préalablement imbibés dans les solutions diluées des extraits végétaux. Après 24 heures d'incubation à 37 °C, les zones d'inhibition sont mesurées en millimètres et comparées à celle d'antibiotique.

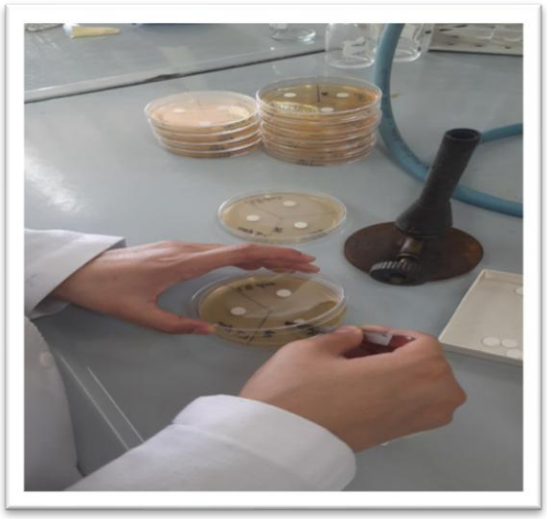


Figure II.28 : Placement des disques à la surface des boites **(Photo originale)**

II.5.3.6. Lecture des résultats :

Après incubation, l'effet des extraits se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition circulaire transparente et exempte de croissance bactérienne autour du disque

imprégné. L'activité antibactérienne a été déterminée par la lecture du diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'un appareil de mesure approprié. Plus ce diamètre est important, plus la souche bactérienne est sensible à l'extrait testé.

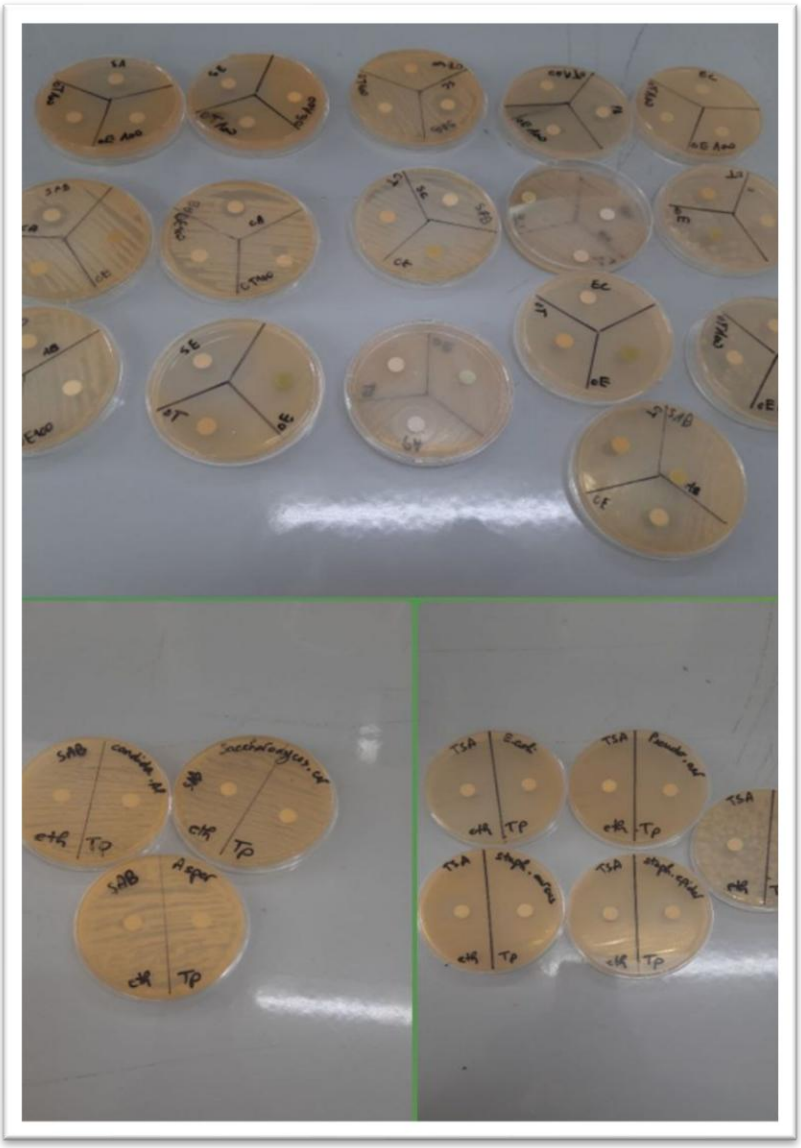


Figure II.29 : Les échantillons après l'incubation **(Photo originale)**

Après mesure de la zone d'inhibition, selon **Celikel et Kavas** les souches sont classées en **(Celikel et Kavas 2008)**:

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

II.5.4. Activité enzymatique :

Dans cette étude la recherche de l'activité lipasique est effectuée par quantification des acides gras libérés sous l'action des lipases sur l'huile d'olive, en se basant sur la méthode de titration Acide (les acides gras) /Base (NaOH) **(Houde, Kademi, et Leblanc 2004).** Cette méthode quantitative est utilisée pour caractériser l'activité lipasique et la spécificité, ainsi que le phénomène d'activation interfaciale.

Mode opératoire :

Le dosage (ou titrage) acide-Base a été fait selon le protocole suivant :

On commence par préparer une émulsion en mélangeant 0,5 mL d'huile d'olive avec 4,5 mL d'une solution de gomme arabique, en agitant 4 fois pendant 1 minute avec des pauses de 30 secondes entre chaque agitation. Ensuite, dans un tube à essai, on introduit 5 mL de cette émulsion, 4 mL de tampon phosphate (pH 7, 0,2 M), 1 mL de solution de $CaCl_2$ (0,11 M) et 1 mL de l'extrait. Le mélange est incubé pendant 30 minutes à 37°C. À la fin de l'incubation, la réaction est arrêtée par l'ajout de 5 mL d'un mélange éthanol/acétone (1 :1). Enfin, on procède au titrage des acides gras libérés à l'aide d'une solution de NaOH 0,02 N, en présence de phénolphtaléine. Le volume de NaOH ajouté à cette étape permettra de quantifier les acides présents dans le milieu réactionnel.

Les mêmes conditions sont appliquées pour le blanc, sauf qu'un traitement thermique doit être effectué dans un bain glacé à une température de 4°C avant l'incubation.

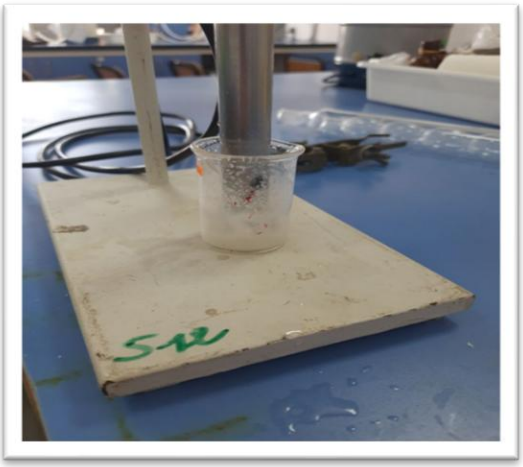


Figure II.30 : Préparation de l'émulsion **(Photo originale)**



Figure II.31 : Mesure de la température des échantillons dans un bain glacé **(Photo originale)**



Figure II.32 : Incubation des échantillons à 37°C **(Photo originale)**

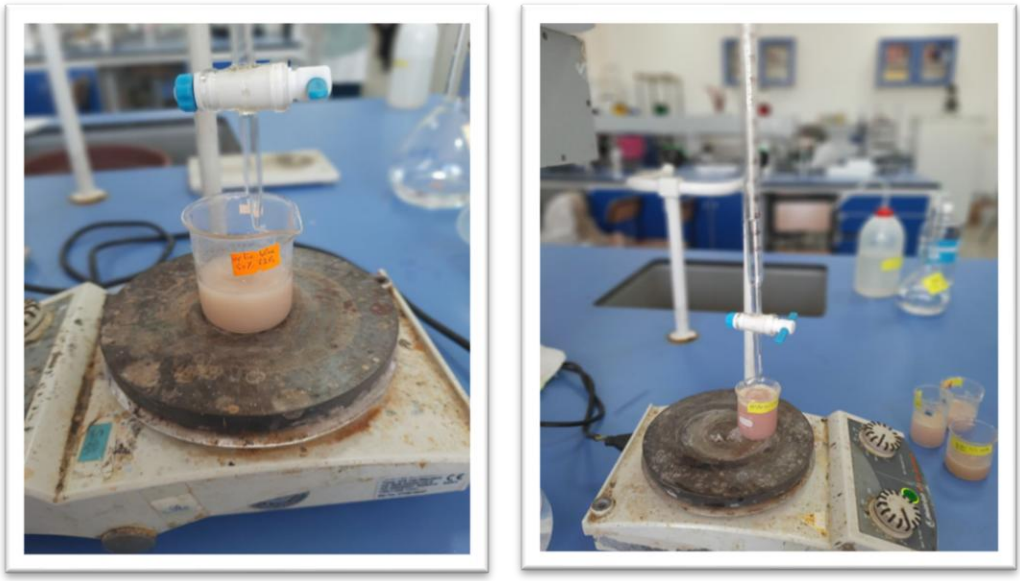


Figure II.33: Dosage acide-base **(Photo originale)**

L'activité lipasique est calculée par la formule ci-dessous **(Houde, Kademi, et Leblanc 2004) :**

$$AL = \frac{(v_e - v_T) \times 0{,}02 \times 10^6}{v_{enz} \times 30} \qquad \textbf{II.11}$$

- AL : Activité enzymatique(lipasique) ;
- v_e : Volume de l'essai en mL ;
- v_T : Volume versé au témoin en mL ;
- V_{enz} : Volume de l'extrait enzymatique en mL.

II.6 Purification de l'enzyme :

L'objectif de la progression de la purification est d'atteindre un rendement maximal, une activité maximale et une pureté maximale de l'enzyme. Il est très important d'éliminer les molécules contaminées à partir du mélange complexe pour exclure l'enzyme pure en utilisant une méthode appropriée **(Robina 2020).**

L'addition du solvant organique neutre non chargé en particulier l'éthanol ou l'acétone diminue la solubilité dans de l'eau de la plupart des protéines globulaires de tel sorte qu'elles peuvent précipitées dans la solution.

Mode opératoire :

L'extrait enzymatique brut, obtenu après filtration, subit une précipitation par l'addition progressive d'acétone et les lipases ont été extraites selon la méthode **d'Hassanien et Mukherjee**, avec quelques modifications. Toutes les opérations d'isolement de l'enzyme ont été réalisées à 4 °C.

Trois volumes d'acétone glacée ont été ajoutés goutte à goutte dans un volume de l'extrait brut placé sous agitation dans un bain de glace pilée. Une fois l'acétone totalement versé, le mélange (extrait brut-acétone) est laissé au réfrigérateur pendant deux heures, ce qui entraîne la formation d'un précipité blanc. Ce précipité est récupéré par centrifugation à 3000 tours par minute pendant 10 minutes. Le culot obtenu est ensuite séché à température ambiante, donnant une poudre correspondant à l'extrait enzymatique de lipase partiellement purifiée (EEPP).

Les lipases semi-purifiées étant souvent stables, elles doivent être conservées dans des récipients en verre, enveloppées étroitement dans du papier d'aluminium et dans des conditions permettant de les protéger contre la dégradation chimique et biologique. La lipase partiellement purifiée peut ainsi être conservée à 4 °C au réfrigérateur pendant plusieurs semaines.

Et pour la détermination de l'activité enzymatique,10 mg de la poudre récupérée est dissoute dans un volume de 10 mL du tampon phosphate (0,1 M ; pH 7).







Figure II.34: Les étapes de la purification de l'enzyme **(Photo originale)**

❖ L'activité spécifique

L'activité spécifique est le nombre d'unité d'enzymes par mg de protéine, c'est une mesure de la pureté enzymatique, elle augmente au cours de la purification est devient maximale est constante quand l'enzyme est pure. Elle est généralement exprimée en unités (enzymatique ou autre) par poids de protéines totales.

$$Activité\ spécifique = \frac{Activité\ enzymatique\ totale\ (en\ unités\ enzymatiques, U)}{La\ quantité\ de\ protéine\ totale\ (en\ mg)} \quad \textbf{II.12}$$

Résultats & discussion

Urtica dioica L. est une plante médicinale largement utilisée dans la médecine traditionnelle en Algérie. De nombreuses études ont mis en évidence sa richesse en composés bioactifs ainsi que ses importantes propriétés pharmacologiques, notamment son activité antioxydante **(Derradji et al. 2020).** Dans cette étude, les feuilles d'ortie dioïque ont été collectées dans la ville de Médéa, plus précisément dans la région de Kotiten.

Donc, dans un premier temps, on présente les caractéristiques physicochimiques de la matière végétale (telles que l'humidité), ainsi que celles des extraits obtenus (le rendement, la densité relative, l'indice de réfraction, et le pH). Ensuite, on expose les résultats de l'analyse quantitative des polyphénols, des flavonoïdes, suivis d'une étude comparative des propriétés, antioxydantes, anti-inflammatoires, antibactériennes. Entre temps onmets en évidence le pouvoir enzymatique et plus précisément lipasique des extraits végétaux de l'ortieet enzymatiques des extraits végétaux de l'ortie.

III.1 Caractérisation de la matière végétale :

III.1.1 Taux d'humidité de la matière végétale :

Les taux d'humidité des feuilles fraîches et des feuilles séchées d'*Urtica dioïca L*. ont été déterminés par dessiccation complète des échantillons à 105 °C pendant 24 heures. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau et les figures suivants :

Tableau III.1 : Taux d'humidité et la matière sèche du matériel végétal

	Feuilles fraîches	**Feuilles séchées à l'air libre**
Taux d'humidité	68.45%	10.6%
La matière sèche	31.55%	89.4%

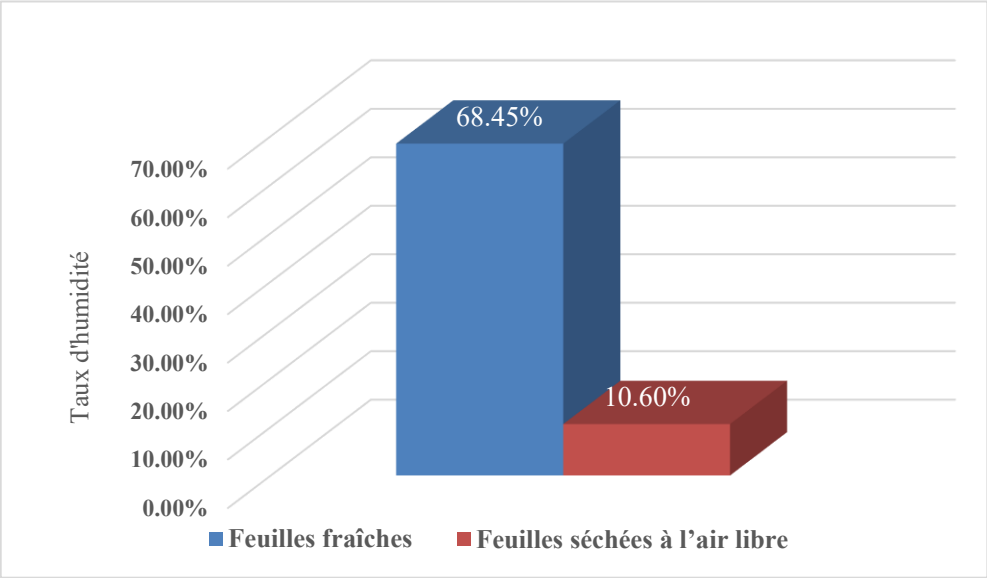


Figure III.1 : La matière sèche des Feuilles fraîches et séchées à l'air libre.

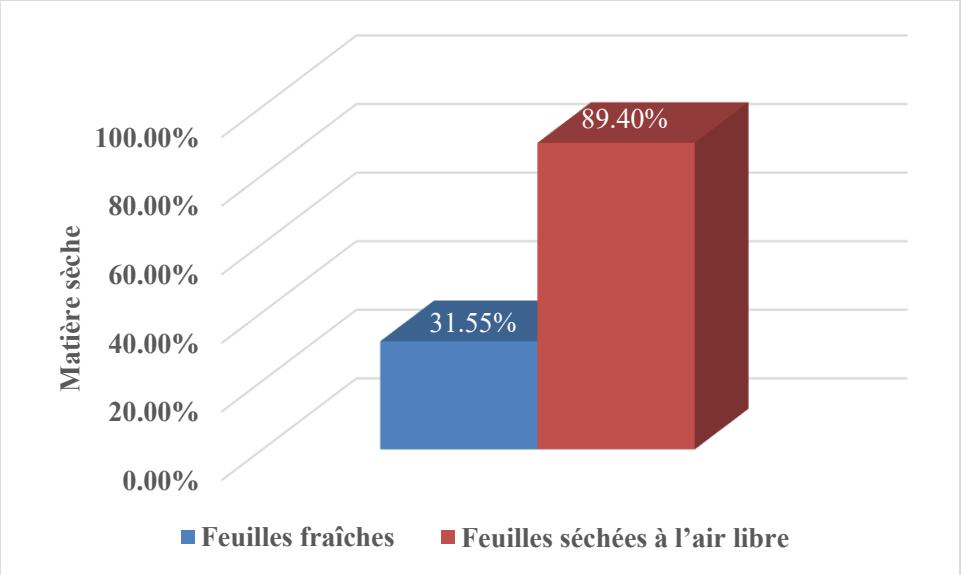


Figure III.2 : Taux d'humidité des Feuilles fraîches et séchées à l'air libre

Le séchage effectué sur les échantillons a mis en évidence un taux d'humidité plus élevé dans les feuilles fraîches que dans les feuilles séchées à l'air libre. Cela implique que l'eau constitue la fraction majoritaire dans les feuilles fraîches, tandis que la matière sèche y reste minoritaire. En revanche, le séchage réduit considérablement la teneur en eau dans les feuilles séchées à l'air libre. Donne le taux d'élimination entre les feuilles fraîches et les feuilles séchées à l'air libre est de 57.85%

Ces résultats indiquent que le séchage à l'air libre induit une réduction significative de la teneur en eau des feuilles, avec une humidité résiduelle de seulement 10,6%. Cette valeur démontre l'efficacité du procédé de séchage naturelle, permettant une élimination progressive de l'eau contenue dans les tissus végétaux. Cette réduction hydrique s'accompagne d'une concentration accrue en matière sèche, qui atteint 89,4% dans les échantillons séchés. À titre comparatif, les feuilles fraîches présentent une composition radicalement différente, avec 68,45% d'humidité et seulement 31,55% de matière sèche, caractéristique de leur état végétal non transformé.

D'après les études de l'équipe de Pradhan et celle de Said, l'Ortie contient des quantités importantes de l'eau entre 65-90 % **(Pradhan, et al. 2015 ; Said et al. 2016)**.

De plus, **Rutto et ses collaborateurs** rapportent des teneurs en matière sèche comprises entre 11 % et 24,9 % dans les feuilles d'ortie fraîches cultivées en plein champ au printemps et en automne. Ce qui implique un taux d'eau de 75 % à 88,9 % **(Rutto et al. 2013)**. Alors, mes résultats sont relativement similaires à ceux rapportés.

III.2. Les Caractéristiques physicochimiques des extraits :

III.2.1. La densité relative :

La densité relative est définie comme le rapport entre la masse volumique d'un liquide donné et celle de l'eau pure à une température de référence (20 °C).

Tableau III.2 : Les valeurs de la densité relative des extraits tamponnés

Temps	T. Ambiante	40°c	50°c	60°c
24H	1.01	1.000	0.991	0.979
48H	0.993	0.986	0.983	0.980
72H	1.035	1.009	0.992	0.991

Tableau III.3 : Les valeurs de la densité relative des extraits éthanoliques

Temps	100%	90%	80%	70%	60%	50%
24H	0.809	0.814	0.843	0.84	0.87	0.889
48H	0.815	0.836	0.858	0.877	0.885	0.886
72H	0.796	0.82	0.849	0.875	0.891	0.9

D'après les résultats récapitulatifs présentés dans les tableaux (III.2 et III.3), on observe que la densité relative des extraits tamponnés d'ortie diminue avec l'augmentation de la température. Par exemple, après 24 heures de macération, la densité relative mesurée à température ambiante est de 1,01, alors qu'à 60 °C, elle descend à 0,979. Cette baisse est due à l'expansion thermique, phénomène par lequel l'augmentation de la température entraîne une diminution de la masse volumique du liquide.

Par ailleurs, pour les extraits éthanoliques d'ortie, la densité relative est également affectée par le taux d'éthanol utilisé dans le solvant d'extraction. En effet, l'éthanol pur ayant une densité plus faible que l'eau, une augmentation de sa proportion dans le mélange se traduit par une diminution de la densité relative de l'extrait. Ainsi, à une concentration de 50 % d'éthanol, la densité relative est d'environ 0,900, tandis qu'à 100 %, elle atteint une valeur nettement plus basse, autour de 0,809.

Les valeurs expérimentales mettent en évidence une corrélation inverse entre la densité relative et les deux paramètres étudiés : la température et la concentration en éthanol.

III.2.2. L'indice de réfraction :

L'indice de réfraction est le rapport entre la vitesse de la lumière dans le vide et dans une substance. Il donne une idée de la composition optique d'un liquide.

Pour l'eau à 20 °C : 1.333, et pour l'éthanol pur à 20°C =1.361.

Tableau III.4 : Les valeurs de l'indice réfraction des extraits tamponnés

Temps	T. Ambiante	40°c	50°c	60°c
24 h	1.3366	1.3361	1.3355	1.3345
48 h	1.3361	1.336	1.3357	1.335
72 h	1.3362	1.336	1.336	1.336

Tableau III.5 : Les valeurs de l'indice de réfraction des extraits éthanoliques

Temps	100%	90%	80%	70%	60%	50%
24 h	1.3653	1.364	1.3639	1.3631	1.3609	1.3571
48 h	1.365	1.364	1.3636	1.3624	1.3607	1.3572
72 h	1.3646	1.3642	1.3635	1.362	1.3604	1.3582

Selon les données présentées dans les tableaux (III.4 et III.5), on constate que, pour les extraits tamponnés, une légère diminution de l'indice de réfraction avec l'augmentation de la température. Par exemple, après 24 h, l'indice passe de 1,3366 à température ambiante à 1,3345 à 60 °C, ce qui traduit l'action thermique qui va en diminuant la densité optique du liquide. Cette tendance est également observable aux temps de 48 h et 72 h, bien que les variations soient minimes, suggérant une certaine stabilité optique après une période prolongée de macération. En ce qui concerne les extraits éthanoliques, on constate que l'indice de réfraction diminue progressivement avec la diminution de la concentration en éthanol. À 24 h, l'indice passe de 1,3653 à 100 % d'éthanol à 1,3571 à 50 %, ce qui s'explique par la nature plus polaire de l'eau, moins réfringente que l'éthanol, et par la variation dans la solubilité des composants extraits selon la polarité du solvant. Cette tendance est confirmée aux temps de 48 h et 72 h, avec des indices légèrement plus élevés aux concentrations fortes, ce qui reflète une meilleure extraction de composés organiques légèrement réfringents. Ainsi, l'indice de réfraction constitue un bon indicateur indirect de la nature chimique des extraits, influencée par la température et la composition du solvant.

Les résultats obtenus confirment que l'indice de réfraction augmente avec la concentration en éthanol et diminue légèrement avec l'élévation de la température, reflétant ainsi les variations de composition et de densité optique des extraits.

III.2.3. Le pH :

On a observé que le pH des extraits tamponnés varie entre 8 et 9, ce qui reflète un milieu légèrement basique. À l'inverse, les extraits éthanoliques présentent un pH compris entre 7 et 8, indiquant un caractère plutôt neutre à faiblement basique. Cette différence peut s'expliquer probablement par la nature des solvants utilisés.

Les extraits tamponnés sont préparés avec une solution contenant un tampon basique, ce qui stabilise le pH autour de 8 à 9, donnant ainsi au mélange un caractère légèrement basique. Ces tampons à base de phosphate sont conçus pour résister aux variations de pH, ce qui explique cette constance dans les valeurs mesurées. En revanche, les extraits éthanoliques sont préparés à partir de mélanges d'éthanol et d'eau, sans agents tamponnant. L'éthanol, étant un solvant organique neutre, n'interfère pas significativement avec l'acidité ou la basicité du milieu. Le pH mesuré, compris entre 7 et 8, dépend donc principalement des composés extraits de l'ortie, qui sont souvent faiblement acides ou neutres. Ainsi, l'absence de tampon explique que le pH reste plus proche de la neutralité.

III.3. Analyse quantitative :

III.3.1. Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux, exprimés en équivalents d'acide gallique, a été réalisé pour les extraits tamponnés et éthanoliques d'*Urtica dioïca L.* à l'aide de la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu. Une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant des concentrations d'acide gallique variant de 0,01 à 0,1 mg/mL. La teneur en polyphénols totaux est exprimée en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

La quantité des polyphénols totaux déterminée par l'équation : **y = 0.1753x-0.0229**

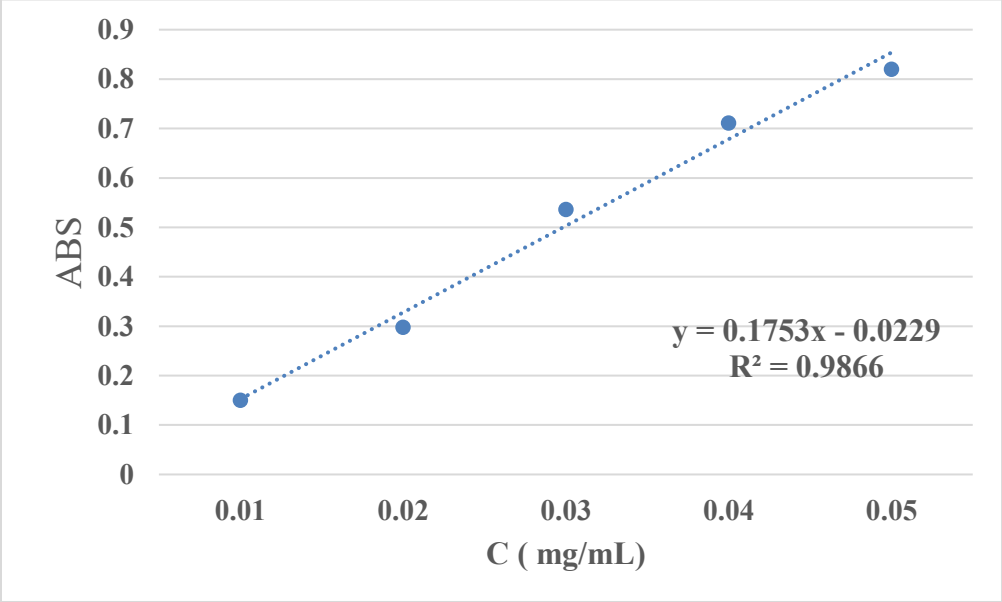


Figure III.3 : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique

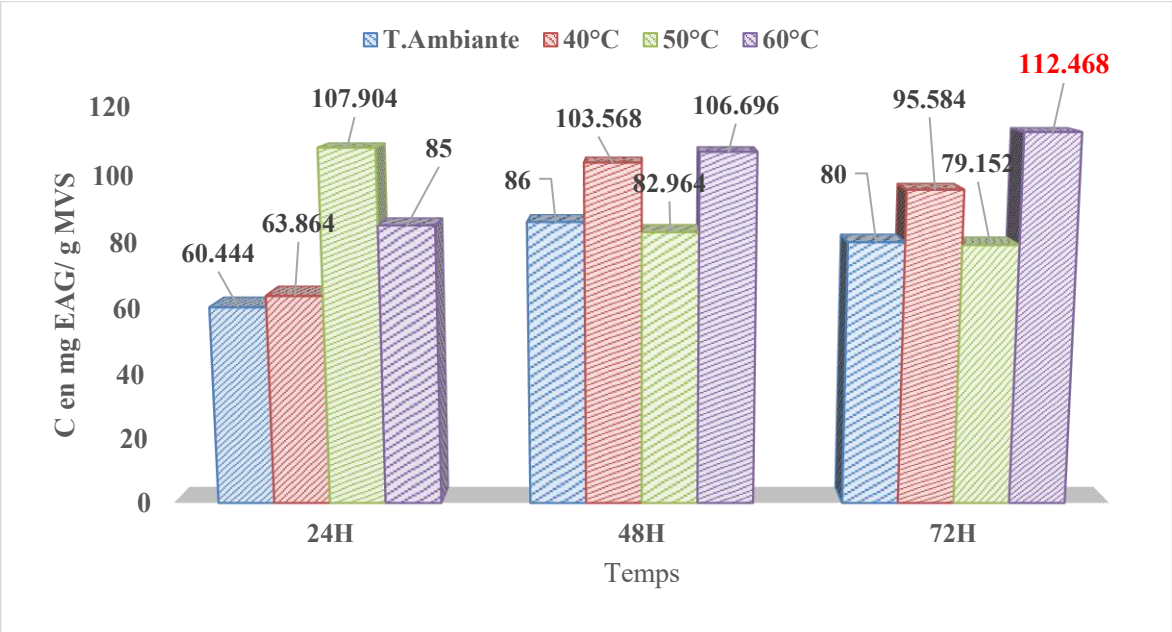


Figure III.4 : La variation de la concentration en polyphénols des extraits tamponnés en fonction de la température et le temps.

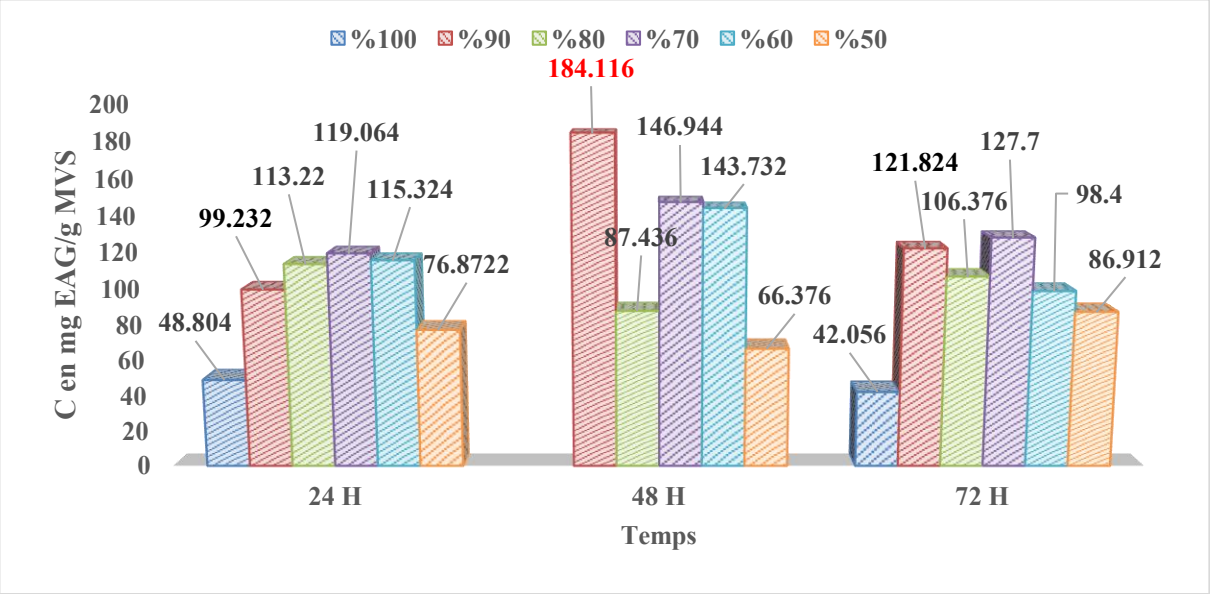


Figure III.5 : La variation de la concentration en polyphénols des extraits éthanoliques en fonction de la température et le temps.

Les données issues des figures (III.4 et III.5) indiquent que l'ensemble des extraits, qu'ils soient éthanoliques ou tamponnés, présentent une richesse notable en polyphénols totaux, avec toutefois une variabilité quantitative modérée entre les différentes conditions d'extraction.

Les résultats obtenus d'après de la figure (III.4) mettent en évidence l'effet synergique du temps et de la température sur l'efficacité d'extraction des composés

phénoliques totaux. À 24 heures, une température de 50 °C permet une extraction optimale (107.904 mg EAG/g MVS), suggérant une activation thermique favorable à la solubilisation initiale des polyphénols. Toutefois, à 72 heures, la température de 60°C induit un rendement maximal **112.468 mg EAG/g MVS**, indiquant qu'une exposition thermique prolongée favorise la rupture des structures pariétales et la diffusion des métabolites phénoliques. Cette cinétique d'extraction montre que la température influence non seulement le taux de diffusion, mais aussi la stabilité des composés extraits. L'efficacité variable observée à 48 heures, notamment le rendement est similaire entre 60 °C et 40 °C, reflète possiblement une saturation du processus d'extraction ou une dégradation partielle à température intermédiaire. En conclusion, une température élevée couplée à une durée prolongée (60 °C, 72 h) constitue la condition la plus efficiente pour maximiser la libération des polyphénols à partir des matrices végétales.

Les résultats présentés dans la figure (III.5), mettent en évidence l'influence marquée de la concentration en éthanol et du temps d'extraction sur le rendement en polyphénols totaux des extraits éthanoliques, réalisés à température ambiante. Le rendement le plus élevé est obtenu après 48 heures d'extraction avec un solvant composé à 90% d'éthanol, atteignant **184.116mg EAG/g MVS.** Cette condition semble particulièrement favorable à la solubilisation des composés phénoliques à température ambiante. Globalement, les mélanges hydro-alcooliques contenant entre 70 % et 90 % d'éthanol permettent une extraction plus efficace que l'éthanol absolu (100 %), dont l'efficacité est réduite probablement en raison de l'absence d'eau, nécessaire à l'extraction de composés polaires. Une baisse du rendement est observée à 72 heures, ce qui pourrait s'expliquer par une saturation de l'extraction ou une éventuelle dégradation des composés en solution. Ces résultats suggèrent que, même à température ambiante, une durée modérée (48 h) et une teneur en éthanol de 90 % constituent les conditions optimales pour maximiser l'extraction des polyphénols.

Les résultats obtenus dans cette étude ont été confirmés par les travaux de **Elboughdiri,** qui a rapporté des observations similaires et a mentionné qu'un solvant organique de polarité plus élevée est plus efficace pour l'extraction quantitative des composés phénoliques **(Elboughdiri 2018)**.

Et d'après **Luthria**, la température a un impact sur la solubilité, le coefficient de diffusion et la stabilité des composés phénoliques **(Luthria 2008)**. Une augmentation de la

température et une diminution de la viscosité augmentent significativement la vitesse de diffusion. Ces observations confirment les résultats obtenus dans la présente étude, où une condition optimale d'extraction des extraits tamponnés a été atteinte à 60 °C pendant 72 heures. Cette température favorise non seulement la rupture des parois cellulaires, facilitant ainsi la libération des métabolites phénoliques, mais elle préserve également la stabilité chimique des composés extraits sur une durée prolongée.

Selon les travaux de **Altıok**, l'éthanol pur s'est révélé inefficace pour l'extraction des composés phénoliques, en raison de sa faible polarité comparée aux mélanges hydro-alcooliques **(Altıok et al. 2008)**. La présence d'eau dans le solvant augmente la polarité du milieu, favorisant ainsi la solubilisation des composés phénoliques, majoritairement polaires. Mes résultats confirment cette tendance, montrant une efficacité accrue de l'extraction avec des solvants hydro-alcooliques, en particulier à 90 % d'éthanol. Bien que les valeurs obtenues soient différentes, ces observations sont cohérentes avec celles rapportées par **l'équipe de Kukrić**, qui ont obtenu une teneur élevée en composés phénoliques totaux (208,37 mg EAG/gMS) à partir d'un extrait préparé avec 80 % d'éthanol (v/v) **(Kukrić et al. 2012)**.

Selon **Kukrić et al.,** de nombreuses études sur les composés phénoliques ont rapporté que des facteurs environnementaux, climatiques ou géographiques, ainsi que les techniques d'extraction, peuvent influencer de manière significative la qualité et la quantité des composés phénoliques présents dans l'ortie **(Kukrić et al. 2012)**.

III.3.1.1. Rendement des extraits végétaux à forte teneur en polyphénols :

Le rendement d'extraction est le rapport entre la quantité de substances naturelles effectivement extraites d'une matière végétale à l'aide d'un solvant, et la quantité totale de ces substances initialement présentes dans cette matière végétale.

Tableau III.6 : Rendements et masses d'extraction

Matière végétale	Extrait	Masse	Rendement
2.5 g	Tamponné (60°c, 72 h)	0.435 g	17.4%
2.5 g	Ethanolique (90%, 48 h)	0.271 g	11%

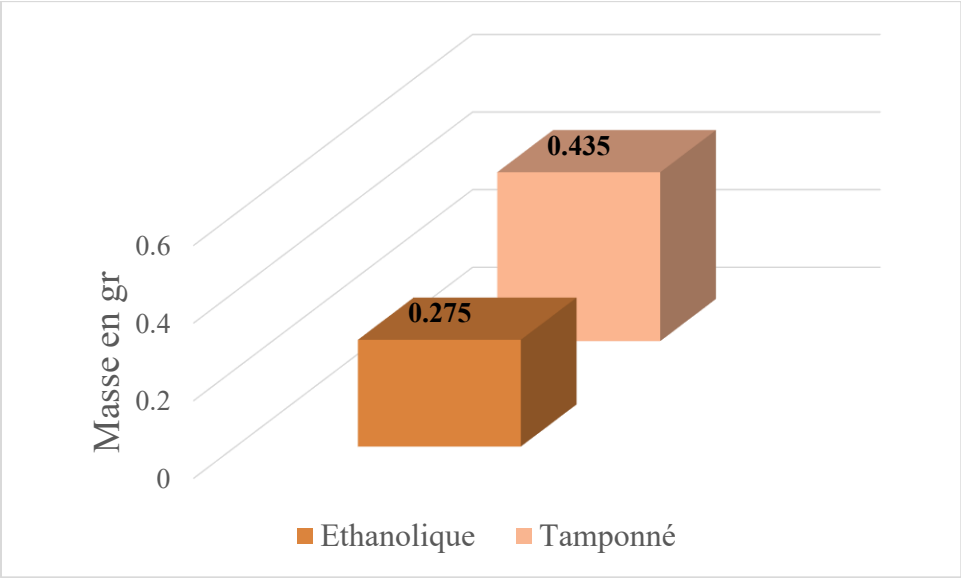


Figure III.6 : Les masses d'extraction des extraits tamponnés et éthanoliques.

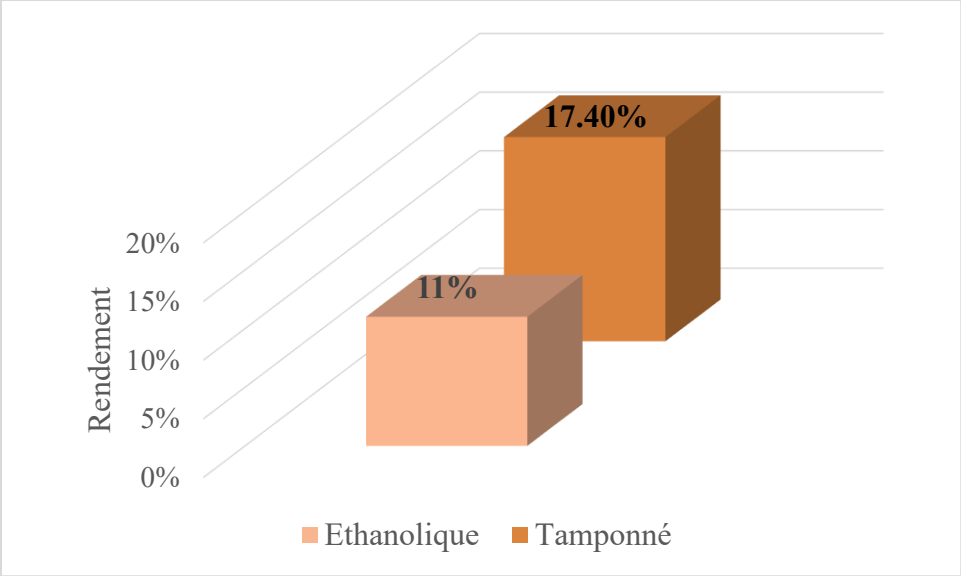


Figure III.7 : Les rendements des extraits tamponnés et éthanoliques.

Les résultats présentés dans le tableau (III.6) ainsi que dans les figures (III.6 et III.7) montrent que l'extrait tamponné présente une masse d'extraction plus élevée (0,435 g) comparée à celle de l'extrait éthanolique (0,275 g). L'extraction tamponnée s'avère ainsi plus efficace, avec un rendement significativement supérieur (17,4 %) contre seulement (11 %) pour l'extrait éthanolique, bien que la même quantité de matière végétale ait été utilisée dans les deux cas (2,5 g).

Cette différence de rendement peut s'expliquer par la variation de la solubilité des substances chimiques dans les solvants utilisés, leur degré de polymérisation, ou encore

leur association à d'autres structures moléculaires formant des complexes insolubles. En effet, la polarité des solvants influence fortement la solubilité des composés, notamment des polyphénols et autres métabolites secondaires. Par ailleurs, l'éthanol étant un solvant volatil, une partie du soluté peut être perdue lors de l'évaporation du solvant, Cette volatilisation partielle peut donc contribuer à une diminution apparente de la masse d'extrait récupéré, affectant négativement le rendement global.

III.3.2 Dosage des flavonoïdes :

La quantification des flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode du trichlorure d'aluminium. La quercétine a été utilisée comme standard pour établir la courbe d'étalonnage, Les concentrations de la quercétine variant de 0,1 à 0.4 mg/mL, permettant ainsi de calculer la teneur en flavonoïdes des extraits.

La quantité des flavonoïdes déterminée par l'équation : **y =0.088x + 0.12**

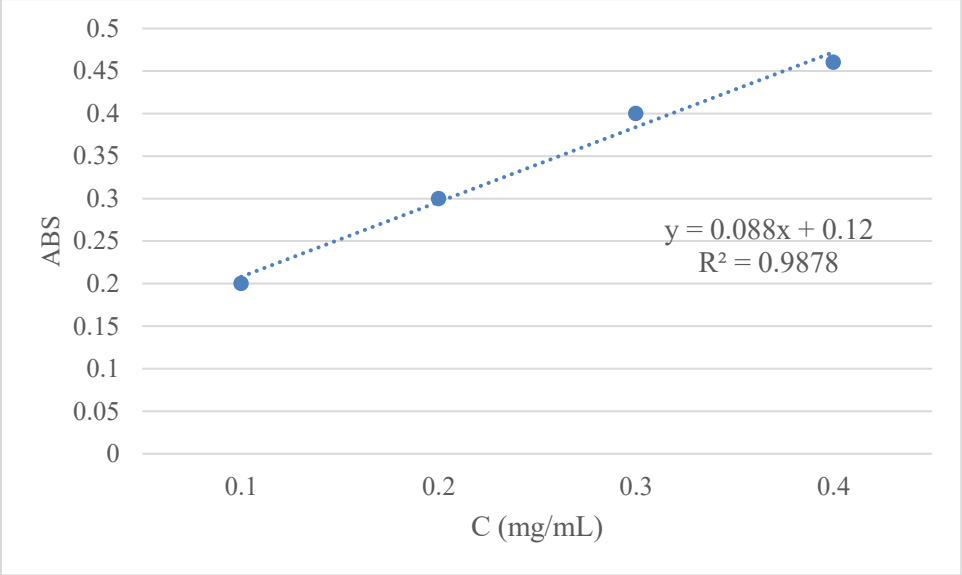


Figure III.8 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine

Tableau III.7 : Résultats du dosage des Flavonoïdes des extraits *d'Urtica dioïcaL.* préparés

Extrait	Extrait tamponné	Extrait éthanolique
C en mg EQ/mL	0.113	5.02
Teneur en flavonoïdes en mg EQ/g extrait sec	12.98	912.72
Teneur en flavonoïdes en mg EQ/g MVS	0.226	10.04

Les résultats du tableau (III.7) indiquent que l'extrait éthanolique contient une concentration en flavonoïdes beaucoup plus élevée que l'extrait tamponné, quelle que soit l'unité utilisée (par millilitre d'extrait, par gramme d'extrait sec ou par gramme de matière végétale sèche). La concentration en flavonoïdes par gramme d'extrait sec atteint **912,72 mg EQ/g** pour l'extrait éthanolique, contre seulement **12,98 mg EQ/g** pour l'extrait tamponné. Ces données suggèrent que l'éthanol est un solvant plus efficace pour l'extraction des flavonoïdes à partir de l'Ortie. Cette efficacité s'explique par la meilleure solubilité des flavonoïdes dans les mélanges hydro-alcooliques, en particulier à forte teneur en éthanol. En appui à cette observation, les travaux de l'équipe de **Kukrić** rapportent une teneur en flavonoïdes de 20,29 mg QE/g d'extrait sec à partir d'un extrait éthanolique à 80 %, à température ambiante **(Kukrić et al. 2012)**. Bien que cette concentration soit inférieure à celle observée dans mon étude, elle confirme l'efficacité de l'éthanol à forte polarité dans l'extraction des flavonoïdes d'*Urtica dioïca L*. En addition, on observe que l'extrait éthanolique (90 %, 48 h) de U*rtica dioica L.* présente une teneur en flavonoïdes significativement plus élevée (10,04 mg EQ/g MVS) par rapport à l'extrait tamponné (60 °C, 72 h), dont la teneur est nettement plus faible (0,226 mg EQ/g MVS). Cette différence s'explique par la polarité du solvant, à la température et à la durée d'extraction, qui influencent considérablement l'efficacité de l'extraction des flavonoïdes. En comparaison avec des études antérieures, l'extrait éthanolique montre une supériorité marquée. Les recherches de **Kőszegi et al en 2023** ont rapporté une teneur de seulement 0,62 mg/g pour un extrait éthanolique à 96 % réalisé à 30 °C **(Kőszegi et al. 2023)**, tandis que mon protocole utilisant une concentration légèrement inférieure (90 %) mais une température ambiante et un temps plus court a permis une meilleure extraction. Cela suggère que la combinaison des paramètres (concentration en éthanol, durée et température) joue un rôle clé dans la solubilisation des flavonoïdes. Concernant les extraits aqueux, les valeurs rapportées dans la littérature varient selon les conditions : un extrait à 100 °C pendant 3 h a donné 5,753 mg/g, tandis qu'un autre à 80 °C pendant la même durée n'a montré que 0,872 mg/g **(Kőszegi et al. 2023).**Ces données confirment que la température d'extraction influence fortement la libération des flavonoïdes hydrosolubles. Toutefois, mes résultats pour l'extrait tamponné sont nettement inférieurs à ceux des extraits aqueux rapportés, ce qui pourrait être dû à la nature du tampon, au pH ou à une moindre affinité pour les flavonoïdes.

La solubilité des flavonoïdes est étroitement liée à leur état de glycosylation : les formes glycosylées (hétérosides) présentent une bonne solubilité dans l'eau, l'alcool ou leurs mélanges, tandis que les formes aglycones (non glycosylées) sont généralement peu solubles dans l'eau **(Laurance 2011).**

III.4. Etude des activités biologiques :

III.4.1. Activité antioxydante in vitro :

L'activité antioxydante des extraits tamponnés et éthanoliques des feuilles d'*Urtica dioica L.* a été évaluée in vitro par la méthode de piégeage du radical libre DPPH•. Le pouvoir antioxydant des différents extraits a été estimé et comparé avec un antioxydant puissant (L'acide férulique).

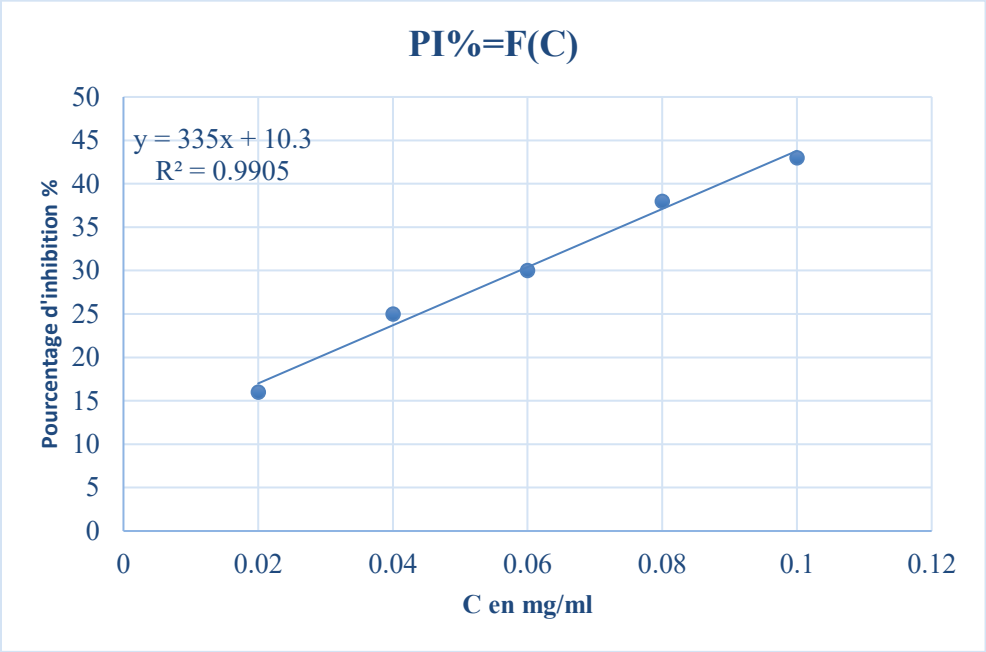


Figure III.9 : Courbe d'étalonnage de l'acide férulique.

L'activité antioxydante a été d'abord évaluée à l'aide de l'acide férulique comme composé de référence. Les résultats, présentés dans la Figure (III.9), montrent une relation linéaire entre la concentration et le pourcentage d'inhibition, décrite par l'équation : $y = 335x + 10.3$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.9905$. Le pourcentage d'inhibition maximal observé est de 43 % à 0.1 mg/mL, indiquant un pouvoir antioxydant modéré.

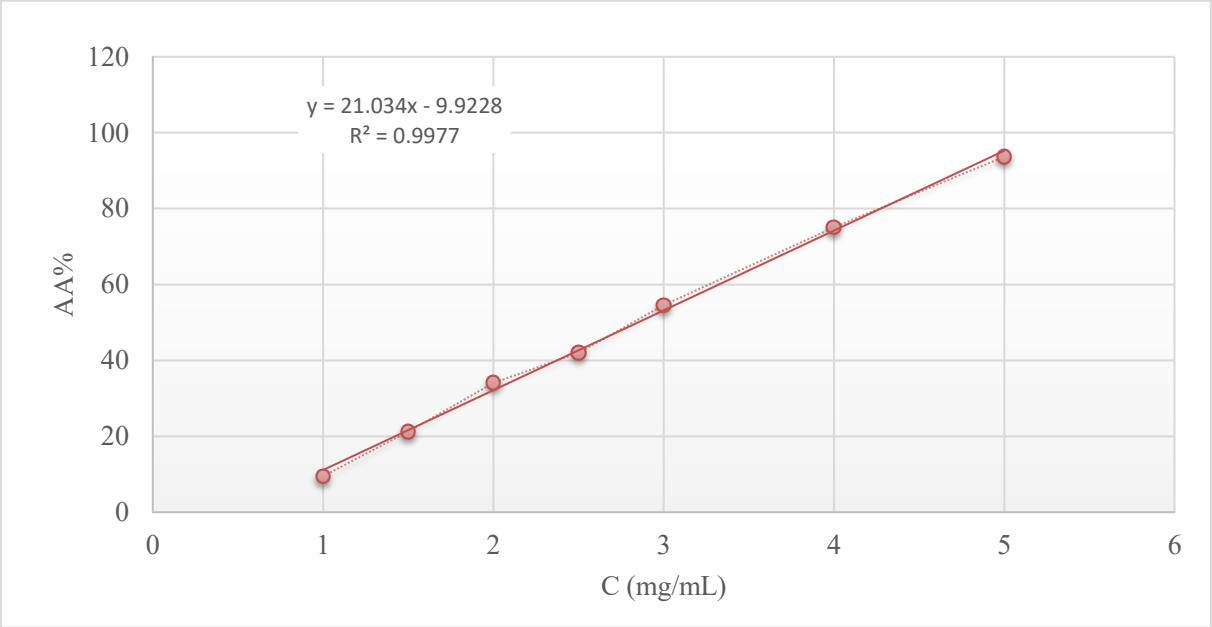


Figure III.10 : Pourcentage d'inhibition du radical libre (Activité antioxydante) en fonction des concentrations d'extrait tamponné (60°c, 72 h) de *l'Urtica dioica L.*

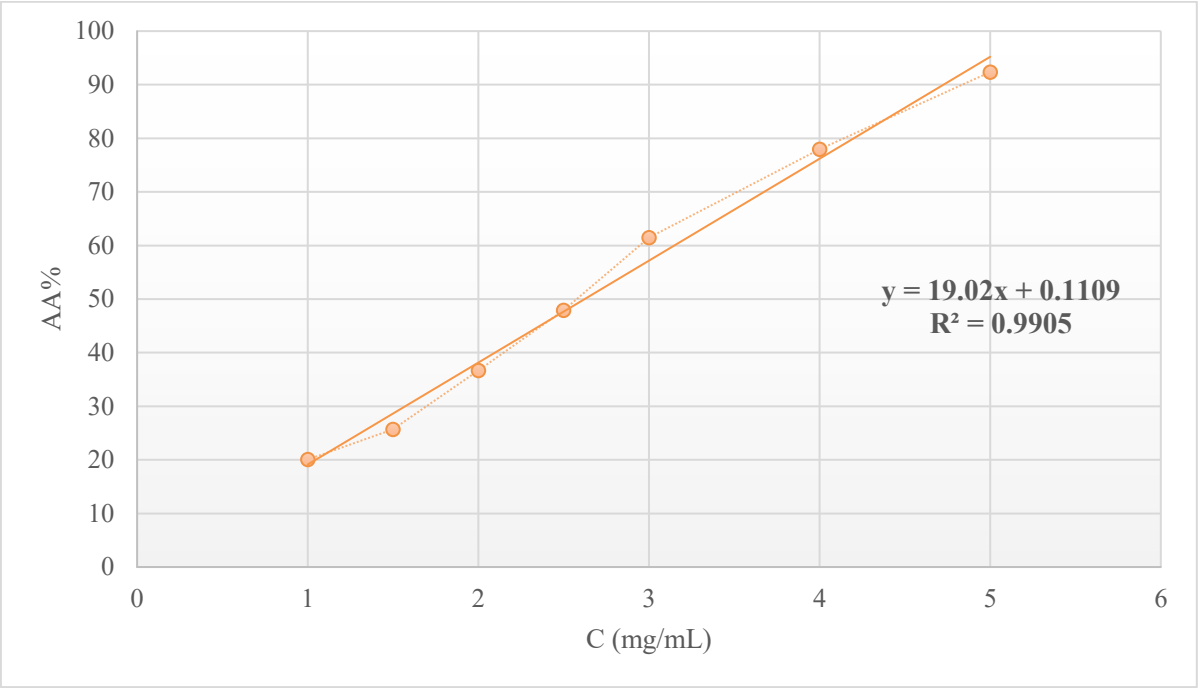


Figure III.11 : Pourcentage d'inhibition du radical libre (Activité antioxydante) en fonction des concentrations d'extrait éthanolique (90%, 48 h) de l'*Urtica dioica L.*

Les résultats, présentés dans les figures (III.10 et III.11),montrent une augmentation de l'activité antioxydante exprimée en pourcentage d'inhibition (AA%),proportionnelle à

l'augmentation de la concentration. Pour l'extrait tamponné (Figure III.10), l'équation de régression linéaire obtenue est : **y = 9.9228x + 21.034**, avec un coefficient de détermination **R^2 = 0.9977**, indiquant une très forte corrélation entre la concentration de l'extrait et son pouvoir antioxydant, qui atteint **93,69 % à 5 mg/mL**. De même, l'extrait éthanolique (Figure III.11) présente une activité antioxydante croissante avec une équation **y = 0.1109x + 19.02** et un **R^2 = 0.9905**, atteignant un pourcentage d'inhibition de **92,36 %** à la même concentration. Bien que l'acide férulique présente une activité antioxydante appréciable, les deux extraits démontrent un pouvoir antioxydant élevé, l'extrait tamponné montre une légère supériorité à forte concentration, tandis que l'extrait éthanolique présente une progression plus régulière. Ces résultats confirment l'efficacité des deux solvants dans l'extraction de composés antioxydants actifs.

Afin d'évaluer de manière plus précise le pouvoir antioxydant des extraits, on a déterminé la valeur de l'IC50 (mg/mL), définie comme la concentration d'extrait nécessaire pour inhiber 50 % du radical libre DPPH•. La détermination de cette valeur permet d'estimer et de comparer l'efficacité des différents extraits : plus l'IC50 est faible, plus l'activité antioxydante est élevée.

Les valeurs calculées d'IC50 pour chaque extrait sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau III.8 : Résultats d'IC50 des extraits tamponnés et éthanolique et de l'acide férulique

Echantillon	**IC50 en mg/mL**
Extrait tamponné (60°c, 72h)	2.85
Extrait éthanolique (90%, 48h)	2.62
Acide férulique	0.1185

À travers le tableau (III.8) des valeurs d'IC_{50}, on observe que les deux extraits d'*Urtica dioica L.* présentent une activité antioxydante inférieure à celle de l'acide férulique. En effet, l'extrait éthanolique affiche une IC_{50} de 2,62 mg/mL, suivi de près par l'extrait tamponné avec 2,85 mg/mL, tandis que l'acide férulique présente une IC_{50} nettement plus faible de 0,1185 mg/mL. Cette différence indique que l'acide férulique est nettement plus efficace dans la neutralisation des radicaux libres DPPH•.

La légère supériorité de l'extrait éthanolique par rapport à l'extrait tamponné dans nos résultats peut s'expliquer par une meilleure extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes dans le solvant organique. Ainsi, bien que les extraits présentent un certain potentiel antioxydant, leurs valeurs d'IC_{50} plus élevées reflètent une efficacité antioxydante moindre par rapport à celle de l'antioxydant de référence.

De plus, selon des données de la littérature, les travaux de **Fattahi et al,** un extrait aqueux obtenu avec une solution hydroalcoolique très diluée (5 % d'éthanol) présente une IC_{50} encore plus faible de 1,2 mg/mL, témoignant d'un potentiel antioxydant particulièrement élevé (Fattahi et al. 2014).

III.4.2. Activité anti-inflammatoire :

Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro par la méthode de stabilisation des membranes (Activité anti-hémolytique) :

Les taux d'hémolyse ainsi que les pourcentages d'inhibition ont été déterminés après incubation des érythrocytes en présence des extraits tamponnés (OT) et éthanolique (OE) dilués (1/100) des feuilles *d'Urtica dioica L.,* ainsi qu'en présence du standard de référence, le diclofénac. Les calculs ont été réalisés en prenant comme référence un témoin positif (érythrocytes incubés avec de l'eau distillée) et un témoin négatif (érythrocytes incubés avec un tampon phosphate, pH 7, 0.1 M). Les résultats obtenus sont présentés dans l'histogramme ci-dessous :

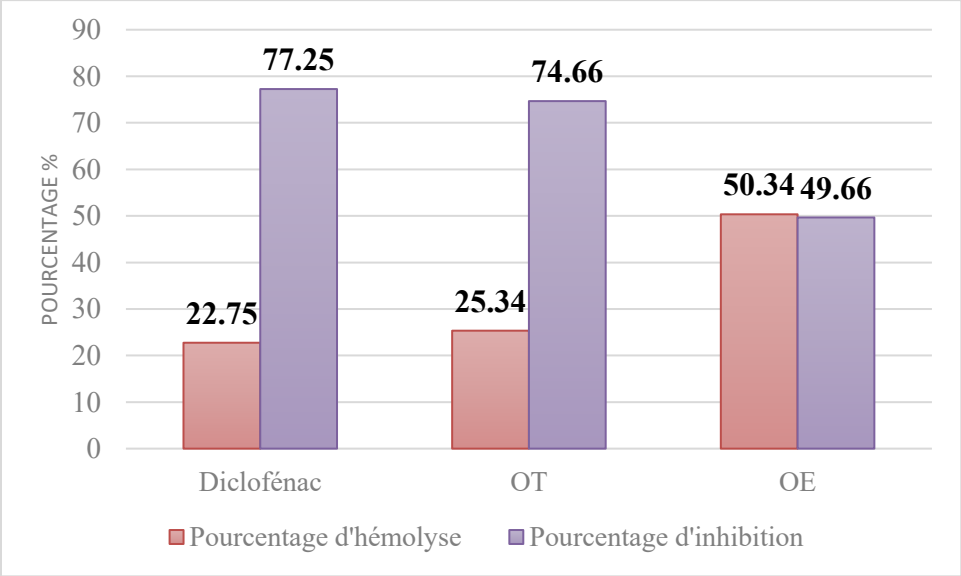


Figure III.12 : Effet des extraits *d'Urtica dioïca L.* dilués (1/100*)* sur l'inhibition de l'hémolyse des érythrocytes in vitro

L'histogramme illustre l'effet stabilisateur de membrane, indicateur de l'activité anti-inflammatoire, des extraits tamponné (OT) et éthanolique (OE) des feuilles *d'Urtica dioïca L.,* comparés à un anti-inflammatoire de référence, le diclofénac.

OT (Extrait tamponné : 60°C, 72h), Cet extrait montre un faible pourcentage d'hémolyse de **25.34 %** et un taux d'inhibition élevé **74.66 %**, très proche de celui du diclofénac. Ces résultats suggèrent une bonne activité anti-inflammatoire, probablement due à la préservation de composés actifs hydrosolubles extraits à température modérée durant une période prolongée. L'efficacité est comparable au médicament de référence, ce qui souligne le potentiel thérapeutique de l'extrait tamponné.

OE (Extrait éthanolique : 90%, 48h), l'extrait éthanolique présente une activité modérée, avec une hémolyse plus marquée de **50.34 %** que l'OT et un pourcentage d'inhibition plus faible **49.66 %.** Cela pourrait s'expliquer par la nature des composés extraits à l'éthanol, qui sont souvent plus lipophiles mais parfois moins efficaces dans la stabilisation des membranes érythrocytaires. Toutefois, cet extrait conserve une activité notable, ce qui montre que l'éthanol extrait aussi des composés bioactifs, mais peut-être moins efficaces que ceux extraits par le tampon.

Diclofénac, le standard montre une forte capacité d'inhibition de l'hémolyse a**77.25%,** ce qui confirme l'efficacité du test et permet de valider les résultats expérimentaux.

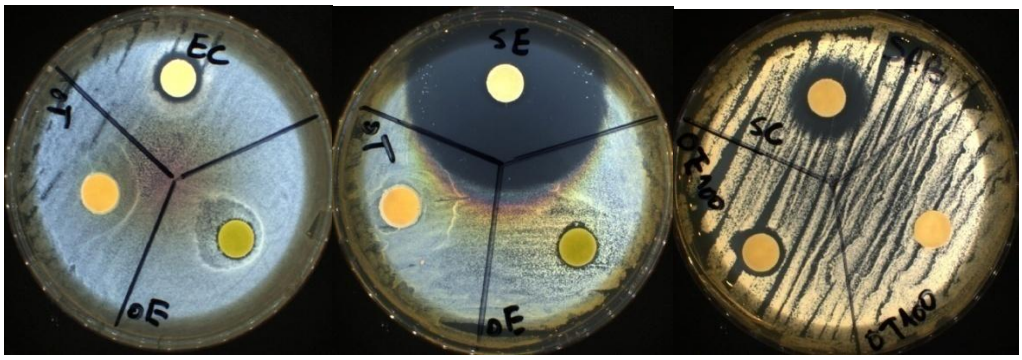
L'extrait tamponné *d'Urtica dioïca L.* (60°C, 72h) se révèle plus efficace que l'extrait éthanolique (90%, 48h) pour inhiber l'hémolyse, démontrant ainsi une meilleure activité anti-inflammatoire. Ces résultats mettent en évidence l'intérêt pharmacologique de l'ortie en tant que source naturelle d'agents anti-inflammatoires potentiels.

Selon les travaux de **Kasouni** et ses collaborateurs, un test in vitro de stabilisation des membranes érythrocytaires a montré qu'un extrait aqueux d'ortie à une concentration de 1 g/L permettait de stabiliser les globules rouges autour de 75 ± 4%, tandis qu'à une concentration plus faible de 0,2 g/L, la stabilisation atteignait 30 ± 2% **(Kasouni et al. 2021).**

Ces résultats démontrent un effet inhibiteur de l'hémolyse significatif, qui s'avère comparable à celui observé avec mes extraits d'ortie, notamment l'extrait tamponné.

III.4.3. Activité antibactérienne et antifongique :

L'activité antibactérienne et antifongique des extraits *d'Urticadioica L.* a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion sur disque. Cette technique repose sur l'observation de zones d'inhibition formées autour des disques de papier imprégnés des extraits végétaux, indiquant une inhibition de la croissance microbienne. Afin de comparer l'efficacité des extraits tamponnés et éthanoliques à celle des antibiotiques standards, un antibiogramme a été réalisé en exposant différentes souches bactériennes aux antibiotiques de référence. L'antibiotique Gectapen a été testé sur cinq souches bactériennes, tandis que la Nystatine a été utilisée contre trois souches fongiques. Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux :



(a) (b) (c)

Figure III.13 : Pouvoir antimicrobien et antifongique des extrait tamponnés et éthanoliques *d'Urticadioica L.*et les antibiotiques Gectapen/Nystatine : (a) *Escherichia Coli* ;*(b) Staphylococcus Epidermidis* ; *et (c) Aspergillus Brasiliensis.*

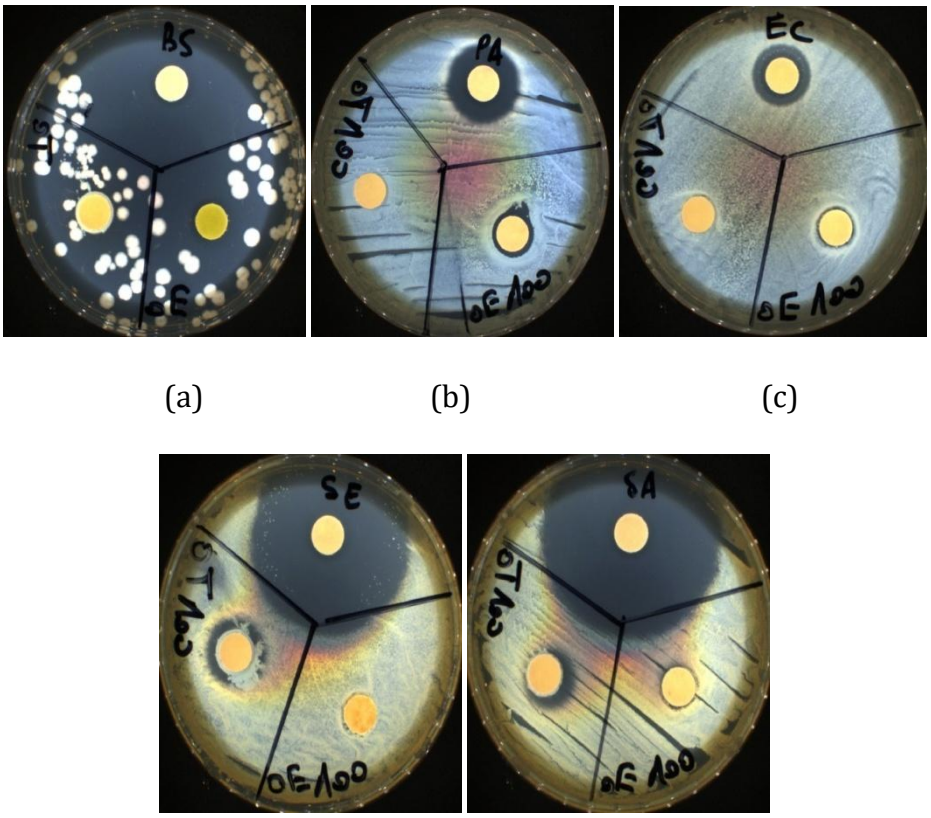
Tableau III.9 : Les résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance des souches bactériennes vis-à-vis de l'antibiotique Gectapen

Souches bactériennes	Gectapen
Bacillus Subtilis	42.4 – 44.3
Escherichia Coli	13.6 – 16.5
Pseudomonas Aeruginosa	21.5 – 22.7
Staphylococcus aureus	17.5 – 52
Staphylococcus Epidermidis	45 – 54.5

Tableau III.10 : Les résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance des souches fongiques vis-à-vis de la Nystatine.

Souches fongiques	La Nystatine
Aspergillus Brasiliensis	0 - 20.1
Candida Albicans	16.7 – 20.4
Saccharomyces Cerevisiae	0 - 22.6

Les résultats présentés dans les tableaux (III.9 et III.10) permettent d'évaluer l'efficacité de deux agents antimicrobiens, le Gectapen(antibiotique) et la Nystatine (antifongique), sur différentes souches microbiennes. Le Gectapen montre une efficacité variable selon les souches bactériennes testées. *Staphylococcus epidermidis* présente la plus grande sensibilité avec une zone d'inhibition allant de 45 à 54,5 mm, suivi de *Bacillus subtilis* (42,4 – 44,3 mm). En revanche, *Escherichia coli* est la moins sensible (13,6 – 16,5 mm). Et pour *Staphylococcus aureus,* la zone d'inhibition indiquée (17,5 – 52 mm) montre une réponse relativement large et variable. Pour la Nystatine, elle présente une activité antifongique modérée. *Saccharomyces cerevisiae* est le plus sensible (0 – 22,6 mm), tandis que *Aspergillus brasiliensis* montre une résistance partielle, voire totale (zone d'inhibition de 0 à 20,1 mm). *Candida albicans*, quant à lui, réagit de manière plus constante (16,7 – 20,4 mm). Globalement, le Gectapen semble plus puissant sur les bactéries que la Nystatine ne l'est sur les champignons testés.



(a) (b) (c)

(d) (e)

Figure III.14 : Pouvoir antimicrobien des extrait tamponnés et éthanoliques *d'Urticadioica L.* sur *: (a) Bacillus Subtilis* ;(b) *Pseudomonas Aeruginosa* ;(c) *Escherichia Coli* ;(d) *Staphylococcus aureus* ;(e) *Staphylococcus Epidermidis.*

Tableau III.11 : Résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance des souches bactériennes vis-à-vis des extraits éthanoliques, tamponnés *d'ortie dioïque.*

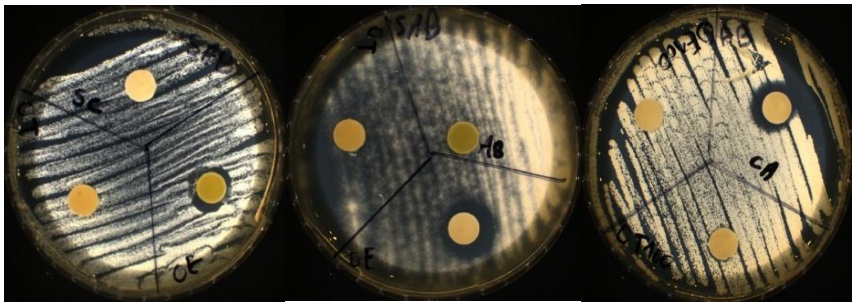
Souches Bactériennes	OT	OT100	OE	OE100
Bacillus Subtilis	13.4	18.7	19.5	17.3
Escherichia Coli	0	0	12	11.9
Pseudomonas Aeruginosa	0	0	13.7	12.5
Staphylococcus aureus	0	16	0	12
Staphylococcus Epidermidis	12.2	16.9	12.4	11.9

L'étude de l'activité antibactérienne des extraits végétaux a mis en évidence des différences significatives selon le type d'extrait, son degré de dilution et la souche bactérienne ciblée. L'extrait tamponné (OT) a montré une activité modérée, principalement contre *Bacillus subtilis* (13,4 mm) et *Staphylococcus epidermidis* (12,2 mm), avec des zones d'inhibition qualifiées de sensibles. Fait remarquable, sa dilution au 1/100 (OT100) a entraîné une amélioration notable de l'efficacité, atteignant des niveaux très sensibles, contre *B. subtilis* (18,7 mm), S. *epidermidis* (16,9 mm) et *S. aureus* (16 mm). L'extrait éthanolique (OE) s'est révélé plus performant, notamment contre les bactéries à Gram négatif telles que *Escherichia coli* (12 mm) et *Pseudomonas Aeruginosa* (13,7 mm), qui étaient totalement résistantes à l'extrait tamponné. Il a également induit une forte inhibition chez *B. subtilis* (19,5 mm). La dilution de cet extrait (OE100) a légèrement réduit les diamètres d'inhibition, mais a permis de conserver une activité antibactérienne significative sur les souches sensibles.

De manière générale, les bactéries à Gram positif se sont montrées plus sensibles, notamment à l'extrait tamponné (OT100), tandis que l'extrait éthanolique (OE et OE100) a présenté un spectre d'activité plus large incluant certaines souches à Gram négatif. Ces résultats suggèrent que la méthode de préparation et le niveau de dilution des extraits influencent fortement leur efficacité. Fait intéressant, certaines dilutions, contrairement à ce que l'on pourrait attendre, semblent renforcer l'activité antibactérienne, probablement en réduisant l'interférence de composés inactifs ou inhibiteurs. La supériorité de l'extrait éthanolique peut s'expliquer par des considérations physico-chimiques liées au solvant d'extraction. Grâce à sa polarité intermédiaire, l'éthanol permet une meilleure extraction de métabolites secondaires bioactifs comme les polyphénols et les flavonoïdes, souvent peu solubles dans l'eau, mais connus pour leurs propriétés antimicrobiennes. Ces composés interagissent plus facilement avec les membranes cellulaires, en particulier chez les bactéries Gram-négatives, caractérisées par une double membrane lipidique difficile à traverser. Cette propriété pourrait justifier l'absence d'activité observée avec l'extrait tamponné contre *E. coli* et *P. aeruginosa*, contrairement à l'extrait éthanolique, qui a induit des zones d'inhibition significatives.

Enfin, les conditions d'extraction jouent également un rôle clé dans la préservation des composés actifs. L'OT, préparé à 60 °C pendant 72 heures, a pu subir une dégradation thermique ou une oxydation de certains métabolites sensibles. À l'inverse, l'OE, obtenu à

température ambiante sur 48 heures, semble mieux préserver l'intégrité des molécules bioactives, contribuant ainsi à son efficacité supérieure.



(a) **(b)** **(c)**

Figure III.15 : Pouvoir antifongique des extrait tamponnés et éthanoliques d'*Urticadioica L*. sur : (a) *Saccharomyces Cerevisiae ; (b) Aspergillus Brasiliensis ;(c) Candida Albicans*

Tableau III.12 : Résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance des souches fongiques vis-à-vis des extraits éthanoliques, tamponnés *d'ortie dioïque.*

Souches fongiques	OT	OT100	OE	OE100
Aspergillus Brasiliensis	0	0	17.8	0
Candida Albicans	0	12	17.8	0
Saccharomyces Cerevisiae	0	0	13.6	12.6

L'évaluation de l'activité antifongique des extraits préparés a révélé une efficacité marquée de l'extrait éthanolique (OE) comparé à l'extrait tamponné (OT), ce dernier n'ayant induit aucune inhibition contre les trois souches fongiques testées : *Aspergillus brasiliensis*, *Candida albicans*et *Saccharomyces cerevisiae.*

L'extrait OE a montré une activité antifongique significative contre *Aspergillus brasiliensis* (17,8 mm) et *Saccharomyces cerevisiae* (13,6 mm), classées respectivement comme très sensible et sensible, selon les critères d'interprétation. En revanche, *Candida albicans* s'est montrée totalement résistante, quel que soit le type ou la concentration d'extrait. La dilution 1/100 de l'extrait éthanolique (OE100) a entraîné une diminution de

l'activité, ne laissant subsister qu'un effet modéré contre *S. cerevisiae* (12,6 mm). Aucune activité n'a été observée contre les deux autres souches à cette dilution.

Ces résultats confirment que l'extrait éthanolique est plus riche en molécules antifongiques actives, notamment contre certaines levures et moisissures. La totale inefficacité de l'extrait tamponné pourrait s'expliquer par son incapacité à extraire des composés fongistatiques ou fongicides lipophiles.

L'absence de réponse de *C. albicans,* même à l'extrait OE, suggère soit une résistance intrinsèque de cette souche aux métabolites présents, soit une spécificité d'action limitée de l'extrait.

La comparaison entre l'activité du Gectapen et de la Nystatine, présentée dans les tableaux (III.9 et III.10), et celle des extraits végétaux révèle des différences marquées en termes de puissance, de spectre d'action et de mécanisme potentiel. Le Gectapen un antibiotique de synthèse, a démontré une efficacité très élevée, avec des zones d'inhibition pouvant atteindre 54,5 mm contre *Staphylococcus epidermidis* et plus de 40 mm pour *Bacillus subtilis*, des valeurs nettement supérieures à celles obtenues avec les extraits végétaux. À titre de comparaison, l'extrait tamponné dilué (OT100) n'a induit qu'une inhibition maximale de 18,7 mm sur *B. subtilis* et de 16,9 mm sur *S. epidermidis*, tandis que l'extrait éthanolique (OE) a atteint 19,5 mm pour *B. subtilis* et des valeurs plus modestes (12–13,7 mm) sur les bactéries à Gram négatif. Cette différence illustre la puissance supérieure des antibiotiques standards en conditions de laboratoire, bien que les extraits végétaux puissent représenter une alternative intéressante, notamment en raison de leur origine naturelle et de leur potentiel à contourner certaines résistances. Par ailleurs, la Nystatine a montré une efficacité antifongique modérée, avec des zones d'inhibition maximales de 22,6 mm contre *Saccharomyces cerevisiae,* ce qui reste comparable à certains effets observés avec les extraits végétaux contre les bactéries sensibles, mais inférieur à ceux du Gectapen. Il est aussi à noter que certaines dilutions des extraits végétaux ont permis d'améliorer l'activité antibactérienne, suggérant des phénomènes d'optimisation liés à la concentration, comme la réduction d'interférences ou la préservation de métabolites actifs, ce qui n'est pas une variable dans les tests classiques avec les antibiotiques.

Enfin, la sélectivité observée selon le type de paroi bactérienne (Gram positif vs Gram négatif) est cohérente entre les deux approches : le Gectapen et OE sont plus

efficaces sur les Gram négatifs que OT, qui reste inactif contre *E. coli* et *P. aeruginosa*. Cette observation souligne l'importance de la nature chimique de l'agent antimicrobien ici, l'éthanol comme solvant d'extraction permettant d'accéder à des composés bioactifs capables de franchir la barrière des membranes bactériennes complexes. En résumé, si les antibiotiques conventionnels présentent une efficacité supérieure, les extraits végétaux, notamment en version éthanolique, offrent un potentiel d'action non négligeable, surtout dans une perspective de recherche de nouvelles alternatives thérapeutiques ou d'agents complémentaires.

Selon **Gülçin**, l'extrait aqueux des feuilles d'*Urticadioica L*. présente une activité antimicrobienne notable, en particulier contre *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* et *Escherichia coli* **(Gülçin et al. 2003).** Par ailleurs, les travaux de **Motamedi**et collaborateurs ont mis en évidence l'efficacité des extraits alcooliques de cette plante : l'extrait méthanolique a généré des zones d'inhibition de 16 mm pour *Bacillus cereus,* 10 mm pour *S. aureus*, 18 mm pour *S. epidermidis* et 14 mm pour *E. coli*, tandis que l'extrait éthanolique a induit respectivement 11, 9, 17 et 16 mm contre les mêmes souches **(Motamedi et al. 2014).** De leur côté, **Mirtaghi**et son équipe ont confirmé, à travers des essais en diffusion sur disque et en puits, l'efficacité de l'extrait éthanolique de feuilles d'ortie contre *S. aureus, S. epidermidis* et *S. saprophyticus*, avec une sensibilité particulièrement marquée observée dans la méthode de diffusion en puits, atteignant jusqu'à 89% **(Mirtaghi et al. 2016).**

Les résultats de ma recherche corroborent ceux de plusieurs études antérieures, notamment en ce qui concerne l'efficacité supérieure de l'extrait éthanolique d'*Urticadioica L*, en particulier contre les bactéries à Gram positif (*S. aureus, S. epidermidis, B. subtilis*), ainsi qu'une efficacité variable contre certaines souches à Gram négatif.

III.4.4.Activité enzymatique :

L'activité enzymatique est définie comme la mesure de la quantité d'enzymes actives présentes. L'activité enzymatique ciblée et caractérisée au sein des différents extraits tamponnés et éthanoliques de feuilles *d'Urtica dioica L.* est celle des lipases, appartenant à la classe des hydrolases.

La mise en évidence de l'activité lipasique dans les extraits de feuilles d'*Urticadioica L.* (extrait éthanolique et extrait tamponné) a été réalisée par titration des

acides gras libérés au cours d'une réaction de lipolyse utilisant l'huile d'olive comme substrat. Cette méthode repose sur la quantification des acides gras produits, par titrage avec une solution de NaOH, selon le principe de neutralisation acide-base. Le point de virage, indiqué par l'apparition d'une coloration rose, permet de déterminer le volume de NaOH consommé, lequel est ensuite utilisé pour calculer l'activité enzymatique à l'aide d'une formule spécifique.

Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures suivantes :

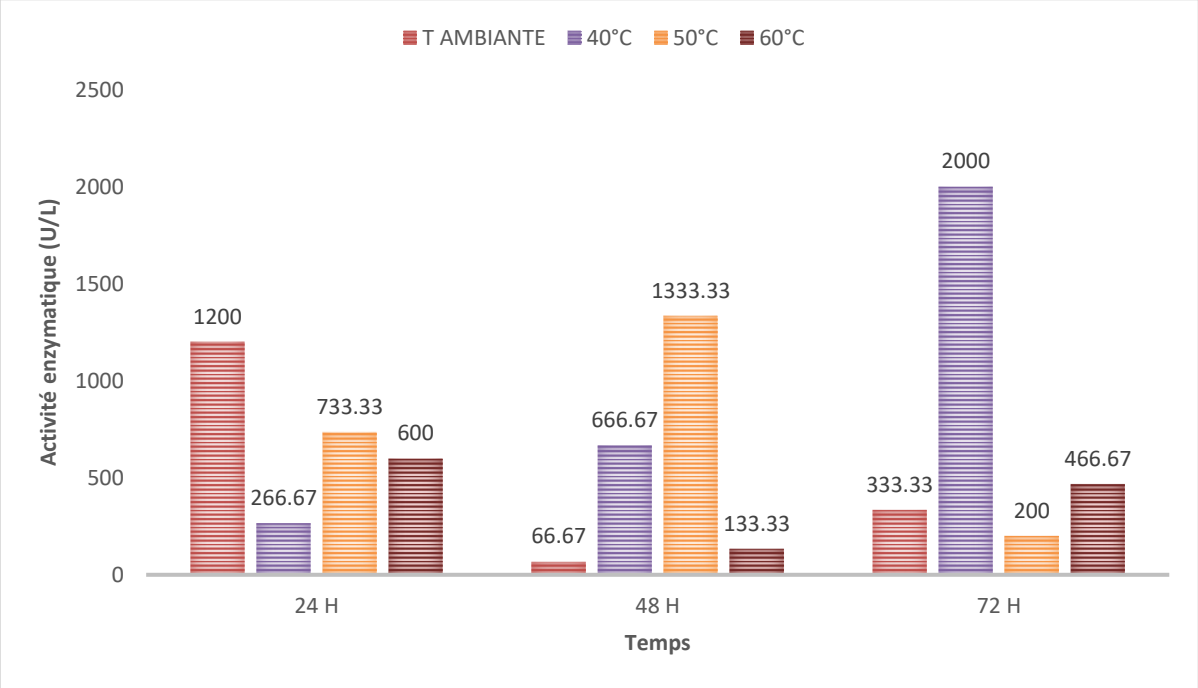
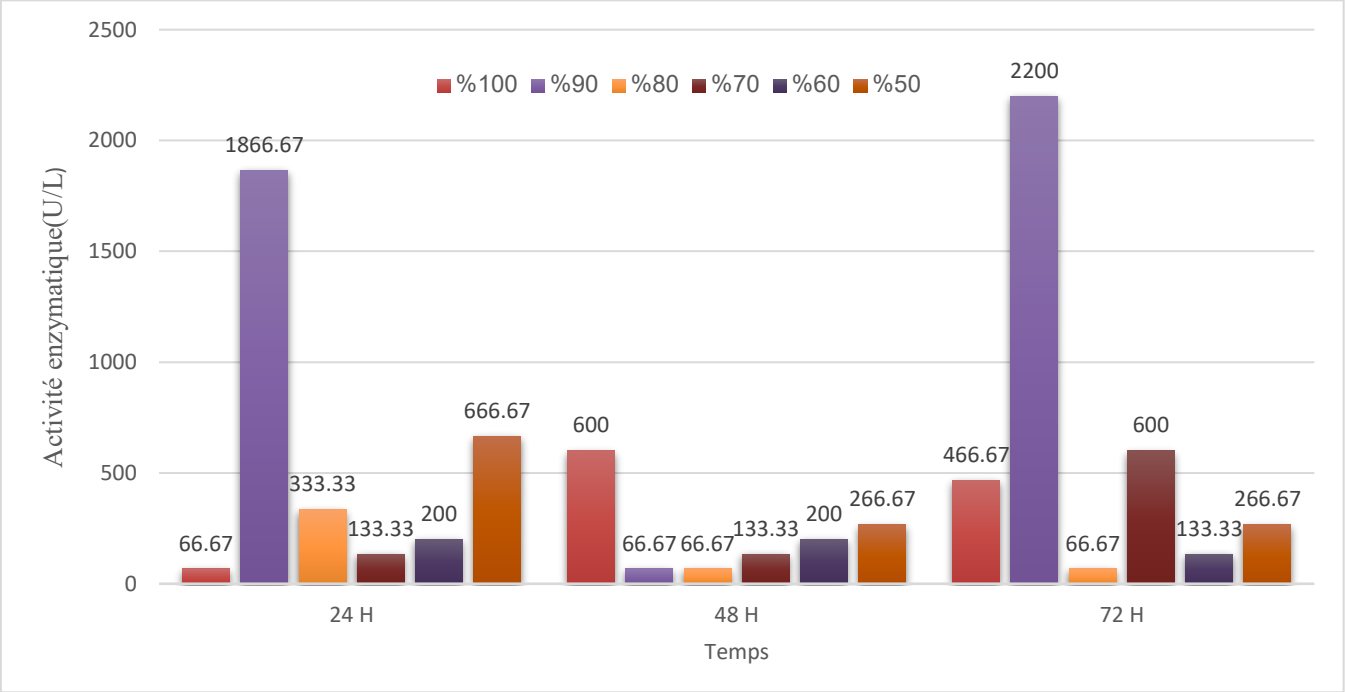


Figure III.16 : Activité enzymatique des extraits tamponnés des feuilles *d'Urtica dioica L.*

Les deux graphiques montrent l'évaluation de l'activité enzymatique en fonction du temps d'extraction (24, 48 et 72 h) et de la température (température ambiante, 40°C, 50°C, 60°C), des extraits tamponnés des feuilles *d'Urtica dioica L.*

L'analyse des résultats révèle que l'activité lipasique varie de manière significative selon les conditions expérimentales. À 24h, l'activité est maximale à température ambiante (1200 U/L), tandis qu'à 48 h, c'est à 50 °C que l'on observe un pic (1333,33 U/L). Toutefois, la condition optimale apparaît clairement à 40°C après 72h, où l'activité enzymatique atteint **2000 U/L**, représentant la valeur la plus élevée enregistrée dans l'ensemble des conditions testées. Ce résultat suggère que 40°C constitue une température favorable à la stabilité et à l'activation des enzymes sur une longue durée d'extraction. En revanche, les températures plus élevées (50°C et 60°C) entraînent une diminution

progressive de l'activité avec le temps, probablement en raison d'une dénaturation thermique. Ainsi, on peut conclure que la condition optimale pour maximiser l'activité enzymatique des extraits tamponnés *d'Urtica dioica L.* est une incubation à 40°C pendant 72h.



FigureIII.17 : Activité enzymatique des extraits éthanoliques des feuilles *d'Urtica dioica L.*

Les deux graphiques montrent comment l'activité enzymatique des extraits éthanoliques des feuilles d'*Urtica dioica L.* varie fortement selon la concentration en éthanol et la durée d'incubation. À 24 heures, l'activité est extrêmement élevée à 90% (1866,67 U/L), suivie par des valeurs plus faibles à 80 % (666,67 U/L) et 70% (333,33 U/L), alors que les autres concentrations montrent des activités nettement inférieures, suggérant que cette concentration (90%) favorise une extraction optimale ou une meilleure stabilité enzymatique à court terme. À 48 heures, l'activité globale diminue à toutes les concentrations, bien que l'extrait à 80% conserve une activité relativement notable (600 U/L), ce qui pourrait indiquer une stabilité intermédiaire dans le temps. Enfin, à 72 heures, l'activité enzymatique atteint son maximum global à 90% **(2200 U/L)**, confirmant que cette concentration est la plus favorable à la conservation ou à l'activation enzymatique sur le long terme. À cette durée, on observe également une remontée d'activité à 70% (600 U/L), tandis que les autres concentrations restent faibles. Ces résultats indiquent que la concentration de 90% en éthanol permet non seulement une extraction efficace des

enzymes mais aussi une meilleure stabilité enzymatique dans le temps, comparativement aux concentrations plus faibles qui montrent une activité plus réduite ou instable.

III.4.4.1. Purification de l'enzyme :

Sur la base des résultats d'activité enzymatique, les extraits tamponnés et éthanoliques présentant l'activité lipasique la plus élevée ont été sélectionnés pour la purification de l'enzyme. L'enzyme extraite a été purifiée par précipitation à l'aide de l'acétone.

Tableau III.13 : Paramètres de purification de la lipase d'extrait tamponné (40°c, 72h) des feuilles *d'Urtica dioïca L.*

Enzyme	Volume de filtration d'extrait tamponné	Quantité de l'enzyme purifiée	Activité enzymatique (Lipasique) U/L	Activité spécifique UI/g protéine
Lipase	37 mL	20 mg	333.33	333.33

Le tableau (III.13) présente les résultats de la purification de la lipase à partir d'un extrait tamponné préparé à partir des feuilles de l'ortie, avec un volume initial de 37 mL. Après précipitation à l'acétone, 20 mg d'enzyme purifiée ont été obtenus. L'activité lipasique mesurée est de 333,33 U/mL, et l'activité spécifique, qui reflète le degré de pureté de l'enzyme, est également de 333,33 U/mg, ce qui indique une enzyme hautement purifiée. En utilisant uniquement 1 mg de cette enzyme pour cette expérience, on peut déduire que l'activité enzymatique totale correspondante est de 333,33 unités enzymatiques (U), en se basant sur l'activité spécifique fournie. Cela démontre que même une petite quantité de cette enzyme purifiée possède une efficacité catalytique élevée. La lipase joue un rôle essentiel dans l'hydrolyse des triglycérides en acides gras et glycérol, une activité précieuse dans de nombreux domaines. Le fait que cette enzyme soit naturellement présente dans les feuilles d'ortie souligne le potentiel de cette plante comme source végétale d'enzymes actives.

CONCLUSION GENERALE

Le climat méditerranéen de l'Algérie crée un environnement propice à la croissance de nombreuses plantes sauvages. Toutefois, malgré la richesse et la diversité de la flore algérienne, peu d'espèces ont été étudiées de manière approfondie. La valorisation de ces ressources naturelles repose essentiellement sur l'extraction de composés bioactifs susceptibles d'être utilisés dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques. Parmi ces plantes, les espèces médicinales occupent une place centrale, car elles constituent une source précieuse de nouvelles molécules thérapeutiques, essentielles à la mise au point de traitements innovants pour la prévention et le traitement de diverses maladies. L*'Urtica dioïca L.* (ortie) en est un exemple particulièrement prometteur. Depuis longtemps intégrée dans la médecine traditionnelle, l'alimentation, l'artisanat, la production de fibres, de fertilisants et de cosmétiques, cette plante a récemment attiré l'attention scientifique pour ses propriétés antibactériennes, anti-oxydantes, analgésiques et anti-inflammatoires. Sa richesse en composés phytochimiques tels que les poly-phénols, flavonoïdes, tanins, acides gras, polysaccharides, isolectines et stérols, ainsi que sa facilité de récolte et sa large répartition géographique, en font une ressource à la fois médicinale et alimentaire de grande valeur, notamment dans les régions méditerranéennes.

À cet effet, et dans le cadre de la valorisation de l'espèce *Urtica dioica L.* dans la région de Médéa, des résultats prometteurs ont été mis en évidence, notamment en ce qui concerne ses activités anti-oxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne et enzymatique.

Les données analytiques ont indiqué que :

- Les extraits ont montré une teneur significative en poly-phénols, avec une supériorité marquée de l'extrait éthanolique en particulier avec une concentration de 90 % d'éthanol et un temps d'extraction de 48 heures à température ambiante, par rapport à l'extrait tamponné. L'association d'une température élevée (60°C) et d'un temps d'extraction prolongé (72h) a permis d'optimiser la libération des poly-phénols à partir des matrices végétales.

- L'extrait éthanolique s'est révélé nettement plus riche en flavonoïdes que l'extrait tamponné, quelles que soient les unités de mesure utilisées. Ceci confirme que l'éthanol est un solvant plus efficace pour l'extraction de ces composés, probablement en raison de leur solubilité dans les mélanges hydro-alcooliques.

- Les deux extraits ont présenté une capacité antioxydante (AA%), proportionnelle à l'augmentation de leur concentration. L'extrait tamponné a montré une légère supériorité à forte concentration, bien que l'extrait éthanolique reste très actif et présente une progression plus régulière. Cependant, les valeurs d'IC_{50} indiquent que l'efficacité antioxydante globale des extraits est inférieure à celle de l'acide férulique, utilisé comme antioxydant de référence. Parmi les extraits, l'éthanolique présente un léger avantage en termes d'activité, probablement en raison de sa richesse en composés phénoliques mieux extraits par le solvant organique.

- Les extraits d'*Urtica dioica L.* ont montré une activité antimicrobienne variable selon le solvant utilisé. L'extrait éthanolique s'est révélé plus efficace, avec une action sur les bactéries Gram positives et négatives, ainsi que sur certaines levures et moisissures. L'extrait tamponné a présenté une activité plus limitée, n'agissant que sur les bactéries Gram positives. Ces résultats soulignent la supériorité de l'éthanol pour extraire des composés antimicrobiens actifs.

- L'extrait tamponné (obtenu à 60°C pendant 72h) a montré un effet stabilisateur de membrane remarquable, comparable à celui du diclofénac, ce qui témoigne d'une excellente activité anti-inflammatoire. L'extrait éthanolique, bien qu'actif, s'est révélé moins efficace que l'extrait tamponné dans ce test.

- L'activité lipasique des extraits tamponnés a atteint son maximum à 40°C après 72h, indiquant que cette condition est la plus favorable à la stabilité des enzymes extraites. Pour les extraits éthanoliques, la concentration de 90% d'éthanol a permis d'obtenir la meilleure activité enzymatique, surtout après 72h, ce qui suggère une bonne conservation et activation enzymatique à long terme dans ces conditions.

- La lipase extraite à partir de l'extrait tamponné a été partiellement purifiée avec succès, présentant une forte activité spécifique, ce qui souligne le potentiel de*l'Urtica dioica L.* comme source d'enzymes végétales actives, utiles dans les applications industrielles et biotechnologiques.

Les résultats obtenus au cours de cette étude confirment le fort potentiel biologique des extraits *d'Urtica dioica L.*, notamment en termes d'activités anti-oxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne et lipasique. Toutefois, pour envisager une valorisation industrielle concrète de ces extraits dans différents secteurs, des analyses complémentaires spécifiques sont nécessaires.

Pour l'activité anti-inflammatoire des tests in vivo et des essais cliniques seraient nécessaires pour confirmer ses applications thérapeutiques, et pour l'exploitation des enzymes végétales telles que la lipase identifiée, une caractérisation biochimique approfondie (études de la cinétique enzymatique, stabilité thermique, pH optimal, etc.) est indispensable en vue de leur intégration dans des procédés biotechnologiques ou industriels.

Références bibliographiques

A

Abayomi, Sofowora. 2010. Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. KARTHALA.

Achat, Sabiha. 2013. « Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques ». Phdthesis, Université d'Avignon ; Université Abderrahmane Mira - Bejaïa (Bejaïa, Algérie). https://theses.hal.science/tel-00978529.

Akbay, Pinar, A. Ahmet Basaran, UlküUndeger, et NursenBasaran. 2003. « In Vitro Immunomodulatory Activity of Flavonoid Glycosides from Urtica Dioica L. » PhytotherapyResearch 17 (1): 34-37. https://doi.org/10.1002/ptr.1068.

Altıok, Evren, Deniz Bayçın, OguzBayraktar, et SemraÜlkü. 2008. « Isolation of polyphenolsfrom the extracts of olive leaves (Olea europaea L.) by adsorption on silkfibroin ». Separation and Purification Technology 62 (2) : 342-48.

Amiot, M.-J., C. Riollet, et J.-F. Landrier. 2009. « Polyphénols et syndrome métabolique ». Médecine des Maladies Métaboliques 3 (5): 476-82. https://doi.org/10.1016/S1957-2557(09)73293-6.

Anton, R, M Bernard, et M Wichtl. 2003. Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Paris : Éd. Tech & Doc ; Cachan : Éd. Médicales internationales ; 2003 : 692p.

APG III. 2009.« An update of the angiospermphylogeny group classification for the orders and families of floweringplants :apg iii. botanical journal of the linnean society. » In,161 :105-21.

B

Basile, Adriana, Simonetta Giordano, José Antonio López-Sáez, et Rosa CastaldoCobianchi. 1999. « Antibacterialactivity of pure flavonoidsisolatedfrommosses ». Phytochemistry 52 (8): 1479‑82. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(99)00286-1.

Beaudeux, J. -L., J. Delattre, P. Therond, D. Bonnefont-Rousselot, A. Legrand, et J. Peynet. 2006. « Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose ». Immuno-analyse & Biologie Spécialisée 21 (3): 144‑50. https://doi.org/10.1016/j.immbio.2006.02.001.

Beloued, A. 1998. Plantes médicinales d'Algérie. Ed. Entreprise nationale du livre, Alger, 359 p. -.

———. 2001. Plantes médicinales d'Algérie | Office des publications universitaires. https://opu.dz/fr/livre/agronomie/plantes-m%C3%A9dicinales-dalg%C3%A9rie.

Bendif, Hamdi. 2017. « Caractérisation Phytochimique et Détermination Des Activités Biologiques in Vitro Des Extraits Actifs de Quelques Lamiaceae: Ajuga Iva (L.) Schreb., TeucriumPolium L., Thymus MunbyanusSubsp. Coloratus (Boiss. &Reut.) Greuter&Burdet et RosmarinusEriocalyx Jord &Fourr. »

Berton, Hugues. 2001. Sorcellerie en Auvergne : Sorciers, guérisseurs, médecines magiques et traditionnelles. Clermont-Ferrand: Editions De Borée.

BERTRAND, Bernard. 2002. Les secrets de l'Ortie., 128p. 7ème édition Editions de Terran. Le Compagnon Végétal ; n01.

Bnouham, Mohamed, Fatima-Zahra Merhfour, Abderrahim Ziyyat, Hassane Mekhfi, Mohammed Aziz, et AbdelkhaleqLegssyer. 2003. « Antihyperglycemic Activity of the AqueousExtract of Urtica Dioica ». Fitoterapia 74 (7‑8): 677‑81. https://doi.org/10.1016/s0367-326x(03)00182-5.

Bocquet, Nathalie. 1991. « La racine d'ortie, Urtica dioica L (Urticacées) : intérêt dans le traitement de l'adénome prostatique », décembre, 112.

Bonnier, Gaston (1853-1922) Auteur du texte. 1914. Flore complète illustrée en couleurs, de France, Suisse et Belgique (comprenant la plupart des plantes d'Europe). Tome 1 / par Gaston Bonnier, https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k34143218.

BOUCHENAK, Fatima, Hocème DEGAICHIA, Abdelbaki LAMGHARBI, et Fatima BENREBIHA. 2018. « Evaluation in vitro du potentiel antifongique de l'huile essentielle et des extraits méthanoliques d'une asteraceae Artemisia absinthium l. Revue Agrobiologia, 8 (1): 886-895. »

Bouhlel, Ines, Hedi Ben Mansour, IlefLimem, Mohamed Ben Sghaier, Amor Mahmoud, Jemni Ben Chibani, Kamel Ghedira, et Leila Chekir-Ghedira. 2007. « Screening of antimutagenicity via antioxidantactivity in differentextractsfrom the leaves of Acacia salicinafrom the center of Tunisia ». EnvironmentalToxicology and Pharmacology 23 (1): 56‑63.

Bouzid, A., R. Chadli, et K. Bouzid. 2017. « Étude ethnobotanique de la plante médicinale Arbutusunedo L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale ». Phytothérapie 15 (6): 373.

BOYRIE, J. 2016. « Urtica dioica L : une plante aux usages multiples. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie, Faculté de Pharmacie, Bordeaux. » 2016.

Brosse, H, G Grandjouan, M Hoff, P De Ruffray, et E Garbolino. 2003. Répartition d'Urtica Dioica ». Sophy-banque de données phytosociologiques.

Bruneton, Jean. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3e édition revue et Augmentée. https://ulysse.univlorraine.fr/discovery/fulldisplay/alma991003245449705596/33UDL_INST:UDL.

C

Camille, D, et O Christine. 2009. « FILIÈRE DES PLANTES MÉDICINALES BIOLOGIQUES DU QUÉBEC (2010). L'ortie dioïque, Guide de production sous régie biologique, Québec, 30 pages. »

Capasso, Francesco, Timothy S. Gaginella, Giuliano Grandolini, et Angelo A. Izzo. 2003. Phytotherapy. Berlin, Heidelberg: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-55528-2.

Carange, Julie. 2010. « Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection ? » Université du Québec à Trois-Rivières.

Celikel, Nazan, et Gökhan Kavas. 2008. « Antimicrobialproperties of some essential oilsagainstsomepathogenicmicroorganisms ». Czech journal of food sciences 26 (3): 174.

Cetinus, Ercan, MetinKilinc, Fatma Inanc, Ergul Belge Kurutas, et Nihal Buzkan. 2005. « The Role of Urtica Dioica (Urticaceae) in the Prevention of Oxidative Stress Caused by Tourniquet Application in Rats ». The Tohoku Journal of ExperimentalMedicine 205 (3): 215-21. https://doi.org/10.1620/tjem.205.215.

Chabrier, Jean-Yves.2010. « Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie ». Other, UHP - Université Henri Poincaré. https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01739123.

Chauhan, Sidharth, ChhomoThayes, Basharat Ali, et Yogesh Kumar Rawal. 2024. « Evaluation of Himalayannettle (Urtica ardens) extractmeal in commoncarp (Cyprinuscarpio) feed: Impact on growth performance, digestive enzyme activity and antioxidantcapacity ». Aquaculture Reports 36 (juin) :102142. https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102142.

Chemists, Association of Official Analytical. 1980. Official methods of analysis of the Association of Official AnalyticalChemists. 13th ed. Washington : Association of Official AnalyticalChemists.

Chira, K., J. -H. Suh, C. Saucier, et P. -L. Teissèdre. 2008. « Les polyphénols du raisin ». Phytothérapie 6 (2) : 75-82. https://doi.org/10.1007/s10298-008-0293-3.

Cieur, Christine, et Alain Carillon. 2012. « La plante médicinale ». Institut Français d'Endobiogénie. 21 mars 2012. https://www.institut-endobiogenie.fr/2012/03/21/la-plante-medicinale-notion-de-totum-implication-en-phytotherapie-clinique-integrative/.

Collin, Sonia, et Jean Crouzet. 2011. « Agence universitaire de la francophonie. Polyphénols et procédés : Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agroalimentaire. Edition Lavoisier. » 2011.

Cowan, M. M. 1999. « Plant Products as Antimicrobial Agents ». ClinicalMicrobiologyReviews 12 (4): 564-82. https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564.

Cushnie, T. P. Tim, et Andrew J. Lamb. 2005.« Antimicrobialactivity of flavonoids ». International Journal of Antimicrobial Agents 26 (5): 343-56. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002.

D

Dacosta, Yves. 2003. Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Paris: Y. Dacosta.

Dangles, Olivier. 2020. « Le potentiel antioxydant des aliments: Mythes et réalités ». Cahiers de Nutrition et de Diététique 55 (4): 176-83.

Dar, Sabzar Ahmad, Farooq Ahmad Ganai, Abdul Rehman Yousuf, Masood-Ul-Hassan Balkhi, Towseef Mohsin Bhat, et Poonam Sharma. 2013. « Pharmacological and Toxicological Evaluation of Urtica Dioica ». Pharmaceutical Biology 51 (2): 170-80. https://doi.org/10.3109/13880209.2012.715172.

Das, Shibananda, Gerhard Gompper, et Roland G. Winkler. 2018. « Confined active Brownianparticles:theoretical description of propulsion-induced accumulation ». New Journal of Physics 20 (1): 015001.

Di Meo, Sergio, et Paola Venditti. 2020. « Evolution of the Knowledge of Free Radicals and OtherOxidants ». OxidativeMedicine and Cellular Longevity 2020:9829176. https://doi.org/10.1155/2020/9829176.

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

Dutertre, Julie Marie-Josèphe. 2011. « Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion: à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste ». Thèse d'exercice, 1971-2013, France : Université Bordeaux-II.

E

Eboh, A.S. 2014.« Biochemestry of free radicals and oxidants scholars. Academic journal of biosciences (SAJB), 2(2): 110-118. » 2014.

« eFlore ». s. d. Tela Botanica (blog). Consulté le 3 avril 2025. https://www.tela-botanica.org/eflore/.

El Gharras, Hasna. 2009. « Polyphenols: Food Sources, Properties and Applications – a Review ». International Journal of Food Science &Technology 44 (12): 2512-18. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02077.x.

Elboughdiri, Noureddine. 2018. « Effect of time, solvent-solid ratio, ethanol concentration and temperature on extraction yield of phenolic compounds from olive leaves ». Eng. Technol. Appl. Sci. Res 8 (2): 2805-8.

F

Falleh, Hanen, Chokri Hafsi, IchrakMohsni, et Riadh Ksouri. 2021. « Évaluation de différents procédés d'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale : Verbenaofficinalis ». Biologie Aujourd'hui 215 (3-4): 133-42. https://doi.org/10.1051/jbio/2021009.

Fattahi, Sadegh, EbrahimZabihi, ZeinabAbedian, RoghayehPourbagher, Ali MotevalizadehArdekani, AmrollahMostafazadeh, et HalehAkhavan-Niaki. 2014. « Total Phenolic and Flavonoid Contents of AqueousExtract of StingingNettle and In Vitro AntiproliferativeEffect on Hela and BT-474 Cell Lines ». International Journal of Molecular and Cellular Medicine 3 (2): 102-7.

Feillet, Pierre. 2000. Le grain de blé - Composition et utilisatio. https://www.quae.com/produit/437/9782759212811/le-grain-de-ble.

Fickers, Patrick, Franck Fudalej, Jean-Marc Nicaud, Jacqueline Destain, et Phillipe Thonart. 2005. « Selection of new over-producingderivatives for the improvement of extracellular lipase production by the non-conventionalyeastYarrowialipolytica ». Journal of biotechnology 115 (4): 379-86.

Filho, Danielle Gonçalves, Amanda Gonçalves Silva, et Carla ZanellaGuidini. 2019. « Lipases: Sources, Immobilization Methods, and Industrial Applications ». AppliedMicrobiology and Biotechnology 103 (18): 7399-7423. https://doi.org/10.1007/s00253-019-10027-6.

Fleurentin, Jacques. 2008. Plantes médicinales, traditions et thérapeutique.

François, Couplan. 2009. « Vol. 1 - Le régal végétal ». 2009. https://couplan.com/livres/vol-1-le-regal-vegetal/.

G

Gandhidasan, R., A. Thamaraichelvan, et S. Baburaj. 1991. « Anti-inflammatory action of Lanneacoromandelica by HRBC membrane stabilization. » https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19910305366.

GARNIER G., BEZANGER D.L., DEBRAU. 1961. Ressources médicinales de la flore française. Ed .Vigotfrères,Tome II, Paris VI. (1961).

Ghaima, Kais Kassim, Noor Makie Hashim, et Safaa Abdalrasool Ali. 2013. « Antibacterial and antioxidantactivities of ethylacetateextract of nettle (Urtica dioica) and

dandelion (Taraxacum officinale) ». Journal of Applied Pharmaceutical Science 3 (5): 096-099.

Ghedira, K., P. Goetz, et R. Le Jeune. 2009. « Urtica dioica L., Urtica urens et/ou hybrides (Urticaceae) ». Phytothérapie 7 (5): 279-85. https://doi.org/10.1007/s10298-009-0408-5.

GRANNER. 2008. Biochimie de HARPER. 3e édition. Bruxelle.

Gülçin, Ilhami, O. Irfan Küfrevioglu, MünirOktay, et Mehmet Emin Büyükokuroglu. 2004. « Antioxidant, Antimicrobial, Antiulcer and AnalgesicActivities of Nettle (Urtica Dioica L.) ». Journal of Ethnopharmacology 90 (2-3): 205-15. https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.028.

H

HADDOUCHI, Farah, et Abdelhafid BENMANSOUR. 2008. « Huiles essentielles, obtentions, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques ». https://doi.org/10.34874/PRSM.teclab-vol3iss8.344.

Hadizadeh, I., B. Peivastegan, et M. Kolahi. 2009. « Antifungal Activity of Nettle (Urtica Dioica L.), Colocynth (CitrullusColocynthis L. Schrad), Oleander (NeriumOleander L.) and Konar (Ziziphus Spina-Christi L.) Extracts on Plants Pathogenic Fungi ». Pakistan Journal of BiologicalSciences : PJBS 12 (1) : 58-63. https://doi.org/10.3923/pjbs.2009.58.63.

Hennebelle, T., S. Sahpaz, et F. Bailleul. 2004. « Polyphénols végétaux, sources,utilisations et potentiel dans la lutte contre le stressoxydatif ». Phytotherapie 2 (1): 3-6. https://doi.org/10.1007/s10298-004-0003-8.

Houde, Alain, Ali Kademi, et Danielle Leblanc. 2004. « Lipases and TheirIndustrial Applications ». AppliedBiochemistry and Biotechnology 118 (1): 155-70. https://doi.org/10.1385/ABAB:118:1-3:155.

J

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 65. 2012. « METHODE DE DETERMINATION DE LINDICE DE REFRACTION DES CORPS GRAS D'ORIGINE ANIMALE ET VEGETALE », 2012.

K

Kasouni, Athanasia I., Theodoros G. Chatzimitakos, Constantine D. Stalikas, TheoniTrangas, Alexandra Papoudou-Bai, et Anastassios N. Troganis. 2021. « The unexploredwoundhealingactivity of urtica dioica l. extrait : an in vitro and in vivo study ». Molecules 26 (20) : 6248.

Kavanagh, Frederick. 1981. « Official Methods of Analysis of the AOAC, 13th Ed. Edited by WILLIAM HORWITZ. The Association of Official AnalyticalChemists. » Journal of Pharmaceutical Sciences 70 (4) : 468-468. https://doi.org/10.1002/jps.2600700437.

Kazi Tani, Ch, T Le Bourgeois, et F Munoz. s. d. « Aspects floristiques des adventices du domaine phytogéographique oranais (Nord-Ouest algérien) et persistance d'espèces rares et endémiques ».

Kőszegi, K., Gy Végvári, É Stefanovits-Bányai, E. Békássy-Molnár, et A. Maráz. 2023. « Influence of the Harvesting Seasons on the Polyphenol Composition and Antimicrobial Activity of StingingNettle (Urtica Dioica L.) Extracts », septembre. https://doi.org/10.1556/066.2023.00156.

Kregiel, Dorota, EwelinaPawlikowska, et Hubert Antolak. 2018. « Urtica spp.:Ordinary Plants withExtraordinaryProperties ». Molecules : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry 23 (7) : 1664. https://doi.org/10.3390/molecules23071664.

Krief, Sabrina. 2003. « Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées ». Phdthesis, Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS. https://theses.hal.science/tel-00006170.

Kukrić, Zoran Z., Ljiljana N. Topalić-Trivunović, Biljana M. Kukavica, Snježana B. Matoš, Svetlana S. Pavičić, Mirela M. Boroja, et Aleksandar V. Savić. 2012. « Characterization of antioxidant and antimicrobialactivities of nettleleaves (Urtica dioica L.) ». Acta periodicatechnologica, no 43, 257-72.

Kumar, A. Ganesh, N. Nagesh, T. G. Prabhakar, et G. Sekaran. 2008. « Purification of extracellularacidprotease and analysis of fermentation metabolites by Synergistes sp. utilizingproteinaceoussolidwastefrom tanneries ». BioresourceTechnology 99 (7): 2364-72.

L

Langlade, Valérie. 2010. « L'ortie dioïque, Urtica dioica L. : étude bibliographique en 2010 ». s.n.

Laurance, L. 2011. « Caractérisation des composés phénoliques présents dans deux espèces du genre Alchemilla. Thèse de doctorat en chimie analytique. Université de Louis Pasteur. » Louis Pasteur.

Lazli, Amel, Moncef Beldi, Leila Ghouri, et Nour El Houda Nouri. 2019. « Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous (Parc National d'El Kala, -Nord-est algérien) ». Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège. https://popups.uliege.be/0037-9565/index.php?id=8429.

Lindenschmidt, R. C., A. F. Tryka, M. E. Goad, et H. P. Witschi. 1986. « The Effects of DietaryButylatedHydroxytoluene on Liver and Colon TumorDevelopment in Mice ». Toxicology 38 (2): 151-60. https://doi.org/10.1016/0300-483x(86)90116-2.

Luthria, Devanand L. 2008. « Influence of experimental conditions on the extraction of phenolic compounds fromparsley (Petroselinumcrispum) flakes using a pressurizedliquidextractor ». Food Chemistry 107 (2) : 745-52. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.074.

M

Maillard, M, -N. s. d. « Determination of the activity of an antioxidant by the DPPH° assay. » http://chimactiv.agroparistech.fr/resources/images/fiches/aliments/antioxydant-dpph/en/antyoxydant-image-6.png.

Martemucci, Giovanni, Ciro Costagliola, Michele Mariano, Luca D'andrea, Pasquale Napolitano, et Angela Gabriella D'Alessandro. 2022. « Free Radical Properties, Source and Targets, AntioxidantConsumption and Health ». Oxygen 2 (2) : 48-78. https://doi.org/10.3390/oxygen2020006.

Meunier, Nathalie. 1999. « Évaluation du potentiel de production de protéases bactériennes à partir de boues d'épuration municipales. » Masters, Québec : Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique. https://espace.inrs.ca/id/eprint/1861/.

Mikaeili, A, I Karimi, et M Modaresi. 2013. « Assessment of AntidermatophyticActivities of Urtica dioica L against Microsporum canis in a GuineaPig Model », 2013.

Mila, I, et A Scalbert. 1994. « TANNIN ANTIMICROBIAL PROPERTIES THROUGH IRON DEPRIVATION : A NEW HYPOTHESIS | International Society for Horticultural Science ». 1994. http://www.actahort.org/books/381/381_108.htm.

Mirtaghi, SeyedehMasoumeh, ParisaTorbatiNejad, MasoumehMasoumeh Mazandarani, FasihehLivani, et HaniehBagheri. 2016. « Evaluation of Antibacterial Activity of Urtica dioica L. LeafEthanolicExtractUsing Agar Well Diffusion and Disc Diffusion Methods. » MedicalLaboratory Journal 10 (5). https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=25384449&AN=122954872&h=jiV5GLlYjKNrfY%2FzqRlmjlOdk2Cb%2B5hmsfdaGUvoFbFYrzAjWSADhT4tUcIoEiG3cull2bcSGtzL%2FRQtBr0Gwg%3D%3D&crl=c.

Motamedi, Hossein, Seyyed Mansour Seyyednejad, AmenehBakhtiari, et MozhanVafaei. 2014. « Introducing Urtica dioica, a native plant of Khuzestan, as an

antibacterialmedicinal plant ». Jundishapur journal of naturalpharmaceuticalproducts 9 (4): e15904.

Moutsie. 2008. L'ortie, une amie qui vous veut du bien, l'encyclopedie d'utovie. Utovie.

N

Naczk, Marian, et FereidoonShahidi. 2004. « Extraction and analysis of phenolics in food ». Journal of Chromatography A, Food Science, 1054 (1) : 95-111. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059.

Navarre, Colette, et Françoise Langlade. 2010. L'œnologie. 7e édition. Agriculture d'Aujourd'hui.

Nogaret, A. 2011. La phytothérapie - Se soigner par les plantes - Anne-Sophie Nogaret - Librairie Eyrolles. https://www.eyrolles.com/Loisirs/Livre/la-phytotherapie-9782708135314/.

Nsemi, François Muanda. 2010. « Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques ». Phdthesis, Université Paul Verlaine - Metz. https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01752680.

Nyau, V., S. Prakash, J. Rodrigues, et J. Farrant. 2015. « Antioxidantactivities of Bambara groundnuts as assessed by FRAP and DPPH assays ». Am. J. Food Nutr 3 (1): 7-11.

O

Obame, ENGONGA Louis Clément. 2009. « Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines universite de ouagadougou Unité de Formation et de Recherche Sciences de la Vie et de la Terre ».

Orčić, Dejan, Marina Francišković, Kristina Bekvalac, EmilijaSvirčev, Ivana Beara, MarijaLesjak, et NedaMimica-Dukić. 2014. « Quantitative determination of plant phenolics in Urtica dioica extracts by high-performance liquidchromatographycoupledwith tandem mass spectrometricdetection ». Food chemistry143 :48-53.

P

Perumal Samy, Ramar, et PonnampalamGopalakrishnakone. 2010. « TherapeuticPotential of Plants as Anti-microbials for Drug Discovery ». Evidence-basedComplementary and Alternative Medicine : eCAM 7 (3) : 283-94. https://doi.org/10.1093/ecam/nen036.

« Plantes et botanique : Famille des Urticaceae ».2020. Plantes et botanique. Plantes et botanique. 27 mai 2020. https://www.plantes-botanique.org/.

Pradhan, Sudhan, Manivannan, et j Tamang, P. 2015.« Proximate, Mineral Composition and AntioxidantProperties of Some Wild LeafyVegetables ».ResearchGate74 :155-59.

R

Reaume, Tom. 2010. « Stingingnettle Urtica dioicaurticaceae-nettlefamily. Nature manitoba. - ». 2010.

Ribéreau-Gayon, Pascal. 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Dunod.

Robina, R. 2020. « Characterization of commercial lipase fromindigenousfungalstrains and biomass.Thèse de doctorat, university of gujrat. »

Ronald Ross Watson, Victor R Preedy, et ShermaZibadi. 2013. Polyphenols in Human Health and Disease. https://shop.elsevier.com/books/polyphenols-in-human-health-and-disease/watson/978-0-12-398456-2.

Roschek, Bill, Ryan C. Fink, Matthew McMichael, et Randall S. Alberte. 2009. « NettleExtract (Urtica Dioica) Affects Key Receptors and Enzymes Associated withAllergicRhinitis ». PhytotherapyResearch: PTR 23 (7) : 920-26. https://doi.org/10.1002/ptr.2763.

Rousseau, Christelle. 1997. « Etude comparative de l'ortie dioïque : urticadioïca L. (urticacées) et du lamier blanc ». Limoges. http://aurore.unilim.fr/ori-oai-search/notice/view/unilim-ori-67754.

Rutto, Laban K., Yixiang Xu, Elizabeth Ramirez, et Michael Brandt. 2013. « MineralProperties and Dietary Value of Raw and ProcessedStingingNettle(Urtica Dioica L.) ». International Journal of Food Science 2013 :1-9. https://doi.org/10.1155/2013/857120.

S

Sacchi, Karna L., Linda F. Bisson, et Douglas O. Adams. 2005. « A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in redwines ». American Journal of Enology and Viticulture 56 (3) : 197-206.

Saffidine, Karima. 2018. « Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de carthamuscaeruleus L. et de plantago major L. ».

Said, Amal Ait Haj, Ibrahim Sbai El Otmani, Sanae Derfoufi, et Adnane Benmoussa. 2016. « Mise en valeur du potentiel nutritionnel et thérapeutique de l'ortie dioïque (Urtica dioïca L.) ». Hegel 3 (3) : 280-92.

Schaffner, Willi. 1993. Les Plantes médicinales et leurs propriétés. Manuel d'herboristerie.

Scriban, René. 1999. Biotechnologie. Paris : Tec & Doc Lavoisier.

Sharma, Shashi kant, Devendra Singh, Himanshu Pandey, et Raj Babar Jatav. 2022. « An Overview of Roles of Enzymatic and NonenzymaticAntioxidants in Plant ». In AntioxidantDefense in Plants, 1-13. https://doi.org/10.1007/978-981-16-7981-0_1.

Sidaoui, F., Souad Igueld Belghith, Danielle Barth, Malika Trabelsi-Ayadi, et Jamila Kalthoum Cherif. 2015. « Study of Tunisiannettleleaves (Urtica dioica L.):mineral composition and antioxidantcapacity of theirextractsobtained by maceration and supercriticalfluid extraction ». International Journal of Pharmacognosy and PhytochemicalResearch 7 (4): 707-13.

Silva, E. M., H. Rogez, et Yvan Larondelle. 2007. « Optimization of extraction of phenolicsfrom Inga edulisleavesusingresponse surface methodology ». Separation and purification technology 55 (3) : 381-87.

Stamenic, Marko, Jelena Vulic, Sonja Djilas, Dusan Misic, Vanja Tadic, Slobodan Petrovic, et Irena Zizovic. 2014. « Free-radical scavengingactivity and antibacterial impact of Greek oreganoisolatesobtained by SFE ». Food chemistry165 :307-15.

T

Teuscher, Eberhard, Robert Anton, et Annelise Lobstein. 2005. Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles - Detail - Ermes. Tec&Doc-- Lavoisier-- Éd. Médicales internationales-- impr. En Italie.

Thabaut, A., et J.L. Durosoir. 1979. « L'Antibiogramme : Méthodes classiques et Méthodes automatisées ». Médecine et Maladies Infectieuses 9 (9) : 490-95. https://doi.org/10.1016/S0399-077X(79)80006-2.

Toldy, Anna, Krisztián Stadler, MáriaSasvári, JuditJakus, Kyung J. Jung, Hae Y. Chung, IstvánBerkes, CsabaNyakas, et ZsoltRadák. 2005. « The Effect of Exercise and NettleSupplementation on Oxidative Stress Markers in the Rat Brain ». Brain Research Bulletin 65 (6): 487-93. https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2005.02.028.

Toubal, Souheyla. 2018. « Caractérisation de la relation chémotypes de l'Ortie-bactéries vectorisées associées et évaluation de leurs activité sur Culex sp. » M'HAMED BOUGARA- BOUMERDES.

Toulemonde, Françoise. 2021. « Piquante et délicieuse Ortie (balade botanique) ». 11 mars 2021.

W

Wagner, H., F. Willer, R. Samtleben, et G. Boos. 1994. « Search for the antiprostaticprinciple of stingingnettle (Urtica dioica) roots ». Phytomedicine 1 (3) : 213-24. https://doi.org/10.1016/S0944-7113(11)80068-1.

Whitaker, John R. 1995. « PolyphenolOxidase ». In Food Enzymes : Structure and Mechanism, édité par Dominic W. S. Wong, 271-307. Boston, MA : Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2349-6_9.

Wichtl, Max, et Robert Anton. 2003. Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2e éd. Française. Paris Cachan : Tec & doc Éd. Médicales internationales.

Y

Yediel Aras, Şükran, ArzuGezer, BehzadMokhtare, et EbruKaradag Sari. 2025.« Effects of Vitamin D and Common Nettle (Urtica Dioica) Extract Administration on Mn-SOD and Catalase (CAT) Secretion in the Colon Tissues of Rats withExperimentallyInducedCrohn'sDisease ». Biotechnic&Histochemistry: Official Publication of the BiologicalStain Commission 100 (1) : 1-7. https://doi.org/10.1080/10520295.2024.2434753.