REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DE LA TECHNOLOGIE



Mémoire présenté pour l'obtention d'un diplôme de Master

Spécialité : Génie des Procédés Pharmaceutiques

Contribution à l'étude biologique des extraits organiques issue de deux plantes médicinales

Présenté par :

BOUAISSA Maroua

DAMERDJI Nesrine

Soutenu publiquement le 25/06/2024 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 : 2023/2024

Remerciements et Dédicaces

Remerciements

Tout d’abord, nous tenons à remercier الله Dieu le Tout-Puissant de nous avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail pour arriver à ce jour-là.

فاللهم لك الحمد كما ينبغي لجلال وجهك و عظيم سلطانك

Ce travail ne serait pas aussi riche et n’aurait pas pu voir le jour sans l’aide et l’encadrement de **Mme BENKIAR Amina.** Nous la remercions pour son encouragement, ses conseils précieux, sa disponibilité, ses suggestions pertinentes, ses critiques constructives et surtout pour sa patience tout au long de ce projet.

Nous souhaitons exprimer nos sincères remerciements à **Mme TERKMANE Naila** pour son aide pratique, son soutien moral et ses encouragements

Nous vous remercions sincèrement pour votre professionnalisme et le temps considérable que vous avez consacré à la correction de ce manuscrit. Nous vous exprimons toute notre gratitude pour votre encadrement sérieux et rigoureux. Que Dieu préserve votre optimisme et votre enthousiasme.

Nous remercions toute l’équipe de SAIDAL qui nous a accueillis chaleureusement. Un grand merci à **M. Bachir**, à **Mlle Abir** et à toute l’équipe du laboratoire de microbiologie pour leur encouragement, leur assistance, leur disponibilité et leurs conseils judicieux.

Nos chaleureux remerciements vont au vétérinaire **DRAOU Amine.** Merci pour dévouement et votre compassion envers nos rats Wistar, sans vous les essaies in vivo ne verront pas le jour.

Que toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail trouvent ici nos sincères remerciements.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers les jurys pour l'opportunité de présenter notre mémoire, avec l'espoir qu'il sera à la hauteur de leurs attentes.

En dernier, nous remercions tous les futurs lecteurs de ce modeste travail. Merci d’avoir pris notre travail comme modèle à suivre.

Nesrine et Maroua

Dédicaces

À la grâce de **Dieu**, qui m'a accordé le don d'écrire, la réflexion profonde et la détermination nécessaire pour réaliser mes rêves.

Ce modeste travail est dédié spécialement :

À ma chère mère **Samia**, en remerciement pour tout ce qu'elle fait.

À mon cher père **Mahfoud**, en témoignage de ma gratitude pour sa sagesse, sa générosité et son dévouement sans faille.

À mes précieux **parents**, merci d'avoir façonné la personne que je suis devenue. Puisse ce travail refléter mon profond respect, mon immense admiration et mon amour éternel pour vous.

À ma très chère sœur **Chahira,** pour son sourire réconfortant, ses bras accueillants et son cœur rempli d'amour et de sagesse, je sais à quel point ma réussite compte pour vous. Que Dieu vous protège et vous garde pour moi.

À mon beau-frère **Kamel**, son soutien inébranlable, pour ses conseils avisés, son rire contagieux.

À mes princes **Islem**, **Akram** et **Wail**.

À ma chère cousine **Fella**

À mes chères **Asmaa**, **Karima** et **Imane**

À ma chère binôme **Nesrine,** ma complice de ce chemin, qui a partagé avec moi les meilleurs et les pires moments.

À toute ma famille, mes amis, mes enseignants, et à tous ceux qui m'ont aidé un jour, que Dieu vous récompense pour tous vos bienfaits.

Enfin, à ceux qui ont cru en moi, je dédie ce projet avec tout mon cœur.

B. Maroua

Ce modeste travail est dédié spécialement :

À ma chère maman **Fazia**, ma raison de vivre, en témoignage de ma reconnaissance pour sa patience, son amour et ses sacrifices.

À mon cher papa **Achour** pour son amour et son dévouement.

À vous, mes parents, je dis merci d'avoir fait de moi celui que je suis aujourd'hui. Aucune dédicace ne pourra exprimer mes respects, mes considérations et ma grande admiration pour vous. Puisse ce travail vous témoigne mon affection et mon profond amour.

À ma très chère sœur **Isma**, pour son sourire réconfortant, ses bras accueillants et son cœur rempli d'amour et de sagesse, pour son soutien indéfectible, ton écoute attentive et tes encouragements constants, merci pour ta présence inestimable tout au long de ce chemin.

À mes chers frères **Samir** et **Yacine**, qui je le sais, ma réussite est très importante à leurs yeux. Que Dieu vous garde pour moi.

À ma très chère **Souhila,** qui m'a aidé est supporté dans les moments difficiles.

À mon beau-frère **Smail,** son soutien inébranlable, pour ses conseils avisés, son rire contagieux.

À ma princesse **Lina** et à mes princes **Rayan, Nazim** et **Racim**.

À mes très chères **Amira**, **Neila**.

À ma chère **Fella**, pour son aide précieuse.

À ma chère binôme **Maroua**, pour chaque moment passé ensemble à travailler sur ce projet, tu as été bien plus qu'un partenaire de projet, tu as été un pilier constant et une inspiration durant chaque défi et succès.

À toute ma famille, mes amis, mes enseignants, et à tous ceux qui m'ont aidé un jour, que Dieu vous récompense pour tous vos bienfaits.

Pour finir, à tous ceux que j'aime et qui m'aiment, je dédie ce mémoire.

D. Nesrine

Résumés

الملخص :

تهدف دراستنا إلى تقييم الأنشطة البيولوجية لنبتتين طبيتين "*Laurus nobilis* L. و*Urtica dioica L*." من ولاية المدية، وذلك من خلال تحليل نشاطهما المضاد للأكسدة والإنزيمي والمضاد للميكروبات والمضاد للالتهابات، بالإضافة إلى محتواهما من العناصر المركبات الفينولية والفلافونويدات والبروتينات. الخطوة الأولى في دراستنا هي استخلاص المركبات من أوراق هذه النباتات باستخدام كل من الاستخلاص الإيثانولي و ثابت الأس الهيدروجيني. ثم كشف التحليل الكمي للمستخلصات التي تم الحصول عليها عن ثرائها في إجمالي البوليفينول والفلافونويد والبروتينات. ومن بين هذه البروتينات الإنزيمات بما في ذلك الكاتالاز والليباز. يصل الأخير إلى ذروة نشاطه بعد 30 دقيقة، عند درجة حرارة 15 درجة مئوية وفي وجود $CaCl_2$(0.11 م). يُظهر المستخلص ثابت الأس الهيدروجيني من *Laurus nobilis* والمستخلص الإيثانولي من *Urtica dioica*أعلى نشاط ليبازي يبلغ 3066.66؛ 2400 (ميكرومول/دقيقة مل من المستخلص). من ناحية أخرى، تظهر الكاتالازات منخفضة. كشف تقييم نشاط مضادات الأكسدة من خلال تفكيك الجذور الحرة DPPH أن المستخلصات الإيثانولية والمخزنة لأوراق *Urtica dioica L*تقدم قوة مضادة للأكسدة قوية، مع IC50 يبلغ 42.04 و106.56 ميكرولتر/مل على التوالي. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للبكتيريا والفطريات لمستخلصاتنا، فإن المستخلصات الإيثانولية لكلا النباتين لها نشاط كبير ضد السلالات التي تم اختبارها. أخيرًا، أظهرت نتائج النشاط المضاد للالتهابات أن مستخلصاتنا تحقق أقصى قدر من الفعالية في تقليل وذمة المخالب الناجمة عن الكاراجينان في الفئران وأن المستخلصات ثابت الأس الهيدروجيني من *Urtica dioica*والغار تتميز بأعلى معدلات تثبيط (INH٪)، تصل إلى 79.42٪ و 71.43% على التوالي. وهذا يتطلب المزيد من الدراسات لتعزيز التطبيقات المحتملة لهذه النباتات الطبية في مجال طب الأعشاب واستكشافها في التطبيقات الصيدلانية.

الكلمات المفتاحية: النشاط البيولوجي، *Laurus nobilis* L.، *Urtica dioica L*.، البوليفينول، الفلافونويدات، البروتينات، مضادات الأكسدة، مضاد الجراثيم، مضاد الفطريات، CMI، النشاط الأنزيمي، القوة المضادة للالتهابات.

Résumé :

Notre étude a pour objectif d'évaluer les activités biologiques de deux plantes médicinales*« Laurus nobilis L.* et *Urtica dioica L.* » Provenant de la wilaya de Médéa., en analysant leur activité antioxydante, enzymatique, antimicrobienne, anti-inflammatoire, ainsi que leur teneur en composés phénoliques, en flavonoïdes et en protéines. La première étape de notre étude consiste à extraire les composés des feuilles de ces plantes, en utilisant à la fois l'extraction éthanolique et tamponnée. L'analyse quantitative des extraits obtenus a révélé leur richesse en polyphénols totaux, flavonoïdes et en protéines. Parmi ces protéines figurent des enzymes dont des catalases et des lipases. Ces dernières atteignent leur pic d'activité au bout de 30 min, à une température de 15 °C et en présence de $CaCl_2$(0,11M). L'extrait tamponné de laurier noble et l'extrait éthanolique de l'ortie dioïque présentent les activités lipasiques les plus élevées de 3066,66 et 2400 (µmol/min.mL d'extrait). Par contre les catalases montrent une faible activité. L'évaluation de l'activité anti-oxydante à travers le piégeage du radical libre DPPH a révélé que les extraits éthanolique et tamponné des feuilles d'*Urtica dioica L* présente un fort pouvoir antioxydant, avec des IC50 de 42,04 et 106,56µL/mL respectivement. En ce qui concerne l'activité antibactérienne et antifongique de nos extraits, les extraits éthanoliques des deux plantes possèdent une activité importante contre les souches testées. Enfin, les résultats de l'activité anti-inflammatoire ont démontré que nos extraits atteignent une efficacité maximale dans la réduction de l'œdème de la patte induit par la carraghénane chez les rats et que les extraits tamponnés d'ortie dioïque et de laurier noble se distinguent par les taux d'inhibition (INH%) les plus élevés, atteignant respectivement 79,42 % et 71,43 %. Ceci nécessite des études plus approfondies afin de renforcé l'application potentielle de ces plantes médicinales dans le domaine de la phytothérapie et leur exploration dans des applications pharmaceutiques.

Mots clés : Activité biologiques, *Laurus nobilis L.*, *Urtica dioica L.*,polyphénols, flavonoïdes, proteins, anti-oxydante, antibactérienne, antifongique, CMI, l'activité enzymatique, pouvoir anti-inflammatoire.

Abstract:

Our study aims to evaluate the biological activities of two medicinal plants "*Laurus nobilis* L. and *Urtica dioica L.*" from the wilaya of Médéa., by analyzing their antioxidant, enzymatic, antimicrobial, anti-inflammatory activity, as well as their content of phenolic compounds, flavonoids and proteins. The first step in our study is to extract the compounds from the leaves of these plants, using both ethanolic and buffered extraction. Then the quantitative analysis of the extracts obtained revealed their richness in total polyphenols, flavonoids and proteins. Among these proteins are enzymes including catalases and lipases. The latter reach their peak activity after 30 min, at a temperature of 15 °C and in the presence of $CaCl_2$ (0.11M). The buffered extract of *Laurus nobilis* and the ethanolic extract of *Urtica dioica*show the highest lipase activities of 3066.66 and 2400 (µmol/min.mL of extract). On the other hand, catalases show a low activity. The evaluation of the antioxidant activity through the scavenging of the free radical DPPH revealed that the ethanolic and buffered extracts of the leaves of *Urtica dioica L* present a strong antioxidant power, with IC50 of 42.04 and 106.56 µL/mL respectively. Regarding the antibacterial and antifungal activity of our extracts, the ethanolic extracts of both plants have significant activity against the strains tested. Finally, the anti-inflammatory activity results demonstrated that our extracts achieve maximum effectiveness in reducing carrageenan-induced paw edema in rats and that the buffered extracts of *Urtica dioica*and laurel stand out for the highest inhibition rates (INH%), reaching 79.42% and 71.43%, respectively. This requires further studies to strengthen the potential application of these medicinal plants in the field of herbal medicine and their exploration in pharmaceutical applications.

Keywords: Biological activity, *Laurus nobilis* L., *Urtica dioica L.*, polyphenols, flavonoids, proteins, antioxidant, antibacterial, antifungal, CMI, enzymatic activity, anti-inflammatory power.

Liste Des Abréviations

% : pourcentage

Abs : Absorption

AUG % : Pourcentage d'augmentation de l'oedème

BSA : Bovine Serum Albumin

$CaCl_2$: Chlorure de calcium

CMI : Concentration minimale inhibitrice

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

EPH : Établissement Public Hospitalier

FCR : Folin-Ciocalteu

H_2O_2 : Peroxide d'hydrogene

H_2SO_4 : Acide sulfirique

HCl : Acide chlorhydrique

IC50 : Concentration inhibitrice 50%

INH% : Pourcentage d'inhibition de l'œdème

Kat : Activité catalytique

LO : Extrait de laurier organique

LT : Extrait de laurier tampon

LH : Hydrolat de laurier

MS : Masse sèche

Na_2CO_3 : Carbonate de Sodium ou Carbonate de Soude

NaOH : Sodium hydroxide

OO : Extrait d'ortie organique

OT : Extrait d'ortie tampon

OH : Hydrolat d'ortie

pH : Potentiel d'hydrogène

UV : Ultra-violet

Liste des Tableaux et figures

1. **Figures :**

Figure 1: Arbuste de Laurus nobilis L.(Briot C., 2016) 11
Figure 2: Feuille de Laurier Noble. (lesarbres.fr)..... 11
Figure3: Fleurs de Laurus nobilis L. (lesarbres.fr) 12
Figure 4: Laurier noble avec fruits(lesarbres.fr)..... 12
Figure 5: Aspect morphologique de Laurus nobilis L. (Beloued, 2003) 13
Figure 6: Distribution des Lauracées à travers le monde (Paparella et al., 2022).. 15
Figure 7: Distribution d'Urtica dioica.L à travers le monde (StingingNettle : Pictures | Urtica dioica, s. d.) 20
Figure 8: Planche botanique d'Urtica dioïca.L (Plante, 2016) 21
Figure 9:feuilles Urtica dioica.L (Damien & Damien, 2021) 21
Figure 10: Tige Urtica dioica.L (Montagne, s. d.)..... 22
Figure 11: Poils urticants Urtica dioica.L (cultivetarue.fr) 22
Figure 12: Akène d'ortie (File: Wikimedia Commons, s. d.) 23
Figure 13: Fleurs mâles, et fleurs femelles d'ortie (Boyrie, 2016). 23
Figure 14: Racines d'Urtica dioica L. (File: Wikimedia Commons, 2022)..... 24
Figure 15: Utilisation des enzymes dans les différents secteurs d'industrie 32
Figure 16: Les rats utilisés pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire (originale)..... 47
Figure 17: Feuilles étudiées avant et après séchage..... 52
Figure 18: Différentes étapes de la dessiccation (originale)..... 53
Figure 19: matière végétale des plantes médicinales (originale) 54
Figure 20: Différentes étapes de préparations des extraits (originale)..... 55
Figure 21 : Réfractomètre (originale) 56
Figure 22: pH-mètre (originale) 57
Figure 23: Pycnomètre (originale)..... 58
Figure 24: dosage des polyphénols totaux (originale)..... 60
Figure 25: dosage des flavonoïdes (originale)..... 60
Figure 26: Protocole de l'activité protéolytique (originale). 62
Figure 27: Réaction d'une molécule anti-oxydante avec le radical DPPH (Liang &Kitts, 2014) 64

Figure 28: Solution éthanolique de DPPH (originale)..... 64
Figure 29 : Virage de couleur d'un extrait dans l'activité antioxydante DPPH (originale)..... 65
Figure 30: Protocole de l'activité lipasique. 67
Figure 31: Protocole de l'activité catalasique (originale)..... 68
Figure 32: Préparation de gélose nutritive (original)..... 71
Figure 33: Préparation de la suspension bactérienne..... 72
Figure 34: Processus d'antibiogramme. 73
Figure 35: la lecture des résultats..... 74
Figure 36: Les étapes de l'activité anti inflammatoire (original) 78
Figure 37: Taux d'humidité des feuilles des plantes étudiées 80
Figure 38 : Résultats des dosages des protéines des extraits des plantes étudiées .. 86
Figure 39 : Pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations des extraits de Laurus nobilis L. 87
Figure 40 : Pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations des extraits de l'Urtica dioica L..... 88
Figure 41 : L'effet de la température sur l'activité lipasique des extraits de Laurus nobilis L. 91
Figure 42: L'effet de la température sur l'activité lipasique des extraits del'Urtica dioica L..... 92
Figure 43: L'effet du temps sur la quantité des acides gras libérés de l'extrait éthanolique de l'ortie dioïque et l'extrait tamponnée de laurier noble. 93
Figure 44: L'effet de la concentration du CaCl2 sur l'activité lipasique des extraits préparés 94
Figure 45: les résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance des souches vis-à-vis des extraits éthanoliques, tamponnés de laurier noble et l'ortie dioïque. 96
Figure 46: Pouvoir antibactérien de l'extrait éthanolique de Laurus nobilis L.et Urtica dioica L. sur :a: Staphylococcus aureues; b: Bacilus subtilis; c: Staphylococcus epidermidis ; d: Pseudomonas aeruginosa; e: Escherichia coli. 97
Figure 47: Pouvoir antibactérien de l'extrait tamponné de Laurus nobilis L.et Urtica dioica L. sur :a: Staphylococcus aureues; b: Bacilus subtilis; c:

Staphylococcus epidermidis ; d: Pseudomonas aeruginosa; e: Escherichia coli. 98
Figure 48: Pouvoir antifongique de l'extrait éthanolique de Laurus nobilis L.et Urtica dioica L. sur : a: Aspergillus brasiliensis; b:saccharomyces cerevisiae ; c: candida albicans. 99
Figure 49: Pourcentage de l'augmentation d'épaisseur de la patte (AUG%) des rats traités par l'extrait éthanolique, l'extrait tamponné de Laurus nobilis L., Diclofénac et l'eau physiologique (témoin-). 101
Figure 50: Pourcentage de l'augmentation d'épaisseur de la patte (AUG%) des rats traités par l'extrait éthanolique, l'extrait tamponné de Urtica dioica L., Diclofénac et l'eau physiologique (témoin-). 101
Figure 51: Pourcentage d'inhibition d'épaisseur de la patte (INH%) des rats traités par l'extrait éthanolique, l'extrait tamponné de Laurus nobilis L. et Diclofénac. 102
Figure 52 : Pourcentage d'inhibition d'épaisseur de la patte (INH%) des rats traités par l'extrait éthanolique, l'extrait tamponné de Urtica dioica L. et Diclofénac. 102
Figure 53: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique. 108
Figure 54: Courbe d'étalonnage de la Quercétine. 108
Figure 55: Courbe d'étalonnage de l'albumine sérique bovine (BSA). 109
Figure 56: La courbe d'étalonnage de L'acide férulique. 109

2. Tableaux :

Tableau 1: Dénomination internationale de Laurus nobilis L. (Teuscher et al., 2005)---------- 10
Tableau 2: Classification botanique de Laurus nobilis L. (Quézel& Santa, 1962) 13
Tableau 3: Les principaux composants des feuilles de Laurus nobilis L. ---------- 15
Tableau 4: Dénomination internationale d'Urtica dioica L. (Bertrand, 2010)----- 18
Tableau 5: Classification botanique de Urtica dioica L. (Quézel & Santa, 1963) - 18
Tableau 6: Les composants de la plante d'Urtica dioica L («Novel Drug Targets With Traditional Herbal Medicines » , 2022)---------- 25
Tableau 7: Classification des enzymes et leur mode d'action. (McDonald et al., 2009)---------- 30
Tableau 8: Applications enzymatiques sur différents secteurs industriels --------- 36
Tableau 9 : Résumé de quelques pouvoirs biologiques des plantes étudiées.------- 42
Tableau 10: Les souches microbiennes testées---------- 48
Tableau 11: Les appareils utilisés dans la partie pratique ---------- 49
Tableau 12: Les verreries du laboratoire utilisées---------- 49
Tableau 13: Les produits utilisés ---------- 50
Tableau 14: Présentation des plantes sélectionnées et la région de récolte --------- 51
Tableau 15: les volumes de préparation de la gamme étalonnage de la BSA ------ 63
Tableau 16: Différentes concentrations d'extrait dans l'eau distillée.---------- 75
Tableau 17: Les caractéristiques organoleptiques des extraits des plantes préparés ---------- 81
Tableau 18: Les caractéristiques physicochimiques des extraits des plantes préparés ---------- 82
Tableau 19: Résultats du dosage des polyphénols des extraits des plantes préparés. ---------- 83
Tableau 20 : Résultats du dosage des Flavonoïdes des extraits des plantes préparés ---------- 85
Tableau 21: L'IC50 du test DPPH des extraits des plantes étudiées---------- 88
Tableau 22: les résultats de l'activité catalasique des extraits préparés---------- 95
Tableau 23: Valeurs des CMI pour la souche P.aeruginosa ---------- 99

Table des matières

REMERCIEMENTS ET DEDICACES I

RESUMES V

LISTE DES ABREVIATIONS IX

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES XI

TABLE DES MATIERES XVI

INTRODUCTION GENERALE 1

PREMIERE PARTIE : RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE 4

CHAPITRE I : LES PLANTES MEDICINALES 5

I.1. PHYTOTHERAPIE 6
I.2. LES DIFFERENTS TYPES DE LA PHYTOTHERAPIE 6
I.3. PLANTES MEDICINALES 7
I.3.1. Définition 7
I.3.2. Les métabolites primaires 7
I.3.3. Les métabolites secondaires 8
I.3.4. Modes de préparation 8
I.4. LAURIER NOBLE (LAURUS NOBILIS L.) 9
I.4.1. Famille des lauracées : 10
I.4.2. Etymologie du nom Laurus nobilis L. : 10
I.4.3.Le nom vernaculaire : 10
I.4.4. Les caractères botaniques : 10
I.4.5. Les caractères morphologiques : 11
I.4.6. Position systématique : 13
I.4.7. Répartition géographique : 14
I.4.8. Composition chimique de Laurus nobilis L. : 15
I.4.9. Usages traditionnelles et médicamenteux de Laurus nobilis L. : 16
I.5. ORTIE DIOIQUE (URTICA DIOICA L.) 17
I.5.1. La famille des Urticacées 17
I.5.2. Etymologie et dénomination d'Urtica dioica L. 18
I.5.3. Le nom vernaculaire 18
I.5.4. Position systématique 18
I.5.5. Origine et distribution géographique de L'ortie dioïque 19

I.5.6. Les caractères botaniques 20
I.5.7. Les caractères morphologiques 21
I.5.8. Composition chimique d'Urtica dioica. L 24
I.5.8. Usage traditionnelles et médicamenteux d'Urtica dioica L. 26
CHAPITRE II: LES CARACTERISTIQUES BIOLOGIQUES 28
II.1. GENERALITES SUR LES ENZYMES 29
II.1.1. Définition des enzymes 29
II.1.2. Mode d'action des enzymes 29
II.1.3. Classification des enzymes 30
II.1.4. Les enzymes industrielles 32
II.1.4.1. Origine des enzymes industrielles 33
II.1.4.2. Importance des enzymes industrielles 34
II.1.4.3. Application industrielle des enzymes : 35
II.2. LES CARACTERISTIQUES BIOLOGIQUES 38
II.2.1. Pouvoir enzymatiques 38
II.2.2. Pouvoir antioxydant 38
II.2.3. Pouvoir antibactérien 39
II.2.4. Pouvoir antifongique 40
II.2.5. Pouvoir anti-inflammatoire 41
II.2.6. Les caractéristiques biologiques des plantes étudiées 41
LA DEUXIEME PARTIE : LA PARTIE PRATIQUE 44
CHAPITRE III : MATERIELS &METHODES 45
III.1. PERIODE ET LIEU D'ETUDE 46
III.2. OBJECTIF D'ETUDE 46
III.3 MATERIELS ET PRODUITS UTILISES 47
III.3.1. Matériels biologiques 47
III.3.1.1. Matériel végétal 47
III.3.1.2. Matériel animal 47
III.3.1.3. Souches microbiennes 48
III.3.2. Matériels non biologiques 49
III.3.2.1Appareillage : 49
III.3.2.2. Verrerie 49

III.3.2.3. Produits 50
III.4. METHODES 51
III.4.1. Préparation du matériel végétal 51
III.4.1.1. Récolte 51
III.4.1.2. Lavage 51
III.4.1.3. Séchage 52
III.4.1.4. Déterminations du taux d'humidité 52
III.4.1.5. Broyage 53
III.4.2. Préparation des extraits 54
III.4.2.1. Méthode d'extraction 54
III.4.3. Caractérisation physico-chimique 56
III.4.3.1. Indice de réfraction 56
III.4.3.2. Potentiel d'hydrogène pH 57
III.4.3.3. Densité relative 58
III.4.4. Analyse quantitative 59
III.4.4.1. Dosage des polyphénols totaux ou pouvoir réducteur 59
III.4.4.2. Dosage des flavonoïdes 60
III.4.4.3. Dosage des protéines 61
III.4.5. Évaluation des activités biologiques 63
III.4.5.1. Activité anti-oxydante 63
III.4.5.2. Activité enzymatique 66
III.4.5.3. Activité antimicrobienne 71
III.4.5.4. Activité anti-inflammatoire 75
CHAPITRE IV: RESULTATS ET DISCUSSIONS 79
IV.1. CARACTERISATION DE LA MATIERE VEGETALE 80
IV.1.1. Taux d'humidité de la matière végétale 80
IV.2. LES CARACTERISTIQUES DES EXTRAITS 81
IV.3. ANALYSE QUANTITATIVE 83
IV.3.1. Dosage des polyphénols 83
IV.3.2. Dosage des flavonoïdes 85
IV.3.3. Dosage des protéines 86
IV.4. ANALYSE BIOLOGIQUE 87
IV.4.1. Activité anti-oxydante in-vitro 87

IV.4.2. Activité enzymatique 90
IV.4.2.1. Activité lipasique 90
IV.4.2.2. Activité catalasique 95
IV.4.3. Activité antimicrobienne 96
IV.4.3.1. Activité antibactérienne et antifongique : 96
IV.4.3.2. La concentration minimale inhibitrice (CMI) : 99
IV.4.4. Activité anti-inflammatoire 100
CONCLUSION GENERALE 104
ANNEXES 107
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 110

Introduction générale

Depuis plusieurs décennies, l'homme qui vit côte à côte avec les plantes, est habitué à les consommer pour leurs propriétés médicinales et nutritives **(Selles, 2012).**Les plantes médicinales représentent un précieux patrimoine pour l'humanité et sont très recherchées dans le monde entier, en particulier dans les pays en développement **(Rebbas et al., 2012)**. Environ 35000 espèces des plantes sont employées à l'échelle mondiale à des fins médicinales **(Hordé, 2014).**

Des enquêtes récentes ont établi que dans les pays occidentaux, où la chimie est essentielle à l'industrie pharmaceutique, 25 % des molécules utilisées sont d'origine végétale naturelle **(Bourgaud et al., 2001)**. Les médicaments à base de plantes ont une meilleure compatibilité avec le corps humain, plus efficaces et produisant de moindres effets indésirables **(Nidavani et Mahalakshmi, 2014).**

Les plantes médicinales font actuellement l'objet de recherches approfondies en raison de leur vaste diversité en métabolites secondaires, qui suscitent un intérêt considérable dans les secteurs de l'industrie alimentaire, de la cosmétologie et de la pharmacie **(Ribeiro et al, 2018 ; Chevallier, 2001)**. Parmi ces métabolites les composés phénoliques, les flavonoïdes…, qui sont largement utilisés, comme des agents préventifs anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiseptiques, mais essentiellement antioxydants qui défendent contre le stress oxydatif **(Bourgaud et al., 2001).** Les polyphénols ont fait l'objet d'études pour leur implication potentielle dans la prévention de maladies chroniques comme les maladies inflammatoires, infectieuses, cardiovasculaires, le cancer et le diabète. Leur activité de protection était initialement attribuée à leurs propriétés antioxydantes **(Tayel & El-tras, 2011).**

Les composés actifs extraits des plantes médicinales sont véritablement précieux pour la recherche scientifique. Ils font l'objet de nombreuses recherches visant à développer de nouveaux agents thérapeutiques prometteurs ainsi que des composants naturels dotés de forts pouvoirs antioxydants, enzymatiques et anti-inflammatoires **(Bourgaud et al., 2001).**

Dans l'espoir de valoriser les plantes médicinales de la flore Algérienne, nous avons eu recours à l'étude structurale et l'étude biologique de deux plantes utilisées en médecine traditionnelle : *Laurus nobilis L.* et *Urtica dioica L.*

L'objectif de ce travail est de mettre en évidence les activités biologiques des extraits (éthanolique et tamponnée) des feuilles de *Laurus nobilis L.* et l'*Urtica dioica L.*, en évaluant l'activité antioxydant, enzymatique et antimicrobienne in vitro, l'activité anti-inflammatoire in vivo.

Notre étude est scindée en deux grandes parties :

La première partie est consacrée à l'étude bibliographique qui regroupe deux chapitres :

- Chapitre I : est consacré à des généralités sur la phytothérapie, les plantes médicinales et une description botaniquedes deux plantes étudiées vis-à-vis la composition chimique, classifications botaniques et leurs utilisations.
- Chapitre II : est une recherche bibliographique sur les enzymes et les activités biologiques.

La deuxième partie est réservée à l'étude expérimentale comprenant la présentation du matériel et des protocoles expérimentaux utilisés pour l'extraction, la caractérisation des deux extraits étudiés, dosage des polyphénols et des flavonoïdes et la recherche de leurs activités antioxydante, enzymatique, antimicrobiennes et anti-inflammatoire. Suivi des résultats des différents tests effectués ainsi que leurs interprétations.

Finalement nous avons terminé notre recherche par une conclusion générale sur notre étude.

Première partie : rappel bibliographique

Chapitre I : Les plantes médicinales

I.1. Phytothérapie

La phytothérapie est une approche médicale alternative qui exploite les bienfaits thérapeutiques des plantes et de leurs composés actifs. Fondée sur des connaissances ancestrales et une analyse scientifique des substances actives des végétaux, cette discipline s'appuie également sur les retours d'expérience des patients. Elle offre une palette de solutions pour traiter divers troubles, que ce soit en prévention ou en traitement, qu'ils soient aigus ou chroniques, et même pour influencer les prédispositions individuelles à certaines maladies. Son premier objectif est de cibler la source du problème au lieu d'atténuer les symptômes. Les remèdes à base de plantes peuvent prendre différentes formes, telles que les tisanes, les décoctions, les infusions, les extraits chauds ou froids de la plante ou de parties spécifiques, les poudres et les solutions liquides **(Strang C., 2006).**

Le terme « phytothérapie » se décompose en deux termes distincts qui sont« phuton » et « therapeia », et qui signifient respectivement « plante » et « traitement » de par leur racine grecque **(WICHTL & ANTON, 2003).**

I.2. Les différents types de la phytothérapie

Il existe plusieurs types de phytothérapie :

- **Herboristerie :** Il s'agit de la méthode traditionnelle qui implique l'utilisation de la plante dans son ensemble ou d'une partie fraîche ou séchée. La préparation se fait généralement à travers des techniques simples telles que la décoction ou la macération, souvent dans de l'eau. Ces préparations peuvent également être disponibles sous des formes plus modernes telles que les gélules ou la poudre **(Strang C., 2006).**

- **Aromathérapie** : La médecine utilise les extraits aromatiques des plantes, un terme dérivé du latin « aroma » signifiant odeur et du grec « therapeia » signifiant traitement. Ainsi, il s'agit de traiter les maladies grâce aux huiles essentielles **(Bonnafous, s. d.).**

- **Homéopathie** : ce terme vient du grec «homoios» qui veut dire similaire et « Pathos » qui veut dire maladie, donc se repose sur le principe de similitude.

Traiter une personne seine à des symptômes semblables à ceux d'une personne affectée **(Chevallier, 2001).**

- **Phytothérapie pharmaceutique** : On parle ici de l'utilisation de produits d'origine végétale obtenus par extraction, puis dilués dans divers solvants. Ces extraits sont ensuite dosés et convertis en différents formats tels que sirop, gouttes ou gélules **(Strang C., 2006).**

I.3. Plantes médicinales

I.3.1. Définition

Les plantes médicinales sont des substances végétales qui possèdent des propriétés thérapeutiques, soit par leur usage traditionnel, soit par des preuves scientifiques de leur efficacité. Elles sont utilisées depuis des temps immémoriaux pour soulager ou guérir des maladies, en particulier dans les pays en développement où elles représentent une source importante de soins de santé. Les plantes médicinales peuvent contenir des substances actives qui peuvent être utilisées directement ou servir de précurseurs pour la synthèse d'autres médicaments utiles **(Sofowora, 2010).**

Dans le cadre du Code de la Santé Publique, il n'existe pas de définition légale précise d'une plante médicinale sur le plan juridique. Il s'agit plutôt d'une plante qui, bien qu'elle ne soit pas spécifiquement désignée comme médicinale, est disponible à la vente sans prescription dans les pharmacies.

Mais D'après la Xème édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales "sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses". Elles sont considérées comme des médicaments en France et font partie du monopole du pharmacien, sous réserve des dérogations établies par la loi **(Piraux, 2023).**

I.3.2. Les métabolites primaires

Les métabolismes primaires représentent les composés essentiels présents dans chaque cellule végétale, indispensables à la survie et au fonctionnement de la plante **(Raven et al., 2014).**

I.3.3. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires présentent une distribution restreinte parmi les diverses espèces végétales, Ils ont des fonctions très importantes pour la survie et la propagation des plantes qui les produisent, servant de signaux chimiques pour leur défense contre les herbivores et les agents pathogènes. Leur implication dans les réponses allopathiques, telles que la compétition entre les plantes pour la germination et la croissance. Il existe plusieurs groupes des métabolites secondaires, chaque groupe renferme une très grande diversité des composés qui possèdent une très large gamme d'activité en biologie humaine **(Jeaun et al., 2005).**

Il existe trois grands groupes des métabolites secondaires :

- Les alcaloïdes.
- Les composés phénoliques.
- Les terpènes.

Chaque groupe renferme une très grande diversité des composés qui possèdent une très large gamme d'activité en biologie humaine.

I.3.4. Modes de préparation

Depuis plusieurs décennies, l'homme qui vit côte à côte avec les plantes, est habitué à les consommer pour leurs propriétés médicinales et nutritives. En raison de cet effet thérapeutique, les pratiques traditionnelles et les études de recherche ont développé des méthodes de traitement des plantes visant à isoler spécifiquement les molécules bénéfiques pour leur utilisation locale, orale ou injectable **(Hilah et al., 2016).**

- **Infusion** : C'est la méthode de préparation la plus simple, souvent utilisée pour les parties délicates de la plante telles que les fleurs et les feuilles. **(Benderradji et al., 2021).** Une infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité de plantes sèches ou fraiches, en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minutes **(Abayomi, 2010).**
- **Décoction** : Cette méthode s'applique essentiellement aux parties souterraines de la plante, comme les racines, et aux écorces, qui libèrent difficilement leurs principes actifs lors d'une infusion **(Nogaret, 2011)**. Le principe est simple versez la matière

végétale dans de l'eau froide, portée ensuite à ébullition pendant environ 15 minutes ou plus, puis mise à reposer encore pendant une heure, avant de filtrer **(Abayomi, 2010).**

- **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).**

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).**

I.4. Laurier noble (*Laurus nobilis L.*)

Laurus nobilis L., connu sous le nom de laurier, laurier doux, laurier laurier, laurier romain ou daphné, est un arbuste méditerranéen à feuilles persistantes, parfumées et dioïque. La plante est généralement cultivée dans diverses régions chaudes du monde **(Kızılyıldırım et al., 2024).**

Laurier noble, l'une des plus anciennes épices connues, largement utilisée comme condiment et épice. Les feuilles sont traditionnellement utilisées dans la médecine populaire en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé, qui peuvent aujourd'hui être scientifiquement expliqués par diverses activités biologiques des extraits de feuilles **(Dobroslavić et al., 2022),** on leur attribue une longue liste d'utilisations médicinales, notamment anti-oxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, cytotoxiques, anti-asthmatiques, anti-arthritiques et analgésiques **(Boulila et al., 2015).**

Les extraits et les huiles obtenus à partir des feuilles de laurier sont utilisés dans divers domaines, notamment en médecine, en alimentation et en cosmétique **(Smach et al., 2024).**

I.4.1. Famille des lauracées :

Laurier (*Laurus nobilis L.*), appartient à la famille des Lauracées (Lauraceae), famille botanique importante souvent aromatiques, ses espèces peuvent être reconnues par leur odeur aromatique **(Kızılyıldırım et al., 2024)**, les Lauracées regroupent environ 32 genres et 2 000 à 2 500 espèces différentes **(Barla et al., 2007).**

I.4.2. Etymologie du nom *Laurus nobilis L.* :

Etymologiquement, le nom latin laurus signifiant « toujours vert » fait allusion au feuillage persistant de la plante et nobilis du latin « fameux » **(Pariente L., 1997).**Son nom et aussi symbole du succès dans nos jours à travers le baccalauréat du latin « Bacca Lauri » soit baies de laurier **(Zhiri et al., 2005).**

I.4.3.Le nom vernaculaire :

La plante possède plusieurs noms vernaculaires, "Rand", est le nom le plus connue en Algérie, pour les autres dénominations voir le tableau ci-dessous.

Tableau 1*:* Dénomination internationale de *Laurus nobilis L.* **(Teuscher et al., 2005)**

Langue	Dénomination vernaculaire
Français	Laurier commun, laurier sauce, laurier franc, laurier noble.
Anglais	Bay, sweetbay, baylaurel, truelaurel, roman laurel, noble laurel.
Arabe	Rand (رند), warakatesidnamousa (ورقة سيدنا موسى), El ghar (الغار).

I.4.4. Les caractères botaniques :

Le laurier est un arbuste ou arbre aromatique mesurant de 2 à 6 m et jusqu'à 15 m de haut à croissance lente, et au tronc droit ramifié dès la base avec un sommet conique, et s'arrondissant en fil du temps. L'écorce est noire à gris foncé et lisse. Ces branches remontent en oblique avec des jeunes pousses fines, glabres et brun rougeâtre dont les bourgeons sont étroits, verts rougeâtres et longs de 0,2 à 0,4 cm **(Kendir, 2022).**



Figure 1: Arbuste de *Laurus nobilis L.***(Briot C., 2016)**

I.4.5. Les caractères morphologiques :

Laurus nobilis L. est caractérisé par :

- **Les feuilles** :

Les feuilles sont simples, alternes, et ont une forme oblongue-lancéolée à ovale. Leur extrémité est pointue ou effilée, et elles peuvent être dentelées ou ondulées sur les bords. Les feuilles sont épaisses et coriaces, avec un court pétiole, mesurant entre 3–10 (11) cm de hauteur et 2–4 (5) cm de largeur. La partie supérieure des feuilles est brillante et de couleur vert foncé à brune, tandis que la partie inférieure est mate, de couleur verte plus claire à brune, avec une nervure médiane et des nervures bien marquées. Elles ont une odeur aromatique, surtout après froissage, une saveur un peu amère **(Elachouri et al., 2023).**



Figure 2: Feuille de Laurier Noble. **(lesarbres.fr)**

- **Les fleurs** :

Dioïques (fleurs mâles et femelles sur des pieds séparés), de 0,4 à 0,8 cm avec une couleur jaune et se présentent en petites grappes. Les fleurs mâles se distinguent par la présence de 8 à 12 étamines, tandis que les fleurs femelles possèdent 2 à 4 staminodes. Le périanthe est constitué de 4 à 6 lobes. L'ovaire est situé au-dessus, avec plusieurs cellules, un style court et un stigmate triangulaire obtus **(Elachouri et al.,2023)**.



Figure3: Fleurs de *Laurus nobilis* L. **(lesarbres.fr)**

- **Les fruits** :

Le fruit est une baie mesurant entre 10 et 15 mm, contenant une seule graine, de forme globuleuse à ellipsoïdale, et de couleur noire à maturité **(Elachouri et al., 2023)**.

Elles renferment une graine unique composée de deux cotylédons riches en lipides et parfumés. La présence élevée de matières grasses entraîne une oxydation rapide, limitant ainsi la capacité de germination de la graine. Souvent, les baies demeurent sur l'arbre tout au long de l'hiver, parfois même jusqu'au printemps suivant. Leur huile peut être extraite pour la fabrication de savons **(Quézel& Santa, 1963).**



Figure 4: Laurier noble avec fruits**(lesarbres.fr)**

- **Écorce** :

Écorce gris foncé à très foncé, mate plus ou moins lisse chez les jeunes sujets et s'écaillant chez les très vieux arbres **(Botineau, 2010).**

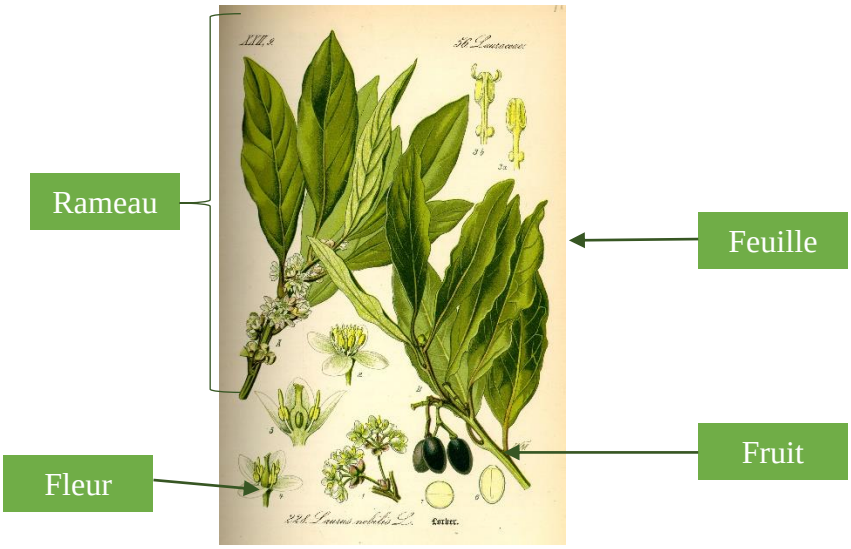


Figure 5: Aspect morphologique de *Laurus nobilis L*. **(Beloued, 2003)**

I.4.6. Position systématique :

La position systématique de la plante est décrite dans le tableau ci-dessous

Tableau 2: Classification botanique de *Laurus nobilis L.* **(Quézel& Santa, 1962)**

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous –embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées
Genre	Laurus
Espèce	*Laurus nobilis* L.

I.4.7. Répartition géographique :

Laurier noble est une herbe aromatique appartenant à la famille des Lauracées connue sous le nom de laurier, daphné, laurier, laurier vrai ou laurier doux. C'est un arbre ou un arbuste à feuilles persistantes, une plante indigène de la région sud de la méditerranée, que l'on trouve dans les régions à climat chaud et à fortes précipitations, cette espèce préfère les hivers doux, avec des températures ne descendant pas en dessous de -5 °C **(Teuscher et al., 2005, Mohammed et al., 2021)**.

Il est originaire de la région méditerranéenne et pousse naturellement en Europe et en Californie. La plante est largement cultivée dans de nombreuses régions chaudes du monde, notamment en Inde, au Pakistan et certains Pays d'Asie du Sud-Est, certaines îles du Pacifique, L'Australie, sur la côte méditerranéenne et Europe du Sud, Grèce, Portugal, France, Turquie, Espagne, Algérie, Maroc, Belgique, Amérique centrale, Mexique, Sud des États-Unis et les îles Canaries **(Parthasarathy et al., 2008).**

Les principaux pays producteurs sont la Turquie, qui représente les deux tiers du commerce mondial, suivie de l'Albanie, du Maroc, de la Grèce et de l'Italie (**Geerts, 2002).**

À l'exception des sols excessivement acides, le laurier est capable de s'adapter à divers types de sols. Il prospère facilement dans les sols profonds et humides tout au long de l'année. Idéalement, le sol devrait être riche en nutriments et en bases, avec un pH proche de la neutralité **(Teuscher et al., 2005)**.

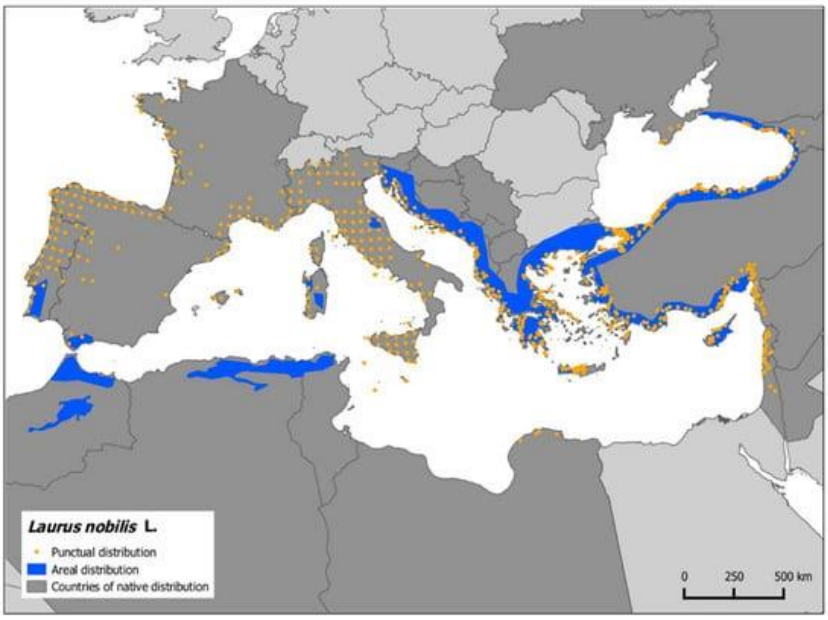


Figure 6: Distribution des Lauracées à travers le monde **(Paparella et al., 2022)**

I.4.8. Composition chimique de *Laurus nobilis L.* :

De nombreuses études ont été menées pour déterminer la composition chimique des feuilles de *Laurus nobilis L.* Plusieurs d'entre elles ont confirmé la richesse de ces feuilles en substances actives. La composition chimique des feuilles est décrite dans le tableau 3 :

Tableau 3: Les principaux composants des feuilles de *Laurus nobilis L.*

Classes	Composés
Acides phénoliques	Acide phénylacrylique, carbonique : libres ou estérifiés, acides p-coumarique, fénulique, sinapique, gentisuque etvanillique **(Barla et al., 2007)**
Flavonoïdes	Principalement la rutine, l'isoquercitrine, l'hypéroside et kaempférol-3 rhamnoside et3- arabinoside. Le kaempférrol-3-rhamnoside, 2-p-coumaroyles **(Fiorini et al., 1998)**
Alcaloïdes	Actinodaphonine, isodomesticene,launobine,N-méthylactinodaphonine,nandigérine , néolitsine etréticuline **(Pech & Bruneton, 1982)**
Lactones sesquiterpéniques	La déhydrocostuslactone, artémoreine, érémanthine, désacétyllaurénobiolide, laurénobiolide, reynosine, santamarine **(Yoshikawa et al., 2000)**

Tocophérols (vitamine E)	L'α-tocophérol, Le γ-tocophérol dans les branches et les racines, les feuilles ont révélé la présence d'α, β, δ et γ-tocophérol **(Kendir, 2022)**

I.4.9. Usages traditionnelles et médicamenteux de *Laurus nobilis L.* :

Le laurier est principalement utilisé pour traiter les troubles de l'appareil digestif supérieur et les douleurs arthritiques. En outre, il favorise l'appétit et la sécrétion des sucs gastriques. Lorsqu'elles sont utilisées comme condiment, ses feuilles facilitent la digestion et l'assimilation des aliments. L'huile essentielle, diluée dans une huile neutre, employée sous forme d'onguent pour frictionner les muscles et les articulations douloureuses, Il faut cependant faire attention d'utiliser l'huile essentielle par voie interne et l'appliquer pure sur la peau en raison des risques d'allergie. Ajoutée à l'eau du bain, la décoction des feuilles apaise les membres douloureux. En infusion, ses feuilles étaient consommées pour leurs effets révulsifs et toniques sur l'estomac et la vessie ; sous forme de cataplasme, elles passaient pour soulager les piqûres de guêpe ou d'abeille. Les écorces de laurier « brise les pierres [dans les reins] et soulage les affections du foie » **(Chevallier, 2001).**

En Algérie, La décoction de feuille est utilisée dans le traitement de l'hypertension. Les décoctions de feuilles et de racines sont utilisées pour traiter les infections respiratoires, génitales et broncho-pulmonaires. En cas de chute de cheveux, la décoction ou l'infusion de feuilles s'applique sous forme de massage **(Kendir, 2022).**

A Chypre, on utilise les feuilles de cette plante en infusion pour traiter divers problèmes tels que les affections biliaires, renforcer le système immunitaire, soulager les brûlures, agir comme sédatif, apaiser les irritations cutanées, purifier le sang et détoxifier **(Karousou&Deirmentzoglou, 2011).**

En Argentine, la décoction des feuilles séchées est administrée par voie orale pour traiter les infections des voies respiratoires et urinaires **(Ross, 2001).**

En Italie, L'extrait d'eau chaude de feuille séchée est utilisé en externe pour les inflammations. L'infusion de feuille se prend par voie orale comme antispasmodique contre les coliques abdominales, ainsi comme sédatif et digestif. L'huile essentielle est

utilisée comme émollient pour les hémorroïdes et les saignements sous-cutanés. Le fruit est pris par voie orale comme laxatif. Le fruit séché, macéré dans l'alcool, est mélangé avec de l'huile d'olive et utilisé en usage externe comme antirhumatismal. L'extrait éthanol/eau est pris par voie orale pour traiter les maux d'estomac. Un cataplasme préparé à partir de la feuille est utilisé pour traiter les piqûres d'insectes **(Ross, 2001).**

I.5. Ortie dioique (*Urtica dioica L.)*

La grande ortie (*Urtica dioica L.*) est utilisée comme légume sauvage depuis des siècles. C'est une plante herbacée vivace aux feuilles épineuses, appartenant à la famille des orties (Urticacée). Alors que l'ortie peut être trouvée presque partout, la plante est largement cuisinée dans les régions où les légumes sont rares **(Uprety et al., 2012)**. L'ortie est utilisée comme remède naturel pour ses propriétés curatives depuis plus de 2000 ans. Cependant, ce n'est qu'au tournant du siècle que son potentiel médicinal a été pleinement apprécié, commençant par l'identification de la structure chimique et des qualités pharmacologiques des composés chimiquement actifs **(Said, 2015)**. Pendant près d'un siècle, ils ont été considérés comme un aliment ou une partie d'aliment ayant des propriétés thérapeutiques et censées prévenir et traiter les maladies **(Pant, 2019)**. Les feuilles sont un légume nutritif qui peut être cuisiné et mangé, ainsi qu'utilisé en phytothérapie **(Singh & Kali, 2019)**.

I.5.1. La famille des Urticacées

La famille des Urticacées est une famille de plantes comprenant environ 1000 espèces réparties à travers le monde, avec des représentants dans la plupart des régions tropicales, mais certaines espèces, telles que *Urtica dioica*, sont également présentes dans les régions tempérées. Ces plantes sont caractérisées par la présence de poils urticants sur leurs feuilles et tiges, qui peuvent provoquer des démangeaisons **(APG II, 2003).**

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 **(BEZANGER-BEAUQESNE et al., 1961).**

I.5.2. Etymologie et dénomination d'*Urtica dioica L.*

Le mot français « ortie » est un dérivé du latin *Urtica* venant du verbe urere, qui signifie « brûler », en référence au caractère urticant de cette plante par extension urticaire, se disent de toutes espèces démangeaisons similaires à celles provoquées par les piquantes d'orties **(Boyrie, 2016)**. Le nom d'espèce *dioica* se disait dioïque en français quant à lui viendrait du grec ***di-oïkos*** signifiant « 2 maisons », en référence au caractère dioïque de la plante avec des pieds mâles et des pieds femelles séparés distincts à la différence de monoïque où les fleurs mâles et femelles sont présentes sur le même pied **(Upton, 2013)**.

I.5.3. Le nom vernaculaire

La plante possède plusieurs noms vernaculaires, d'après **Beloued (2001/1998)**"Horaig", est le nom le plus connue en Algérie. Les autres dénominations sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4: Dénomination internationale *d'Urtica dioica L.* **(Bertrand, 2010)**

Langue	Dénomination vernaculaire
Français	Grande ortie, ortie dioïque, ortie commune.
Anglais	Stinging nettle (U. dioica); dwarf stinging nettle (U. urens); nettle.
Arabe	Horaig (حريق) ,nabatalqaras (نباتالقراص) .

I.5.4. Position systématique

La position systématique de la plante est décrite dans le tableau ci-dessous

Tableau 5: Classification botanique de *Urtica dioica L.* **(Quézel & Santa, 1963)**

Classification	Nom scientifique et nom commun
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 L
Espèce	*Urtica dioica L*

I.5.5. Origine et distribution géographique de L'ortie dioïque

Parmi les espèces du genre Urtica, *Urtica dioica L*. est la plus grande et la plus répandue, elle s'est répandue dans toutes les régions tempérées du monde qui pousse dans certaines régions du monde en fonction de l'altitude, du terrain, du climat et autres conditions environnementales **(Ghedira et al., 2009)**. Originaire d'Eurasie, On la rencontre plus en Europe du Nord qu'en Europe du Sud, en Afrique du nord, en Asie et largement distribuée en Amérique du Nord et du Sud, Alors *Urtica dioica L* est largement répandue à travers le monde, avec une présence particulière dans les régions tropicales et subtropicales **(Schauenberg& Paris, 2005)**.



Figure 7: Distribution *d'Urtica dioica.L* à travers le monde (StingingNettle : Pictures | *Urtica dioica, s. d.)*

Elle pousse sur tous les terrains, argileux ou sablonneux, calcaires ou siliceux, surtout ceux contenant des matières organiques fraîches mais toujours riches en azote (elle fait partie des plantes nitrophiles) et de préférence avec une certaine humidité (plante hygrophile) surtout lors de son implantation. *Urtica dioica L*est très résistante à la sécheresse, on la trouve aussi bien en plein soleil à l'abri d'une façade qu'au fond d'un vallon ombragé. Symbole de milieux riches et fertiles, l'Ortie ne pousse jamais seule, mais en grands massifs compacts à l'abri desquels s'installe de nombreux insectes **(Draghi, 2005)**.

I.5.6. Les caractères botaniques

L'Ortie, une plante élancée, peut atteindre une hauteur de 60 à 90 cm, voire dépasser 1 m 50**(Singh & Kali, 2019)**. Reconnaissable à ses feuilles opposées et à ses petites fleurs regroupées en grappes ou en "boulettes" de teinte verdâtre, elle se reproduit vivacement grâce à ses organes souterrains. Ces derniers se composent de rhizomes cylindriques mesurant entre 3 et 10 mm d'épaisseur, ainsi que de longues racines variant de 1 à 5 mm d'épaisseur, ornées d'un réseau de fines racines**.** Les jeunes pousses sont récoltées au printemps **(Viotti et al., 2022 ; Bertrand, 2010 ;Buronzo, 2013)**.



Figure 8: Planche botanique *d'Urtica dioïca.L* **(Plante, 2016)**

I.5.7. Les caractères morphologiques

*Urtica dioica L*est caractérisé par :

a. **Les feuilles :**

Les feuilles se distinguent par leur disposition opposée sur la tige et leur bord grossièrement dentelé de manière triangulaire de couleur vert foncé en raison de leur richesse chlorophylle **(Testai et al., 2002)**, elles sont en général plus longues que larges mesurent de 3 à 15 cm de long. Elles sont recouvertes de poils urticants mais seulement sur la face supérieure **(Upton, 2013)**. Elles répandent une faible odeur herbacée ; leur saveur est aigrelette et astringente **(Bertrand, 2010)**.



Figure 9:feuilles *Urtica dioica.L* **(Damien & Damien, 2021)**

b. Tige

La tige d'Urtica dioïca.*L* est dressée, robuste, non ramifiée, et à section quadrangulaire. Elle peut atteindre 1.5 m de hauteur et couvertes de poils urticants (L'effet irritant de l'ortie provient de l'acide formique) et des poils courts, très fibreuse porte des feuilles **(Wichtl& Anton, 2003)**.



Figure 10: Tige *Urtica dioica.L* **(Montagne, s. d.)**

c. Poils urticants :

Tous les organes d'*Urtica dioica.L* sont recouverts de poils urticants. Il y a deux types de poils urticants : des longs poils urticants appelés scientifiquement des trichomes qui agissent comme des aiguilles hypodermiques, injectant de l'histamine et d'autres produits chimiques produisant une sensation de piqûre au contact des humains et d'autres animaux et de petits poils souples **(Pullin& Gilbert, 1989)**.



Figure 11: Poils urticants *Urtica dioica.L* **(cultivetarue.fr)**

d. Fruit

Le fruit d'Urtica dioïca.*L* est constitué d'un akène jaune brun ovale de forme aplatie. Il est enfermé dans un calice persistant contenu une graine. Généralement, ils

sont entourés de deux feuilles extérieures étroites et deux feuilles intérieures grandes et larges, elles s'ouvrent à maturité pour que cet akène tombe **(Candais, 2019)**.



Figure 12: *Akène d'ortie* (**File: Wikimedia Commons, s. d.)**

e. Les fleurs

Apparaissant de juin à septembre, sont disposées à l'aisselle des feuilles, en grappes ramifiées, dans toute la partie supérieure de la plante. La fleur femelle est verdâtre et son ovaire est surmonté d'un style et d'un stigmate en pinceau. La fleur mâle est jaunâtre et comporte quatre étamines à filets longs, élastiques, repliés dans le bouton floral **(Moutsie, 2006)**.

La floraison est estivale, soit du printemps jusqu'au début d'automne **(Fletcher., 2007).**



Figure 13: Fleurs mâles, et fleurs femelles *d'ortie* **(Boyrie, 2016).**

f. **Racines**

Ce sont des rhizomes - tiges souterraines, jaunâtres, traçants et abondement ramifierpuissants qui développent chaque année de nouvelles pousses, pouvant donner

naissance à une colonie dense, d'où le caractère par fois envahissant de l'ortie ils fixent l'azote de l'aire **(Moutsie, 2006)**.



Figure 14*:* Racines *d'Urtica dioica L.* **(File: Wikimedia Commons, 2022)**

I.5.8. Composition chimique *d'Urtica dioica. L*

Urtica dioica.L est une plante riche en composants qui sont utilisés depuis longtemps **(Dhouibi et al. 2020)**, Vu son usage traditionnel millénaire, les scientifiques ont accordé un important intérêt à sa composition chimique. Jeune pousse de plante fraîche : Il a été démontré qu'elle contient (90 %) d'humidité, des glucides totaux (7,1 %), des fibres alimentaires (6,4 %), des protéines (3,7 %), des cendres (2,1 %) et des graisses (0,6 %). De plus, la plante (jeune pousse) est riche en vitamine A, calcium, fer et protéines **(Rutto et al., 2013)**. Les teneurs en phénols, flavonoïdes, minéraux et vitamines dans la structure de la plante sont données dans le tableau suivant :

Tableau 6: Les composants de la plante *d'Urtica dioica L* **(«Novel Drug Targets With Traditional Herbal Medicines » , 2022)**

Classes	Composés
Acides aminés	Alanine, arginine, acide aspartique + asparagine, acide glutamique + glutamine,glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine,proline, sérine, thréonine, tyrosine, valine, γ-aminobutyrate
Glucides	β-Glucose, α-glucose, α-rhamnose, saccharose, myo-inositol, inuline
Acides organiques	Acide acétique, acide citrique, acide formique, acide malique, acide malonique, acide quinique, acide succinique
Acides gras	Acide α-linolénique, acide arachidique, acide arachidonique, acide béhénique, acide cis-10-heptadécénoïque, acide cis-11,14-écosadiénoïque, acide hénéicosanoïque, acide heptadécanoïque, acide laurique, acide lignocérique, acide myristique, acide myristoléique, acide nervonique, acide palmitique, acide palmitoléique, acide stéarique, acide tricosanoïque
Caroténoïdes	13-cis-lutéine, 13-cis-lutéine, 9'-cis-lutéine, 9-cis-lutéine, tout-trans-lutéine, tout-trans-β-carotène, lycopène, néoxanthine, violaxanthine, β-carotène-isomères cis
Composés phénoliques	(+)-Néo-olivil, 1,2-diguaiacyle-1,3-propanediol, acide caféique, coniférol, esculetin, acide férulique, acide férulique, acide gallique, acide gentisique, , alcool homovanillylique, isolariciresinol, acide p-coumarique, p-

	hydroxy-acétophénone, acide protocatéchuique, acide quinique, alcool salicylique, sécoisolaïcirésinol, alcool sinapylique, scopoletin, acide syringique, tyrosol, acide vanillique
Flavonoïdes	Amentoflavone, catéchine, hydrate de catéchine, crysséroïol, épicatechine, isorhamnétine, isorhamnétinehexoside, isorhamnétine-3-O-rutinoside, kaempférol, kaempférol-3-O-glucoside, quercétine dihexoside, quercétine-3-O-glucoside, quercétine-3-O-rutinoside
Composés volatils	(E)- β-Ionone, (E)-anéthol, (E)-géranyl acétone, 2-heptanone, 2-pentylfurane, salicylate de benzyle, carvacrol, carvone, aldéhyde de cumin, heptanal, hexanal, linalol, palmitate de méthyle, naphtalène, néophytadiène, nonanal, octanol, p-cymène, β-bourbonène, β-carophyllène, γ-cadinène, γ-sitostérol, δ-cadinène

I.5.8. Usage traditionnelles et médicamenteux *d'Urtica dioica L.*

Urtica dioica.L est une plante qui a traditionnellement des utilisations à la fois médicinales et non médicinales. Elle peut être transformée en thé, est mangeable et peut être utilisée comme composant dans des boissons et cocktails en raison de sa nature nutritive **(Kregiel et al. 2018)**. De plus, elle a été utilisée dans de nombreux domaines non médicaux tels que le tissu, le fil, le papier, la teinture et le répulsif à mouches **(Taheri et al., 2022).**

Dans l'utilisation médicale d'*Urtica dioica.L*, des parties de la plante telles que la plante entière, les feuilles, les racines et les graines sont utilisées. *Urtica dioica.L* a des effets tels qu'astringent, anti-inflammatoire, diurétique, anticancéreux, antihypertenseur, antioxydant, antihyperglycémique, antiprolifératif et anti-pelliculaire, antibactérien, analgésique, antiviral, anti-colite, et anti-Alzheimer. De plus, elle est utilisée en interne

dans les hémorroïdes, le traitement des saignements menstruels abondants, l'anémie, la jaunisse, les calculs dans la vessie, la goutte, la prévention des vertiges, les hémorragies, l'arthrite ; utilisée en externe pour le traitement de la sciatique, les problèmes capillaires, la névralgie, les piqûres d'insectes, les saignements de nez, et les rhumatismes **(Ghedira et al., 2009)**.

Chapitre II: Les caractéristiques biologiques

II.1. Généralités sur les enzymes

II.1.1. Définition des enzymes

Les enzymes sont des molécules de nature protéique, reconnues comme des catalyseurs biologiques hautement efficaces, elles accélèrent les réactions biochimiques en augmentant leurs vitesses d'au moins 10^6 fois, par rapport à la réaction en leur absence **(Chapman et al., 2018 ;Granner, 2008).** Les enzymes permettent la conversion des substrats en produits nécessaires à divers processus et réactions indispensables à la survie et au développement des organismes vivants. Elles sont omniprésentes chez différentes espèces et jouent un rôle crucial au niveau cellulaire en facilitant une gamme diversifiée de réactions biochimiques fondamentales **(Li et al., 2012).**

Les enzymes sont des protéines de très hauts poids moléculaires (10 000 à 1 000000 Daltons) se forment à partir de milliers d'acides aminés alignés en une structure linéaire. Ces acides aminés présentent une diversité chimique et sont connectés les uns aux autres par des liaisons covalentes nommées liaisons peptidiques **(Ribadeau-Dumas, 1991)**. Les enzymes contribuent à la décomposition des nutriments en composés plus facilement assimilables **(Meunier, 1999).** Parmi les enzymes les plus connues, celles présentes dans le tube digestif sont particulièrement importantes. La pepsine, la trypsine et les peptidases, par exemple, décomposent les protéines en acides aminés, tandis que les lipases dégradent les graisses en glycérol et en acides gras. Les amylases transforment les hydrates de carbone en sucres plus simples **(Burhan et al., 2003).**

En plus, de leur rôle très important au niveau des cellules des différents organismes vivants, Aujourd'hui, les enzymes présentes un intérêt et une demande croissante à l'échelle industrielle, notamment dans la production de produits chimiques fins, de produits pharmaceutiques et de produits agrochimiques **(Saraf, 2013 ;Winkler et al., 2018).**

II.1.2. Mode d'action des enzymes

Les fonctions uniques des enzymes en tant que protéines catalytiquement actives sont le résultat de leurs structures tridimensionnelles complexes et du site actif intégré

en leur sein. Cela permet une reconnaissance hautement spécifique des substrats, conduisant à une excellente sélectivité **(Gröger&Asano, 2012).**

Le complexe enzyme-substrat (ES) représente une position où le substrat (S) est lié à l'enzyme (E) de telle sorte que la réaction soit rendue plus favorable. Dès que la réaction a eu lieu, la molécule produite (P) se dissocie de l'enzyme, qui est alors libre de se lier à une autre molécule substrat **(Robinson, 2015)**, selon la réaction suivante :

$$S + E \longleftrightarrow ES_{complexe} \longrightarrow P$$

(E) : Enzyme, (S): Substrat, (ES):complexe Enzyme-Substrat, (P): Produit.

II.1.3. Classification des enzymes

D'après l'Union Internationale de Biochimie et Biologie Moléculaire (IUBMB), les enzymes sont divisées en sept classes selon le type de réaction qu'elles catalysent **(Cornish-Bowden, 2013)** (voir Tableau ci-dessous).

Tableau 7: Classification des enzymes et leur mode d'action. **(McDonald et al., 2009)**

Classes	Noms	Réactions catalysées	Exemples
EC1	Oxydoréductases	Elles catalysent le transfert des électrons $A^- + B \longrightarrow A + B^-$	Catalase
EC2	Transférases	Elles catalysent le transfert d'un groupement fonctionnel $AX + B \longrightarrow BX + A$	Hexokinase, Methyltransferase
EC3	Hydrolases	Elles catalysent l'hydrolyse des substrats par utilisation d'une molécule d'eau $A\text{-}B + H_2O \longrightarrow A\text{-}H + B\text{-}OH$	Lipase, Protéase, Amylase
EC4	Lyases	Elles catalysent le clivage de liaisons covalentes par réactions autre que l'hydrolyse ou l'oxydation formant souvent de nouvelles double liaisons. Elles catalysent aussi la réaction inverse.	Pyruvate décarboxylase, Amidine-lyases

		A-B ⟷ A-B	
EC5	Isomérases	Elles catalysent le transfert d'un groupement à l'intérieur d'une même molécule, ces enzymes catalysent des changements géométriques ou structurels d'une molécule A = B(ou A est un isomère de B)	Maleate isomérase, Phosphotransferases
EC6	Ligases (synthases)	Elles catalysent la jonction (ligature) de deux molécules avec des liaisons covalentes A + B +ATPA ⟶ B+ADP+PI	Pyruvate carboxylase Cyclo-ligases
EC7	Translocases	Elles catalysent le mouvement des ions ou des molécules à travers les membranes ou leur séparation dans les membranes AX + B ⟶ A + X + B	Ornithinetranslocase

Les enzymes peuvent être classées aussi en fonction de leur localisation elles peuvent être soit intracellulaires, soit extracellulaires.

- **Les enzymes intracellulaires**

Les enzymes intracellulaires sont synthétisées à l'intérieur de la cellule et peuvent se localiser dans des compartiments subcellulaires particuliers **(Robinson, 2015)**. Elles interviennent dans les réactions métaboliques (cataboliques et anaboliques), des réactions cataboliques comme par exemple l'hydrolyse du saccharose (invertase), de l'amidon (amylase) et des protéines (protéases) **(Sindhu et al., 2017 ; Saini et al., 2017)**, et des réactions anaboliques comme par exemple la synthèse du glycogène (glycogène-synthase) **(Jensen & Lai, 2009)**, des acides gras (acide gras synthétase) **(Færgeman&Knudsen, 1997).**

- **Les enzymes extracellulaires**

Les enzymes extracellulaires sont des enzymes produites à l'intérieure des cellules mais qui agissent à l'extérieure des cellules **(Robinson, 2015)**. Ces enzymes

extracellulaires sont présentes chez les différents organismes vivants et interviennent dans différentes réactions importantes pour la survie des organismes. Comme par exemple, l'implication dans la décomposition et l'hydrolyse des composés complexes, qui se trouvent à l'extérieur des cellules, en molécules de tailles plus petites pour être transportées à l'intérieur de la cellule à travers les membranes cellulaires **(Arnosti, 2011).**

II.1.4. Les enzymes industrielles

L'utilisation croissante des enzymes dans les processus industriels découle de leur capacité naturelle à catalyser des transformations chimiques hautement spécifiques. Ces enzymes sont également employées dans divers domaines tels que la fabrication des médicaments, la fabrication alimentaire, la nutrition animale, les produits cosmétiques, l'utilisation technique, ainsi que dans la recherche et le développement **(Li et al., 2012).**

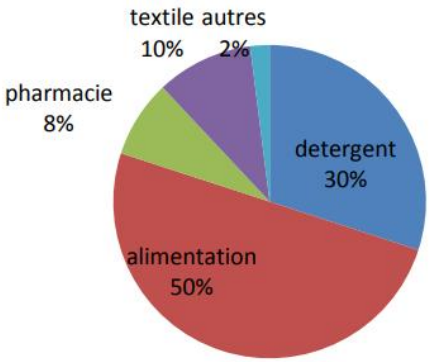


Figure 15: Utilisation des enzymes dans les différents secteurs d'industrie

À l'heure actuelle, près de 4 000 enzymes sont connues, parmi lesquelles environ 200 types microbiens originaux sont utilisés commercialement **(Li et al., 2012).** Environ 40 à 50 enzymes sont produites à l'échelle industrielle (en quantités allant de plusieurs kilogrammes à des tonnes par an). Le marché mondial des enzymes est actuellement dominé par les hydrolases, en particulier les protéases, les amylases, les cellulases et les lipases, fournies soit sous forme de concentrés liquides, poudres ou granulés. **(Robinson, 2015).**

La majorité des enzymes dans les utilisations industrielles sont des protéines extracellulaires provenant soit de sources fongiques (par exemple, les espèces Aspergillus) ou de sources bactériennes (par exemple, les espèces Bacillus). Des exemples incluent l'α-amylase, la cellulase, la dextranase, protéases et amyloglucosidase. De nombreuses autres enzymes à usage non industriel sont intracellulaires et sont produites en quantités beaucoup plus faibles par la cellule. Des exemples de ceux-ci comprennent l'asparaginase, la catalase, le cholestérol oxydase, le glucose oxydase et la glucose-6-phosphate déshydrogénase **(Robinson, 2015).**

II.1.4.1. Origine des enzymes industrielles

Les enzymes industrielles peuvent provenir de sources végétales, animales ou microbiennes. L'extraction à partir de plantes et d'animaux est souvent entravée par des paramètres difficiles à contrôler. C'est pourquoi les producteurs privilégient la production d'enzymes à partir de microorganismes, car elle est plus aisée à gérer et conduit à des résultats plus constants **(Coultouly, 1991 ; Meunier, 1999 ; Rao et al., 1998).**

Les enzymes sont abondamment fournies par les végétaux et les animaux, parmi lesquelles dominent les protéases telles que la papaïne (du papayer), la broméline (de l'ananas), la trypsine (du pancréas de bœuf) et la présure (du veau non sevré). En plus, on retrouve d'autres enzymes comme les amylases (issues du malt et du bœuf) et les lipases (du soja et du bœuf).

Les microorganismes fournissent également une variété d'enzymes similaires. Parmi les bactéries, le genre *Bacillus* est particulièrement exploité, notamment avec deux espèces distinctes : B. *licheniformis* (productrice d'amylase thermostable et de protéase alcaline) et B. *subtilis* (ainsi que sa variété "amyloliquefaciens"), qui produisent une gamme étendue d'enzymes comprenant amylase, protéase, lipase et glucanase. Parmi les Levures telles que le genre Saccharomyces et les Moisissures telles que le genre Penicillium **(Bertheau et al., 2019).**

II.1.4.2. Importance des enzymes industrielles

- **Les enzymes microbiennes :**

Les enzymes microbiennes suscitent un intérêt considérable dans l'industrie en raison des propriétés uniques des microorganismes ou de leurs enzymes. Parmi celles-ci, on peut citer la croissance rapide et économique des microorganismes producteurs d'enzymes, ainsi que le rendement de production élevé. De plus, la production d'enzymes est généralement plus simple chez les microorganismes que chez les végétaux et les animaux **(Singh et al., 2016).**

Les procédés industriels se déroulent souvent à des températures élevées pour favoriser les réactions chimiques et réduire les risques de contamination microbienne. Par conséquent, l'utilisation d'enzymes thermo-tolérantes et thermostables est essentielle. Les enzymes issues des microorganismes sont souvent thermostables, ce qui constitue un avantage majeur dans les applications industrielles **(Nigam, 2013).**

- **Les enzymes animales :**

L'utilisation industrielle des enzymes d'origine animale est moins répandue que celle des enzymes microbiennes et végétales. En effet, leur production est plus ardue et plus coûteuse, et elles sont moins stables que les enzymes végétales et microbiennes. De plus, leur solubilité dans les solvants organiques est souvent limitée. **(Singh et al., 2016 ; McAllister et al., 2001 ; Olive et al., 2012)**

Les enzymes animales présentent des avantages en tant que catalyseurs efficaces. Elles peuvent catalyser un large éventail de réactions d'intérêt industriel dans divers secteurs **(Winkler et al., 2018)**. Par exemple, dans le domaine médical, elles sont utilisées pour traiter les carences enzymatiques chez l'homme, telles que la carence en lipase gastrique **(Abrams et al., 1988)**, ainsi que pour la manipulation des gènes en thérapie génique (comme les nucléases à doigts de zinc) **(Carroll, 2008)**. Dans le secteur agro-alimentaire, elles sont employées pour la coagulation du lait nécessaire à la fabrication fromagère, où les protéases animales comme la chymosine et la pepsine jouent un rôle essentiel **(Spinnler, 2013).**

- **Les enzymes végétales :**

Les enzymes végétales sont reconnues pour leur rôle essentiel en tant que catalyseurs métaboliques, ce qui les rend précieuses dans une multitude d'industries et d'applications, notamment dans l'industrie agroalimentaire **(Parmjit et al., 2010)** et le traitement des déchets **(Jean et James, 1997)**. Elles se distinguent par leur stabilité et leur activité **(Rédéo et al., 2011)**, leur bonne solubilité, leur faible toxicité, ainsi que leur capacité à fonctionner dans des conditions physico-chimiques diverses **(Singh et al., 2016).** Les enzymes végétales présentent divers avantages, tels qu'un coût de production inférieur à celui des enzymes animales, une grande spécificité, un rendement élevé avec peu de produits secondaires et une production limitée de dérivés toxiques **(Spinnler, 2013).**

Les propriétés des enzymes végétales leur confèrent une polyvalence d'applications dans divers secteurs industriels. Par exemple, dans l'industrie alimentaire, elles sont utilisées pour la biosynthèse des arômes, comme la lipoxygénase **(Sindhu et al., 2017**), pour améliorer la qualité des produits de base tels que le pain et la bière, grâce à des enzymes comme la cellulase et les hémicellulases **(Spinnler, 2013).**

II.1.4.3. Application industrielle des enzymes :

Les enzymes peuvent être utilisées dans différents secteurs industriels notamment l'industrie laitière, la boulangerie, domaine pharmaceutique. Les applications industrielles majeurs des enzymes sont citées ans le tableau ci-dessou

Tableau 8: Applications enzymatiques sur différents secteurs industriels

Champs d'application	Enzyme	Application
Industrie laitière **(Fernandes, 2010)**	Chymosine, lipases, Protéases, Lysozymes	Fabrication de fromage, la fonction principale est l'hydrolyse de la liaison peptidique spécifique qui génère de la para-k-caséine et des macropeptides.
	β-galactosidases, Lactases	Décomposer le lactose en glucose et galactose dans la transformation du lait pour éviter l'intolérance au lactose.
	Protéases	la production de protéines de lait faiblement allergènes utilisées comme ingrédients dans les préparations pour nourrissons.
Industrie de la boulangerie **(Li et al., 2012)**	α-amylases	Dégrader l'amidon des farines et contrôler le volume et la structure de la mie du pain.
	Lipases	Améliorer la stabilité des cellules à gaz dans la pâte.
	Protéases	Réduire les protéines dans la farine.
Médicale	l-Asparaginase (*Escherichia coli*)	Chimiothérapie anticancéreuse, en particulier pour la leucémie**. (Robinson, 2015)**
	Urokinase (Activation du plasminogène Humain)	Élimination des caillots de fibrine du sang. **(Robinson, 2015)**

	Protéases	-Utilisé comme aide à la digestion, cas des protéases d'Aspergillus oryzae**(Rao et al., 1998).** -l'hydrolyse de la fibrine et le fibrinogène chez les patients souffrant d'une hémodialyse en utilisant la « Brinase » (une protéase acide plasmin-like) **(Sumantha et al., 2006).**
	Amylases	-Utilisé comme aide digestif pour éviter les dyspepsies (indigestions) et les fermentations intestinales et dans le traitement de diabète et de l'obésité **(Nielson et al., 2001).**
Industrie de synthèse organique **(Li et al., 2012)**	α-amylases	Hydrolyser l'amidon pour réduire la viscosité. Adjuvant liquéfiant. Augmentation de la teneur en maltose et glucose.
	Protéases	Augmentation des protéines solubles et de l'azote aminé libre (FAN).
Industrie cosmétique **(Li et al., 2012)**	Amyloglucosi-dases, Glucose oxydases	Dentifrices et bains de bouche.
Textile	Amylases	Désencollage textile, qui permet d'éliminer la colle d'amidon qui enduit les fibres et les protège au cours du tissage **(Hendriksen et al., 1999)**
Détergents à lessive **(Li et al., 2012)**	Cellulases	Modifier la structure de la fibre de cellulose pour augmenter l'éclat des couleurs et adoucir le coton.
	Lipases	Matières grasses en décomposition, telles que les graisses, le beurre, les sauces et les taches tenaces sur les cols et les poignets.

II.2. Les caractéristiques biologiques

II.2.1. Pouvoir enzymatiques

La détermination des enzymes est une pratique fréquente en biochimie et biologie moléculaire. En raison de leur présence dans les cellules vivantes en combinaison avec d'autres protéines, il est impossible de mesurer directement leur concentration. Cependant, la propriété la plus importante d'une enzyme particulière dans le contexte biochimique est son activité catalytique, elle peut être simplement quantifiée en mesurant la vitesse d'une réaction spécifique.

Un large éventail de méthodes est disponible pour mesurer l'activité enzymatique, chaque méthode étant choisie en fonction de la nature du changement chimique observé. Le choix d'une technique spécifique dépendra de critères de commodité, du coût, de la disponibilité des équipements et des réactifs appropriés, ainsi que du niveau de sensibilité requis **(Glatz, 2006).**

II.2.2. Pouvoir antioxydant

Les antioxydants sont des substances bioactives qui agissent comme des agents réducteurs, offrant une protection contre les dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène (ROS), tels que les radicaux anioniques superoxydes, l'hydroxyle, le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singlet. Leur action retarde significativement ou prévient l'oxydation de divers substrats comme les lipides, les protéines, l'ADN et les glucides. De ce fait, ils jouent un rôle protecteur contre une multitude de maladies chroniques, telles que le cancer, les maladies coronariennes, les maladies cardiaques, les maladies auto-immunes, le diabète, la sclérose, l'athérosclérose et l'inflammation chronique **(Paul et al., 2015).**

Les antioxydants naturels sont largement étudiés pour leur capacité à protéger les organismes et les cellules des dommages provoqués par le stress oxydatif, les herbes et les épices sont, en général, des sources inoffensives pour obtenir des antioxydants naturels **(Elmastas et al., 2007)**. Les cellules sont équipées de plusieurs systèmes de défense contre les dommages causés par les radicaux libres, notamment des enzymes oxydatives telles que la superoxydedismutase (SOD) et la catalase (CAT), ou des composés chimiques tels que l'α –tocophérol (vitamine E), l'acide ascorbique (vitamine

C), les caroténoïdes, β-carotène (provitamine A), la quercétine, la rutine et le picnogénol **(Bartosz, 2003 ; Barros et al., 2008).**

Les antioxydants de synthèse les plus connus sont les composés phénoliques tels que Hydroxyanisolebutylé (BHA), Hydroxytoluènebutylé (BHT), tert-butylhydroquinone (THBQ) et Gallate de propyle (GP) **(Suhaj, 2006 ;Tadhani et al., 2007)**. La majorité des antioxydants, qu'ils soient synthétiques ou naturels, contiennent des groupes hydroxyphénoliques dans leur structure. Leurs propriétés anti-oxydantes sont en partie dues à la capacité de ces composés à piéger les radicaux libres, tels que les radicaux hydroxyles (OH•) et superoxydes (O2•) **(Rice-Evans et al., 1995 ;Bartosz, 2003).**

La capacité anti-oxydante des molécules peut être évaluée soit in vivo, directement sur l'organisme vivant, soit in vitro, à l'aide de tests reproduisant les phénomènes physiologiques. Pour évaluer l'activité anti-oxydante dans un extrait naturel, diverses méthodes ont été élaborées. Elles consistent généralement à mélanger des espèces oxydantes telles que des radicaux ou des complexes métalliques oxydés avec un échantillon contenant des antioxydants capables d'inhiber la formation des radicaux. Ces antioxydants agissent principalement selon deux mécanismes majeurs : soit par transfert d'atomes d'hydrogène, soit par transfert d'électrons **(Prior et al., 2005).**

Ces techniques se distinguent les unes des autres par les réactifs employés, les conditions d'application et les protocoles utilisés, ainsi que par le mécanisme d'action par lequel l'extrait ou la molécule testée se manifeste dans le milieu **(Madi&Belkhiri, 2018)**.

Les résultats sont généralement comparés à ceux obtenus avec un antioxydant de référence, tels que l'acide ascorbique (vitamine C), l'α-tocophérol (vitamine E) et des antioxydants synthétiques comme le BHT (butyl-hydroxytoluène) **(Molyneux,2004).**

II.2.3. Pouvoir antibactérien

L'activité antibactérienne in vitro est une évaluation de l'efficacité d'un agent antibactérien contre des micro-organismes **(Cowan, 1999)**, Les études sur l'activité antibactérienne des plantes médicinales et de leurs composés constitutifs est largement étudiée contre un large éventail en microorganismes et elles contribuent à l'identification de nouvelles sources d'agents antimicrobiens et à la recherche de solutions alternatives face à la résistance croissante des bactéries aux antibiotiques traditionnels **(Daglia, 2012).**

Lorsque l'on parle d'activité antibactérienne, on distingue deux sortes d'effets :

- Une activité létale (bactéricide), c'est la capacité à tuer les bactéries dans des conditions spécifiques ;
- Une inhibition de la croissance (bactériostatique), c'est la capacité à inhiber temporairement la multiplication d'une population bactérienne **(Hammer et al., 1999).**

II.2.4. Pouvoir antifongique

Les champignons microscopiques sont responsables de nombreux maux chez les humains, les animaux et les plantes. Ils causent également des dommages considérables au bois, aux produits agricoles, aux denrées alimentaires et à divers autres matériaux **(Breton et al.,1990).**

Les antifongiques sont des substances, naturelles ou synthétiques, capables de détruire sélectivement ou non les différents champignons rencontrés en mycologie, qu'ils soient administrés localement ou par voie générale. Ils agissent en inhibant la formation de la paroi cellulaire, la division cellulaire, ainsi que la synthèse d'ARN/ADN ou protéique **(O'fel, 1982).** Cependant, les antifongiques actuellement disponibles ne répondent pas pleinement aux critères définissant l'antibiotique idéal. Ils devraient idéalement présenter une propriété spécifique vis-à-vis du champignon pathogène, une bonne diffusion dans l'organisme, un large spectre d'activité in vivo, une absence de problèmes liés à l'apparition de souches résistantes et d'effets secondaires significatifs **(Lacroix C et al., 2003)**.

Les extraits végétaux renfermant des composés actifs spécifiques peuvent également posséder des propriétés antifongiques et antimicrobiennes. Des substances telles que les polyphénols, les flavonoïdes et les terpénoïdes ont démontré des effets inhibiteurs sur les champignons phytopathogènes et les microorganismes. Ces extraits végétaux offrent une alternative naturelle aux produits chimiques de synthèse dans la lutte contre les maladies des plantes et dans la préservation des aliments **(Lis-Balchin., 2002).**

II.2.5. Pouvoir anti-inflammatoire

La thérapie anti-inflammatoire repose généralement sur l'utilisation de médicaments synthétiques, appelés anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), ainsi que des corticostéroïdes. Bien que largement utilisés, ces médicaments peuvent entraîner des effets secondaires graves, notamment une toxicité rénale et digestive **(Eri et al., 2011).**Afin de réduire les effets secondaires des anti-inflammatoires commercialisés, le recours aux produits naturels (particulièrement les plantes médicinales) s'impose comme une piste très importante à explorer pour avoir des médicaments efficaces et à moindre effets secondaires. L'activité anti-inflammatoire des plantes médicinales est due à leur contenu en métabolites secondaires bioactifs, tels que les polyphénols, les stérols, les alcaloïdes, les coumarines les terpènes...etc **(Duwiejua et al., 1993).**

Le nombre de composés phyto-chimiques trouvés dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phyto-chimiques ont des propriétés anti-inflammatoires **(Han et al., 2007).**

II.2.6. Les caractéristiques biologiques des plantes étudiées

L'Ortie et le Laurier Noble présentent une diversité d'activités biologiques en raison des composés chimiques qu'elles renferment. Des recherches antérieures ont révélé plusieurs activités associées à ces plantes.

Tableau 9 : Résumé de quelques pouvoirs biologiques des plantes étudiées.

Pouvoirs biologiques	***Laurus nobilis* L.**	***Urtica dioica L.***
Activité anti-oxydante	Selon **Ferreira et al. (2006),** L'huile essentielle a démontré une activité antioxydante significative dans les tests de DPPH et d'acide β-carotène-linoléique, montrant respectivement des taux d'inhibition de 53% et 44%. L'extrait éthanolique a également montré une activité antioxydante, dans le test DPPH, avec un taux d'inhibition de 67%. La décoction, elle a présenté des effets antioxydants dans les deux tests, avec des taux d'inhibition de 61% et 51%.	Selon **Pieroni et al., 2002**, l'extrait d'*Urtica dioica*(solvant 80 % éthanol) a été testé par pour son activité de piégeage des radicaux libres (DPPH), pour l'inhibition in vitro de la peroxydation lipidique du cerveau de bovin et pour l'inhibition de l'oxydase de xanthine. L'extrait d'ortie a inhibé la peroxydation lipidique cérébrale de plus de 50 % et a entraîné une inhibition d'environ 30 % dans le test de l'oxydase de xanthine, mais n'a eu aucun effet dans le test DPPH.
Activité antibactérienne	Selon **Ramos et al., 2012**l'huile essentielle présente le taux le plus élevé contre toutes les bactéries tandis que les extraits éthanoliques et aqueux ont montré aucune activité inhibitrice *contre Escherichia coli*, *Pseudomonas putida,* et *Salmonella typhimurium*, l'huile essentielle a montré le meilleur effet inhibiteur contre *Pseudomonas putida* avec une valeur de CMI 0,5 mg mL−1.	*Urtica dioica*a un fort effet antibactérien sur des bactéries telles qu' *Escherichia coli, Salmonella spp., Proteusspp., Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa***(Salih 2014).** L'extrait liquide d'*Urtica dioica L.* a montré une activité antimicrobienne contre *Pseudomonas fragi, Campylobacterjejuni, Staphylococcus aureus* et des souches de

		Shewanella**(ElezGarofulić et al. 2021).** De plus, l'extrait méthanolique d'*Urtica dioica*a montré un potentiel antibactérien contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline. **(Salehzadeh et al. 2014).**
Activité antifongique	Selon **Salhi et al. (2015)** l'huile essentielle de *Laurus nobilis L*. présente une activité antifongique significative contre contre les souches de *Fusariumsporotrichoide*, avec un indice d'inhibition de 100% à une concentration de 0,5%.	Selon **Hadizadeh et al., 2008**Les extraits éthanoliques ont montré une activité antifongique contre plusieurs champignons pathogènes des plantes testés, en particulier Alternariaalternata et Rhizoctoniasolani réduction de la croissance du mycélium de ces champignons, avec une inhibition totale à 0,9%.
Activité anti-inflammatoire	Selon **Gnankiné&Bassolé, 2017,** L'extrait éthanolique (à 80%) des feuilles de laurier séché, administré par voie orale à des rats à une dose de 100 mg/kg, a provoqué une inhibition de 19% de l'œdème induit. De plus, l'application topique des extraits d'acétate d'éthyle et d'hexane des feuilles de laurier sur l'oreille de souris, à une dose de 20 microlitres par animal, a démontré une activité anti-inflammatoire similaire à celle du tétradécanoyl acétate de phorbol (TPA).	Selon **Tita et al., 1993**Les données précliniques sur l'effet anti-inflammatoire des préparations d'ortie sont mitigées. Aucun effet anti-inflammatoire n'a été détecté lorsqu'un extrait d'ortie non spécifié à l'éthanol a été administré dans le test d'œdème de la patte induit par la carraghénine chez les rats (dose non indiquée) (Tita et al., 1993). Cependant, une action anti-inflammatoire a été démontrée avec l'extrait d'ortie à 50 % éthanolique (IDS23) chez les rats, le poids est resté inchangé et la mortalité n'a pas augmenté

La deuxième partie : La partie pratique

Chapitre III : Matériels &méthodes

III.1. Période et lieu d'étude

Notre travail a été réalisé pendant la période allant du mois de Février jusqu'au mois de Juin 2024 aux endroits suivants :

- Laboratoires du pôle universitaire de Ouezra, Médéa
- Laboratoire de microbiologie du complexe antibiotical SAIDAL de Médéa
- Laboratoire centrale d'EPH - Hôpital Mohamed Boudiaf Médéa

III.2. Objectif d'étude

L'objectif de notre travail consiste à la détermination des caractéristiques biologiques de deux extraits de plantes médicinales, à savoir *Laurus nobilis L.* et *Urtica dioica L.* Pour ce faire, nous avons suivi les points suivants :

- Préparations des extraits végétaux éthanoliques et tamponnés de nos plantes ;
- L'évaluation de la teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes et protéines des extraits des plantes ;
- L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits préparés en faisant appel à la méthode du piégeage du radical libre DPPH ;
- L'évaluation des activités enzymatiques des plantes étudiées en incluant les activités : lipasique, catalasique et l'optimisation de la meilleure activité ;
- L'évaluation du pouvoir antimicrobien des extraits préparés sur différentes souches bactériennes et fongiques avec la détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) du meilleur extrait.
- L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits végétaux in vivo.

III.3 Matériels et produits utilisés

L'ensemble du matériel utilisé lors de cette étude est le suivant :

III.3.1. Matériels biologiques

III.3.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal ayant servi de matière première dans notre étude a été identifié au niveau de la Direction des Services Agricoles (DSA) de la Wilaya de Médéa (Algérie), Département des forêts. Il s'agit de : *Laurus nobilis L.* de la variété du Laurier Noble et d'*Urtica dioica L.*de la variété de la grande ortie.

III.3.1.2. Matériel animal

Les animaux d'expérience sont des rats Wistar ; fournis par l'institut PASTEUR d'ALGER ; de sexe mâle et femelle ayant un poids variant entre 170 et 210 gr.

La phase d'adaptation des rats à été assurée au sein de l'animalerie des laboratoires du pole Universitaire Yahia farés de Ouazra.



Figure 16: Les rats utilisés pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire **(originale)**

III.3.1.3. Souches microbiennes

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne *in vitro* des extraits préparés, des souches bactériennes et fongiques ont été utilisées. Le matériel biologique a été fourni par le groupe SAIDAL de Médéa et le laboratoire centrale d'EPH de l'Hôpital Mohamed Boudiaf de Médéa. Les caractéristiques des souches utilisées sont regroupées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 10: Les souches microbiennes testées

Microorganismes		**Souches**	**Références**
Bactéries	Gram +	*Bacillus subtilis*	ATCC 6633
	Gram -	*Escherichia coli*	ATCC8739
	Gram -	*Pseudomonas aeruginosa*	ATCC 9027
	Gram +	*Staphylococcus aureus*	ATCC 6538
	Gram +	*Staphylococcus epidermidis*	ATCC 12228
Champignons	Moisissures	*Aspergillus brasiliensis*	ATCC 16404
	Levures	*Candida albicans*	ATCC 10231
		Saccharomyces cerevisiae	ATCC 9763

III.3.2. Matériels non biologiques

III.3.2.1Appareillage :

Tableau 11: Les appareils utilisés dans la partie pratique

Appareil	But d'utilisation
Plaque chauffante avec agitation	• Préparation des solutions • Préparation des milieux de cultures
Etuve	• Détermination du taux d'humidité • Incubation des micro-organismes
Pompe sous vide	• Filtration des extraits
Balance	• Pesées.
Vortex	• Homogénéisation.
Autoclave	• Stérilisation du matériel et les milieux de culture
Spectrophotomètre UV	• Études photochimiques.
pH-mètre	• Mesure du potentiel d'hydrogène
Pieds à coulisse électronique	• Mesure du volume d'inflammation
Réfractomètre	• Mesure de l'indice de réfraction
Pycnomètre	• Détermination de la masse volumique

III.3.2.2. Verrerie

Tableau 12: Les verreries du laboratoire utilisées

Bécher	Fioles	Entonnoirs	Tube à essai
Erlenmeyer	Éprouvette	Flacons	Éprouvette
Boite de pétri	Verre de montre		

III.3.2.3. Produits

Tableau 13: Les produits utilisés

Réactifs	Formule	Masse molaire (g/mol)
Éthanol	C_2H_6O	46,068
Hydroxyde de sodium	NaOH	39,997
Chlorure d'aluminium hexahydraté	$AlCl_3*6H_2O$	241.43
Acétate de sodium	$C_2H_3NaO_2$	82,0343
Carbonate de sodium	Na_2CO_3	105,9888
Sulfate de cuivre (II) pentahydraté	$CuSO_4*5H_2O$	249,685
Chlorure de calcium	$CaCl_2$	110,98
Acide sulfurique	H_2SO_4	98,079
Permanganate de potassium	$KMnO_4$	158,034
Acétone	C_3H_6O	58,079
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	34,0147
Potassium sodium tartrate tétrahydraté	$C_4H_4KNaO_6*4\ H_2O$	282.23
Acide férulique	$C_{10}H_{10}O_4$	194,18
Carraghénane	$C_{12}H_{19}O_{20}S_3$	579.444
2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	$C_{18}H_{12}N_5O$	394,32
folin-ciocalteu	C_6H_6O	94.11124
Phénolphtaléine	$C_{20}H_{14}O_4$	318,31

III.4. Méthodes

III.4.1. Préparation du matériel végétal

III.4.1.1. Récolte

La partie aérienne des plantes médicinale utilisées, notamment les feuilles, ont été récoltées pendant les mois de février et mars 2024 à partir des jardins de la wilaya de Médéa. La récolte des plantes est réalisée avec précaution pour préserver les éléments organiques et minéraux.

En particulier, la cueillette de la grande ortie, en raison de ses propriétés urticantes, nécessite une attention particulière. Pour cela, le port de gants et de vêtements de protection afin d'éviter les irritations cutanées.

Tableau 14: Présentation des plantes sélectionnées et la région de récolte

Plante	***Urtica dioica L.***	***Laurus nobilis L.***
Morphologie de la Partie aérienne		
Région de la récolte	Theniet Elhdjer, Médéa	EL-Kouala, Médéa

III.4.1.2. Lavage

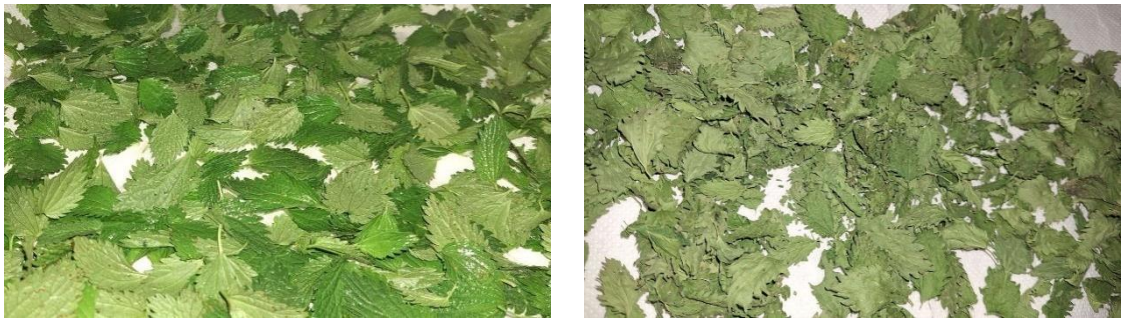
Les deux plantes étudiées, sont nettoyées et rincées abondamment par l'eau de robinet pour éliminer les grosses particules présentes (la poussière) dans cette récoltée.

III.4.1.3. Séchage

L'étape du séchage a pour but d'abaisser la teneur en eau des feuilles récoltées afin d'éviter toute réaction d'altération et de prolifération de micro-organismes. Les feuilles sont séchées à l'air libre à une température ambiante à l'environ de 20 °C et à l'abri de la lumière pendant 15 à 20 jours.



Laurier noble



Ortie dioique

Feuilles fraîches Feuilles séchées

Figure 17: Feuilles étudiées avant et après séchage

III.4.1.4. Déterminations du taux d'humidité

La teneur en eau dans les plantes médicinales est l'un des indices importants qui caractérise la bonne qualité de celle-ci **(Bernardet, 1983).** Le calcul du taux d'humidité nous permet de déterminé la masse exacte de la matière végétale utilisée.

Mode opératoire

La détermination de la teneur en matière sèche a été réalisée juste à l'arrivée des échantillons au laboratoire. La dessiccation est réalisée par évaporation à 103 ±2 °C dans une étuve pendant 24 h (jusqu'à la fixation de la masse). La teneur en eau est définie comme étant la perte en poids subie lors de la dessiccation **(Audigie et *al.*, 1978).**

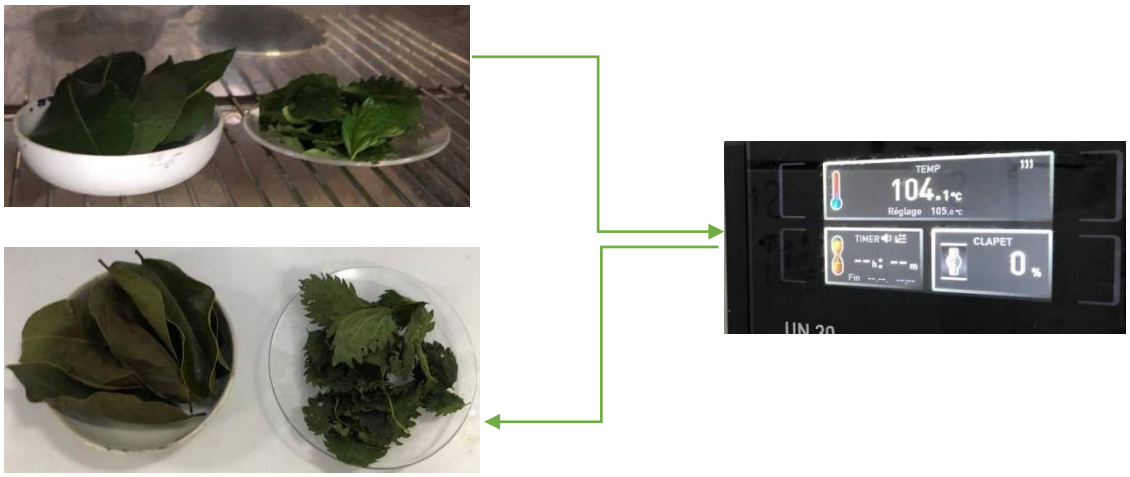


Figure 18: Différentes étapes de la dessiccation **(originale)**

La détermination du taux d'humidité se fait par le calcul de la différence de poids avant et après séchage selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{M_1 - M_2}{P} * 100 \quad \textbf{III.1}$$

H % : Taux d'humidité ;

M_1 : Masse en gr avant étuvage (échantillon + capsule) ;

M_2 : Masse en gr de l'ensemble après étuvage ;

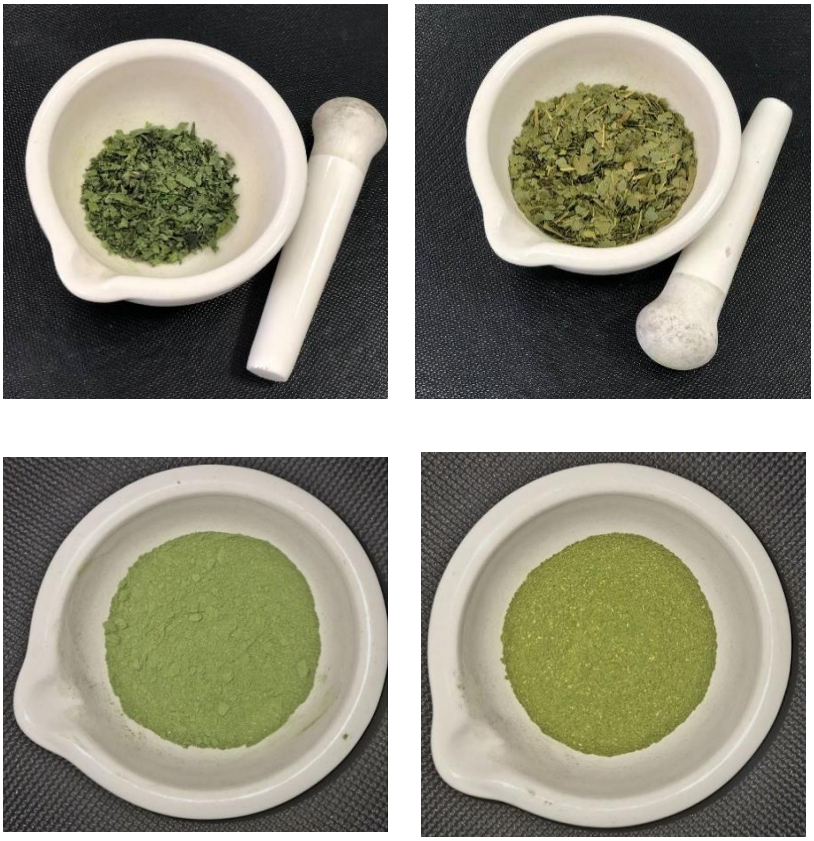
P : Masse en gr de la prise d'essai.

La matière sèche (MS) %= 100- H% III.2

III.4.1.5. Broyage

Après avoir bien sécher la matière végétale, elle a été réduite en petits morceaux puis en poudre à l'aide d'un broyeur électrique à hélice à fin d'augmenter la surface de

contact avec le solvant utilisé pour l'extraction. La poudre résultante est conservée à l'abri de la lumière dans des flacons en verre opaque et scellées.



Ortie dioique **Laurier noble**

Figure 19: matière végétale des plantes médicinales **(originale)**

III.4.2. Préparation des extraits

III.4.2.1. Méthode d'extraction

L'extraction est réalisée par une simple méthode, par macération, qui consiste à mettre la poudre de matériel végétal en contacte prolongée avec un solvant et ceci à une température ambiante accompagné d'agitation ou non. L'opération bien que généralement longue et a rendement souvent médiocre, est utilisée dans le cas d'extraction de molécules thermosensibles **(Leybros et Fremeaux, 1990).**

Mode d'opération

La méthode d'extraction consiste à porter l'échantillon des plantes à la macération sous agitation dans l'un des solvants cités ci-dessus pendant 24 h.

a) Extrait éthanolique

Une quantité de 5gr de matière végétale a été mise à macérer dans 100 mL d'éthanol/eau (90/10%) sous agitation magnétique pendant 24 h à une température ambiante. Le macérât obtenus subi ensuite une filtration sous vide afin d'éliminer les particules grossières et avoir un extrait clair.

b) Extrait tamponné

La même quantité de la matière végétale a été mise à macérer dans 100 mL de tampon phosphate (0.1 M à pH = 7) sous agitation magnétique pendant 24h à une température ambiante. L'extrait est obtenu après filtration sous vide du macérât.

Les différents extraits obtenus sont conservés dans des flacons ombrées stériles au réfrigérant à une température 4°C jusqu'à leur utilisation.

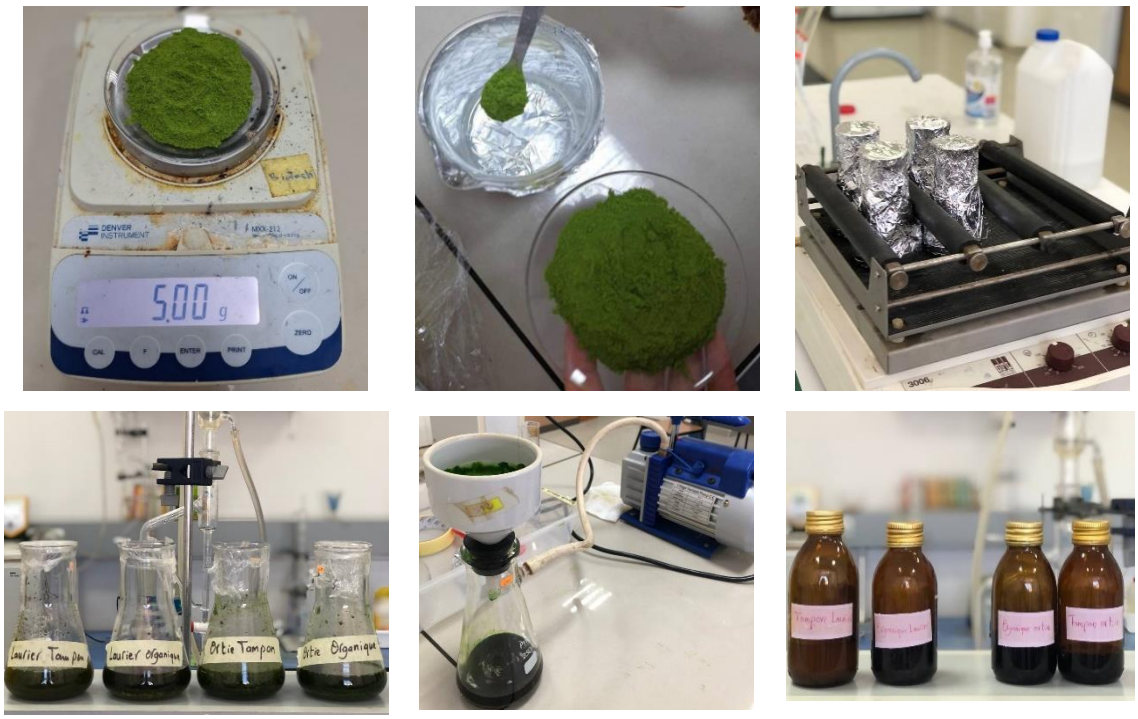


Figure 20: Différentes étapes de préparations des extraits **(originale)**

III.4.3. Caractérisation physico-chimique

III.4.3.1. Indice de réfraction

La réfraction est le phénomène par lequel un rayon lumineux change de direction lorsqu'il passe d'un milieu optique (comme l'air) à un autre (tel que les extraits). L'indice de réfraction d'un milieu est le rapport entre la vitesse de la lumière dans le vide et sa vitesse dans le milieu considéré, et il est donc sans unité. **(Taylor, 1968)**

Mode opératoire

Pour mesurer l'indice de réfraction de l'eau distillée à l'aide d'un réfractomètre, commencez par installer l'appareil. L'indice de réfraction de l'eau distillée à 20 °C doit être de 1,333. Ouvrez le prisme une seconde fois et déposez 2 à 3 gouttes des extraits au centre du prisme primaire, puis refermez soigneusement le prisme secondaire. L'échantillon s'étalera en une fine couche entre le prisme principal et le sous-prisme. Attendez que la température se stabilise avant de procéder à la mesure **(Florentin, 2004).**



Figure 21 : Réfractomètre **(originale)**

Afin de ramener la valeur de l'indice de réfraction mesuré pour un liquide à une température T, en degré Celsius, à la valeur de référencée (20°C), on peut utiliser la relation III.3 pour le déterminer à une température différente :

$$\eta D_{20} = \eta D_T + 0{,}00045(T-20) \qquad \text{III.3}$$

ηD_{20} : Indice de réfraction à 20 °C ;

ηD_T : Indice de réfraction à la température de mesure ;

T : Température de mesure (°C).

III.4.3.2. Potentiel d'hydrogène pH

Le pH représente la concentration des ions hydrogènes dans une solution. Cette mesure est importante, car le pH régit un grand nombre d'équilibres physico-chimiques. Il se définit comme le logarithme négatif de l'activité de l'ion hydrogène **(« Méthode D'analyse MA. 100 – pH 1.1 » , 2023)**

$$pH = -log_{10}[H^+] \text{III. 4}$$

Mode opératoire

Pour mesurer le potentiel d'hydrogène des extraits préparés, on a utilisé un pH-mètre avec une électrode. Pour cela, on a Homogénéisé l'extrait et verser un volume de 25 à 50 mL d'échantillon dans un bécher. Puis lire la valeur du pH de l'extrait tout en agitant. Sachant qu'il faut rincer abondamment l'électrode avec de l'eau distillée entre chaque mesure.



Figure 22: pH-mètre **(originale)**

III.4.3.3. 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

A une température de 20 °C, on pèse à l'aide d'un pycnomètre, des volumes égaux des extraits et d'eau distillée : on pèse successivement le flacon vide, puis le flacon rempli d'eau distillée. Après essuyage, on le remplit avec les extraits et on note leurs poids exacts.

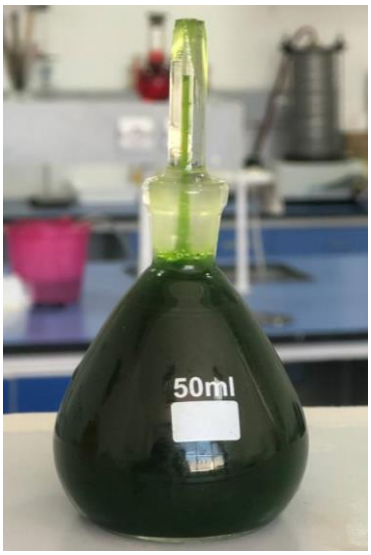


Figure 23: Pycnomètre **(originale)**

Les densités des extraits de plantes sont calculées par la formule :

$$d=\frac{m_2-m_0}{m_1-m_0} \qquad \text{III.5}$$

m_0: Masse du pycnomètre vide (gr) ;

m_1: Masse du pycnomètre rempli d'eau distillée (gr) ;

m_2: Masse du pycnomètre rempli d'extrait (gr).

III.4.4. Analyse quantitative

III.4.4.1. Dosage des polyphénols totaux ou pouvoir réducteur

Le principe de dosage des phénols totaux repose sur les capacités réductrices des complexes ioniques polymériques formés à partir des acides phosphomolybdiques et phosphotungstiques (réactif de Folin-Ciocalteu) par les composés phénoliques **(Swain &Hillis, 1959)**. Il en résulte la formation d'un complexe bleu qui accompagne l'oxydation des composés phénoliques et qui est stabilisé par l'addition de carbonate de sodium ($NaCO_3$).

Le dosage des phénols totaux est effectué par la comparaison de l'absorbance observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue. **(Singleton & Rossi, 1965)**

Mode opératoire

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **(Singleton et Rossi, 1965)**. Avec quelques modifications. Dans un tube à essai on met 0.2 ml de chaque extrait convenablement dilué est ajouté à 1ml du réactif de Folin ciocalteux (1/10 dilué dans l'eau distillée) après 4 min 0.8 mL d'une solution de carbonate de sodium (7.5 %) sont ajoutés, le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 2 heures, l'absorbance est lue à 760 nm par un spectrophotomètre UV. L'acide férulique est utilisé comme standard pour la courbe d'étalonnage des polyphénols est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires à une concentration de 0,2 mg/mL.



Les extraits



La gamme d'étalonnage



La lecture

Figure 24: dosage des polyphénols totaux **(originale)**

La concentration des polyphénols est calculée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide férulique. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (mg EAG/g).

III.4.4.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification du contenu flavonoïdes des différents organes de la plante est estimée par la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) **(Pouka et al., 2015)**. 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. La comparaison de l'absorbance observée à celle obtenue par un étalon la quercétine de concentration connue permet d'évaluer la teneur totale en flavonoïdes.

Mode opératoire :

Les flavonoïdes totaux ont été déterminés suivant la méthode décrite par **Pourmorad et al. (2006)** avec quelques modifications. Ainsi à 0,5 ml d'une solution de concentration 1 mg/ml de l'extrait on ajoute 1,5 ml de éthanol, 0,1 ml d'(AlCl3, 6H2O) à 10%, 0,1 ml d'acétate de sodium 1M et 2,8 ml d'eau ultra pure. Le mélange est agité vigoureusement puis laisser pendant 30 minutes à l'obscurité. La lecture de l'absorbance a été réalisée à 430 nm. La courbe d'étalonnage de la quercétine a été réalisée dans les mêmes conditions avec 4 niveaux de concentration (0.1, 0.2, 0.3 et 0.4 mg/mL).



Les extraits La gamme d'étalonnage La lecture

Figure 25: dosage des flavonoïdes **(originale)**

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

$$TF = \frac{V_S \times C \times K}{m_P} \qquad \textbf{III.6}$$

TF : teneur en flavonoïde (mg EQ/g) ;

V_S : volume d'échantillon (mL) ;

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

K : facteur de dilution ;

m_p : masse de l'échantillon.

III.4.4.3. Dosage des protéines

Les protéines sont les principes azotés qui forment des constituants essentiels et caractéristiques de la matière vivante ; elles possèdent une structure très complexe et un poids moléculaire élevé ; elles sont douées de propriétés spécifiques. **(BOUR, 1960)**

La détermination de la teneur en protéines des extraits consiste au dosage des protéines par la méthode de **Lowry et al. (1951)** dont le principe de base est fondé sur la résultante de deux réactions.

Réaction de Biuret : Les ions cuivre (Cu^{2+}) réagissent avec les liaisons peptidiques des protéines en milieu alcalin pour former un complexe coloré. Cette réaction est sensible aux résidus d'acides aminés tels que la tyrosine et le tryptophane.

Réaction de Folin-Ciocalteu : Le réactif de Folin-Ciocalteu, qui contient des phosphomolybdates et des phosphotungstates, réagit avec les résidus d'acides aminés aromatiques (principalement la tyrosine et le tryptophane) et le complexe de cuivre formé dans la réaction de Biuret, produisant une intensité de couleur bleue proportionnelle à la concentration de protéines.

La gamme étalon est établie à partir d'une solution de BSA (Bovine SerumAlbumin) avec déférents concentrations.

Mode opératoire :

- **Solutions nécessaires**

- **Solution de LOWRY A :** Na_2CO_3 à 2% dans du NaOH (0,1N) ;
- **Solution de LOWRY B :** CuSO4, 5H2O à 0.5% et tartrate de K et Na à 1% dans l'eau
- **Réactif de LOWRY :** mélanger 50ml de solution A et 1ml de solution B.
- **Réactif de Folin-Ciocalteu :** dilué au ½ dans de l'eau distillée (Il doit être frais donc préparé extemporanément.).

- **Mélange réactionnel**

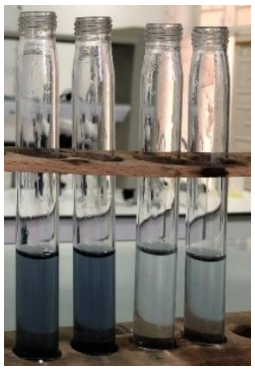
La réaction enzymatique est préparée par le mélange de :

- 1ml d'extrait diluée (1 :10) leur solvant appropries ;
- 5ml de Réactif de LOWRY.

Après agitation et incubation à température ambiante pendant 10 min, 0,5ml de Folin Ciocalteu dilué à ½ est ajouté. La solution est agitée de nouveau puis incubée pendant 30 min à l'ombre à température ambiante. La lecture de l'absorbance a lieu à 700 nm au spectrophotomètre contre un blanc qui ne contient que le milieu réactionnel (sans l'extrait).



Incubation des tubes



Virage de couleur des extraits



Virage de couleur de la gamme d'étalonnage

Figure 26: Protocole de l'activité protéolytique **(originale).**

- **La courbe d'étalonnage de la BSA**

La gamme étalon est réalisée à partir d'une dilution de solution protéique mère de BSA a 1g/l dont les concentrations sont comprises entre 0 et 0.25g/l selon le tableau suivant :

Tableau 15: les volumes de préparation de la gamme étalonnage de la BSA

Tube N°		0	1	2	3	4	5
C (g/l)		0	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25
$V_{étalon}$	BSA	/	0,05ml	0,1ml	0,15ml	0,2ml	0,25ml
	Eau distillé	1ml	0,95ml	0,90ml	0,85ml	0,8ml	0,75ml

La concentration des protéines de plantes sont calculées par la formule suivante :

Concentration = (Abs – L'ordonne a l'origine) /Pente **III.7**

III.4.5. Évaluation des activités biologiques

III.4.5.1. Activité anti-oxydante

a) Piégeage du radical DPPH

Le test DPPH a été largement utilisé pour évaluer l'efficacité du piégeage des radicaux libres de diverses substances antioxydantes. **(Vladimir-Knežević et al., 2011).** Cette méthode est basée sur la capacité des antioxydants à réduire le radical libre 2,2-diphényl-1-pycril-hydrazyl, soit par un mécanisme de libération d'un atome d'hydrogène du groupement hydroxyle, soit par libération d'un électron. Le radical à un maximum d'absorption mesurable par spectrophotométrie à 517 nm et sa neutralisation par un antioxydant peut-être facilement suivie par spectrophotométrie UV/visible **(Afonso et al., 2016).**

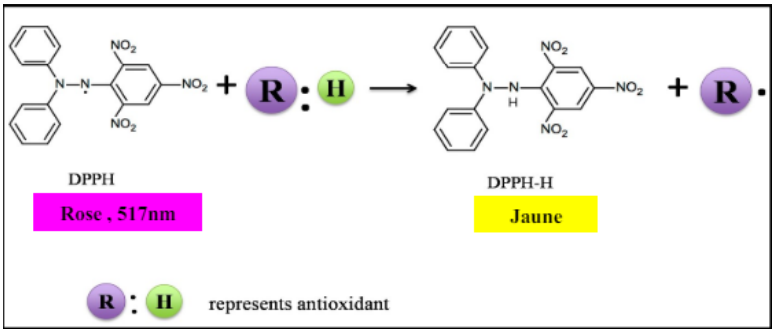


Figure 27: Réaction d'une molécule anti-oxydante avec le radical DPPH **(Liang &Kitts, 2014)**

Mode opératoire :

La détermination de l'activité antiradicalaire par le test de DPPH a été effectuée en utilisant la méthode décrite par **(Guillouty, 2016)** légèrement modifiée.

- **Préparation de la solution de DPPH**

Une solution éthanolique de DPPH a été fraîchement préparée en dissolvant 4 mg de ce produit dans 100 mL d'éthanol. La solution est conservée au réfrigérateur à l'abri de la lumière

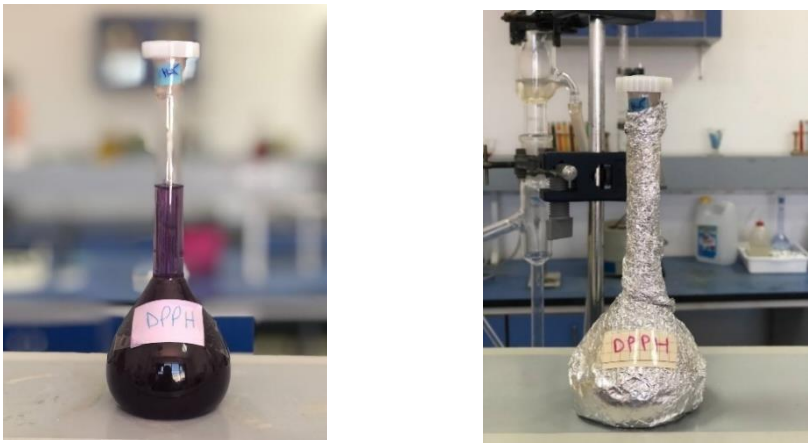


Figure 28: Solution éthanolique de DPPH **(originale)**

- **Préparation des extraits**

Les extraits éthanoliques et tamponné ont été diluées à diverses concentrations dans une solution d'éthanol/tampon phosphate.

- **Mesurer de l'activité antioxydante**

Un volume de 0.1mL de chacune des solutions des extraits testés à différentes concentrations a été ajouté à 3.9 mL de la solution éthanolique du DPPH fraichement préparée et nous avons effectué un blanc de 4mL de DPPH seulement.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante la lecture des absorbances a été effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'inhibition du radical libre DPPH par l'acide férulique a été également analysée à la même concentration pour faire la comparaison et déterminer les paramètres de calcul de l'activité antioxydante (Pourcentage d'inhibition, l'index IC50).



Figure 29 : Virage de couleur d'un extrait dans l'activité antioxydante DPPH **(originale)**

Calcul du pourcentage d'inhibition :

Le pourcentage d'inhibition du DPPH est calculé par la formule suivante **(Sharififaret al., 2007)**:

$$\%I = (A_{blanc} - A_{échantillon}) / A_{blanc} \qquad \text{III.8}$$

Avec : A_{blanc}: Absorbance du blanc

$A_{échantillon}$: Absorbance de l'échantillon.

Détermination d'IC50

Ce paramètre est défini comme étant la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration initiale de 50%, il est inversement lié à la capacité anti-oxydante.

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. L'IC50 étant la concentration de l'extrait ou du standard qui permet la réduction de 50% de DPPH. Une faible valeur de l'IC50 indique une forte activité antioxydant **(Saffidine, 2018).**

III.4.5.2. Activité enzymatique

Les activités enzymatiques recherchées sont : les activités lipasique et l'activité catalasique (une oxydo-réductase).

a) Recherche de l'activité lipasique

La lipase est une enzyme qui catalyse l'hydrolyse (la dégradation) des graisses (lipides) en acides gras et glycérol.

$$\textit{Triglycéride} + \mathbf{H_2O} \xrightarrow{\textbf{Lipase}} \textit{Diglycéride} + \textbf{Acides gras}$$

L'activité lipasique est évaluée en mesurant les acides gras libérés par les lipases (qui se trouvent dans les extraits des plantes) sur l'huile d'olive, en utilisant la méthode de titration Acide (les acides gras) /Base (NaOH). **(Houde et al., 2004)**

La neutralisation des acides gras par le NaOH sera observée par un changement de couleur. On utilise la phénolphtaléine comme marqueur de changement de pH. **(Frankel&Tarassuk, 1955)**

Mode opératoire

Le dosage (ou titrage) acide-Base est effectué selon le protocole suivant : le mélange de réactions est constitué de 5 mL d'émulsion d'huile d'olive dans la gomme arabique (2%) (10 /90), 4 mL de Tampon phosphate pH =7 (0,2M) ; 1mL de $CaCl_2$ (0,11M) et 1mL d'extrait. Le milieu réactionnel est incubé à 37 °C pendant 30min.

Après incubation, 5 mL d'un mélange de solution d'arrêt (Éthanol/acétone) (1:1) sont ajoutés. Ensuite, on détermine la quantité d'acides gras libérés par les lipases en titrant avec du NaOH à une concentration de 0,02N, jusqu'à ce que l'indicateur de pH phénolphtaléine vire. Le volume de NaOH ajouté à cette étape permettra de quantifier les acides présents dans le milieu réactionnel.

Les mêmes conditions sont réalisées pour le blanc, sauf en l'absence d'extrait dans la réaction.

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

$$\textbf{Activité lipasique (µmol/min/mL d'extrait)} = \frac{(V_2 - V_1) \times 0.02 \times 10^6}{30 \times V_{enz}} \qquad \textbf{III.9}$$

V_2: Volume de l'essai (présence de l'enzyme) en mL.

V_1: Volume versé au témoin (absence de l'enzyme) en mL.

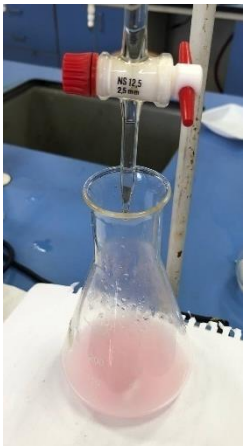
V_{enz}: Volume de l'extrait enzymatiques mL.



Preparation de l'emulsion



Incubation du mélange



Le titrage

Figure 30: Protocole de l'activité lipasique.

b) Recherche de l'activité catalasique

La catalase est une enzyme qui catalyse la réaction de la dégradation du peroxyde d'Hydrogène en eau et en oxygène. **(Aebi, 1984)**

$$2H_2O_2 \xrightarrow{Catalase} 2H_2O + O_2$$

La recherche de l'activité catalytique est effectuée par mesure en suivant la décomposition de H_2O_2 à la fin de la période de réaction par simple titration avec permanganate **(Beers &Sizer, 1952)**

Mode opératoire

Pour la mesure de l'activité de la catalase nous allons à température ambiante mettre 1mL d'extrait enzymatique dans 10 mL d'H_2O_2 à 0.01 N pendant 15 minutes. Nous arrêterons la réaction en introduisant 25 mL de H_2SO_4 à 2 %, nous effectuerons alors le dosage au permanganate de potassium pour mesurer l'H_2O_2 restant. Les mesures seront faites en double et la moyenne des deux seront gardée.

Nous allons effectuer un témoin qui permet d'obtenir le volume de permanganate sans réaction enzymatique pour cela nous allons mesurer l'H_2O_2 dans une solution comprenant 10 mL d'eau oxygénée a 0.01 N et 25 mL d'H_2SO_4 à 2%. **(Beers &Sizer, 1952)**



Mélange réactionnel | Le titrage | Variation de couleur

Figure 31: Protocole de l'activité catalasique **(originale).**

Dosage du H_2O_2 au permanganate de potassium ($KMnO_4$) suivant les réactions ci-contre :

$$2H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H^+ + 2e^-$$

$$MnO_4^- + 8H^+ + 5e^- \rightarrow Mn2^+ + 4H_2O$$

L'ion permanganate ainsi obtenu (Mn^{2+}) est de couleur rose. Il permet donc de déterminer l'équilibre au moment du dosage. Cette coloration n'est pas stable car il se suit une autre réaction :

$$2MnO_4^- + 3Mn_2+ + 2H_2O \rightarrow 5MnO_2 + 4H^+$$

Mais toutefois la coloration reste une période de 15 secondes au moment de l'équilibre.

L'activité catalasique (µ Kat/gr) est déduite à partir de l'équation ci-dessous **(Beers &Sizer, 1952)** :

$$\textbf{Activité catalisique (Kat moles/seconde)} = \frac{n \times (Vt - VX) \times VE}{t \times PE \times MF} \qquad \textbf{III.10}$$

Avec :

n : Nombre de moles de H_2O_2 oxydées par 1mL de $KMnO_4$

Vt: Volume moyen de permanganate de potassium pour le dosage de témoins (en mL).

VX : Volume moyen de permanganate de potassium pour le dosage des extraits enzymatiques (en mL).

VE : Volume de l'extrait enzymatique brut.

PE : Volume d'extrait enzymatique qui est introduit dans la réaction mesurée.

t : Temps de réaction

MF : Masse de matière en grammes.

c) Optimisation la meilleure activité enzymatique

L'optimisation inclut la détermination de l'influence du temps, de la température et de la concentration en $CaCl_2$ sur l'activité enzymatique lipasique.

❖ **Influence de la température sur l'activité lipasique des extraits :**

Pour déterminer l'influence de la température sur l'activité lipasique **(Fickers, 2007)**, le mélange réactionnel est incubé pendant 30 min à différentes températures à 1°C, 7°C, 15°C, 25°C, 37°C et 50°C, avec l'ajout de 0.11M de $CaCl_2$. L'activité lipasique est calculée par la formule **III.9**.

❖ **Influence du temps sur l'activité lipasique des extraits :**

Pour déterminer l'influence du temps sur l'activité lipasique, le mélange réactionnel est incubé à la température optimale 15°C avec l'ajout de 0.11M de $CaCl_2$, pendant : 15, 30, 45, 60, 75 et 90min.

L'activité lipasique est déterminée par La quantification des acides gras libérés sous l'action des lipases selon la formule :

$$C_a * V_a = C_b * V_b \qquad \textbf{III.11.}$$

Où C_a : Concentration d'acide gras ;

V_a: Volume du milieu réactionnel ;

C_b : Concentration du NaOH ;

V_b : Volume de NaOH pour atteindre le virage de la couleur.

❖ **Influence de la concentration du $CaCl_2$ sur l'activité lipasique des extraits préparés**

Pour déterminer l'effet du $CaCl_2$ sur l'activité lipasique, la concentration de la solution de $CaCl_2$ a été variée à (0M ; 0,055M ; 0,11M ; 0,165M ; 0,22M ; 0,33M) le mélange réactionnel est incubé a 15°C pendant 30 min . L'activité lipasique est calculée par la formule **III.9.**

III.4.5.3. Activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été effectuée en utilisant la méthode de diffusion sur disque (antibiogramme) afin de tester la résistance et la sensibilité des souches aux extraits. Ensuite, les valeurs de CMI ont été déterminées.

La méthode de diffusion des disques est généralement employée comme une analyse préliminaire pour étudier l'activité antimicrobienne ensuite viennent des méthodes plus détaillées. Dans cette méthode, les paramètres tels que le volume placé sur les disques de papier, l'épaisseur de la couche de gélose et si un dissolvant est employé varient considérablement entre les études **(Manou et al., 1998; Burt, 2004).**

Cette méthode permet de mesurer l'activité inhibitrice des agents microbiens en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour d'un disque contenant nos extraits à caractériser. Cette méthode est largement utilisée **(Cavalloet al .,2006)**.

Mode opératoire :

Préparation des milieux de culture

Les bactéries ont été ensemencées sur des milieux de culture à base de gélose nutritive, tandis que les champignons ont été cultivées sur des milieux de culture à base de gélose Sabouraud. Les deux milieux ont subi une stérilisation à 121°C pendant 2 heures.

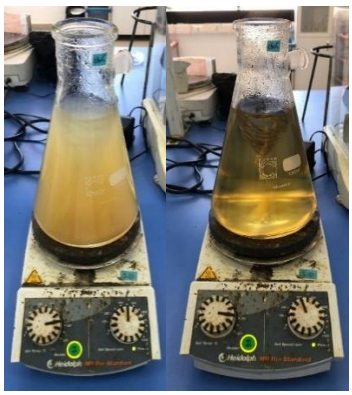


Figure 32: Préparation de gélose nutritive **(original).**

Préparation de l'inoculum

A l'aide d'une anse de platine 3 à 5 colonies bien isolées de chaque souche bactérienne sont raclées. L'anse est déchargée dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile à 0.9%, le contenu des tubes est mélangé pour obtenir une suspension bactérienne bien homogène avec une densité optique comprise entre 0.08 et 0.1 à 625 nm. Ce qui correspond à une concentration de 107 à 108 UFC/mL selon Mc Ferland.

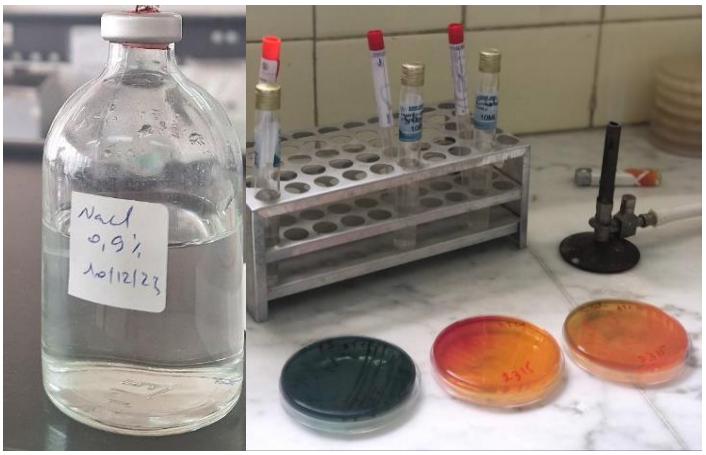


Figure 33: Préparation de la suspension bactérienne.

Antibiogramme :

Le milieu de culture gélosé (nutritif pour les bactéries et Sabouraud pour les champignons) mis dans un bain marie, doit fondre et couler aseptiquement à raison de 20 mL par boite. Après sa solidification, un écouvillon stérile a été imbibé de la suspension, l'ensemencement est fait en stries serrées de haut en bas pour avoir un tapie qui couvre toute la surface de la boite de pétrie.

Dans des conditions aseptiques, des disques de 9 mm de diamètre sont préalablement imbibés dans chaque concentration des extraits préparés ainsi que des disques d'antibiotiques et sont placés à l'aide d'une pince stérile sur les boites de pétri.on laisse ces dernières diffuser dans un réfrigérateur pendant quelques heures.

Les boites de pétri sont par la suite incubées à 37°C pendant 24 h. La croissance des souches est inhibée à une distance du disque qui est liée à la sensibilité de l'organisme.



Collage de milieu.



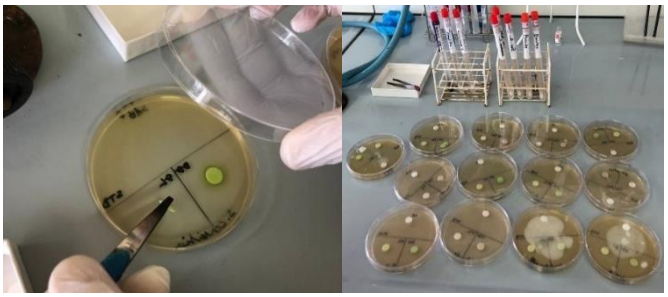
Ensemencement.



Les extraits.



Les antibiotiques.



Distribution des disques imprégnés.



Incubation.

Figure 34: Processus d'antibiogramme.

La lecture :

Les diamètres des zones d'inhibition formés au tour des disques sont mesurés et enregistrés. La lecture des résultats se fait en mesurant le diamètre des zones d'inhibition autour du disque à l'aide d'une lecture de zone.





Figure 35: la lecture des résultats.

Après mesure de la zone d'inhibition, les souches sont classées en :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre moins de 9mm.

- Sensible (+) : diamètre entre 10 à 14 mm

. - Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.

- Extrêmement sensible (+++) : diamètre plus de 20 mm.**(Ponce et al., 2003).**

Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI :

Elle consiste à déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) en utilisant la méthode de diffusion au tour du disque.

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration en extrait pour laquelle aucune croissance visible à l'œil nu n'est observée. **(Kaloustian et al., 2008).**

Mode opératoire :

Selon la méthode de **(Ponce et al., 2003)**. Une série de milieu gélosé est préparée, puis la suspension bactérienne est ensemencée sur ce milieu. Ensuite, les disques vierges sont introduits dans les différentes concentrations d'extraits préparés. Après 24 heures d'incubation à 37°C, on observe la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour laquelle il n'y a pas de croissance bactérienne visible à l'œil nu.

Tableau 16: Différentes concentrations d'extrait dans l'eau distillée.

Concentration d'extrait en %	100%	75%	50%	25%

III.4.5.4. Activité anti-inflammatoire

Un œdème se produit lorsque la carraghénane est injectée sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure des rats. On peut mesurer l'intensité de cet œdème en augmentant le volume de la patte (par rapport au volume initial). La présence de l'extrait ayant une activité anti-inflammatoire réduira l'inflammation provoquée. **(Winter et al., 1962)**

Mode opératoire :

Les rats répartis en 6 lots ont été pesés puis maintenus dans des locaux climatisés avec l'eau et l'alimentation. Pour chaque rat, le volume initial (V_0) de la patte postérieure droite a été mesuré avec un Pied à coulisse numérique avant injection. Les différentes solutions ont été administrées par injection :

- Lot 1 (2 rats) : injection de 2mL de l'eau physiologique (témoin négatif) par voie intrapéritonéale
- Lot 2 (2 rats) : injection de 2 mL de Diclofénac (témoin positif) par voie intrapéritonéale
- Lot 3 (4 rats): injection de 2 mL de l'extrait éthanolique de Laurier dans la région sous plantaire de la patte postérieure droite (à raison de 0.1mL/10 g de poids de rat)
- Lot 4 (4 rats): injection de 2 mL de l'extrait éthanolique de l'Ortie dans la région sous plantaire de la patte postérieure droite
- Lot 5 (4rats) : injection de 2 mL de l'extrait tamponné de Laurier dans la région sous plantaire de la patte postérieure droite
- Lot 6 (4rats) : injection de 2 mL de l'extrait tamponné de l'Ortie dans la région sous plantaire de la patte postérieure droite

Trente minutes (30 min) après l'administration des différentes solutions, chaque rat a reçu une injection de 0.2 mL de solution de carraghénane à 1% sous le coussinet plantaire de la patte postérieure droite. Les volumes des pattes injectées ont été mesurés à 1, 2, 3, et 4h après injection du carraghénane.

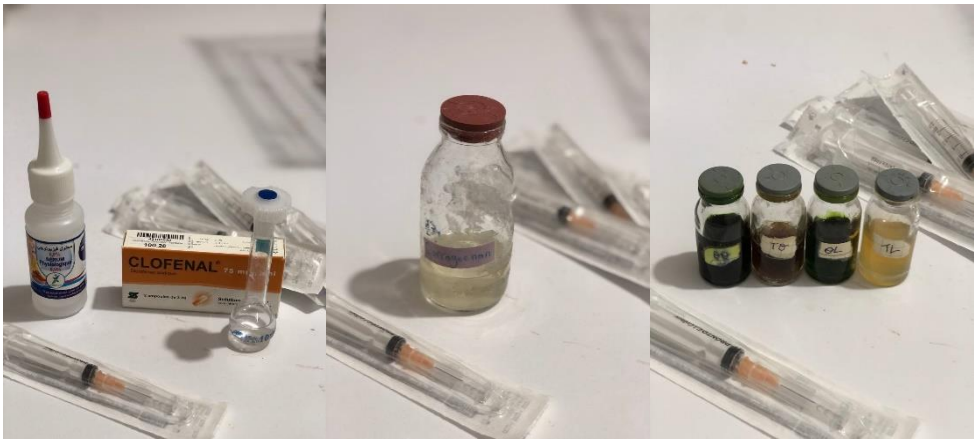
L'importance de l'œdème a été appréciée par la détermination de la moyenne du pourcentage d'augmentation (%AUG) du volume de la patte de rat suivant la formule **(Sene et al., 2017)** :

$$\%AUG = \frac{V_t - V_0}{V_0} * 100 \qquad \textbf{III.12}$$

V_t: Volume de la patte au temps t ; V_0 : Volume initial de la patte.

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par le calcul du pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème selon la formule.

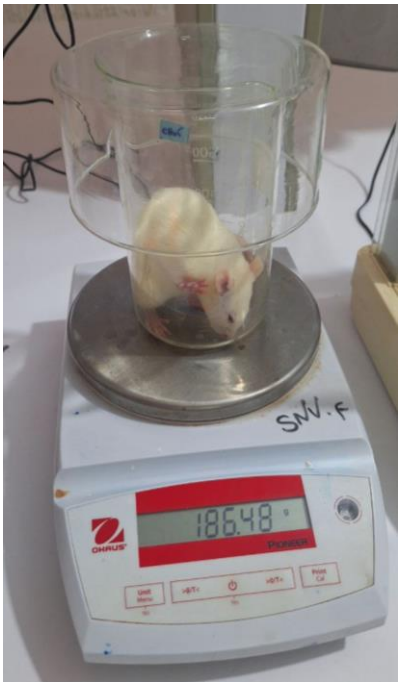
$$\%INH = \frac{\%AUG_{témoin(-)} - \%AUG_{traité}}{\%AUG_{témoin}} * 100 \qquad \textbf{III.13}$$



Les témoins Solution de carraghénane Les extraits



Pied à coulisse électronique



Pesée des rats pour administrer la dose d'injection appropriée



Injection des témoins



Injection des extraits



Injection du carraghénane et Mesure du diamètre de la patte

Figure 36: Les étapes de l'activité anti inflammatoire **(original)**

Chapitre IV: Résultats et discussions

Laurus nobilis L. et *Urtica dioica L.* sont des plantes qui font partie du patrimoine phytothérapeutique, caractérisées par plusieurs propriétés biologiques. Dans cette étude, les feuilles de laurier et de l'ortie ont été collectées de la ville de Médéa précisément laurier noble de la région d'El Kouala et l'ortie dioïque de la région d'El Thniet Elhadjar.

Pour cela, nous présentons dans ce chapitre les résultats obtenus de l'analyse quantitative des polyphénols, des flavonoïdes, des protéines, et l'étude comparative entre les caractéristiques enzymatique, anti-oxydante, antibactérienne et anti-inflammatoire des extraits de deux plantes médicinales étudiées.

IV.1. Caractérisation de la matière végétale

IV.1.1. Taux d'humidité de la matière végétale

Les taux d'humidité des feuilles fraîches de *Laurus nobilis L.* et *Urtica dioica L.* sont déterminés par dessiccation complète de l'échantillon à 105°C pendant 4 heures. Les résultats obtenus sont récapitulés dans la Figure 37.

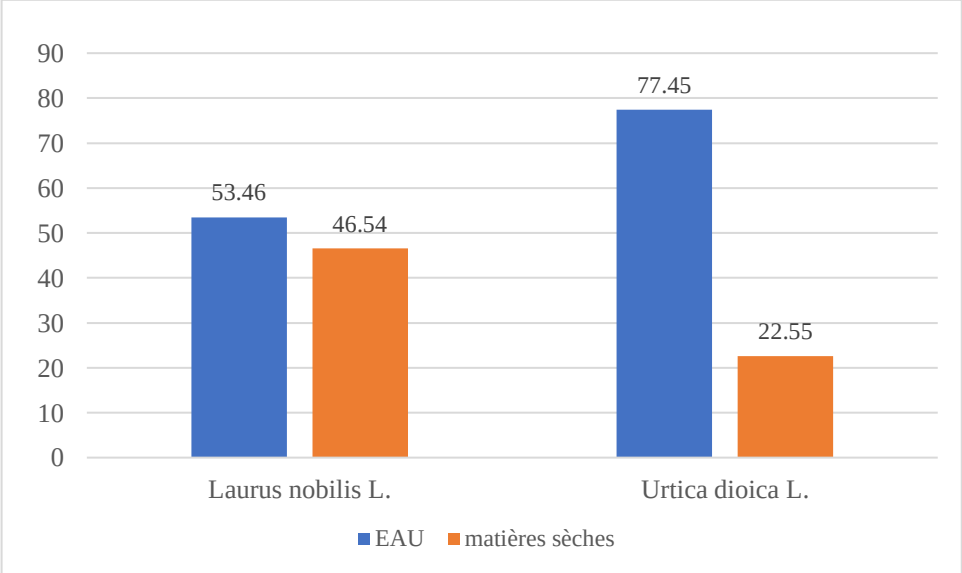


Figure 37: Taux d'humidité des feuilles des plantes étudiées

Les analyses des échantillons étudiés ont révélé des taux d'humidité important. Ce qui implique que l'eau représente la partie majoritaire dans les feuilles de ces deux plantes.

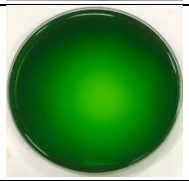
D'après la figure 37, on peut constater que les feuilles fraîches d'ortie dioïque renferment une quantité importante d'eau avec un taux d'humidité de 77.45%, par rapport aux feuilles de laurier noble qui renferme un taux d'humidité de 53,46%.

Plusieurs travaux ont été menés dans ce contexte pour déterminer les taux d'humidités des feuilles des plantes étudies. Les résultats de **GOUDJIL (2016)** obtenus ont montré un taux d'humidité de 56,80% pour les feuilles de *Laurus nobilis L.*, alors nos résultats sont relativement similaires. Aussi les résultats de **Harchi et Icheboubene (2019)** obtenus ont montré que les feuilles de laurier noble provenant de trois régions différentes : Bir-khadem, Azeffon et Attatba, contiennent un taux d'humidité de 55%, 46% et 48% respectivement. Les études de **Said et al. (2016)** à trouver que l'ortie dioïque contient des quantités importantes de l'eau entre 65-90%. Donc les résultats de nos analyses coïncident avec des recherches antérieures. La disparité notable entre les taux d'humidité peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment l'âge de la plante, la saison de récolte et la région où elle a été cultivée **(Harchi&Icheboubene, 2019)**

IV.2. Les Caractéristiques des extraits

Les différentes caractéristiques organoleptiques et physicochimiques des différents extraits préparés de *Laurus nobilis L.* et *Urtica dioica L.*ont été notées et présentées dans les tableaux suivants :

Tableau 17: Les caractéristiques organoleptiques des extraits des plantes préparés

Plante	Solvant utilisée	Aspect	Couleur		Odeur
Laurus nobilis L.	Ethanol	Liquide	Vert		Puissante, aromatique, épicée, fraîche.
	Tampon pH=7	Liquide	Jaune clair		Aromatique, épicée, moins prononcée.
Urtica dioica L.	Ethanol	Liquide	Vert foncé		Astringente, légèrement terreuse.

	Tampon pH=7	Liquide	Marron clair		Végétale, terreuse.

Tableau 18: Les caractéristiques physicochimiques des extraits des plantes préparés

Espèce	Solvant utilisée	Densité relative	pH	Indice de réfraction à 20 C°
Laurus nobilis L.	Ethanol	0,832	7	1,3668
	Tampon pH= 7	1,008	6,82	1,3393
Urtica dioica L.	Ethanol	0,839	7,67	1,3678
	Tampon pH= 7	1,007	8,9	1,3391

Les caractéristiques organoleptiques représentent les critères d'évaluation de la qualité des extraits. Nous remarquons que tous les extraits obtenus ont le même aspect, mais la couleur diffère de l'extrait éthanolique à l'extrait tamponné, tandis que l'odeur entre laurier noble et l'ortie dioïque est nettement différente. Le laurier noble émane un parfum aromatique et épicées, tandis que l'ortie dioïque dégage une odeur plus astringente, herbacée et terreuse. Cette disparité olfactive reflète probablement la composition chimique unique de chaque plante. Cette diversité d'odeurs offre une variété des arômes que la nature peut offrir.

Pour le potentiel d'hydrogène (pH), une variable facile à mesurer, est utilisée pour caractériser un produit fini ou encore à des fins de contrôle de qualité **(Boukhatem et al., 2010).** Le pH de nos extraits varie entre 6 et 9. On remarque une augmentation du pH de l'extrait tamponné d'ortie, qu'elle peut être due à plusieurs facteurs. Par exemple, cela peut résulter de la présence de composés alcalins dans l'extrait ou d'une réaction chimique avec le tampon utilisé, qui pourrait favoriser une augmentation du pH.

La densité relative à 20 °C de nos extraits varie entre 0,832 et 1,008 à 20°C. Les valeurs de densités des extraits éthanolique des deux plantes sont inférieures à 1 (densité

relative de l'eau) ce qui confirme leur légèreté par rapport à l'eau, tandis que les densités des extraits tamponnés sont supérieures à 1 (densité relative de l'eau) en raison de la présence des composés plus lourds et souvent plus polaires, comme des polyphénols.

Par contre, le faible indice de réfraction d'extrait indique sa faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser son utilisation dans la formulation des produits cosmétiques et leurs conservations. **(Kanko et al., 2004).**

IV.3. Analyse quantitative

Les analyses quantitatives réalisés sur différents extraits des espèces étudiées *Laurus nobilis L.*et *Urtica dioica L.* afin de caractériser les groupes de métabolites secondaires. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de changements de couleur induits par l'ajout de réactifs spécifiques. Les groupes chimiques étudiés sont les polyphénols, les flavonoïdes et les protéines.

IV.3.1. Dosage des polyphénols

La quantification des polyphénols totaux a été déterminée par une méthode spectro-photométrique de Folin-Ciocalteu (FCR). La teneur en polyphénols totaux pour chaque extrait est déterminée à partir de l'équation de régression d'une courbe d'étalonnage standard de l'acide gallique (voir Annexe). Les résultats obtenus sont regroupés dans le Tableau 19.

Tableau 19: Résultats du dosage des polyphénols des extraits des plantes préparés.

Plantes	Extraits	Polyphénols (mg EAG/g)
Laurus nobilis L.	Ethanol	191,27
	Tampon pH= 7	105,96
Urtica dioica L.	Ethanol	101,72
	Tampon pH= 7	95,96

À partir des résultats obtenus (tableau 19), on observe que tous les extraits éthanoliques et tamponnés sont riches en polyphénols totaux, avec une légère variabilité quantitative. L'extrait éthanolique des feuilles de laurier noble présente la plus forte teneur en polyphénols, avec 191,27 mg EAG/g, suivi par l'extrait tamponné avec une quantité significative de 105,96 mg EAG/g. Alors que les extraits éthanoliques et tamponnés des feuilles d'ortie dioïque montrent des teneurs en polyphénols de 101,72 ; 95,96 mg EAG/g, respectivement.

Dans une étude comparative, nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par **Vinha et al. (2015)**, ayant travaillés sur l'extrait éthanolique des feuilles de *Laurus nobilis L.*, ils ont relevé une valeur de 31.09 mg EAG/g. En outre, nos résultats sont relativement similaires avec les résultats de **Yakhlef et al. (2011)**, (Taux en polyphénols : 166,81 mg EAG/g d'extrait). Aussi **Kukric et al., (2012)** rapportent qu'une teneur en composées phénoliques peut atteindre de (208.37 mg EAG/g) d'extrait d'ortie en utilisant l'éthanol 80% comme solvant d'extraction.

La variation des taux de polyphénols peut s'expliquer par la diversité des méthodes d'extraction utilisées, telles que le type du solvant, la température et la durée d'extraction **(Popovici et al., 2009)**. Les polyphénols sont une classe de composés caractérisée, comme leur nom l'indique, par la présence de plusieurs groupes phénoliques associés en structures plus ou moins complexes. Ils sont solubles dans les solvants organiques polaires et peu solubles dans les solvants moins polaires **(Lazare, et al., 2006).** Ainsi, les solvants présentant les teneurs les plus élevées sont les solvants organiques en raison de leur plus grande polarité.

Ces variations de résultats peuvent être attribuées à la faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu, qui constitue l'inconvénient majeur de cette méthode colorimétrique. Il est connu que ce réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes hydroxyles, non seulement ceux des composés phénoliques, mais aussi de certains sucres et protéines **(Valko et al., 2006 ; Gómez-Caravaca et al., 2006).**

En effet, la composition en polyphénols peut varier tant qualitativement que quantitativement d'une plante à une autre. Cette variabilité est largement due aux

conditions climatiques et environnementales spécifiques à chaque région **(Miliauskas et al., 2004)**, ainsi qu'au patrimoine génétique de la plante elle-même **(Mata et al., 2007).**

IV.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 une courbe d'étalonnage linéaire (voir Annexe), permettant ainsi de calculer la teneur en flavonoïdes des extraits. Les résultats sont présentés dans le Tableau 20.

Tableau 20 : Résultats du dosage des Flavonoïdes des extraits des plantes préparés

Plantes	Extraits	Flavonoïdes (mg EQ/g)
Laurus nobilis L.	Ethanol	76,65
	Tampon pH= 7	38
Urtica dioica L.	Ethanol	118,46
	Tampon pH= 7	20,90

D’après les résultats illustrés dans le tableau 20, les teneurs en flavonoïdes des extraits éthanoliques des feuilles de l'ortie dioïque et laurier noble présentent les plus fortes teneurs en flavonoïdes avec 118,46 ; 76,65 mg EQ/g, respectivement. En revanche, les résultats obtenus pour les extraits tamponnés des feuilles de l'ortie dioïque et laurier noble révèlent une faible teneur en flavonoïdes, atteignant respectivement 20,90 ; 38mg EQ/g.

Les flavonoïdes totaux trouvés dans l’extrait éthanolique de laurier noble sont beaucoup plus élevés que celles trouvés par **Vinha et al. (2015)** sur les feuilles de la même espèce avec une teneur de 20.88mg EQ/g d’extrait éthanol. En revenge, **Mekhibi et Boudria, (2013)** rapportent que la teneur totale en flavonoïdes est de 4,31 mg EQ/g de la phase butanol de la plante *Urtica dioica L*. de la région de Jijel.

Les variations des teneurs en flavonoïdes entre les extraits peuvent s'expliquer par la sélectivité de chaque solvant utilisé car les flavonoïdes constituent un groupe très

diversifié de composés phénoliques, certains flavonoïdes sont solubles dans des solvants polaires, tandis que d'autres, sont solubles dans des solvants apolaires. En résumé, on peut dire que l'ortie dioïque et laurier noble sont riches en flavonoïdes polaires par rapport aux apolaires **(Lazare, et al., 2006).**

IV.3.3. Dosage des protéines

La méthode de dosage spéctrophotométrique de **LOWRY et al (1951)** à été utilisée pour estimer la teneur en protéines des différents extraits préparés. La concentration des protéines est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage établie (voir Annexe) en employant de l'albumine sérique bovine (BSA). Cette courbe montre une zone de linéarité sur l'intervalle de concentrations en protéines allant de 0,05 à 0,25 g/L. Les résultats du dosage des protéines sont présentés dans la figure 38.

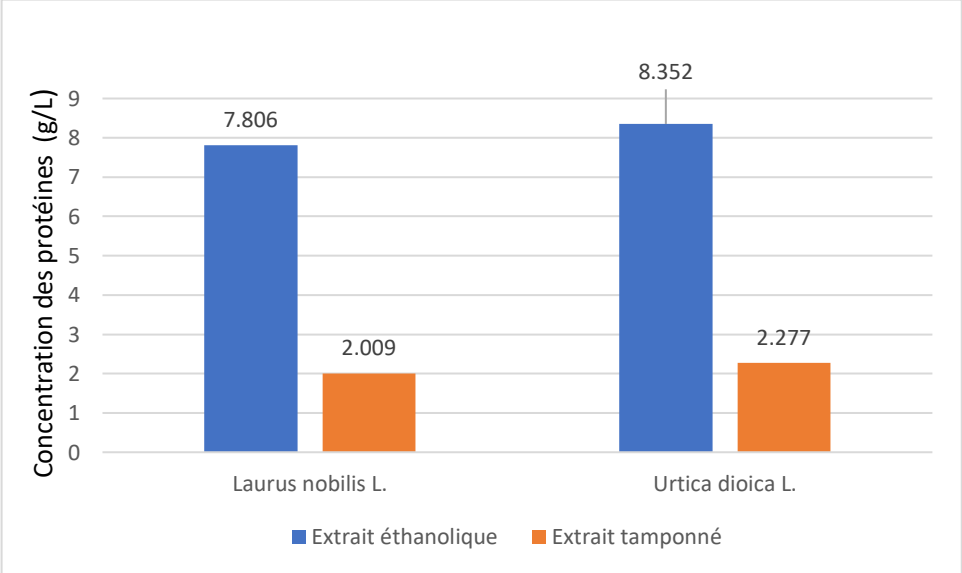


Figure 38 : Résultats des dosages des protéines des extraits des plantes étudiées

L'analyse spectrophotométrique des extraits préparés a montré la présence des protéines dans les extraits des deux plantes étudiées. La concentration des protéines a été obtenue par la méthode de Lowry par une estimation graphique de BSA. La concentration des protéines est variable, pour les deux extraits éthanoliques. Elle est estimée à 8,352 g/L ; 7,806 g/L pour *Laurus nobilis L.* et *Urtica dioica L.* respectivement. Tandis que les deux extraits tamponnés montrent des valeurs de 2,009 g/L ; 2,277 g/L pour *Laurus nobilis L.* et *Urtica dioica L.* respectivement.

On remarque que les extraits éthanoliques présentent une concentration plus élevée que les extraits tamponnés. Cela s'explique par le fait que l'éthanol est un excellent agent d'extraction pour ces molécules.

IV.4. Analyse biologique

IV.4.1. Activité anti-oxydante in-vitro

L'activité anti-oxydante in vitro des différents extraits des feuilles de laurier noble et de l'ortie dioïque (extrait éthanolique, extrait tamponné et hydrolat), a été évaluée par la méthode de piégeage des radicaux par DPPH•. Le pouvoir antioxydant des différents extraits a été estimé et comparé avec un antioxydant puissant (L'acide férulique). Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes ayant une allure exponentielle avec présence d'une phase stationnaire qui signifie la réduction presque totale du DPPH•, en sa forme non radicalaire. Les résultats de l'activité anti-oxydante de nos extraits sont présentés dans les figues suivantes :

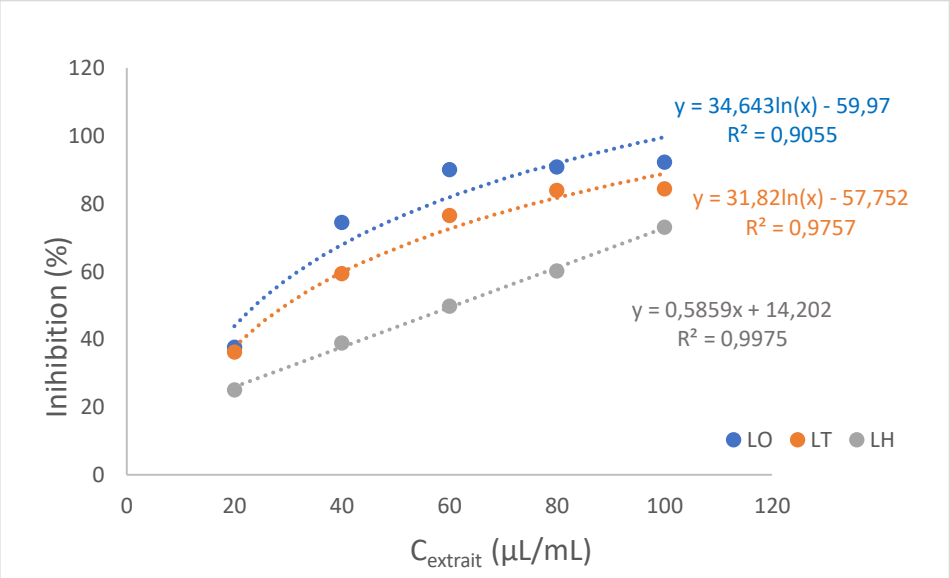


Figure 39 : Pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations des extraits de *Laurus nobilis L.*

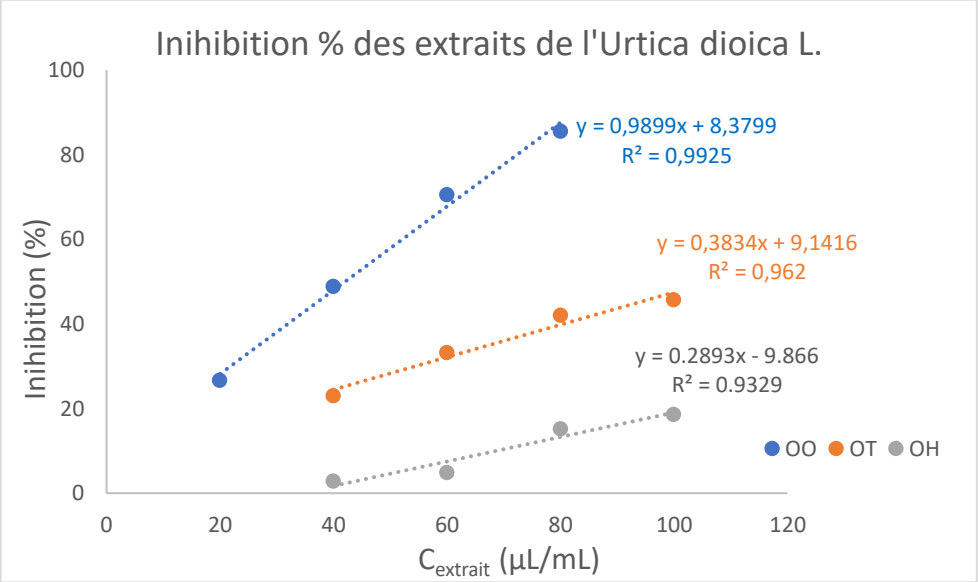


Figure 40 : Pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations des extraits de *l'Urtica dioica L.*

- **Détermination des valeurs d'IC50**

Pour mieux évaluer le pouvoir antioxydant de nos extraits, nous avons déterminé la valeur d'IC50 µg /mL qui est définie comme étant la concertation de l'extrait antioxydant nécessaire pour inhiber et réduit 50% du radical DPPH•. Dont les valeurs d'IC50 calculées, nous a permis d'évaluer et comparer l'efficacité des extraits, plus la valeur est petite, plus le pouvoir antioxydant à piéger les radicaux libres est élevé. Les valeurs d'IC50 des différents extraits, sont illustrées dans le tableau suivant :

Tableau 21: L'IC50 du test DPPH des extraits des plantes étudiées

Plantes	Extraits	IC50 des extraits (µL/mL)	IC50 de l'acide férulique (µL/mL)
Laurus nobilis L.	Ethanolique	23,91	20,34
	Tamponné	29,55	
	Hydrolat	61,1	
Urtica dioica L.	Ethanolique	42,04	
	Tamponné	106,56	
	Hydrolat	206,93	

D'après les résultats, l'activité anti-radicalaire augmente avec l'augmentation des concentrations des extraits. Dans une gamme de concentration de 20 à 100 µL/mL, les extraits de chaque plante présentant des niveaux différents d'activité de réduction des radicaux DPPH•. D'une part, l'extrait éthanolique de laurier noble présente le pourcentage d'inhibition le plus élevé (92,18%) par rapport à l'extrait tamponné et l'hydrolat (84,4% ; 73,08%) respectivement, d'autre part, l'extrait éthanolique de l'ortie dioïque affiche le pourcentage d'inhibition le plus élevé (86,03%), tandis que l'extrait tamponné et l'hydrolat montrent des pourcentages d'inhibition plus faibles (45,63% ; 18,63%) respectivement. Nos résultats permettent de mettre en évidence que les deux plantes étudiées possèdent une activité anti-oxydante donc donneur d'hydrogène.

Cependant, les valeurs de l'IC50 varient de 206,93 à 23,91(µL/mL). L'acide férulique a été utilisé comme un antioxydant de référence avec une IC50 de 20,34(µL/mL). En comparant les concentrations efficaces des extraits des deux plantes (*Laurus nobilis L.*et *Urtica dioica L.),* on s'aperçoit que les extraits des feuilles étudiées n'ont pas le même pouvoir antioxydant. Effectivement, le laurier noble possède une forte activité antioxydante avec des valeurs d'IC50 égal à 23,91(µL/mL) de l'extrait éthanolique ; 29,55(µL/mL) de l'extrait tamponné ; 61,1(µL/mL) de l'hydrolat, qui sont proches de celui de l'antioxydant de référence, l'acide férulique (IC50 = 20,34 µL/mL). En revanche, l'ortie dioïque semblent avoir une activité antioxydante plus faible, qui présente des valeurs d'IC50 égal à 42,04 (µL/mL) de l'extrait éthanolique ; 106,56(µL/mL) de l'extrait tamponné ; 206,93(µL/mL) de l'hydrolat, qui sont supérieurs de celui de l'antioxydant de référence.

Ainsi, l'activité anti-radicalaire se classe dans l'ordre décroissant suivant : l'acide férulique > l'extrait éthanolique de laurier noble > l'extrait éthanolique de l'ortie dioïque > l'extrait tamponné de laurier noble > l'extrait tamponné de l'ortie dioïque > l'hydrolat de laurier noble > l'hydrolat de l'ortie dioïque.

Ces résultats permettent de conclure que les extraits des feuilles de laurier noble et l'ortie dioïque possèdent une assez bonne activité anti-oxydante, ce qui confirme les résultats du dosage des polyphénols. L'étude de l'activité antioxydante des extraits éthanolique et tamponné des feuilles de *Laurus nobilis L.* ont révélé que cette espèce a un pouvoir antioxydant le plus puissant par rapport aux extraits des feuilles de l'*Urtica*

dioica L. qui ont révèle un pouvoir antioxydant plus faible. Ce pouvoir antioxydant s'explique par la présence des composés phénoliques notamment les flavonoïdes présents dans les plantes étudiées (tableaux 20 et 21), et qui sont connu comme des substances antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires.

L'extrait éthanolique de laurier noble a montré une activité antiradicalaire nettement supérieure à celles de l'extrait éthanolique obtenus par **Ferreira et al. (2006)**, sur les feuilles de la même espèce avec un taux d'inhibition de 67%. Aussi, l'étude réalisée par **Vinha et al. (2015)** a montré une bonne efficacité inhibitrice du radical DPPH par l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux des feuilles de laurier noble avec des pourcentages d'inhibitions de 82.63% ; 51.18% respectivement. Dans une étude réalisée par **Nukabadi et al. (2020)** sur l'efficacité d'*Urtica dioica L.* à piéger le radical DPPH, des pourcentages d'inhibitions compris entre 75,5 et 78,5%. Une autre étude comparative, des extraits méthanolique de laurier noble et l'ortie dioïque de **Albayrak et al. (2011)** ont observé des valeurs d'IC50 de 30.05µL/mL pour laurier ; 123.67µL/mL pour l'ortie, nos résultats sont relativement similaires avec ces résultats.

IV.4.2. Activité enzymatique

Les activités enzymatiques recherchées et caractérisées, chez les différents extraits des feuilles de laurier noble et de l'ortie dioïque, sont celles des lipases (les hydrolases) et des catalases (les oxydoréductases).

IV.4.2.1. Activité lipasique

Les lipases sont des sérines hydrolases définies comme des triacylglycérolacyl hydrolases. **(Robic et al., 2017).** Le rôle physiologique des lipases est de catalyser l'hydrolyse des triacylglycérides pour libérer des acides gras et du glycérol. **(Houde et al., 2004).**

La recherche de l'activité lipasique dans les extraits des feuilles de laurier noble et de l'ortie dioïque (extrait éthanolique et extrait tamponnés) est effectuée en utilisant la méthode de titration des acides gras libérés pendant la réaction de lipolyse. Cette méthode consiste à déterminer la quantité d'acides gras libérés en utilisant le NaOH (une base) selon le principe de neutralisation d'un acide par une base. Une fois que la couleur

vire au rose, le volume de NaOH ajouté est utilisé pour calculer l'activité des lipases en suivant une formule spécifique.

L'activité des lipases peut être influencée par plusieurs paramètres, notamment la température et le temps **(Menden et al., 2019)**.Pour cela, nous avons caractérisé l'activité lipasique afin de déterminer l'influence du temps d'incubation, de la température et la concentration du $CaCl_2$ dans les extraits des plantes préparés.

a. L'effet de la température sur l'activité lipasique des extraits préparés

L'influence de la température sur l'activité lipasique a été déterminée par incubation du mélange réactionnel, pendant 30 min à 1°C, 7°C, 15°C, 25°C, 37°C et 50°C, avec l'ajout de 0,11M de $CaCl_2$.

Les résultats de l'effet de la température sur l'activité lipasique obtenus sont récapitulés dans les Figure 41 et 42.

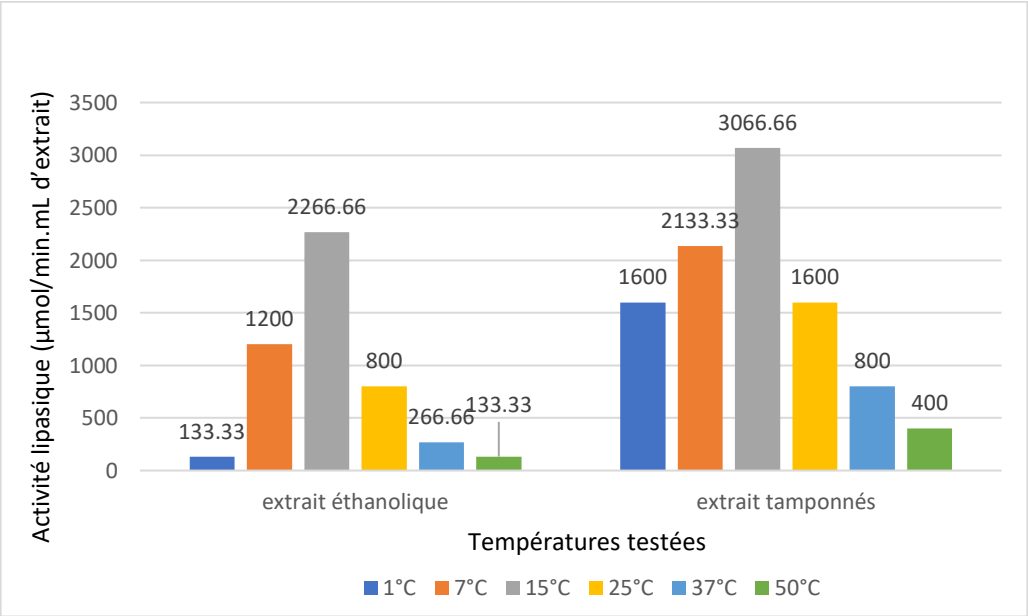


Figure 41 : L'effet de la température sur l'activité lipasique des extraits de *Laurus nobilis L.*

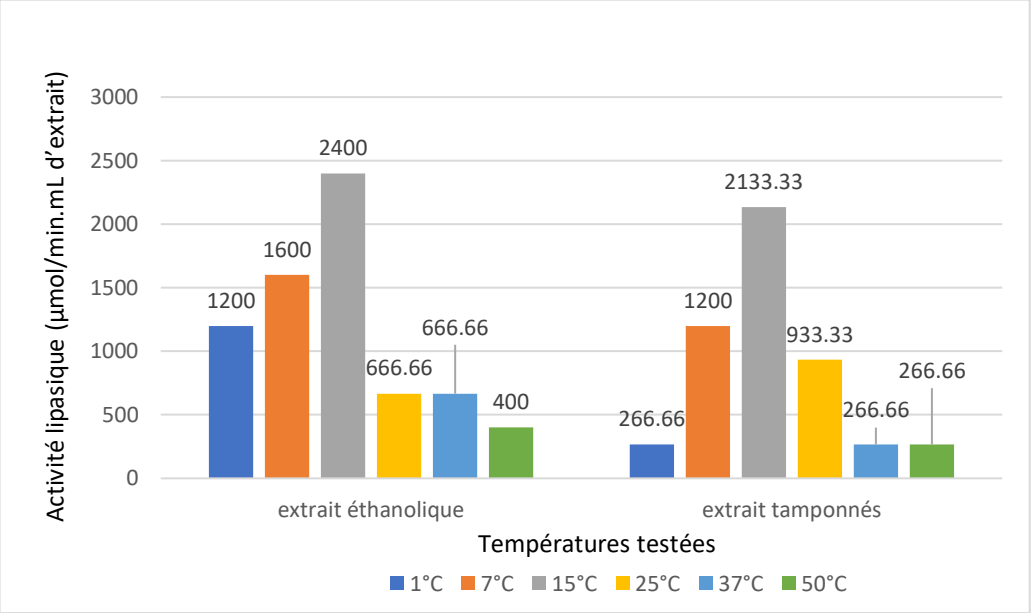


Figure 42: L'effet de la température sur l'activité lipasique des extraits del*'Urtica dioica L*

Les résultats montrent que la température optimale de l'activité lipasique des extraits des deux plantes étudiées est de 15°C, tandis que les autres températures testées (1°C, 7°C, 25°C, 37°C et 50°C) montrent une activité lipasique plus faible. L'extrait tamponné de laurier noble et l'extrait éthanolique de l'ortie dioïque présentent une activité lipasique la plus élevé avec des valeurs de 3066,66 ; 2400 (µmol/min.mL d'extrait) respectivement.

Les lipases des graines de laurier ont été caractérisées par **Isbilir et al. (2008)**, ont trouvé une température optimale de 50 °C. D'autres études ont montré aussi que la température optimale de l'activité lipasique des plantes comme les graines oléagineuses est de 24 °C.

b. L'effet du temps sur l'activité lipasique des extraits préparés

L'influence du temps sur l'activité lipasique des extraits éthanoliques et tamponnés des deux plantes étudiées, a été déterminée par incubation du mélange réactionnel, à 15 °C, avec l'ajout de 0,11M de $CaCl_2$, pendant 15min, 30min, 45min, 60min, 75min, 90min. Le calcul de la concentration d'acide gras libéré selon la formule **III.11**.

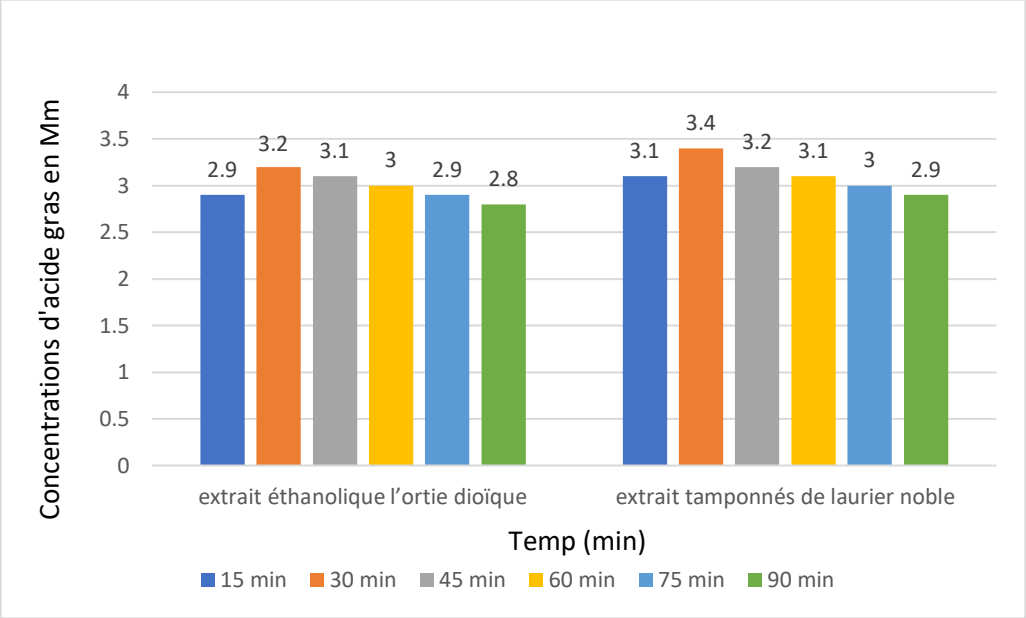


Figure 43: L'effet du temps sur la quantité des acides gras libérés de l'extrait éthanolique de l'ortie dioïque et l'extrait tamponnée de laurier noble.

L'activité lipasique est révélée par une libération des acides gras, suite à la dégradation des triglycérides présentent dans l'huile d'olive, par l'action des lipases. D'après la figure 43 on remarque que les deux extraits possèdent un profil presque similaire de dégradation des triglycérides.

Les résultats montrent que la quantité d'acides gras libérés des deux extraits est maximale à 30 minutes.

c. L'effet de la concentration du $CaCl_2$ sur l'activité lipasique des extraits préparés

L'effet de la concentration du $CaCl_2$ sur l'activité lipasique a été évalué en variant la concentration de la solution de $CaCl_2$ à (0M ; 0,055M ; 0,11M ; 0,165M ; 0,22M ; 0,33M), l'incubation du mélange réactionnel est à 15 °C pendant 30min. Les résultats de l'effet de la concentration du $CaCl_2$ sur l'hydrolyse des triglycérides obtenus sont illustrés dans la (Figure 44).

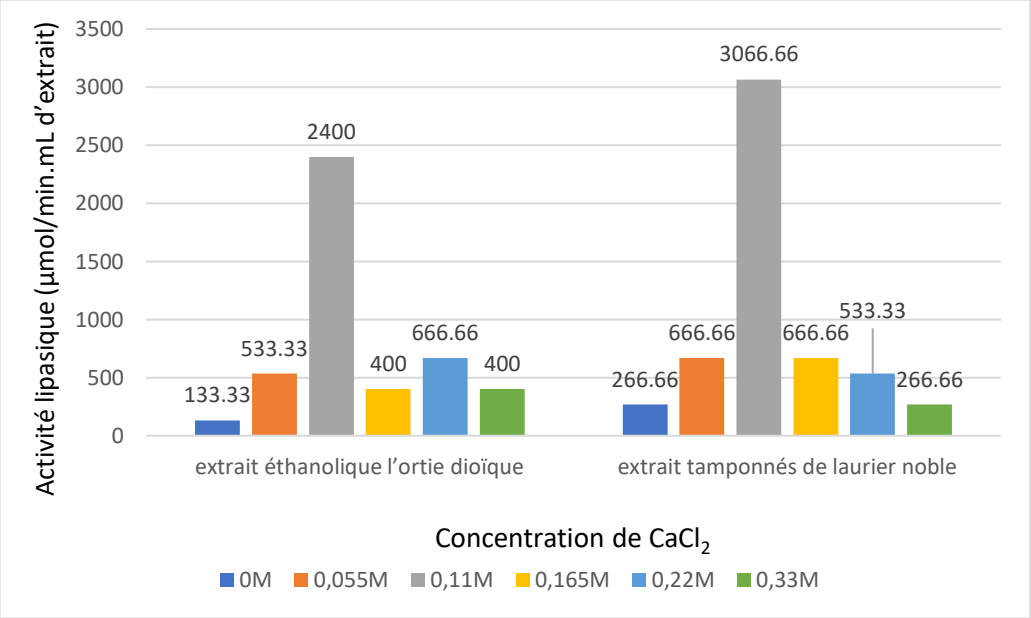


Figure 44: L'effet de la concentration du CaCl2 sur l'activité lipasique des extraits préparés

Les résultats obtenus montrent que l'activité lipasique des deux extraits est optimale à l'ajout de 0,11M de $CaCl_2$, tandis que les autres concentrations (0M ; 0,055M ; 0,165M ; 0,22M ; 0,33M) montrent des activités lipasiques plus faible.

Une étude comparative, des lipases des graines de laurier présentait une activité significativement plus élevée après l'ajout de $CaCl_2$ **(Isbilir et al., 2008).** Par contre, d'autres résultats ont constaté que l'activité lipasique des plantes des graines dormantes a augmenté suite l'ajout de 2% de $CaCl_2$ **(Enujiugha et al., 2004).**

Les lipases sont largement présentes dans la nature et sont produites par divers organismes vivants, y compris les plantes, les animaux et les microorganismes. Ces enzymes présentent plusieurs caractéristiques très intéressantes, telles qu'un faible coût de production et une purification facile. Grace à leur capacité à catalyser des réactions avec une grande efficacité, stabilité et polyvalence rend ces enzymes très attractives d'un point de vue commercial **(Barros et al., 2010)**, elles sont largement utilisées dans les industries alimentaires, des détergents, du cuir, du textile, du cosmétique, et les industries pharmaceutique **(Houde et al., 2004)**.

Au cours de dernières années, De toutes les enzymes connues, ce sont les lipases qui ont attiré le plus l'attention des scientifiques **(Houde et al., 2004)**. Beaucoup de

recherche se sont concentrées sur des lipases des différentes parties de plante pour sélectionner des lipases avec des nouvelles propriétés adaptables aux conditions utilisées dans les processus industriels **(Gadge et al., 2011)**.

L'objectif de notre étude était de caractériser l'activité des lipases de deux plantes médicinales *Laurus nobilis L.* et *Urtica dioica L.* Les lipases des plantes étudiées ont un profil de lipolyse maximale au bout de 30 min et à une température de 15 °C en présence de $CaCl_2$à raison de 0,11Mm. En plus, on constate que les feuilles de laurier noble ont une meilleure activité lipasique par rapport aux feuilles de l'ortie dioïque.

IV.4.2.2. Activité catalasique

Les catalases sont des enzymes anti-oxydantes qui catalysent le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire **(Liu &Kokare, 2023).** Le calcul de l'activité catalytique des différents extraits préparés est effectué par la détermination de la valeur du permanganate de potassium en l'absence de réaction enzymatique (témoins) ainsi que la valeur après l'ajout de l'extrait enzymatique. En soustrayant la valeur du témoin de celle de l'extrait enzymatique, on obtient le volume de permanganate de potassium correspondant à la quantité de peroxyde d'hydrogène consommée par l'action de la catalase. Les résultats sont récapitulés dans le tableau 22.

Tableau 22: les résultats de l'activité catalasique des extraits préparés

Plantes	Extraits	Activité catalasique (Kat moles/seconde)
Laurus nobilis L.	Ethanol	$5,25 \times 10^{-3}$
	Tampon pH= 7	$4,89 \times 10^{-3}$
Urtica dioica L.	Ethanol	$5,15 \times 10^{-3}$
	Tampon pH= 7	$3,88 \times 10^{-3}$

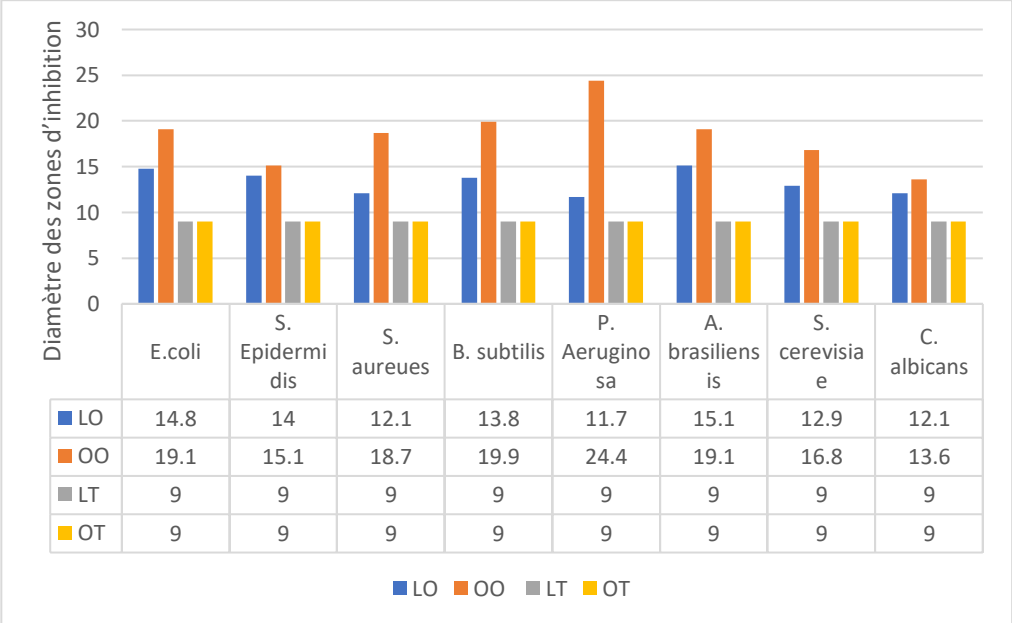
Selon les résultats (tableau 22), les extraits des feuilles de laurier noble et de l'ortie dioique montrent une activité catalasique faible. L'activité des catalases peut être

affectée comme toutes les enzymes, par, la température, le pH et les ions métalliques **(Iwase et al., 2013).**

IV.4.3. Activité antimicrobienne

IV.4.3.1. Activité antibactérienne et antifongique :

L'activité antibactérienne des extraits de *Laurus nobilis L.* et *Urtica dioica L.* a été évaluée par la technique de diffusion sur disques. L'effet inhibiteur se manifeste par la formation d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imbibé des extraits étudiés, où la croissance des micro-organismes est entravée. Les différentes souches ont été exposées aux antibiotiques pour réaliser un antibiogramme, afin de comparer les zones d'inhibition entre les antibiotiques et nos extraits. Nous avons évalué l'activité de l'antibiotique Amoxicilline sur trois souches bactériennes, ainsi que celle de la Neomycine et du Géctapéne sur le reste des souches, et de la Nystatine sur trois souches fongiques. Les résultats sont représentés dans la figure 45.



	E.coli	S. Epidermidis	S. aureues	B. subtilis	P. Aeruginosa	A. brasiliensis	S. cerevisiae	C. albicans
LO	14.8	14	12.1	13.8	11.7	15.1	12.9	12.1
OO	19.1	15.1	18.7	19.9	24.4	19.1	16.8	13.6
LT	9	9	9	9	9	9	9	9
OT	9	9	9	9	9	9	9	9

Figure 45: les résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance des souches vis-à-vis des extraits éthanoliques, tamponnés de laurier noble et l'ortie dioïque.

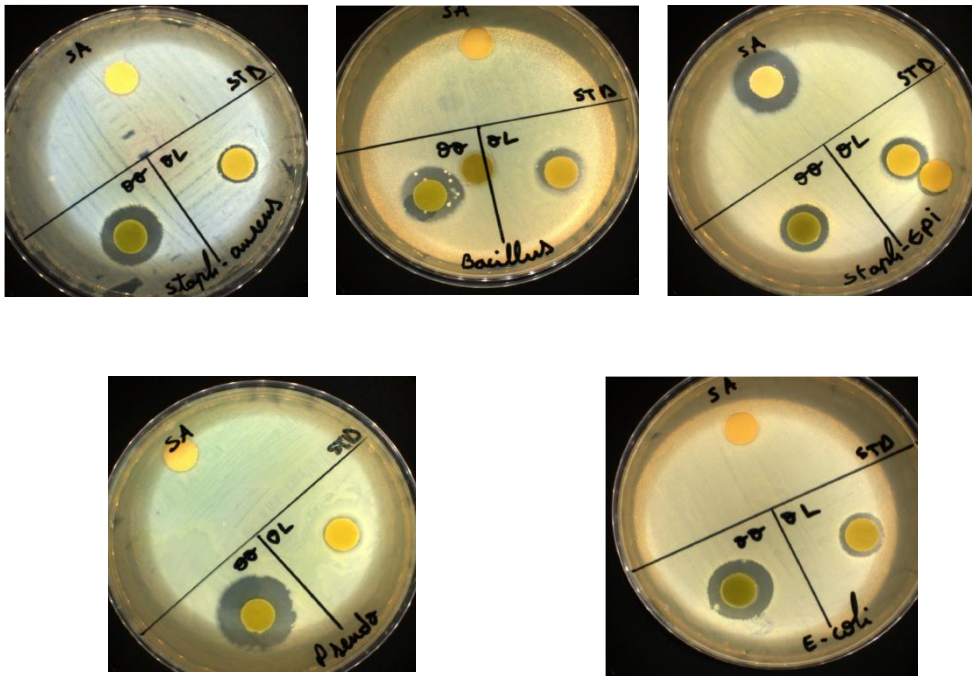


Figure 46: Pouvoir antibactérien de l'extrait éthanolique de *Laurus nobilis L.*et *Urtica dioica L.* sur :a: *Staphylococcus aureues*; b: *Bacilus subtilis*; c: *Staphylococcus epidermidis* ; d: *Pseudomonas aeruginosa*; e: *Escherichia coli*.

La sensibilité contre le Neomycine montre que *Staphylococcus epidermidis* la souche la plus sensible avec la plus grande zone d'inhibition de 20,2 mm.

D'après ces résultats toutes les souches fongiques étaient sensibles à l'antibiotique standard « Nystatine » *Candida Albicans* possède la plus grande zone d'inhibition 32,9 mm, suivi par *Saccharomyces Cerevisiae* avec 31,8 mm.

Les résultats obtenus d'après la figure 46 montrent que tous les extraits éthanoliques de laurier noble et l'ortie dioïque ont un effet inhibiteur très important vis-à-vis des souches bactériennes avec des zones d'inhibition assez remarquables.

D'une part, l'extrait éthanolique des feuilles de l'ortie dioïque a marqué un effet inhibiteur important envers la croissance des bactéries (*E.coli, S.aureus, S.epidermidis, P.aeruginosa, P.aeruginosa, et B.subtilis*) dont les zones d'inhibition obtenues étaient entre 15 et 25 mm. D'autre part, l'extrait éthanolique des feuilles de laurier noble a inhibé la croissance des souches bactérienne avec des zones d'inhibition moins importantes étaient entre 11 et 15 mm.

L'évaluation du pouvoir antibactérien des deux extraits des deux plantes étudiées, nous a permis de conclure qu'elles ont un effet différent sur certaines bactéries. Les feuilles de l'ortie dioïque ont marqué le meilleur effet inhibiteur.

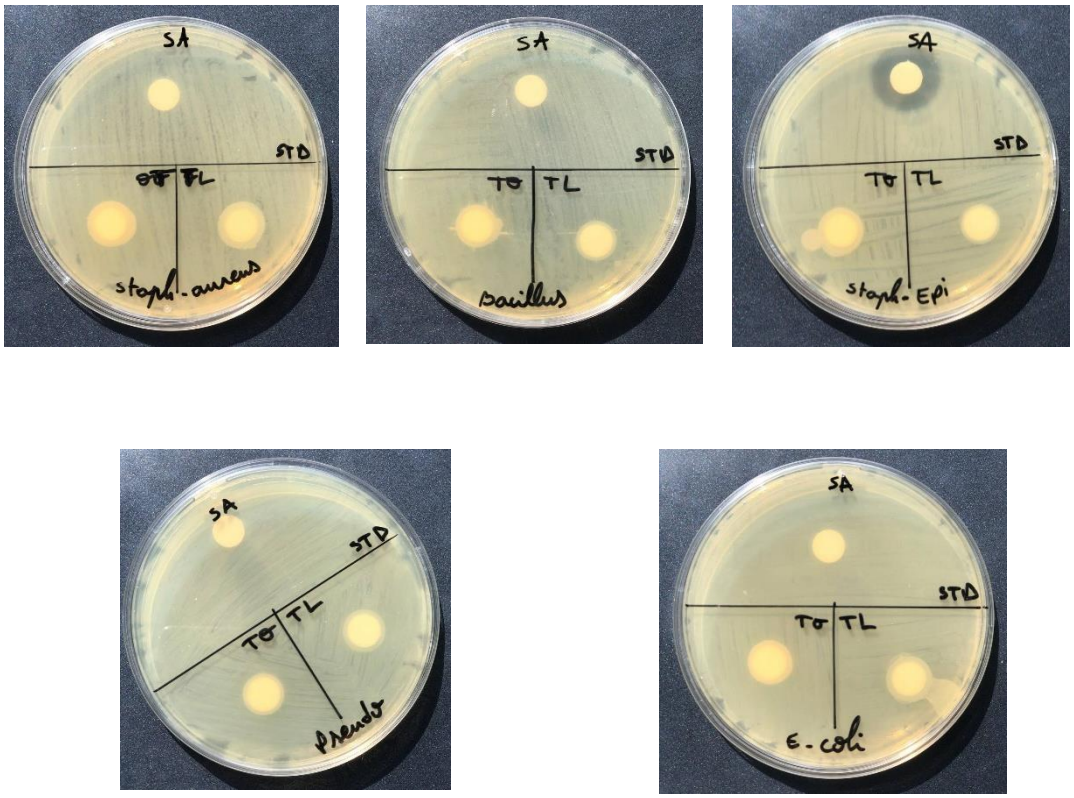


Figure 47: Pouvoir antibactérien de l'extrait tamponné de *Laurus nobilis L.*et *Urtica dioica L.* sur :a: *Staphylococcus aureues*; b: *Bacilus subtilis*; c: *Staphylococcus epidermidis* ; d: *Pseudomonas aeruginosa*; e: *Escherichia coli*.

L'examen de la figure 47 montre que les extrait tamponnés des deux plantes *Laurus nobilis L.*et *Urtica dioica L.*n'ont marquée aucun effet inhibiteur envers la croissance des souches des bactéries (*E.coli, S.aureus, S.epidermidis, P.aeruginosa, P.aeruginosa, et B.subtilis*), cela confirme l'absence de l'activité antibactériennes des extraits tamponnés.

À l'exception, le cas de l'extrait tamponné sur les souches des bactéries testées où la zone d'inhibition est de 9 mm. Cela pourrait s'expliquer par une absorption inefficace du solvant par le disque, entraînant un manque de contact entre l'extrait et la bactérie.



Figure 48: Pouvoir antifongique de l'extrait éthanolique de *Laurus nobilis L.*et *Urtica dioica L.* sur : a: *Aspergillus brasiliensis*; b:*saccharomyces cerevisiae* ; c: *candida albicans*.

Les résultats obtenus au cours de cette étude (**figure 48)** montrent que les extraits éthanoliques de *Laurus nobilis L.*et *Urtica dioica*, ont exercé un effet inhibiteur sur la croissance de tous les champignons testés avec des proportions différentes dont les diamètres des zones d'inhibition sont compris entre 13,6 et 19,1 mm pour l'extrait éthanolique de *Urtica dioica L.* et des zones d'inhibition entre 12,1 et 15,1mm pour l'extrait éthanolique de *Laurus nobilis L.*

IV.4.3.2. La concentration minimale inhibitrice (CMI) :

La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait éthanolique de la plante *Urtica dioica L.* a été déterminé par la méthode de diffusion sur disque avec differentes concentrations. L'activité antimicrobienne la plus prometteuse à été observée contre la souche de bactérie *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 23 ci-dessus :

Tableau 23: Valeurs des CMI pour la souche *P.aeruginosa*

	l'extrait éthanolique de la plante *Urtica dioica L.*			
Concentration de l'extrait en %	100%	75%	50%	25%
Pseudomonas aeruginosa	+	+	-	-

Les valeurs de la CMI de l'extrait éthanolique de la plante *Urtica dioica L*. ont montré un effet inhibiteur à des concentrations de 100 % et 75 %. Aucun effet inhibiteur n'a été observé au-delà de ces concentrations contre *Pseudomonas aeruginosa*.

Dans des études comparative, **Salih (2014)** a montré que l'ortie dioique a un fort effet antibactérien sur des bactéries telles que *l'Escherichia coli, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Tandis que l'extrait liquide de l'ortie dioique a montré une activité antimicrobienne contre *Pseudomonas aeruginosa*, et *Staphylococcus aureus*. **(ElezGarofulić et al. 2021)**. Par contre l'étude de **Ramos et al., 2012** ont montré que les extraits éthanoliques et aqueux des feuilles de laurier noble n'ont montré aucune activité inhibitrice contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, et *Salmonella typhimurium*.

IV.4.4. Activité anti-inflammatoire

L'étude a été conçue in vivo pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits des feuilles de la plante *Laurus nobilis L.* et la plante *Urtica dioica L.* Les expériences sont réalisées sur le modèle de l'œdème de la patte des rats induit par la carraghénane 1%, les résultats obtenus ont été comparés à ceux d'un médicament commercialisé le diclofénac qui est un anti-inflammatoire non stéroïdien et à ceux du témoin négatif (eau physiologique).

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire de nos extraits ont été exprimés par le calcule de pourcentage d'augmentation d'œdème (%AUG), et le pourcentage d'inhibition de l'œdème (%INH), les graphes ci-dessous **(Figure 49 ; 50 ; 51 ; 52)** présentent les résultats trouvés.

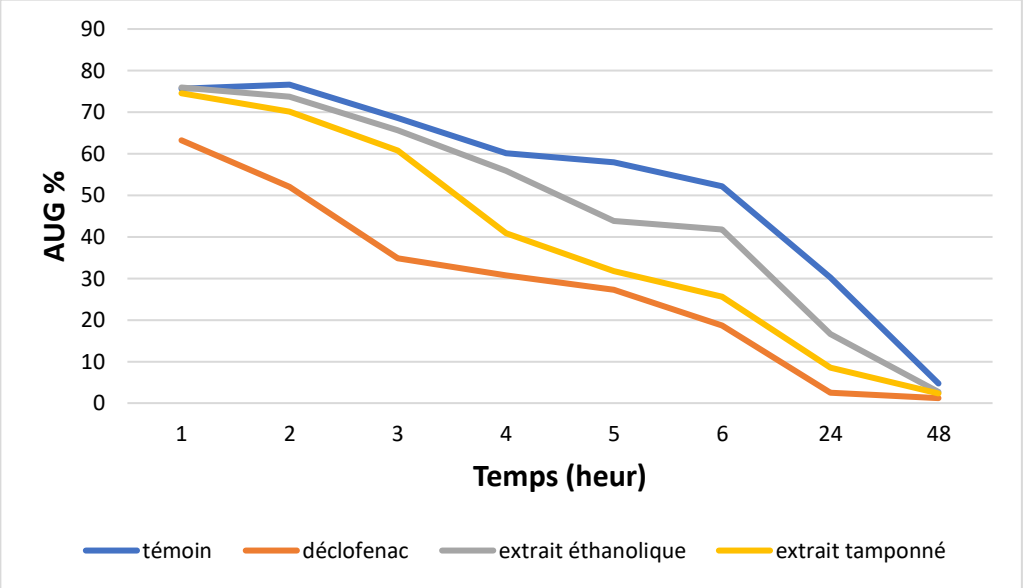


Figure 49: Pourcentage de l'augmentation d'épaisseur de la patte (AUG%) des rats traités par l'extrait éthanolique, l'extrait tamponné de *Laurus nobilis L.*, Diclofénac et l'eau physiologique (témoin-).

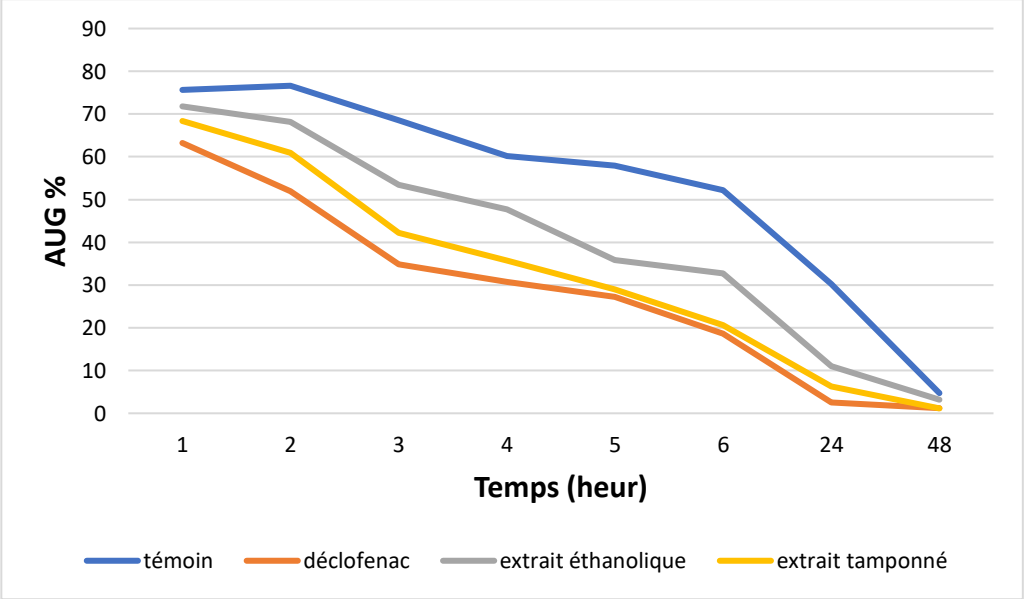


Figure 50: Pourcentage de l'augmentation d'épaisseur de la patte (AUG%) des rats traités par l'extrait éthanolique, l'extrait tamponné de *Urtica dioica L.*, Diclofénac et l'eau physiologique (témoin-).

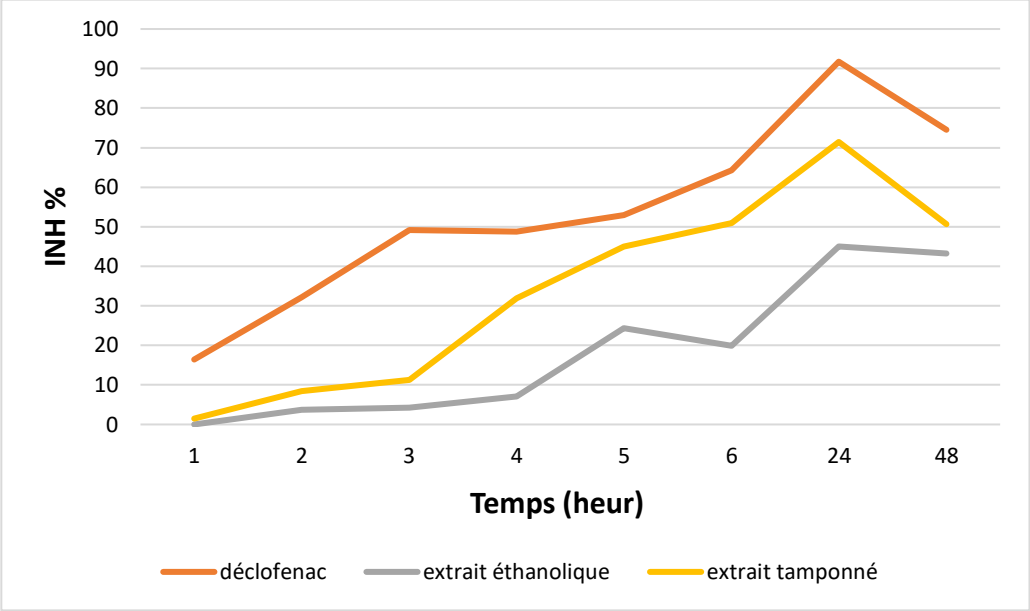


Figure 51: Pourcentage d'inhibition d'épaisseur de la patte (INH%) des rats traités par l'extrait éthanolique, l'extrait tamponné de *Laurus nobilis L.* et Diclofénac.

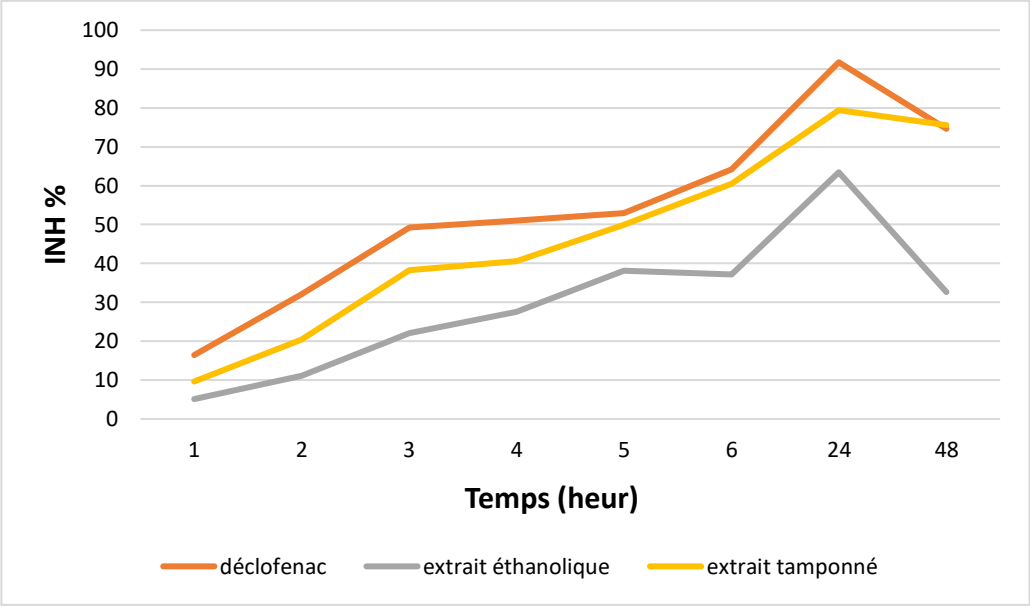


Figure 52 : Pourcentage d'inhibition d'épaisseur de la patte (INH%) des rats traités par l'extrait éthanolique, l'extrait tamponné de *Urtica dioica L.* et Diclofénac.

D’après les résultats du pourcentage de l’augmentation d’épaisseur de la patte des rats (AUG%) présenté dans les figures 49 et 50, on observe que l'injection de la carraghénine induit une augmentation du volume de l'œdème chez les six groupes de rats en fonction du temps, atteignant un pic maximum après deux heures.

D'après les figures 51 et 52 (INH%), on remarque que le groupe témoin traité avec de l’eau physiologique a présenté une augmentation du volume de la patte des rats durant toute l’expérience. D’autre part, les groupes traités par les extraits éthanoliques et tamponnés de laurier noble et l’ortie dioïque, ont eu une diminution progressive de l'œdème de la patte des rats après 3 heures jusqu’au lendemain (24h). La présence d'un pic dans la courbe d'inhibition de l'œdème à 24 heures indique que nos extraits atteignent une efficacité maximale anti-inflammatoire. Les pourcentages d'inhibition (INH%) les plus élevés sont ceux de l'extrait tamponné d'ortie dioïque et de laurier noble, à 79,42% et 71,43% respectivement. En revanche, pour l'extrait éthanolique d'ortie dioïque et de laurier noble, les pourcentages d'inhibition sont plus faibles, à 63,44% et 45,01% respectivement. L'anti-inflammatoire Diclofénac a montré une inhibition de 91,74%. Cela justifie l’efficacité des extraits.

Les extraits tamponnés de *Laurus nobilis L.* et *Urtica dioica L.* induisent une action anti-inflammatoire sensiblement similaire à celle du médicament Diclofénac (substance de référence). En revanche, les extraits éthanoliques montrent une activité anti-inflammatoire moins marquée.

Selon les études de **Gnankiné & Bassolé, 2017**, L’extrait éthanolique (à 80%) des feuilles de laurier séché, administré par voie orale à des rats à une dose de 100 mg/kg, a provoqué une inhibition de 19% de l'œdème induit. Une autre étude de **Tita et al., 1993,** a démontré une action anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de l'ortie dioïque à 50% chez les rats.

Les effets observés avec nos extraits justifient l'utilisation traditionnelle de ces plantes dans le traitement d'inflammation et de la douleur.

Conclusion générale

Les plantes médicinales, utilisées depuis des millénaires dans diverses cultures pour leurs propriétés thérapeutiques et leur activité biologique, contiennent une vaste gamme de composés chimiques, tels que les polyphénols et les flavonoïdes, responsables de leurs effets pharmacologiques variés. Les recherches scientifiques actuelles visent à évaluer ces activités biologiques et à élucider les mécanismes d'action de ces composés. Ces études ont confirmé l'efficacité de nombreuses plantes dans le traitement de pathologies variées, telles que les maladies infectieuses, les troubles digestifs, les affections inflammatoires et les maladies cardiovasculaires, ouvrant ainsi des perspectives prometteuses pour le développement de nouveaux traitements pharmacologiques à partir de sources végétales.

Dans la présente étude, l'évaluation de l'activité biologique des extraits de *Laurus nobilis L.* et *Urtica dioica L.* dans la région de Médéa a révélé des résultats prometteurs dans les domaines de l'activité antioxydante, enzymatique, antimicrobienne et anti-inflammatoire.

Les analyses ont montré que :

- En polyphénols, les extraits possédants des teneurs fortes particulièrement l'extrait éthanolique de laurier noble ;
- Les extraits éthanoliques se distinguent par une teneur en flavonoïdes et protéines. Cette dernière est plus importante dans les extraits tamponnés, notamment dans le cas de l'ortie dioïque, qui présente une concentration significative ;
- L’activité antioxydante déterminée par la méthode de DPPH a révélé que les deux extraits de laurier noble possèdent une activité antiradicalaire très forte par rapport aux extraits d’ortie dioïque.
- Le pouvoir enzymatique en générale et L'activité lipasique en particulier est la plus considérable dans l'extrait tamponné de laurier noble et l'extrait éthanolique d'ortie dioïque, sachant qu'une activité catalasique faible est observée dans tous les extraits ;
- L'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques des feuilles de ces deux plantes s'est révélée remarquable vis-à-vis des souches testées qui causent des maladies pour les êtres humains ;

- L’activité anti-inflammatoire des extraits d’ortie dioïque, en particulier l'extrait tamponnée, s'est révélée proche de celle du diclofénac et supérieure à celle des extraits de laurier noble.

En conclusion, cette étude met en lumière les propriétés biologiques et chimiques des plantes médicinales examinées, ainsi que leur potentiel thérapeutique. Néanmoins, il est crucial de poursuivre des recherches approfondies pour améliorer notre compréhension de ces plantes et de leurs composés bioactifs. De plus, des études complémentaires sont nécessaires pour évaluer de manière rigoureuse leur sécurité et leur efficacité dans des applications cliniques.

Annexes

Annexe 1 : Les courbes d'étalonnages

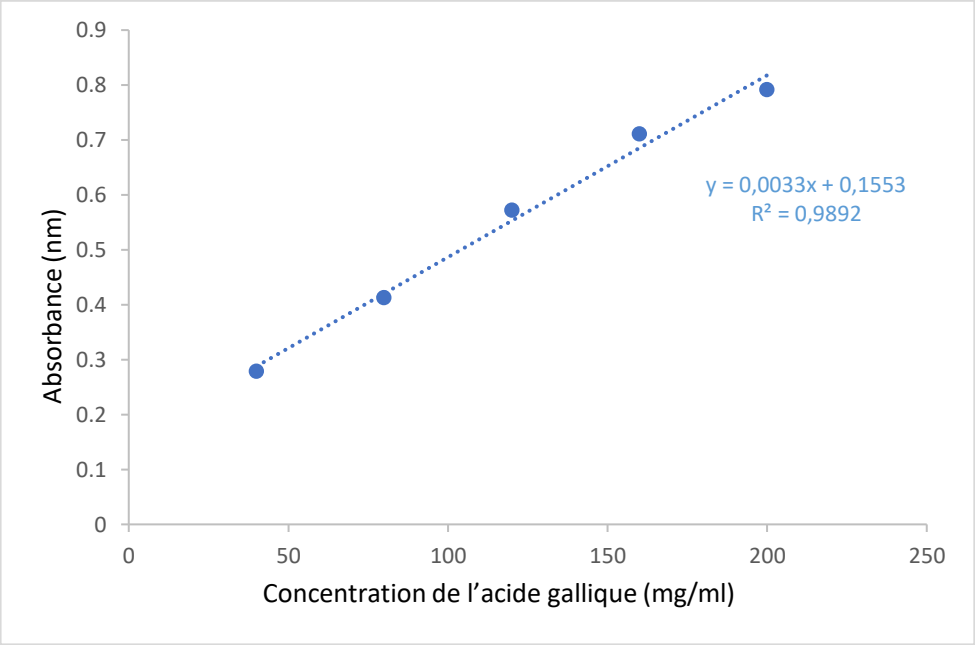


Figure 53: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

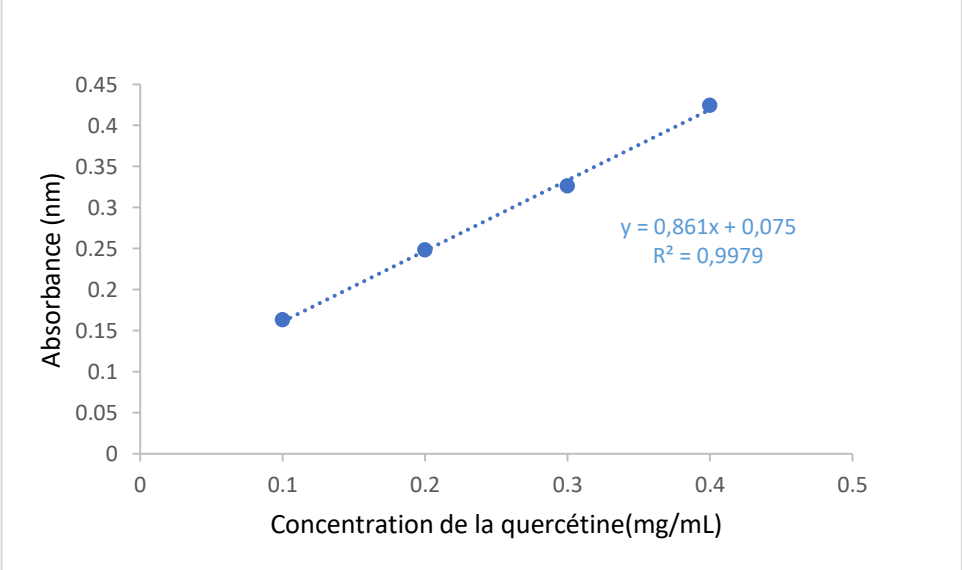


Figure 54: Courbe d'étalonnage de la Quercétine.

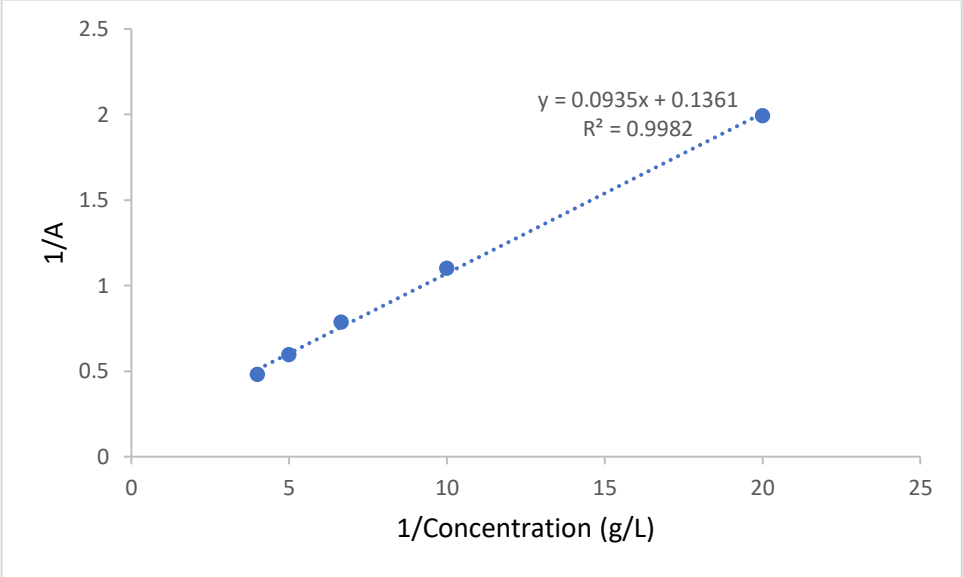


Figure 55: Courbe d'étalonnage de l'albumine sérique bovine (BSA).

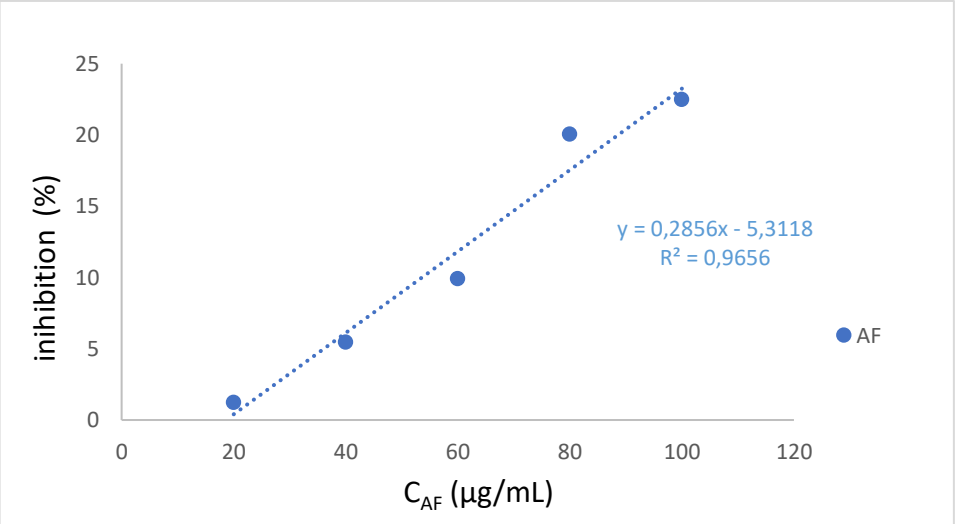


Figure 56: La courbe d'étalonnage de L'acide férulique.

Références bibliographiques

A

A. Salehzadeh, L. Asadpour, A. Naeemi, et E. Houshmand oct. 2014.« Antimicrobial Activity of Methanolic Extracts of < Sambucus ebulus> and <*Urtica dioica*> Against Clinical Isolates of < Methicillin Resistant > ;< Staphylococcus aureus > » ; , *African Journal Of Traditional Complementary And Alternative Medicines*, vol. 11, n° 5, p. 38

Abayomi, S. (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Nouvelle édition. KARTHALA Editions.

Abrams, C. K., Hamosh, M., Lee, T. C., Ansher, A. F., Collen, M. J., Lewis, J. H., Benjamin, S. B., &Hamosh, P. (1988). Gastric Lipase: Localization in the HumanStomach. *Gastroenterology*, *95*(6), 1460-1464.

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. Dans *Methods in enzymology on CD ROM/ Methods in enzymology* (p. 121-126)

Afonso, C. A., Candeias, N. R., Simão, D. P., Trindade, A. F., Coelho, J. A., Tan, B., & Franzén, R. (Eds.). (2016). *Comprehensive Organic Chemistry Experiments for the Laboratory Classroom*. Royal Society of Chemistry.

Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., & Albayrak, S. (2011). ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF DIFFERENT EXTRACTS OF SOME MEDICINAL HERBS CONSUMED AS TEA AND SPICES IN TURKEY. *Journal Of Food Biochemistry*, *36*(5), 547-554.

APG II. (2003). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *Botanical Journal Of The Linnean Society*, *141*(4), 399-436.

Arnosti, C. (2011). Microbial Extracellular Enzymes and the Marine Carbon Cycle. *Annual Review Of Marine Science*, *3*(1), 401-425.

Audigie C-L ., Figarella J ., Zonszain F, 1978-Manipulation biochimique. Doin (Ed). Paris, 274p.

Ayoola, G., Ipav, S., Sofidiya, M., Adepoju-Bello, A., Coker, H., & Odugbemi, T. (2009). Phytochemical Screening and Free Radical Scavenging Activities of the Fruits

and Leaves of Allanblackia floribunda Oliv (Guttiferae). *International Journal of Health*, 1(2):87-93.

B

B Ribadeau-Dumas. Physicochimie et biochimie des protéines du lait. Données récentes. Le Lait, 1991, 71 (2), pp.133-139.

Barla, A., Topcu, G., Oksuz, S., Tumen, G., & Kingston, D. (2007). Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus nobilis L. Food Chemistry*, 104(4), 1478-1484.

Barros, L., Falcão, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M., & Ferreira, I. C. (2008). Antioxidant activity of Agaricus sp. mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food Chemistry*, *111*(1), 61-66.

Barros, M., Fleuri, L. F., & Macedo, G. A. (2010). Seed lipases : sources, applications and properties - a review. *Brazilian Journal Of Chemical Engineering/Brazilian Journal Of Chemical Engineering*, *27*(1), 15-29.

Bartosz, G. (2003). Generation of Reactive Oxygen Species in Biological Systems. *Comments On Toxicology*, *9*(1), 5-21.

Beers, R. F., & Sizer, I. W. (1952). A SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR MEASURING THE BREAKDOWN OF HYDROGEN PEROXIDE BY CATALASE. *Journal Of Biological Chemistry The Journal Of Biological Chemistry*, *195*(1), 133-140.

Beloued, A. (1998).*Plantes médicinales d'Algérie* (reprint, Vol. 277). Office des publications universitaires. (Œuvre originale publiée 2001)

Beloued, A. (2003). Plantes medicinales d'Algérie. Office des publications universitaires, 1998.

Benderradji, L., Bounar, R., Ghadbane, M., &Khellaf, R. (2021). Etude ethnobotanique comparative et utilisation thérapeutique de plantes médicinales de djebel djedoug (Hammam Dhalaa) et du milieu oasien (oasis de Boussaâda). *Journal Of Oasis Agriculture And SustainableDevelopment*, 3(1), 1-11.

Bernardet M., 1983 - La phyto-aromathérapie pratique. 2 ème Ed, Dangles, France,367P.

Bertheau, Y., Kotoujansky, A., &Coleno, A. (1985, 1 septembre). Sources actuelles et potentielles d'enzymes d'hydrolyse et de dépolymérisation.

Bertheau, Y., Kotoujansky, A., &Coleno, A. (2019, septembre 1). Sources actuelles et potentielles d'enzymes d'hydrolyse et de dépolymérisation.

Bertrand, B. (2010). *Les secrets de l'Ortie* (Éditions de Terran, Vol. 214–217).

BEZANGER-BEAUQESNE L., DEBRAUX G., GARNIER G (1961).*Ressources médicinales de laFlore Française*.- Tome 1 Paris: Vigot Frères Editeurs. - 2 vol.- 1511p.

Bonnafous, C. (2013). Traité scientifique Aromathérapie - Aromatologie&Aromachologie. DANGLES.

Botineau, M. (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Paris, Éditions Tec and Doc, *Lavoisier. Persée*.

Boukhatem, M. N., HAMAIDI, M. S., & SAIDI, F. (2010). Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (Pelargoniumgraveolens L.) cultivé dans (1) (2) Résumé la plaine de Mitidja (Algérie). *Revue Nature et Technologie*, 2(2), 37-45.

Boulila, A., Hassen, I., Haouari, L., Mejri, F., Amor, I. B., Casabianca, H., & Hosni, K. (2015). Enzyme-assisted extraction of bioactive compounds from bay leaves (*Laurus nobilis L.*). *IndustrialCrops And Products*, *74*, 485-493.

BOUR, M. (1960). LES PROTEINES, LEUR HYDROLYSE, LES PROTEASES. Dans *PUBLICATION MENSUELLE*

Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites : a historical perspective. *Plant Science*, *161*(5), 839-851.

Boyrie, J. (2016).*Urtica dioica L. : une plante aux usages multiples* (p. 144)[UNIVERSITE DE BORDEAUX].

Breton, A., Bernalier, A., Dusser, M., Fonty, G., Gaillard-Martinie, B., & Guillot, J. (1990). Anaeromycesmucronatusnov. gen., nov. sp. A new strictly anaerobic rumen fungus with polycentric thallus. *FEMS microbiology letters*, *70*(2), 177-182.

Briot C., Le laurier noble, plante des héros : aspects historiques, botaniques et thérapeutiques, Université de Lorraine, Faculté de Pharmacie, Thèse de Doctorat (2016), page : 21-33.

Burhan, A., Nisa, U., Gökhan, C., Ömer, C., Ashabil, A., & Osman, G. (2003). Enzymatic properties of a novel thermostable, thermophilic, alkaline and chelator resistant amylase from an alkaliphilic Bacillus sp. isolate ANT-6. *Process Biochemistry*, 38(10), 1397-1403.

Buronzo, A. M. (2013). *Les incroyables vertus de l'Ortie*. Éditions Jouvence. Plante, T. (2016). *Atlas Apothecary*. Finishing Line Press.

Burt, S. (2004). Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal Of Food Microbiology*, *94*(3), 223-253.

C

Candais Claire &Roullier Catherine. (2019). *Le retour à la nature avec la cueillette de plantes sauvages alimentaires : Bienfaits ou dangers* [thèse de doctorat en pharmacie Université de Nants]

Carroll, D. (2008). Progress and prospects: Zinc-finger nucleases as gene therapy agents. *Gene Therapy*, *15*(22), 1463-1468.

Cavallo j D.,Chardon H., Chidias H .,choutet P., Courvalinp ., 2006-Communiqué

Chapman, J., Ismail, A., &Dinu, C. (2018). Industrial Applications of Enzymes : Recent Advances, Techniques, and Outlooks. *Catalysts*, 8(6), 238.

Chevallier, A. (2001). *Encyclopédie des plantes médicinales* (2nd Edition). 2001 Larousse / VUEF pour la présente édition.

Cornish-Bowden, A. (2013). The origins of enzyme kinetics. *FEBS Letters*, *587*(17), 2725-2730.

Coultouly, G., 1991.Génie enzymatique. *Masson. Paris. France*. pp. 244.

Cowan, M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, *12*(4), 564-582. https://doi.org/10.1128/cmr.12.4.564

D

Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion In Biotechnology*, 23(2), 174 181.

Damien, & Damien. (2021, 7 septembre).*Detox and the Benefits of nettle - Blog Eric Favre UK*. Blog Eric Favre UK.

de la comité Française de l'Antibiogramme . *Société Française de Microbiologie*.2eme Ed .65-145

Demir, V., Gunhan, T., Yagcioglu, A., &Degirmencioglu, A. (2004). Mathematical Modelling and the Determination of Some Quality Parameters of Air-dried Bay Leaves. *Biosystems Engineering*, 88(3), 325-335.

Dhouibi, R., Affes, H., Salem, M. B., Hammami, S., Sahnoun, Z., Zeghal, K. M., &Ksouda, K. (2020). Screening of pharmacological uses of *Urtica dioica*and others benefits. *Progress in biophysics and molecular biology*, *150*, 67-77.

Dobroslavić, E., Repajić, M., Dragović-Uzelac, V., &Garofulić, I. E. (2022). Isolation of *Laurus nobilis L*eaf Polyphenols : A Review on Current Techniques and Future Perspectives. *Foods*, *11*(2), 235.

Draghi, F. (2005).*L'ORTIE DIOIQUE (Urtica dioica L.) ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE* [PhD, UNIVERSITE HENRI POINCARE NANCY 1].

Duwiejua, M., Zeitlin, I. J., Waterman, P. G., Chapman, J., Mhango, G. J., & Provan, G. J. (1993). Anti-Inflammatory Activity of Resins from some Species of the Plant Family Burseraceae. *Planta Medica*, *59*(01), 12-16.

E

Elachouri, M., Bussmann, R. W., &Bencheikh, N. (2023). *Laurus nobilis L*. Lauraceae. DansEthnobotany of mountain regions (p. 1-6).

Elmastas, M., Isildak, O., Turkekul, I., &Temur, N. (2007). Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal Of Food Composition And Analysis*, *20*(3-4), 337-345.

Environmental AND Clean Technology, 69 (2), 141-153.

Eri, R. D., Adams, R. J., Tran, T. V., Tong, H., Das, I., Roche, D. K., Oancea, I., Png, C. W., Jeffery, P. L., Radford-Smith, G. L., Cook, M. C., Florin, T. H., & McGuckin, M. A. (2011). An intestinal epithelial defect conferring ER stress results in inflammation involving both innate and adaptive immunity. *MucosalImmunology*, *4*(3), 354-364.

F

Færgeman, N. J., & Knudsen, J. (1997). Role of long-chain fatty acyl-CoA esters in the regulation of metabolism and in cell signalling. *Biochemical Journal*, *323*(1), 1-12.

Fang, F., Sang, S., Chen, K. Y., Gosslau, A., Ho, C., & Rosen, R. T. (2005). Isolation and identification of cytotoxic compounds from Bay leaf (Laurusnobilis). *Food Chemistry*, *93*(3), 497-501.

Fernandes, P. (2010). Enzymes in Food Processing: A Condensed Overview on Strategies for Better Biocatalysts. *Enzyme Research*, *2010*, 1-19.

Ferreira, A., Proença, C., Serralheiro, M., &Araújo, M. (2006). The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal OfEthnopharmacology*, *108*(1), 31-37.

Fickers, P., Destain, J., et Thonart, P. (2008). Les lipases sont des hydrolases atypiques : Principales caractéristiques et application. *Biotechnol.Agron. Soc. Environ*. 12, 119-130.

***File : Urtica dioicafruit**.jpg - Wikimedia Commons*. (s. d.). https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Urtica_dioica_fruit.jpg

***File : Urtica dioicawith adventitious roots.** Chapeltoun, North Ayrshire.jpg - Wikimedia Commons*. (2022, 20 décembre).

Fiorini, C., David, B., Fourasté, I., &Vercauteren, J. (1998). Acylatedkaempferol glycosides from *Laurus nobilis L*eaves. *Phytochemistry*, 47(5), 821-824.

Fletcher, N., & Tomblin, G. (2007).*Reconnaître la nature comestible et savoureuse sans peine*.

Frankel, E., &Tarassuk, N. (1955). An Extraction-Titration Method for the Determination of Free Fatty Acids in Rancid Milk and Cream. *Journal Of Dairy Science*, *38*(7), 751-763.

G

Gadge,P., Madhikar,S., Yewle,J. et Umesh,J. (2011).Études biochimiques de la lipase des graines oléagineuses en germination (*Glycine max*). *Journal américain de biochimie et de biotechnologie , 7* (3), 141-145.

Garofulić, I. E., Malin, V., Repajić, M., Zorić, Z., Pedisić, S., Sterniša, M., Možina, S. S., & Dragović-Uzelac, V. (2021). Phenolic Profile, Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity of Nettle Leaves Extracts Obtained by Advanced Extraction Techniques. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, *26*(20), 6153.

Geerts, P. (2002). *Laurus nobilis*: le livre du laurier. *Gand: Ed. Ludion*; 131 p.

Ghedira, K., Goetz, P., & Jeune, R. L. (2009).*Urtica dioica L.*, Urticaurens et/ou hybrides (Urticaceae). *Phytothérapie*, *7*(5), 279-285.

Glatz, Z. (2006). Determination of enzymatic activity by capillary electrophoresis. *Journal Of Chromatography. B*, *841*(1-2), 23-37.

Gnankiné, O., &Bassolé, I. (2017). Essential Oils as an Alternative to Pyrethroids' Resistance against Anopheles Species Complex Giles (Diptera :Culicidae). *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 22(10), 1321.

Gómez-Caravaca, A., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis*, *41*(4), 1220-1234.

GOUDJIL, M. B. (2016). *Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques*. UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA.

Granner D.K., Murray R.K., Rodwell V.W. (2008). Biochimie de HARPER. 3^{e}édition. *De Boeck. Bruxelle*., pp. 49-51, 483.

Gröger, H., & Asano, Y. (2012). Introduction – Principles and Historical Landmarks of Enzyme Catalysis in Organic Synthesis. *Enzyme Catalysis In Organic Synthesis, Third Edition*, 1-42.

Guillouty, A. (2016). *Plantes médicinales et antioxydants* [DOCTEUR EN PHARMACIE, Université Toulouse lll - Paul Sabatier]. http://thesesante.ups-tlse.fr/1635/

H

Hadizadeh, I., Peivastegan, B., & Kolahi, M. (2008). Antifungal Activity of Nettle (*Urtica dioica L.*), Colocynth (Citrullus colocynthis L. Schrad), Oleander (Nerium oleander L.) and Konar (Ziziphus spina-christi L.) Extracts on Plants Pathogenic Fungi. *Pakistan Journal Of Biological Sciences*, *12*(1), 58-63.

Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal Of Applied Microbiology*, 86(6), 985 990.

Han, T., Li, H., Zhang, Q., Han, P., Zheng, H., Rahman, K., & Qin, L. (2007). Bioactivity-guided fractionation for anti-inflammatory and analgesic properties and constituents of Xanthium strumarium L. *Phytomedicine*, *14*(12), 825-829.

Harchi, N., &Icheboubene, D. (2019). *Etude de quelques activités thérapeutiques de l'huile essentielle et de l'hydrolat des feuilles de laurier ; Laurus nobilis L. provenant de trois régions différentes d'Algérie*. Mémoires de Master, Université Saad Dahlab blida.

Hendriksen H. V., Pedersen S., Bisgard-F. H. (1999).A process for textile warp sizing using enzymatically modified starches cultivate on state fermentation system. *European Journal of Applied Microbiology and Biochemistry*, 33: 6284-6294.

Hilah, F. E., Akka, F. B., Bengueddour, R., Rochdi, A., &Zidane, L. (2016).Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des affections dermatologiques dans le plateau central marocain. *Journal Of Applied Biosciences*, *98*(0), 9252.

Houde, A., Kademi, A., & Leblanc, D. (2004). Lipases and Their Industrial Applications : An Overview. *AppliedBiochemistry And Biotechnology*, *118*(1-3), 155-170.

I

Isbilir, S. S., Ozcan, H. M., & Yagar, H. (2008). Some Biochemical Properties of Lipase from Bay Laurel (*Laurus nobilis* L.) Seeds. *Journal Of The American Oil Chemists' Society*, *85*(3), 227-233.

Iwase, T., Tajima, A., Sugimoto, S., Okuda, K., Hironaka, I., Kamata, Y., Takada, K., & Mizunoe, Y. (2013). A Simple Assay for Measuring Catalase Activity : A Visual Approach. *Scientific Reports*, *3*(1).

J

Jean, K et James, A.N. (1997). Potential applications of enzymes in waste treatment.

Jeaun, J. M., Annie.,F.,etChrystian, J. L. ,(2005). Les composés phénoliques des végétaux.

Jensen, J., & Lai, Y. (2009). Regulation of muscle glycogen synthase phosphorylation and kinetic properties by insulin, exercise, adrenaline and role in insulin resistance. *Archives Of Physiology And Biochemistry*, *115*(1), 13-21.

Jeyaraju, D. V., Sood, A., Laforce-Lavoie, A., &Pellegrini, L. (2013). Rhomboid proteases in mitochondria and plastids : Keeping organelles in shape. *BiochimicaetBiophysicaActa. Molecular Cell Research*, *1833*(2), 371-380.

Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process,

Journal Of Herbal Medicine, *3*(1), 9-38.

K

Kaloustian, J., Chevalier, J., Mikail, C., Martino, M., Abou, L., & Vergnes, M.-. (2008). Étude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*, *6*(3), 160-164.

Kanko, C., Sawaliho, B. E., Kone, S., Koukoua, G., &N'Guessan, Y. T. (2004). Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de Lippiamultiflora, Cymbopogoncitratus, Cymbopogonnardus, Cymbopogongiganteus. *Comptes Rendus. Chimie*, *7*(10-11), 1039-1042.

Karousou, R., &Deirmentzoglou, S. (2011). The herbal market of Cyprus : Traditional links and cultural exchanges. *Journal Of Ethnopharmacology*, 133(1), 191-203.

Kendir, G. (2022). Laurusnobilis L.. In: GürağaçDereli, F.T., Ilhan, M., Belwal, T. (eds) Novel Drug Targets With Traditional Herbal Medicines. Springer, Cham.

Kızılyıldırım, S., Kandemir, T., Kendir, G., Muhammed, M. T., Köroğlu, A., Köksal, F., &Ozogul, F. (2024). The antibacterial effect mechanisms of *Laurus nobilis*extracts on carbapenem-resistant Acinetobacterbaumanii isolates. *Food Bioscience*, 59, 104011.

Kregiel, D., Pawlikowska, E., & Antolak, H. (2018). Urtica spp. : Ordinary Plants with Extraordinary Properties. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, *23*(7), 1664.

L

Lacroix C, Dubach M, Feuilhade M 2003. Les échinocandines : une nouvelle classe d'antifongiques. Med Mal Infect ; 33:183–91**.**

Larreta-Garde, V., coord.(1997). Enzymes en agroalimentaire. Paris : Lavoisier, Tec & Doc,2 (5),363-365

Lazare, J.-J. (2006). J.-J. Macheix, A. Fleuriet & C. Jay-Allemand, (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes, collection biologie, Lausanne. *Le Journal de Botanique*, *33*(1), 94-94.

Li, S., Yang, X., Yang, S., Zhu, M., & Wang, X. (2012).TECHNOLOGY PROSPECTING ON ENZYMES: APPLICATION, MARKETING AND ENGINEERING. *Computational And Structural Biotechnology Journal*, 2(3), e201209017.

Liang, N., & Kitts, D. D. (2014). Antioxidant Property of Coffee Components: Assessment of Methods that Define Mechanisms of Action. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, *19*(11), 19180-19208.

Lis-Balchin, M. (2002).*Lavender : The Genus Lavandula*. CRC Press.

Liu, X., &Kokare, C. (2023). Microbial enzymes of use in industry. Dans Elsevier eBooks (p. 405-444).

M

Madi, A., &Belkhiri, A. (2018, 31 janvier). *Caractérisation phytochimique et évaluation des activités biologiques de Cleome arabica.*

Manou, I., Bouillard, L., Devleeschouwer, M., & Barel, A. (1998). Evaluation of the preservative properties of Thymus vulgaris essential oil in topically applied formulations under a challenge test. *Journal Of Applied Microbiology*, *84*(3), 368-376.

Mata, A., Proença, C., Ferreira, A., Serralheiro, M., Nogueira, J., & Araújo, M. (2007). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chemistry*, *103*(3), 778-786.

McAllister, T. A., Hristov, A. N., Beauchemin, K. A., Rode, L. M., & Cheng, K. J. (2001). Enzymes in ruminant diets. Dans *CABI Publishing eBooks* (p. 273-298).

McDonald, A. G., Boyce, S., & Tipton, K. F. (2009). ExplorEnz : the primary source of the IUBMB enzyme list. *Nucleic Acids Research*, *37*(Database), D593-D597.

Mekhibi, A, Boudria, H., (2013). Contribution à l'etude des extraits bruts de la plante *Urtica dioica*. Mémoire master academique, Universite kasdi marbah ouargla.

Menden, A., Hall, D., Paris, D., Mathura, V., Crawford, F., Mullan, M., Crynen, S., & Ait-Ghezala, G. (2019).A fast, miniaturised in-vitro assay developed for quantification of lipase enzyme activity. *Journal Of Enzyme Inhibition And Medicinal Chemistry*, *34*(1), 1474-1480.

Meunier, N.E. (1999). Valuation du potentiel de production de protéases bactériennes à partir de boues d'épuration municipales.M.ScThesis, INRSETE, Univ. Quebec. Canada. pp. 1-168.

Miliauskas, G., Venskutonis, P., & Van Beek, T. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, *85*(2), 231-237.

Mohammed, R. R., Omer, A. K., Yener, Z., Uyar, A., & Ahmed, A. K. (2021). Biomedical effects of *Laurus nobilis L.* leaf extract on vital organs in streptozotocin-induced diabetic rats: Experimental research. *Annals Of Medicine And Surgery*, 61, 188-197.

Molyneux, P. (2004) The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26, 211-219.

Montagne, P. (s. d.). *Urtica*. https://www.monde-de-lupa.fr/Medicinales/PagesMed/Urtica%20pg/Urtica.html

Moutsie. (2006). *Les plantes sauvages comestibles : Mode d'emploi*. Utovie.

N

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

Nielson J. E., Borchert T., Vriend G. (2001). Protein Engineering: the determinant of α-amylase pH-activity profiles. *Oxford University Press* 14(7): 505-512.

Nigam, P. S. N. (2013). Microbial Enzymes with Special Characteristics for Biotechnological Applications. *Biomolecules*, 3(4), 597-611.

Nogaret, A. (2011). La phytothérapie : Se soigner par les plantes. Editions Eyrolles.

Novel drug targets with traditional herbal medicines : Scientific and clinical evidence. (2022). Dans F. Tuğçe Gürağaç Dereli & T. Belwal (Éds.), *Springer eBooks* (Vol. 579).

Nukabadi, F. A., Hojjatoleslamy, M., & Abbasi, H. (2020). Optimization of fortified sponge cake by nettle leaves and milk thistle seed powder using mixture design approach. *Food Science & Nutrition*, *9*(2), 757-771.

O

O'fel. A., 1982. Parasitologie, Mycologie : Maladies parasitaires et fongiques, Association des professeures de parasitologie. Paris : E.Crouan et Roques, p.p. 349. Ozenda. P., 1977. Flore du Sahara, Ed du CNRS, p.p. 312-322

Olive, G., Torezan, G. A. P., &Blecker, C. (2012). Synthèse enzymatique d'esters de fructose. *ComptesRendus. Chimie*, *15*(11-12), 1037-1047.

P

Pant, V. (2019). Himalayan stinging nettle: rich source of protein and minerals. *J EthnobiolTradit Med Photon*, *130*, 1532-1548.

Paparella, A., Nawade, B., Shaltiel-Harpaz, L., &Ibdah, M. (2022). A Review of the Botany, Volatile Composition, Biochemical and Molecular Aspects, and Traditional Uses of Laurusnobilis. *Plants*, 11(9), 1209.

Pariente L., (1997). Dictionnaire des sciences pharmaceutiques et biologiques. 2ème Edition. Paris : d'Académie nationale de pharmacie, 1643.

Parthasarathy, V. A., Chempakam, B., & Zachariah, T. J. (2008). Chemistry of Spices. ÉdCABI.

Paul, S., Hossen, M. S., Tanvir, E., Isl, M. A., Afroz, R., Ahmmed, I., Saha, M., Gan, S. H., & Khalil, M. I. (2015). Antioxidant Properties of Citrus macroptera Fruit and Its in vivo Effects on the Liver, Kidney and Pancreas in Wistar Rats. *International Journal Of Pharmacology*, 11(8), 899-909.

Pech, B., &Bruneton, J. (1982). Alcaloïdes Du Laurier Noble, Laurusnobilis. *Journal Of Natural Products*, 45(5), 560-563.

Pieroni A, Janiak V, Dürr CM, Lüdeke S, Traschsel E, Heinrich M (2002). In vitro antioxidant activity of non-cultivated vegetables of ethnic Albanians in southern Italy. *Phytotherapy Research* ;*16*:467–73.

Piraux, A. (2023, juillet 17). Phytothérapie - Guide stage officinal d'initiation. Guide Stage Officinal D'initiation.

Ponce, A., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie/Food Science & Technology*, *36*(7), 679-684.

Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4, 25-39.

Prior, R. L., Wu, X., &Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302.

Pullin, A. S., & Gilbert, J. E. (1989). The Stinging Nettle, *Urtica dioica*, Increases Trichome Density after Herbivore and Mechanical Damage. *Oikos*, *54*(3), 275.

Q

Quezel P., Santa, S., **(1962)**. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I. Ed CNRS. Paris.

Quezel P., Santa, S.,(1963). La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Ed CNRS. Paris.

R

Ramos, C., Teixeira, B., Batista, I., Matos, O., Serrano, C., Neng, N., Nogueira, J., Nunes, M., & Marques, A. (2012). Antioxidant and antibacterial activity of essential oil and extracts of bay laurelLaurusnobilis Linnaeus (Lauraceae) from Portugal. *Natural Product Research*, *26*(6), 518-529.

Raven, P. H., Eichhorn, S. E., & Evert, R. F. (2014). *Biologie végétale.* 3e édition. De Boeck Supérieur.

Rebbas, K., Bounar, R., Gharzouli, R., Ramdani, M., Djellouli, Y., & Alatou, D. (2012). Plantes d'intérêt médicinale et écologique dans la région d'Ouanougha (M'sila, Algérie). *Phytothérapie*, *10*(2), 131-142.

Rédéo, W ., Christel, B., Pierre, V.et Joël, B.(2011). Screening de l'activité lipasique dans des extraits végétaux de la biomasse burkinabé pour la synthèse d'esters éthylique d'huile végétale (EEHV). *6eme journée scientifique du 2IE*, p1-6.

Ribeiro, V. P., Arruda, C., El-Salam, M. A., & Bastos, J. K. (2018). Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities : a review. *Pharmaceutical Biology*, *56*(1), 253-268.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., &Pridham, J. B. (1995). The Relative Antioxidant Activities of Plant-Derived Polyphenolic Flavonoids. *Free Radical Research*, *22*(4), 375-383.

Robic, A., Ullmann, C., Auffray, P., Persillon, C., & Martin, J. (2017). Enzymes for industrial applications. *Oilseeds And Fats, Crops And Lipids/OCL. Oilseeds & Fats Crops And Lipids*, *24*(4), D404.

Robinson, P. K. (2015). Enzymes: principles and biotechnological applications. Essays In Biochemistry, 59, 1-41.

Ross, I. A. (2001). Laurusnobilis. Dans : Plantes médicinales du monde. Humana Press, Totowa, New Jersey. Pp : 261-270. https://doi.org/10.1007/978-1-59259-237-1_13

Rutto, L. K., Xu, Y., Ramirez, E., & Brandt, M. (2013). Mineral Properties and Dietary Value of Raw and Processed Stinging Nettle (*Urtica dioica*L.). *International Journal Of Food Science*, *2013*, 1-9.

S

Saffidine, K. (2018).*Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de carthamus caeruleus L. et de plantago major L.*

Said, A. A. H., Otmani, I. S. E., Derfoufi, S., &Benmoussa, A. (2016). Mise en valeur du potentiel nutritionnel et thérapeutique de l'ortie dioïque (Urticadioïca L.). *HEGEL, N° 3*(3), 280-2**.**

Said, M. (2015). Capacity Development of Human Resource in Local Government to Improve Public Service Quality. *JIAP : JurnalIlmiahAdministrasiPublik/JIAP (JurnalIlmiahAdministrasiPublik)*, *1*(1), 8-13. 92.

Saini, R., Saini, H. S., &Dahiya, A. (2017). Amylases : Characteristics and industrial applications. *Journal OfPharmacognosy And Phytochemistry*, *6*(4), 1865-1871.

Salhi, N., Terzi, V., Goumni, Z., Salhi, A., &Mehani, M. (2015). Evaluation de l'activité antifongique in vitro des huile essentielles de *Laurus nobilis* L. sur la croissance mycélienne de fusariumsporotrichoide. *مجلة الواحات للبحوث والدراسات*, 34.

Salih, N. (2014). Antibacterial effect of nettle (*Urtica dioica*). *Mağallaẗ Al-qādisiyyaẗ Li-ʻulūm Al-ṭibb Al-bayṭarī*, *13*(1), 1.

Sanchez, S., & Demain, A. L. (2010). Enzymes and Bioconversions of Industrial, Pharmaceutical, and Biotechnological Significance. *Organic Process Research & Development*, *15*(1), 224-230. (Sanchez & Demain, 2010)

Saraf, N. (2013). Enhancement of Catalase Activity under Salt Stress in Germinating Seeds of Vignaradiata. *Journal*, 3(17), 6-8.

Schauenberg, P., & Paris, F. (2005). *Guide des plantes médicinales: analyse, description et utilisation de 400 plantes*. Delachaux et Niestlé.

Selles, C. (2012). Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen: Anacyclus pyrethrum L, Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H2SO4 0.5M. Thèse en pharmacie. 214p.

Sene, M., Ndiaye, M., Barboza, F. S., Sene, M., Diatta, W., Sarr, A., Ndiaye-Sy, A., Dieye, A. M., & Sy, G. Y. (2017). Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de Elaeis guineensis Jacq. (ARECACEAE) sur l'oedème aigu de la patte de rat induit par la carraghènine. *International Journal Of Biological And Chemical Sciences*, *10*(6), 2568.

Sharififar, F., Moshafi, M., Mansouri, S., Khodashenas, M., & Khoshnoodi, M. (2007). In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic Zataria multiflora Boiss. *Food Control*, *18*(7), 800-805.

Sindhu, R., Binod, P., Madhavan, A., Beevi, U. S., Mathew, A. K., Abraham, A., Pandey, A., & Kumar, V. (2017). Molecular improvements in microbial α-amylases

for enhanced stability and catalytic efficiency. *Bioresource Technology*, *245*, 1740-1748.

Singh, M., & Kali, G. (2019). Study on morpho-anatomical and histo-chemicalcharaterisation of stinging nettle, *Urtica dioica L* in Uttarakhand, India. *Journal Of Pharmacognosy And Phytochemistry*, *8*(3), 4325-4331.

Singh, R., Kumar, M., Mittal, A., & Mehta, P. K. (2016). Microbial enzymes : industrial progress in 21st century. *3 Biotech*, 6(2).

Smach, M. A., Hafsa, J., Abdallah, J. B., Charfeddine, B., &Limem, K. (2024). Neuroprotective and anti-amnesic effects of *Laurus nobilis*essential oil against scopolamine-induced memory deficits in mice brain. *Journal OfEthnopharmacology*, *319*, 117151.

Sofowora, A. (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. *KARTHALA Editions*. PP:22-23

Spinnler, H. E. (2013). Enzymes d'intérêt pour la fabrication d'aliments. *ProcédésChimie - Bio - Agro Agroalimentaire,(650-667).*

***Stinging Nettle : Pictures* | *Urtica dioica*. (s. d.)**. Consulté le 2 mai 2024, à l'adresse https://www.ediblewildfood.com/stinging-nettle.aspx

Strang C. (2006). Larousse médical : Ed Larousse, P : 26.

Suhaj, M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity : a review. *Journal Of Food Composition And Analysis*, *19*(6-7), 531-537.

Sumantha A., Larroche C., Pandey A. (2006). Microbiology and industrialbiotechnology of food-grade proteases: a perspective. *Food Technology and Biotechnology* 244:211-220.

T

Tadhani, M., Patel, V., &Subhash, R. (2007). In vitro antioxidant activities of Stevia rebaudiana leaves and callus. *Journal Of Food Composition And Analysis*, 20(3-4), 323-329.

Taheri, Y., Quispe, C., Herrera-Bravo, J., Sharifi-Rad, J., Ezzat, S. M., Merghany, R. M., Shaheen, S., Azmi, L., Mishra, A. P., Sener, B., Kılıç, M., Sen, S., Acharya, K., Nasiri, A., Cruz-Martins, N., Fokou, P. V. T., Ydyrys, A., Bassygarayev, Z., Daştan, S. D.,. . . Cho, W. C. (2022).*Urtica dioica*-Derived Phytochemicals for Pharmacological and Therapeutic Applications. *Evidence-based Complementary And Alternative Medicine*, *2022*, 1-30.

Taniguchi, H., &Honnda, Y. (2009). Amylases. Dans Elsevier eBooks (p. 159-173).

Tayel, A. A., & El-tras, W. F. (2011).PLANT EXTRACTS AS POTENT BIOPRESERVATIVES FOR SALMONELLA TYPHIMURIUM CONTROL AND QUALITY ENHANCEMENT IN GROUND BEEF. *Journal Of Food Safety*, *32*(1), 115-121.

Testai, L., Chericoni, S., Calderone, V., Nencioni, G., Nieri, P., Morelli, I., &Martinotti, E. (2002b). Cardiovascular effects of *Urtica dioica L.* (Urticaceae) roots extracts: in vitro and in vivo pharmacological studies. *Journal Of Ethnopharmacology*, *81*(1), 105-109.

Teuscher, E., Anton, R., &Lobstein, A. (2005). Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles, Tec&Doc-- Lavoisier-- Éd. médicales internationales—imp

Tita, B., Faccendini, P., Bello, U., Martinoli, L., & Bolle, P. (1993). *Urtica dioica L.* : Pharmacological Effect of Ethanol Extract. *Pharmacological Research*, *27*, 21-22.

U

Uprety, Y., Poudel, R. C., Shrestha, K. K., Rajbhandary, S., Tiwari, N. N., Shrestha, U. B., & Asselin, H. (2012). Diversity of use and local knowledge of wild edible plant resources in Nepal. *Journal Of Ethnobiology And Ethnomedicine*, *8*(1).

Upton, R. (2013). Stinging nettles leaf (*Urtica dioica L.*): Extraordinary vegetable medicine.

V

Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological Interactions*, *160*(1), 1-40.

Vinha, A. F., Guido, L. F., Costa, A. S. G., Alves, R. C., & Oliveira, M. B. P. P. (2015). Monomeric and oligomeric flavan-3-ols and antioxidant activity of leaves from different Laurus sp. *Food & Function*, *6*(6), 1944-1949.

Viotti, C., Albrecht, K., Amaducci, S., Bardos, P., Bertheau, C., Blaudez, D., Bothe, L., Cazaux, D., Ferrarini, A., Govilas, J., Gusovius, H., Jeannin, T., Lühr, C., Müssig, J., Pilla, M., Placet, V., Puschenreiter, M., Tognacchini, A., Yung, L., &Chalot, M. (2022). Nettle, a Long-Known Fiber Plant with New Perspectives. *Materials*, *15*(12),

W

WICHTL, M., & ANTON, R. (2003). Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique (2° Édition). *Paris - Cachan, Editions Technique et Documentation - Editions Médicales Internationales.*

Wichtl, M., & Anton, R. (2003).*Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*.

Winkler, M., Geier, M., Hanlon, S. P., Nidetzky, B., &Glieder, A. (2018). Human Enzymes for Organic Synthesis. *AngewandteChemie*, 57(41), 13406-13423.

Winter, C. A., Risley, E. A., & Nuss, G. W. (1962). Carrageenin-Induced Edema in Hind Paw of the Rat as an Assay for Antiinflammatory Drugs. *Experimental Biology And Medicine*, 111(3), 544-547.

Y

Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M., & Ayachi, A. (2011).Évaluation de l'activité antimicrobienne de Thymus vulgaris et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*, *9*(4), 209-218.

Yoshikawa, M., Shimoda, H., Uemura, T., Morikawa, T., Kawahara, Y., & Matsuda, H. (2000). Alcohol absorption inhibitors from bay leaf (Laurusnobilis): structure-requirements of sesquiterpenes for the activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 8(8), 2071-2077.

Z

Zhiri A., Baudoux D. (2005). Essentielles chémotypées et leurs synergies : aromathérapie scientifique, *Edition Inspir Development*, pp : 2-9-27.