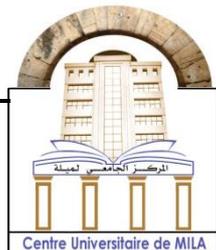


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques et Agricoles

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Etude phytochimique et l'activité antimicrobienne
de deux plantes médicinales**

Présenté par :

- Namous Nawal
- Bougaada Maroua

Devant le jury :

AYAD Wissam

MCA

Présidente

BAKLI Sabrina

MCA

Examinatrice

BENDJEDDOU Mouna

MCA

Promotrice

Année Universitaire : 2023/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

REMERCIEMENTS

En premier lieu, nous tenons à remercier notre Dieu ALLAH qui nous à donner la force, la santé et la volonté à achever ce travail.

Nous tenons à remercier notre encadreur de mémoire madame Bendjeddou Mouna pour la confiance qu'elle nous a accordé en acceptant d'encadrer ce travail pour ses multiples et toutes les heures qu'elle a consacré à diriger cette recherche.

Nos remerciements vont également à la présidente du jury, Dr Ayad wissam de nous avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Dr Bakli sabrina vivement remercie d'avoir examiné ce travail et fait partir de ce jury de mémoire de Master et enrichi le débat scientifique.

On exprime, nos sincères remerciements aux enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie

Nos sincères remerciements vont aussi au Centre de recherche boítechnologie chef de de laboratoire Dr S chawki, Dr Beldi Abd slame, Dr SELOUGUI sadék pour leurs informations utiles dans notre travail et pour leur disponibilité au laboratoire.

En fin, nous remercie du fond du cœur, nos familles et tout proche et amis qui nous ont soutenu, encouragé et motivé tout au long de nous études

Merci

Dédicaces

Je dédie ce travail de fin d'étude à :

Mes parents pour leur amour, leur soutien inconditionnel et leurs sacrifices constants qui ont permis la réalisation de ce projet. Leur confiance en mes capacités et leur encouragement ont été une source de motivation inestimable tout au long de mes études.

Mon frère Samir,

Mes sœurs Ibtissam, Mina et Dalel pour leur présence réconfortante, leur soutien moral et conseils avisés

Mes nièces et mon cœur, Anya et Talin

Mes cousins et Cousines , Soumia ,Zineb ,Meriême, Rima, khadija , Amina , Ziad, Adem ,Ilyas , Boubaker , Ritag , Kholoud ,

Mes amis, Amira , Imane , , Ichrak , maroua , Ikram pour leur amitié sincère, compréhension et leur aide précieux durant les moments difficiles

Nawal Nms

Dédicaces

Au terme de ce travail, je remercie

Mon Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage la santé et m'a accordé son soutien durant les périodes les plus difficiles.

A mes très chers parents qui m'ont toujours aidé dans ma vie et qui n'ont cessé de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études, je leur souhaite tout le bonheur et la santé

A mes très chères sœurs Besma et fatima son oubliée mes frères Hicham, Ramy je leur souhaite tout le bonheur du monde.

A ma grande famille surtout ma grande mère, mon grand-père et les petits Monib et Yahia, ghoufran Daas, nourssine et eline sayoud.

Aussi mes cousines Rania, madjda .

A mes amies chaïma boukaka , dounia , Maroua , malak , nessrine , nouha , imen , nawel , maïssa , ghada , djalila .

Je le dédie abd salam, Asma, Ibtissam et chawki Pour toutes les soumissions à moi.

Aussi à mes adorables amis et collègues avec qui j'ai partagé les meilleurs moments dans le centre universitaire de Mila.

Je dédie ce travail a mon encadreur "bendjeddou mouna", a mes enseignants a tout qui m'ont aidé à tracer le chemin de réussite.

Bougaada Maroua

Résumé

L'ortie (*Urtica dioïque*) et le costus indien (*Saussurea costus*) sont deux plantes médicinales traditionnellement utilisées pour traiter une variété de maladies grâce à leurs propriétés antimicrobiennes. Des études récentes ont exploré les propriétés phytochimiques et antioxydantes et antimicrobiennes de ces plantes afin de valider leur utilisation traditionnelle et d'identifier des nouveaux composants thérapeutiques potentiels.

Dans notre travail, nous avons réalisé des analyses phytochimiques, des tests Microbiologiques, antioxydants et anti-inflammatoire sur les trois extraits de chaque plante : méthanolique, éthanolique et aqueux dans le but de déterminer les composants bioactifs.

L'étude phytochimique des extraits a révélé la détection chimique sur les extraits des deux plantes, a révélé une forte présence de flavonoïdes, avec le taux le plus élevé enregistré est celui de l'extrait méthanolique 107,29 µg QE/ml pour l'ortie et 30,69 µg QE/ml pour le costus indien.

Pour l'activité antioxydante, la plante de costus indien montre que :

- La plus forte activité de DPPH est enregistrée pour l'extrait éthanolique avec une IC₅₀ de 392,60 µg/ml.
- La plus forte activité de FRAP et de Phénanthroline est enregistrée pour l'extrait méthanolique (A_{0,5} = 46,68 µg/ml et A_{0,5} = 53,45 µg/ml respectivement).

Tandis que pour l'ortie, la plus forte activité antioxydante d'ABTS est enregistrée pour l'extrait éthanolique avec une IC₅₀ de 178,67µg/ml.

On a évalué aussi l'efficacité anti-inflammatoire des trois extraits des deux plantes. L'extrait aqueux d'ortie a une forte activité : A_{0,5} = 299.41 µg/ml.

L'activité antibactérienne a été effectuée sur quatre souches bactériennes. Les résultats obtenus indiquent que les deux extraits méthanolique et éthanolique de costus indien aperçu une activité antibactérienne puissante contre les souches de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*. L'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca* aperçu une activité antibactérienne puissante contre les souches de *Staphylococcus aureus*.

Mots-clés : *Urtica dioïca* L, *Saussurea costus*, activité antioxydante, radical DPPH, activité antibactérienne, activité anti-inflammatoire.

Abstract

Nettle (*Urtica dioïque*) and Indian costus (*Saussurea costus*) are two medicinal plants traditionally used to treat a variety of diseases thanks to their antimicrobial properties. Recent studies have explored the phytochemical and antimicrobial properties of these plants to validate their traditional use and identify potential new therapeutic components.

In our work, we carried out phytochemical analyses, tests. Microbiological, antioxidant and anti-inflammatory on the three extracts of each plant: methanoic, ethanoic and aqueous in order to determine the bioactive components.

The chemical detection on the extracts of the two plants revealed a strong presence of flavonoids, with the highest rate recorded is that of methanoic extract: 107.29 µg QE/ml for nettle and 30.69 µg QE/ml for Indian costus.

For antioxidant activity, the Indian costus plant shows that:

- Highest DPPH activity is recorded for ethanoic extract with an IC₅₀ of 392.60µg/ml.
- The highest activity of FRAP and Phenanthroline is recorded for methanoic extract (A_{0.5} = 46.68 µg/ml and A_{0.5} = 53.45 µg/ml respectively).

While for nettle, the highest antioxidant activity of ABTS is recorded for ethanoic extract with an IC₅₀ of 178.67µg/ml.

The anti-inflammatory efficacy of the three extracts of the two plants was also evaluated. The aqueous nettle extract has a high activity: A_{0.5} = 299.41 µg/ml.

Antibacterial activity was performed on four bacterial strains. The results obtained indicate that the two methanoic and ethanoic extracts of Indian costus saw a powerful antibacterial activity against the strains of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. The methanoic extract of *Urtica dioica* shows a powerful antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* strains.

Keywords: *Urtica dioica* L, *Saussurea costus*, antioxidant activity, radical DPPH, antibacterial activity, anti-inflammatory activity.

الملخص

نبات القراص (*Urtica dioique*) والكوستوس الهندي (*Saussurea costus*) هما نباتان طبيان يستخدمان تقليديًا لعلاج مجموعة متنوعة من الأمراض بفضل خصائصهما المضادة للميكروبات. استكشفت الدراسات الحديثة الخصائص الكيميائية النباتية ومضادات الميكروبات لهذه النباتات للتحقق من استخدامها التقليدي وتحديد المكونات العلاجية الجديدة المحتملة.

في عملنا، أجرينا تحليلات واختبارات كيميائية نباتية. الميكروبيولوجية ومضادات الأكسدة والالتهابات في المستخلصات الثلاثة لكل نبات: الميثانويك والإيثانويك والمائي من أجل تحديد المكونات ذات التأثير البيولوجي.

كشف الكشف الكيميائي عن مستخلصات النباتين عن وجود قوي للفلافونويد، مع تسجيل أعلى معدل هو مستخلص الميثانويك: 107.29 ميكروغرام للقراص و 30.69 ميكروغرام للكوستوس الهندي. بالنسبة للنشاط المضاد للأكسدة، يوضح نبات الكوستوس الهندي ما يلي:

- يتم تسجيل أعلى نشاط DPPH لمستخلص الإيثانويك مع IC_{50} من 392.60 $\mu\text{g/ml}$.
- تم تسجيل أعلى نشاط لـ FRAP و Penanthroline لمستخلص الميثانويك ($A_{0.5} = 46.68 \mu\text{g/ml}$ و $A_{0.5} = 53.45 \mu\text{g/ml}$ على التوالي).

بينما بالنسبة لنبات القراص، يتم تسجيل أعلى نشاط مضاد للأكسدة لـ ABTS لمستخلص الإيثانويك مع IC_{50} من 178.67 $\mu\text{g/ml}$.

كما تم تقييم الفعالية المضادة للالتهابات للمستخلصات الثلاثة للنباتين. مستخلص نبات القراص المائي له نشاط مرتفع: $A_{0.5} = 299.41 \mu\text{g/ml}$ غرام/مل.

تم إجراء نشاط مضاد للبكتيريا على أربع سلالات بكتيرية. تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن مستخلصي الميثانويك والإيثانويك من الكوستوس الهندي شهدا نشاطاً قوياً مضاداً للبكتيريا ضد *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis*. يُظهر مستخلص الميثانويك من *Urtica dioica* نشاطاً قوياً مضاداً للبكتيريا ضد *Staphylococcus aureus*.

الكلمات المفتاحية: *Urtica dioica L*، *Saussurea costus*، نشاط مضاد للأكسدة، جذر DPPH، نشاط مضاد للبكتيريا، نشاط مضاد للالتهابات

Sommaire

Sommaire

REMERCIEMENTS

Dédicaces

Résumé

Abstract

الملخص

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des Tableaux

Introduction Générale..... 19

Partie 01 :_Synthèse Bibliographique

Chapitre I :..... 4

Phytothérapie..... 4

I.1.Plantes médicinales..... 5

I .2. Origine des plantes thérapeutiques : 5

I .2.2. Plantes sauvages..... 5

I .2.3. Plantes en culture 5

I .3. La phytothérapie 6

I .3.1. Définition 6

I .3.2. Les types de phytothérapie 6

I .3.2.1. La phytothérapie traditionnelle (classique) : 6

I .3.2.2. La phytothérapie clinique (moderne) 6

I .4. Les métabolites secondaires..... 7

I .4.1. Les composés phénoliques 7

I .4.2. Structure générale des Polyphénols..... 7

I .4.3. Classification des composés Phénoliques 7

I .4.4. Les acides phénols..... 8

I .4.5. Les flavonoïdes 8

I .4.5.1. Structure générale 9

I .4.5.2. Classification des flavonoïdes 9

I .4.6 Les tanins..... 10

I.4.6.1. Structure chimique et classification..... 10

I.4.7. Propriétés biologiques des Polyphénols	11
Chapitre II : L'ortie (<i>Urtica dioïque</i> L)	
II 1. Définition.....	13
II.2. Origine.....	13
II.3. Classification systématique	14
II.4. Utilisation L'ortie.....	14
II.4.3 Utilisation industriels	15
II.4.4 Utilisation médicinale	15
II.5. Morphologie de la plante (<i>Urtica dioïca</i>).....	16
II.5.1. Feuilles.....	16
II.5.2 Les fleurs.....	17
II.5.3. Poils urticants.....	18
II.5.4. Racines.....	18
II.5.5. Les graines	19
II.5.6. Tige	20
II.6. Composition chimique de l'ortie	20
II.7. Les bienfaits.....	21
II.8. Les activités biologiques	21
II.8.1. Anti-inflammatoire.....	21
II.8.2. Activité antimicrobienne.....	21
II.8.3. Activité antioxydante	21
II.9. La toxicité.....	22
Chapitre III: Costus indien (<i>Saussurea costus</i>)	
III.1. Définition	24
III.2. Origine.....	24
III.3. La classification systématique.....	25
III.4. Utilisation médicinale	26
III.5. Morphologie du costus indien.....	27
III.5.1. Les feuilles.....	27
III.5.2. Les fleurs	27
III .5.3. Les racines	28
III.6. Les bienfaits	28

III.7. Les activités biologiques	30
III.7.1 Anti microbienne	30
III.7.2. Antioxydant	30
III.7.3. Anti-inflammatoires.....	30
III.8. Les effets de la toxicité de costus indien.....	31

Partie 02 : Partie Expérimentale

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

IV. Matériel végétal.....	34
IV.1. Préparation des deux plantes médicinales	35
IV.1.1. Séchage	35
IV.1.2. Broyage et tamisage.....	35
IV.2. Préparation des extraits.....	35
IV.3. Détermination de rendement	38
IV.2. Etude phytochimique (Analyse qualitative).....	38
IV.2.1. Dosage des flavonoïdes	38
IV.3. les activités biologique.....	41
IV.3.1. L'activité antioxydant	41
IV.3.1.1. Test de DPPH radical libre	41
IV.3.1.2. Test du piégeage du cation radical ABTS•+.....	44
IV.3.1.3. Test de Phénanthroline activité.....	46
IV.3.1.4. test du pouvoir réducteur (FRAP).....	48
IV.3.2. L'activité Anti-inflammatoire in-vitro	50
IV.3.3. Evaluation de L'activité Antibactérienne	53
IV.3.3.1. Les souches utilisées	53
IV.3.3.2. Principe.....	53
IV.3.3.3. Mode opératoire.....	53

Chapitre V : Résultats et Discussions

V .1. Détermination de rendement d'extraction.....	60
V.2 résultats de l'Analyse quantitative des deux plantes	61
V.2 .1 Estimation quantitative de Dosage des flavonoïdes	61
V.3. Résultats des activités biologiques	64
V.3.1. Les activités antioxydants.....	64

Sommaire

V.3.1. 1. Activité anti radicalaire DPPH.....	64
V.3.1.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS•+ :.....	67
V.3.1. 3. Activité de réduction par la formation du complexe Fe+2- phénantroline	69
V.3.1.4. Activité du pouvoir réducteur (FRAP) :.....	71
V.4. L'activité Anti inflammatoire in vitro	73
V.5. Evaluation de L'activité Antibactérienne.....	75
V.5.1. Résultats de l'activité antibactérienne de costus indien.....	75
V.5.2. Résultats de l'activité antibactérienne de l'ortie.	78
Conclusion et perspectives	82
Les références bibliographiques.....	84

Liste des abréviations
Des figures et des tableaux

Liste des abréviations :

- **DMSO** : diméthyl-sulfoxyde
- **MH** : Mueller Hinton
- **G** : ramme.
- **Mg** : Milligramme
- **H** : heure.
- **Min** : Minute.
- **ml** : millilitre.
- **µl** : microlitre
- **ABTS** : acide 2,2'-azino-bis-3-éthyl benzthiazoline-6-sulfonique
- **DPPH** : radical 2,2-diphényl-2-picrylhydrazyle
- **FRAP** : pouvoir réducteur/antioxydant ferrique
- **TPC** : teneur phénolique totale
- **CI50** : concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % des radicaux libres
- **AL⁺³** : aluminium
- **AL(NO₃)₉H₂O**: nitrat d'aluminium
- **CH₃COOK**: potassium acetate
- **Na₂OH**: L'hydroxide de sodium
- **AlCl₃** : chlorure d'aluminium
- **Fecl₃**:Chlorur de fer
- **Trolox** : acide 6-hydroxy-2, 5, 7,8-tétraméthylchromane-2-carboxylique
- **Aco** : Extrait aqueux de costus indien
- **Eco** : Extrait éthanolique de costus indien
- **Mco** : Extrait méthanolique de costus indien
- **Aor** : Extrait aqueux de l'ortie
- **Eor** : Extrait éthanolique de l'ortie
- **Mor** : Extrait méthanolique de l'ortie

Listes des figures

Figure 1: Classification des composés phénoliques	8
Figure 2: Squelette de base des flavonoïdes	9
Figure 3: Structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe.....	9
Figure 4: structures chimiques de : a-tanins hydrolysable b-tanins Condensée.....	10
Figure 5: Feuille d'Urtica dioïca	17
Figure 6: Comparaison des fleurs male et femelles	17
Figure 7: Poils urticant	18
Figure 8: racines d'Urticaire dioïca L.	19
Figure 9: Les graines d'Urticaire dioïca L.	19
Figure 10: Tige d'Urtica dioïca	20
Figure 11: Carte montrant la distribution de S.costus (les cercles rouges indiquent la distribution de plante.....	25
Figure 12: Les feuilles de Costus indien	27
Figure 13: Les Fleurs de costus indien	28
Figure 14: Les racine de Costus indien	28
Figure 15: Les feuilles d'ortie	34
Figure 16: Les Racine de costus indien	34
Figure 17: Poudre de feuilles d'ortie	35
Figure 18: Poudre des racine de costus	35
Figure 19 : Les étapes de préparation des trois extraits de l'ortie et costus indien.....	37
Figure 20: Protocol expérimental de Détermination du total flavonoïde.....	40
Figure 21: Réaction entre le DPPH•et le composé antioxydant pour former le DPPH	41
Figure 22: Protocol expérimental de DPPH radical libre.....	43
Figure 23: Protocol expérimental d'Activité du piégeage du cation radical ABTS•+	45
Figure 24: Protocol expérimental d'Activité Phenanthroline activité.....	47

Listes des figures

Figure 25: protocol expérimental d'activité du pouvoir réducteur (FRAP).....	49
Figure 26: les étapes de préparation l'extrait	50
Figure 27: Préparation de standard diclofénac	51
Figure 28: Protocol expérimental de l'activité Anti-inflammatoire in-vitro.....	52
Figure 29: Les étapes de préparation le Mueller-Hinton (GMH).....	54
Figure 30: Les étapes de Préparation L'eau physiologiques.....	55
Figure 31: Préparation des dilutions des extraits	56
Figure 32: Les étapes de Préparation de l'inoculum bactériennes.....	57
Figure 33: Les étapes d'ensemencement et dépôts des disques	58
Figure 34: Rendement d'extraction des trois extraits d'Urtica dioïque L et costus indien	60
Figure 35: Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	61
Figure 36: Evaluation des flavonoïdes totaux des extraits de l'ortie	62
Figure 37: Evaluation des flavonoïdes totaux des extraits de costus indien	63
Figure 38: La plaque de dosage de l'activité anti radicalaire (DPPH) des extraits de L'ortie et costus indien.....	64
Figure 39: Valeurs des CI_{50} du test DPPH.	65
Figure 40: La plaque de dosage du pouvoir réducteur (FRAP) des extraits de L'ortie et costus indien.....	71
Figure 41: Valeurs des $A_{0,50}$ du test pouvoir réducteur.....	72
Figure 42: La plaque de phénantrolinedes d'extraits de L'ortie et costus indien	69
Figure 43: Valeurs des $A_{0,5}$ dans le test phénanthroline.	70
Figure 44: La plaque d'Activité du piégeage du cation radical $ABTS^{\bullet+}$ d'extraits de L'ortie et costus indien.....	67
Figure 45: Valeurs des IC_{50} dans le test ABTS.	68
Figure 46: Valeurs des $A_{0,5}$ dans le test anti inflammatoire	73

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Propriétés thérapeutiques <i>d'Urtica dioïque L.</i>	15
Tableau 2: Les différents noms du <i>Saussurea Costus.</i>	24
Tableau 3: utilisation médicinale de costus indien	26
Tableau 4: Tableau des différentes souches bactériennes testées.....	53
Tableau 5: Regroupe d'autres milieux de culture utilisés pour l'activité antibactérienne. 54	
Tableau 6: les différentes dilutions utilisées.	56
Tableau 7: Le contenu total en Flavonoïde de l'ortie et costus indien.	62
Tableau 8: Inhibition du radical DPPH par les extraits de L'ortie et costus indien.....	65
Tableau 9: Inhibition du cation radical ABTS.	67
Tableau 10: Réduction du fer par la méthode phenanthroline.	69
Tableau 11: Absorbance du pouvoir réducteur par les extraits.....	71
Tableau 12: L'activité anti- inflammatoire.	73
Tableau 13: Les Activité antibactérienne des différents extraits <i>Saussurea costus.</i>	75
Tableau 14: Diamètres d'inhibition de l'extrait méthanolique éthanol et aqueux de <i>Saussurea costus.</i>	76
Tableau 15: Les Activité antibactérienne des différents extraits <i>d'Urtica dioïque.</i>	78
Tableau 16: Diamètres d'inhibition de l'extrait méthanolique ,éthanolique et aqueux <i>d'Urtica dioïca</i>	79

Introduction Générale

Introduction générale

Selon l'Organisation mondiale de la santé, 80 % des personnes vivant dans les pays en développement utilisent principalement la médecine traditionnelle. Cette dernière repose principalement sur les plantes médicinales. Ceci implique qu'environ 3300 millions de personnes font régulièrement usage de plantes médicinales. La sécurité et l'efficacité des plantes médicinales utilisées dans la médecine traditionnelle doivent donc être évaluées. **(Eloff, 2005)**.

Les plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle ou moderne contiennent au moins une partie ou plus de substances thérapeutiques. Les composés chimiques végétaux (indépendants, primaires ou secondaires) sont responsables de leur activité, qu'ils fonctionnent seuls ou en association avec ces différents composés **(Ouedraogo, 2021)**.

La relation entre les plantes sauvages qui recouvrent la terre et les maladies qu'elles infectent a été utilisée en tout ou en partie pour les traiter en raison de leur capacité à produire une grande quantité de composés chimiques pouvant être utilisés dans plusieurs fonctions biologiques importantes telles que l'acclimatation et la défense contre les influences extérieures qui affectent le corps humain. La plupart des médicaments chimiques actuels sont dérivés des herbes médicinales, qui sont le pilier des médecines alternatives ou de la physiothérapie **(Ghassan, 2009)**.

Parmi ces plantes, on retrouve l'ortie « *Urtica dioica L* », une plante sauvage qui se trouve partout, sur les routes, les ruines. C'est une plante pleine de bienfaits, que nos ancêtres connaissaient bien. Elle est considérée comme une « mauvaise herbe », elle est utilisée dans l'agriculture, l'alimentation, la cosmétique, la teinturerie, l'industrie textile et à des fins médicales. **(Bertrand et Jeanne, 2008)**.

Et costus indien (*Saussurea costus*), une des principales espèces de *Saussurea*, de la famille des Astéracées, est en danger critique d'extinction dans la région subalpine de l'Himalaya. **(Tanuja Uniyal, 2018)**

Dans ce cas, cette étude vise à doser les composés phytochimiques phénoliques après leur extraction à partir des feuilles d'*Urtica dioica L* et des racines de *Saussurea costus*, et à évaluer l'activité antioxydante, anti inflammatoire et antibactérienne des extraits obtenus.

Ce travail se divise en deux parties :

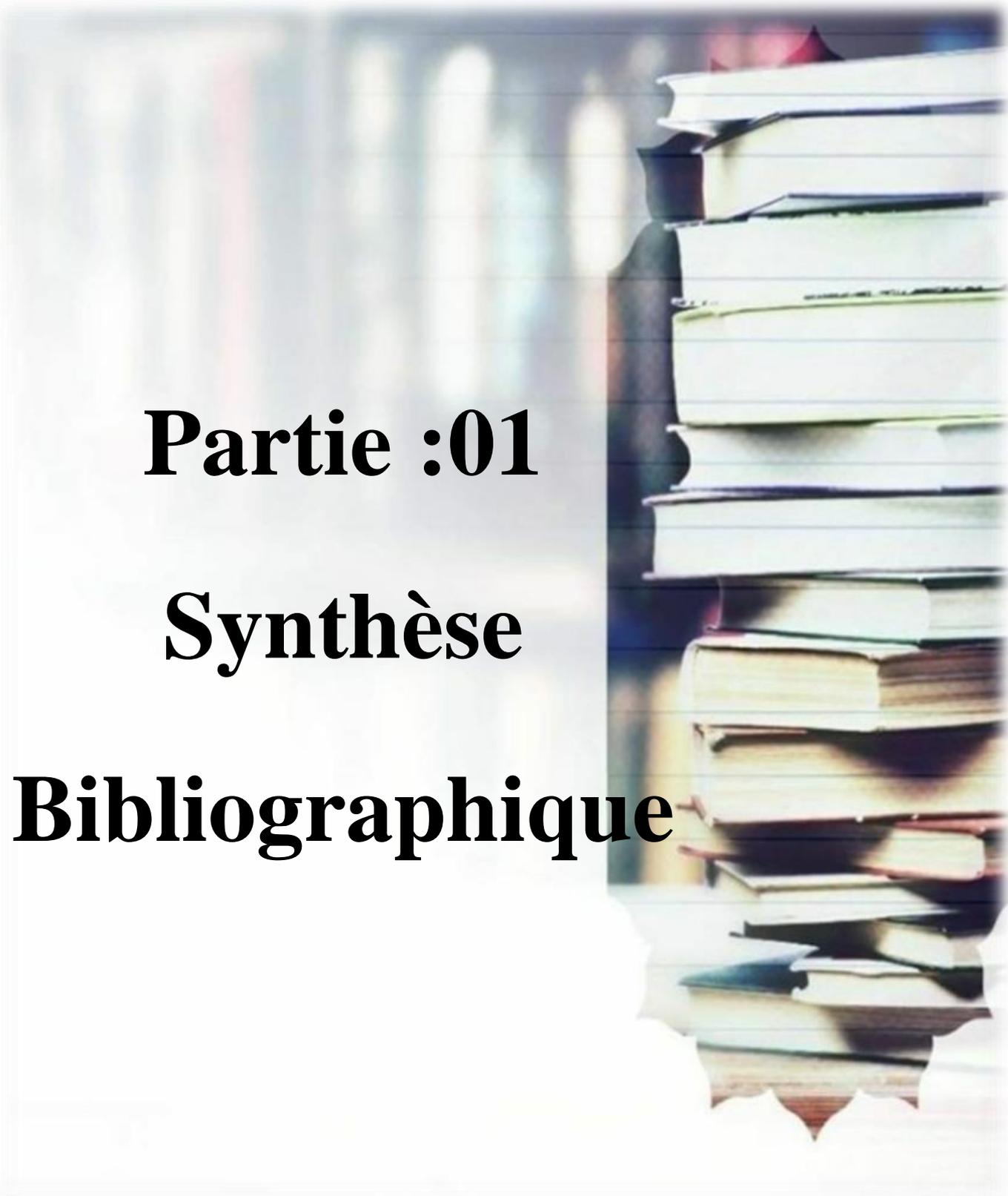
Introduction générale

Dans la première partie trois chapitres sont rédigés à propos une recherche bibliographique sur les connaissances générales des deux plantes utilisées dans ce travail (la description et la classification botanique, leurs composants et les effets biologiques).

La deuxième partie est divisée en deux chapitres :

Le premier chapitre, on aborde le matériel et la méthode de travail pour les techniques d'extraction. Les recherches sur les propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires et antioxydants des deux plantes. Le deuxième chapitre, nous abordons les résultats et les discussions de nos travaux de recherche.

A la fin, une conclusion générale sur les résultats et les travaux.



Partie :01

Synthèse

Bibliographique

Chapitre I :

Phytothérapie

I.1.Plantes médicinales

Selon la Pharmacopée Européenne, les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie contient des propriétés curatives. De plus, ces plantes thérapeutiques peuvent être utilisées à des fins alimentaires et condimentaires, ou de préparation de boissons hygiéniques (**Bouzouita ,2016**).

Les plantes médicinales sont employées en raison de leurs qualités particulièrement favorables à la santé humaine, car elles sont utilisées de diverses manières, telles que la décoction, la macération et l'infusion Il est possible d'utiliser une ou plusieurs de leurs composants (racine, feuille, fleur) (**Dutertre ,2011**).

I .2. Origine des plantes thérapeutiques :

Il existe deux origines pour les plantes utilisées comme médicaments. Les plantes cultivées et les plantes spontanées, appelées sauvages ou de cueillette, naturelle.

I .2.2. Plantes sauvages

Cette catégorie a été utilisée le plus tôt et représente toujours un pourcentage important du marché mondial. Il existe de nombreux facteurs qui influencent la dispersion et leur croissance, notamment le type de sol, le climat, la latitude, l'altitude, la composition du sol. D'autres facteurs ont en effet un impact sur ces plantes. Celles-ci sont des réservoirs de spécificités génétiques grâce à leurs conditions édaphiques.

I .2.3. Plantes en culture

Grâce à des méthodes de culture standardisées, ces plantes permettent d'obtenir des matières premières de haute qualité en quantités suffisantes et uniformes. En effet, la culture de plantes médicinales est conforme aux directives de l'OMS sur les bonnes pratiques agricoles et de récolte (BPAR). (Culture, récolte des plantes médicinales, et certaines opérations post-récolte) .Ces directives peuvent être adaptées aux lois en vigueur dans différents états. En plus de ces avantages de qualité, leurs cultures luttent contre la dispersion ou la disparition des peuplements naturels. Malgré son infériorité à celle de la flore spontanée, la grande diversité créée au sein des espèces cultivées est également importante (**Wichtl, 2003**).

I.3. La phytothérapie

I.3.1. Définition

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques phuton et therapeia qui signifient respectivement "plante" et "traitement".

La phytothérapie est une méthode de traitement par les plantes. Notamment certains troubles fonctionnels et des états pathologiques. C'est un traitement basé sur la médecine traditionnelle et sur la compréhension empirique développée au fil du temps. C'est ce qu'on appelle la phytothérapie traditionnelle utilisée par nos ancêtres (**Limonier, 2018**).

I.3.2. Les types de phytothérapie

Ils existent deux types de phytothérapie :

I.3.2.1. La phytothérapie traditionnelle (classique) :

C'est une thérapie alternative qui vise à atténuer les symptômes d'une maladie. Ses origines très anciennes reposent sur l'utilisation empirique des plantes selon leurs vertus. Les recommandations qui y sont mentionnées tout au début sont spécifiques au conseil pharmaceutique. Les pathologies saisonnières engendrent des troubles psychosomatiques légers (des symptômes hépatobiliaires et des problèmes digestifs ou dermatologiques).

I.3.2.2. La phytothérapie clinique (moderne)

C'est une médecine de terrain qui repose sur une approche globale du patient et de son environnement nécessaire à la détermination du traitement par un examen clinique complet.

De nos jours, la phytothérapie est basée sur les avancées scientifiques et les recherches des extraits actifs des plantes. Une fois identifiés, ces derniers sont standardisés. Cette pratique conduit aux phyto-médicaments selon la réglementation en vigueur du pays soumise à une autorisation de mise sur le marché. On parle alors de pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique.

Des études approfondies sont nécessaires pour passer d'une phytothérapie classique incontrôlée à une phytothérapie moderne basée sur des données scientifiques réalisées et approuvées par des personnes agréées. (**Nogaret, 2011**).

I.4. Les métabolites secondaires

On peut définir les métabolites secondaires des végétaux comme des substances nécessaires à la vie des plantes, contrairement aux métabolites primaires (protéines, lipides, glucides). Ces métabolites secondaires jouent un rôle vital dans la composition.

Des plantes (lignines et tannins) qui ont un impact important sur leur capacité d'adaptation à leur environnement (**Mansour, 2009**).

Les métabolites secondaires sont fabriqués en quantités très limitées, avec plus de 200 000 molécules identifiées. Leurs formules chimiques sont classées en composés phénoliques, alcaloïdes et terpénoïdes (**Amas, 1997**).

I.4.1. Les composés phénoliques

Les polyphénols, également connus sous le nom de composés phénoliques, sont des métabolites secondaires très répandus dans le règne végétal, présents dans tous les fruits et légumes. Ils se trouvent dans toutes les parties des plantes, mais avec une distribution différente. Quantitatif, qui diffèrent selon les tissus. On a recensé plus de 8000 structures.

(**Waksmundzka-Hajnos, 2011**).

Les composés phénoliques jouent un rôle actif dans les relations entre la plante et son environnement en jouant soit le rôle de signaux de reconnaissance, entre les plantes et les symbioses, soit en lui permettant de résister aux différentes agressions extérieures et des agents pathogènes. Ces composés jouent un rôle essentiel dans la tolérance des végétaux face à différentes typesses de stress, ce qui les rend très efficaces dans l'équilibre et dans l'adaptation de la plante dans son environnement naturel (**Jean-Jacques, 2005**).

I.4.2. Structure générale des Polyphénols

Les polyphénols ont une structure chimique similaire à celle de tous les polyphénols. Leur particularité réside dans la présence d'un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxyles. On divise les polyphénols en divers groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent, les éléments constitutifs et les substitutions qui les relie (**Manallah, 2012**).

I.4.3. Classification des composés Phénoliques

L'ensemble des composés phénoliques est constitué d'un grand nombre de composés chimiques avec au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupes hydroxyle, ainsi que d'autres composants. Les polyphénols naturels comprennent des composés simples tels que les acides.

Les composés phénoliques, tels que les tanins, sont extrêmement polymérisés. Les polyphénols peuvent être classés en acides phénoliques, flavonoïdes, tanins, stilbènes, lignanes, saponines, phytostérols ou phytostanols. Les acides phénols, flavonoïdes et tanins sont les plus importants (Bessas ,2008).

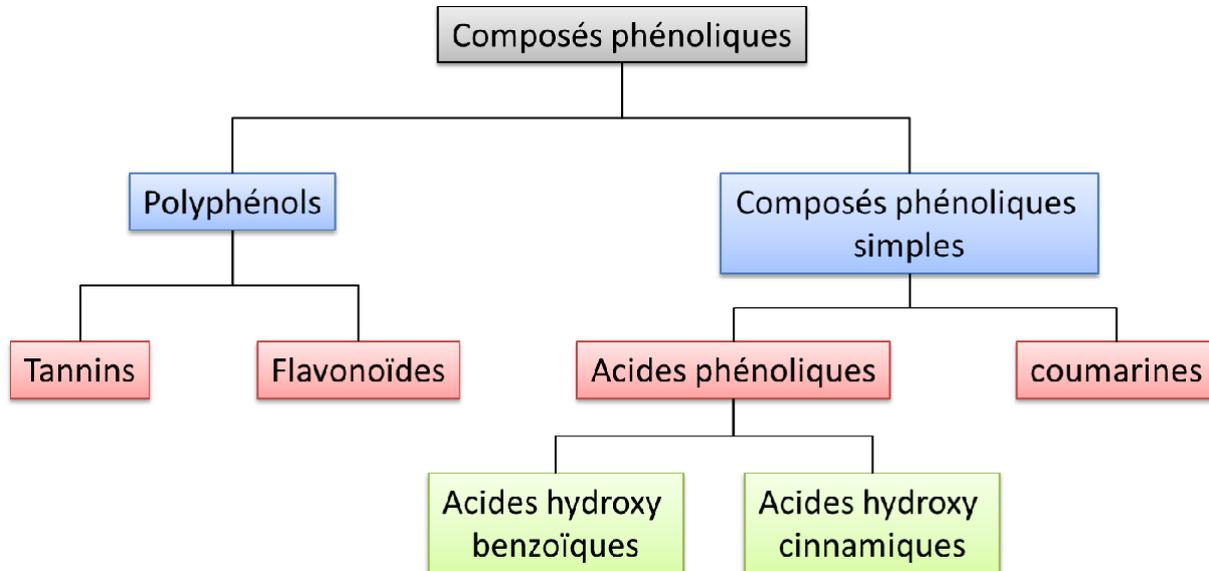


Figure 1: Classification des composés phénoliques (Bessas ,2008).

I.4.4. Les acides phénols

Les acides phénoliques sont des substances organiques qui ont au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont classés en deux catégories principales : les acides benzoïques en C7 (C6-C1) et les acides cinnamiques en C9 : (C6-C3).

- Les acides phénols issus de l'acide benzoïque (C6-C1) sont très répandus dans les plantes, que ce soit sous forme libre, esters ou hétérosides, comme l'acide p-hydroxy benzoïque ou l'acide salicylique.
- Les acides phénols issus de l'acide cinnamique (C6-C3) sont très répandus dans les plantes, généralement estérifiés, comme l'acide caféique (Markaoui ,2009).

I.4.5. Les flavonoïdes

Le mot flavonoïde englobe une variété étendue de composés naturels de la famille des polyphénols.

Les pigments végétaux sont presque universels. Leur présence est répandue dans la plupart des plantes, ce qui leur permet de colorer les fleurs, les fruits et parfois les feuilles.

I.4.5.1. Structure générale

L'origine biosynthétique des flavonoïdes est commune et ils ont tous un même squelette de base composé de quinze atomes de carbone, composé de deux unités aromatiques, de cycle C6 (A et B) sont connectés par une chaîne en C3 (Bruneton, 1999).

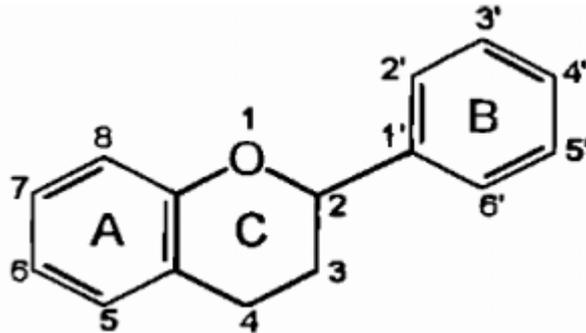


Figure 2: Squelette de base des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

I.4.5.2. Classification des flavonoïdes

De manière structurale, les flavonoïdes sont classés en différentes catégories de molécules en fonction du degré d'oxydation et de la nature des substituants présents dans le cycle C3. Les flavonoïdes se divisent principalement en flavonols, flavones, flavanones, flavan-3-ols, isoflavones et anthocyanes (Sadasivam, 2003).

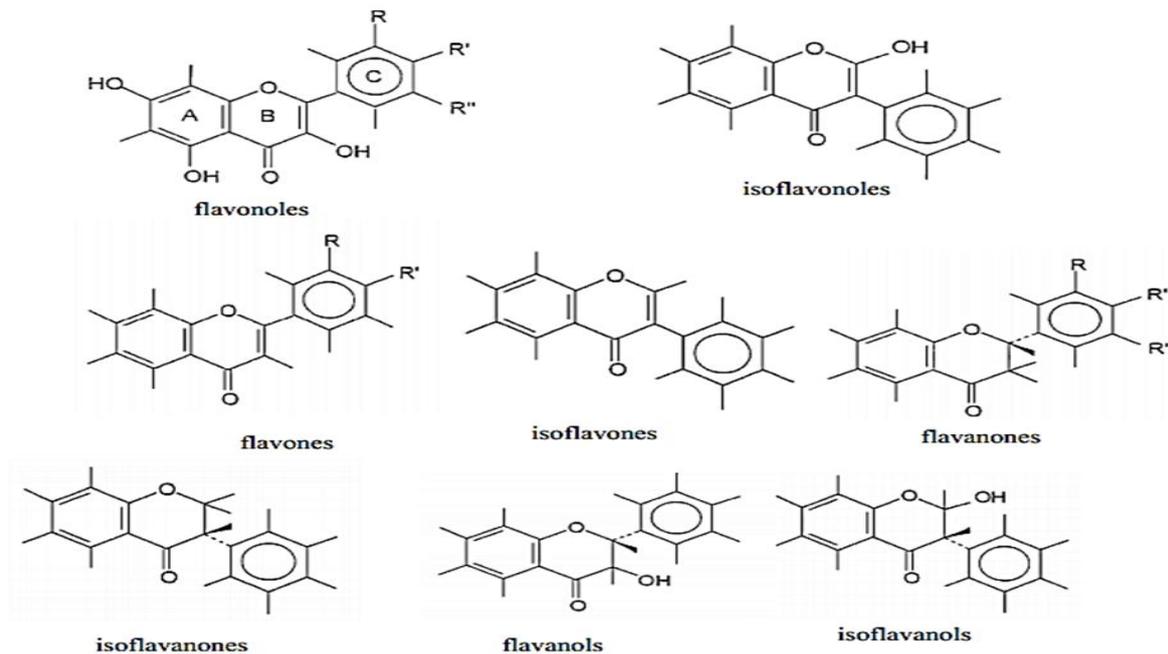


Figure 3: Structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe (Benhammou, 2011).

I.4.6 Les tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques de différentes structures qui ont la capacité de tanner la peau. Effectivement, ces substances ont la capacité de se combiner avec les protéines, ce qui explique leur effet tannant. Ils sont présents dans différents organes. Cependant, une accumulation est observée principalement dans les tissus âgés ou pathologiques. On les retrouve dans les vacuoles, parfois associés aux protéines et aux alcaloïdes. Les tanins hydrolysables et les tanins condensés sont distincts (**Rabasso ,2006**).

I.4.6.1. Structure chimique et classification

❖ Tanins hydrolysables :

Il s'agit d'hétéros polymères avec un noyau central formé par un polyol. Les groupements hydroxyles sont généralement estérifiés en partie ou en totalité avec l'acide gallique (comme les gallotanins) ou un dimère de l'acide gallique, l'acide hexahydroxydiphénique(exemple des Ellagitains). Comme son nom l'indique, ces composés sont faciles à hydrolyser dans des milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (comme la tannase) afin de produire des glucides et des acides phénoliques (**Leinmüller ,1991**).

❖ Tanins condensés :

Les tannins condensés, également connus sous le nom de tannins catechiques ou proanthocyanidols, se distinguent principalement des tannins hydrolysables en raison de leur absence de sucre dans leur molécule et de leur structure similaire aux flavonoïdes. Les polymères flavaniques sont des composés d'unités de flavan-3-ols qui sont liées entre elles par des liaisons carbones. On a découvert ou identifié les proanthocyanidols dans tous les groupes végétaux, y compris les Gymnospermes et les Fougères (**Bruneton ,1999**).

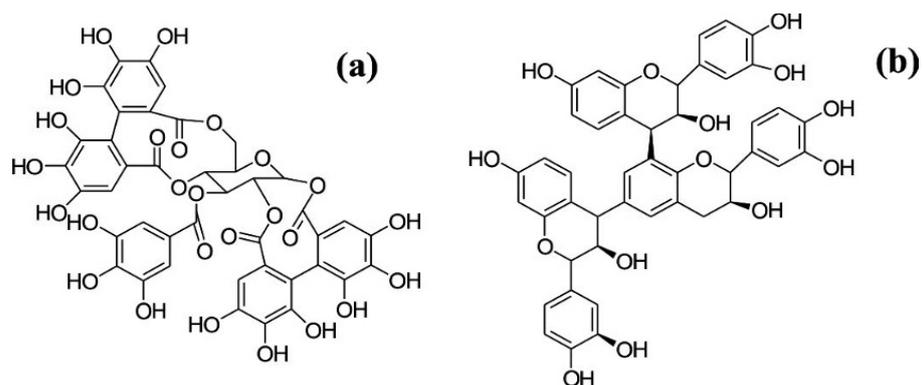


Figure 4: structures chimiques de : a-tanins hydrolysable b-tanins Condensée.

I.4.7. Propriétés biologiques des Polyphénols

L'étude récente des composés phénoliques en général et des flavonoïdes en particulier est très approfondie en raison de leurs multiples propriétés physiologiques telles que les propriétés antiallergiques, anti-inflammatoires, hépatoprotectives, antimicrobiennes, antivirales, Antibactérienne, anticancereuse, protectrice du cœur et vasodilatatrice. Les effets antioxydants qu'ils exercent sont dus à leurs propriétés redox, qui jouent un rôle vital dans la destruction oxydative en neutralisant les radicaux libres, en piégeant l'oxygène ou en décomposant les peroxydes.

Quant aux flavonoïdes, ils peuvent prévenir les dommages oxydatifs en utilisant divers mécanismes d'action : soit en capturant les radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxyles et peroxydes, soit en chélant des métaux (comme le fer et le cuivre) qui jouent un rôle essentiel dans l'initiation des réactions radicalaires ou en inhibant les enzymes responsables de la production de radicaux libres (**Benhammou ,2011**).



Chapitre II

L'ortie

(Urtica dioique L)

II 1. Définition

L'Ortie est une plante cosmopolite, anthropophile et herbacée vivace qui peut atteindre jusqu'à 150 cm. Elle dispose d'une tige de section quadrangulaire garnie de feuilles lancéolées, opposée par deux ovales à dents triangulaires d'un vert sombre et hérissées de poils urticants.

Elle appartient au genre « *urtica* » et à l'espèce « *dioïque* ». Les fleurs mâles et les fleurs femelles sont portées par des pieds différents seuls les pieds femelles portent des graines. Il y a aussi la petite ortie qui se reproduit par le semis et qui est minorque, car le même pied porte à la fois les fleurs mâles et femelles (**Mostade, 2015**).

Les appellations vernaculaires sont :

❖ **Nom latin :** *Urtica dioïque L.*

❖ **Noms anglais Nettle,** : Common nettle, Stinging nettle, Tall nettle, Slender nettle, Greater nettle

❖ **Noms français :** Ortie dioïque, Grande ortie, Ortie piquante, Ortie élevée

❖ **Noms arabe :** (Hourriga, al quarâs) القراص الحريكة (**Ait Haj et al ,2016**)

II.2. Origine

Urtica, dérivé du mot latin "uro", signifie "brûlant", tandis que "*dioïca*" vient de "dioïque", ce qui signifie que les fleurs mâles et femelles sont placées sur des pieds séparés. (**Luc F, 2010**)

L'ortie est la plus grande et l'espèce la plus commune du genre *Urtica*. Elle est de couleur vert foncé et elle est très répandue en France, même si elle est rarissime dans les régions méditerranéennes. Elle se trouve dans presque toutes les parties du monde, allant de l'Europe à l'Afrique du Nord, en passant par l'Asie, l'Amérique du Nord et du Sud, ainsi qu'en Afrique du Sud. Elle se trouve à une altitude de 2400 mètres. Elle est capable d'atteindre les sommets du Jura et du Massif Central. Elle est également présente dans les Alpes et dans les Pyrénées.

L'Ortie est une plante considérée comme « rudérale » car elle apprécie le voisinage des maisons le détrit et les endroits insalubres. Elle se développe sur des sols légers et humifères Elle est présente dans les haies, les chemins, les coupes des bois, les champs et les jardins bien fumés. Elle est soumise à la présence humaine. Elle préfère les terrains secs et doux, et elle ne se préoccupe pas de l'exposition au soleil, car elle peut être trouvée à l'abri d'une façade ou au fond d'un vallon ombragé. Elle fait partie des plantes nitrophiles et supporte tous les sols, surtout

ceux contenant des matières organiques fraîches. L'ortie est un symbole de zones riches et fertiles car elle pousse généralement en grands massifs compacts où de nombreux insectes peuvent s'installer (**Draghi, 2005**).

II.3. Classification systématique

- ❖ **Règne** : Plantae (plantes).
- ❖ **Sous-règne** : Tracheobionta (plantes vasculaires).
- ❖ **Embranchement** : Magnoliophyta (phanérogames).
- ❖ **Sous-embranchement** : Magnoliophytina (angiospermes).
- ❖ **Classe** : Rosidae
- ❖ **Sous-classe** : Rosidae dialycarpellées
- ❖ **Ordre** : Rosales
- ❖ **Famille** : Urticaceae.
- ❖ **Genre** : Urtica
- ❖ **Espèce** : Urtica dioica (**François et Gaudry, 2016**)

II.4. Utilisation L'ortie

L'ortie est utilisée de différentes manières. On le trouve dans différentes industries telles que l'agriculture, l'alimentation, la cosmétique, la teinturerie, l'industrie du textile et à des fins médicales. (**Camille et Christine, 2010**).

II.4.1. Utilisation dans l'agriculture

L'Ortie, en purin, est utilisée comme tonique universel, pour pulvériser les feuilles de plantes et renforcer les défenses naturelles. Elle a également une action répulsive sur les insectes. (**Camille et Christine, 2010**).

En raison de sa forte teneur en matières organiques et minérales (azote ammoniacal et oligo-éléments), l'ortie joue un rôle d'engrais et de stimulant de croissance (**Mario, 2004**).

Le compost à base d'orties est utilisé dans le jardinage pour encourager la germination et la reprise des jeunes plantes (**Botineau, 2010**).

II.4.2. Utilisation alimentaire

Les feuilles peuvent être consommées crues (hachées en salade) ou en légume dans des gratins, des quiches, dans la potée aux orties ou en soupe, mais elles sont principalement consommées cuites. (**Benzanger et Beauquesne, 1980**).

II.4.3 Utilisation industriel

Pendant longtemps, l'ortie était utilisée dans le domaine domestique pour fabriquer des textiles considérés comme plus résistants que le lin (**Fletcher, 2007**).

L'ortie (plante textile ancienne) est utilisée en Sibérie pour fabriquer des filets de pêche, des cordages (pour confectionner des cordes), des filets et des tissus (**Couplan, 2012**).

II.4.4 Utilisation médicinale

Depuis longtemps avant que cette plante ne soit incluse dans les catalogues médicaux et pharmaceutiques, elle a été utilisée comme substitut aux irritants, même les plus dangereux et les moins suspects. Elle est recommandée pour soigner les rhumatismes et les paralysies (**Eloff, 2005**).

Tableau 1 : Propriétés thérapeutiques d'*Urtica dioïque L*.

Thérapeutiques	Actions
Traitement de cancer Prostatique	La racine d'ortie a des effets similaires à ceux de la tamsulosine dans le traitement de l'HBP. (Durak et al, 2004)
-Antianémiques. - Anti-agrégation plaquettaire	La chlorophylle des feuilles contient une grande quantité de fer qui lutte contre la fatigue. (El houari et al, 2006)
Anti-allergique, - Anti-oxydante	Très efficace pour soigner l'allergie au pollen (traitement prolongé). Les récepteurs clés et les enzymes liés à la rhinite allergique sont affectés. (Gulcin et al, 2004)

<p>-Anti-inflammatoire.</p> <p>- Immuno- stimulateur.</p>	<p>L'effet inhibiteur des polysaccharidiques de l'extrait aqueux des racines sur un œdème de patte de rat est observé. Les flavonoïdes glycosides des feuilles ont un effet immunostimulant sur les neutrophiles (Akabay <i>et al</i>, 2003 Capasso <i>et al</i>, 2003).</p>
<p>Traitement de rhumatismes et Arthrose.</p>	<p>Effectue une diminution de la maturation des cellules dendritiques myéloïdes chez les humains, ce qui entraîne une diminution de l'induction de la réponse des cellules T primaires du rhumame articulaire. Amélioration des cartilages grâce à sa présence. taux élevé de Silice (en particulier dans les racines).</p> <p>(Broer et Behnke, 2002)</p>
<p>Effet sur la fonction cérébrale et la mémoire.</p>	<p>La feuille d'ortie a la capacité de réduire la production des enzymes inflammatoires et de favoriser la croissance cérébrale.</p> <p>(Wichtl et Anton, 2003)</p>
<p>Alopécie (chute des cheveux).</p>	<p>Arrête le déclin des cheveux. (En particulier les racines).</p> <p>(Davis ,1982)</p>

II.5. Morphologie de la plante (*Urtica dioica*)

II.5.1. Feuilles

L'Urtica dioica L. Présente des feuilles d'un vert foncé (avec une forte teneur en chlorophylle), avec une tige solide, dressée, quadrangulaire, sans branches (Boyrie, 2016).

Ovales en cœur à la base et terminées par une pointe, bordée en dents de scie, recouvertes de poils blancs et urticants. (Moutsie, 2008).



Figure 5: Feuille d'*Urtica dioïca* (Schaffner, 1992)

II.5.2 Les fleurs

Que les fleurs soient mâles ou femelles, elles sont verdâtres, petites et discrètes. La floraison est étalée de mai à octobre. Celle-ci se déclenche en fonction de la luminosité et de la richesse du sol. On peut assister à une véritable explosion des fleurs. C'est un petit nuage de pollen qui jaillit comme la fumée après un coup de canon.

❖ **Fleurs mâles** : elles ont 4 sépales et 4 étamines. Elles sont accompagnées de longues robes (Grappes dressées, très rameuses, développées par paire, à l'aisselle des feuilles). Chaque étamine libère environ 15 000 grains de pollen jaune, qui ont la réputation d'être allergisants.

❖ **Fleurs femelles** : elles ont 4 sépales et un ovaire velu de couleur verdâtre. Les grappes qui les portent pendent, surtout lorsque les graines se forment. Elles sont dépourvues de nectar (Moutsie ,2008)



Figure 6: Comparaison des fleurs male et femelles (Martine, 2016)

II.5.3. Poils urticants

La grande ortie est équipée de poils urticants sur sa tige et ses feuilles, afin de se prémunir contre les animaux qui pourraient la manger ou la piétiner. Il est possible d'observer ses poils au niveau de l'épiderme mature de la plante. Ils ont une forme conique et sont composés de silice et de deux éléments Au fond :

- ❖ Une ampoule renflée renferme les substances urticantes comme l'acide formique, l'acétylcholine, l'histamine et la sérotonine.
- ❖ Au sommet se trouve une pointe effilée qui ressemble à une aiguille, entourée d'une petite boule qui se brise au moindre contact et permet ainsi l'évacuation des substances urticantes qui pénètrent dans la peau, provoquant ainsi une irritation locale (**Jerome, 2007**).



Figure 7: Poils urticant (Jerome, 2007).

II.5.4. Racines

Ce sont des rhizomes (tiges souterraines) jaunâtres, traçants et abondamment ramifiés qui développent chaque année de nouvelles pousses, d'où son caractère parfois envahissant. Ils fixent l'azote de l'air grâce à l'action de micro-organismes (*Rhizobium frankia*) qui vivent en symbiose avec l'ortie (**Moutsie.2008**).

On distingue deux types de racines :

- ❖ Des racines traçantes à radicelles fines permettant à la touffe de s'étendre.
- ❖ Des racines plus grosses, « pivotantes » qui s'enfoncent profondément dans le sol ce qui permet l'ancrage du pied d'ortie, et ainsi de résister aux événements climatiques comme la sécheresse (**Bertrand, 2010**).



Figure 8: racines d'*Urticaire dioica L.* (Moutsie, 2002)

II.5.5. Les graines

La pollinisation des fleurs femelles n'est pas toujours garantie, car assez délicate et au petit bonheur du vent. Chaque pied porte environ 1500 petites graines noires qui pèsent au total 1 gramme. Ces graines sont enveloppées dans une capsule verdâtre afin que le vent, encore lui, les disperse. Les fourmis ou les oiseaux jouent aussi parfois ce rôle. La capsule s'ouvrira par la suite pour libérer la graine, beaucoup ne germeront pas. C'est pourquoi l'ortie en a autant, mais si elles se trouvent en terrain propice à leur germination (humus + eau), elles ont toutes les chances de s'implanter (Moutsie. 2008).



Figure 9: Les graines d'*Urticaire dioica L.* (Moutsie, 2002)

II.5.6. Tige

Carrée, robuste, velue, et Non ramifiée (sauf si on la coupe), est très fibreuse. D'ailleurs, c'est à partir de la tige qu'on extrait la fibre pour un usage textile (**Bertrand, 2010**).



Figure 10: Tige d'*Urtica dioïca* (**Moutsie, 2008**)

II.6. Composition chimique de l'ortie

Feuilles	calcium, magnésium et potassium- éléments minéraux (Pradhan, 2015) Chlorophylle Xanthophylle.-Flavonoïdes-Enzymes.-Tanins vitamines (thiamine, riboflavine, acide folique, acide ascorbique, α tocophérol, vitamine K) (Couplan, 2013)
Tiges	les lignines, flavonoïdes, anthocyanes, acides phénoliques (Orčić et al, 2014)
Racines	-Lectine.-Terpènes.-Phytostérols et stéroïdes.Lignanes. - ComposésPhénoliques - Sels minéraux.- Acides gras- Céramides. - Polysaccharides (glycanes, glycolacturonique, arabinogalactane) (Ait Haj et al, 2016)
Poils urticants	Catécholamines (Responsables des réactions urticantes)-Des Acidesformique, acétique. Neuromédiateur : Choline, Acétylcholine 1 %, Sérotonine et L'histamine (Oliver et al ,1991)
Fleurs	sitostérol glucoside et la scopolétine l'acide chlorogénique et de l'acide caféyl-malique (fleurs femelles) (Akbay et al ,2003)

II.7. Les bienfaits

Depuis l'Antiquité, l'ortie dioïque est couramment employée comme plante médicinale en raison des propriétés thérapeutiques de cette plante. Les composés pharmacologiques de l'ortie diffèrent en fonction de la nature du sol, de l'exposition de la plante et de la saison.

Les feuilles d'ortie :

Elle peut être utilisée de manière interne (par infusion, en teinture, en capsules ou sous forme de jus frais pour tonifier et redonner de l'énergie).

- Pour lutter contre les inflammations des voies urinaires.
- Pour traiter ou prévenir les calculs rénaux.
- Pour lutter contre l'anémie, la maladie du cœur et le rhume des nourrissons.

Elle est employée par voie externe pour :

- Soigner les entorses, les tendinites et les douleurs dorsales.
- Atténuer les souffrances liées aux artères et aux rhumatismes.
- Prendre en charge les affections cutanées telles que l'eczéma, le psoriasis, l'acné, et les infections.

On utilise les racines d'ortie dans le traitement de l'hyperplasie bénigne de la prostate (**Moutsie, 2008**)

II.8. Les activités biologiques

II.8.1. Anti-inflammatoire

L'effet anti-inflammatoire de *l'Urtica dioïque* a été évalué dans plusieurs essais cliniques, mais aucune étude n'a encore prouvé l'efficacité d'une préparation *d'Urtica dioica* comme anti-inflammatoire. La preuve de sa supposée efficacité ne repose que sur des éléments. Le traitement par des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) tels que le Diclofénac a permis d'améliorer globalement l'état des patients (**Hansen et al., 1996**)

II.8.2. Activité antimicrobienne

Des recherches ont prouvé que les feuilles *d'Urtica dioica* présentent des propriétés antimicrobiennes. Les flavonoïdes, les alcaloïdes et les terpènes sont des composants chimiques qui ont une activité contre diverses bactéries et levures. (**Dar et al, 2012**)

II.8.3. Activité antioxydante

Les recherches sur l'activité antioxydante de l'ortie ont été réalisées. On a démontré que l'extrait d'ortie aqueux avait un taux d'inhibition de la production de superoxyde supérieur à

celui de l'hydroxyanisole butylé (BHA) and de l'hydroxytoluène, respectively. Le BHT (butylé) ou l' α -tocophérol (vitamine E) (**Gülcin et al, 2004**)

L'activité antioxydante de l'extrait hydroalcoolique d'*Urtica dioïca* a été supérieure à celle des deux espèces *Urtica urens* et *Urtica membranacea*. (**Carvalho et al, 2017**).

II.9. La toxicité

Urtica dioïque est une plante utile qui est couramment employée dans divers domaines, notamment dans le domaine thérapeutique, mais ce n'est pas le seul avantage de l'ortie. Effectivement, l'ortie présente une toxicité en raison de ses poils urticants qui s'appliquent à la peau. Cette réaction, qui résulte de son irritation, est causée par le complexe chimique présent dans les poils (l'acide formique, l'histamine, l'acétyl choline, et la sérotonine).

Cette irritation entraîne la création d'une papule appelée «ortiée», avec une rougeur au centre, entourée d'une auréole érythémateuse de 1 cm de diamètre, et une papule œdémateuse irrégulière tout autour, accompagnée de chaleur locale et de prurit. Tous ces symptômes présents, connus sous le nom d'urticaire, rappellent l'effet de la piqûre d'ortie (**Botineau, 2010**).

D'autre part, la toxicité de l'ortie est due à son extrait. Son effet n'est pas le même chez les hommes et les animaux. Négligeable chez l'homme par rapport aux animaux. (**Wichtl et Anton, 2003**).



Chapitre III

Costus indien

(Saussurea costus)

III.1. Définition

La plante médicinale *Saussurea costus*, également connue sous le nom de costus indien, est originaire de l'Inde, du Pakistan, de la Chine et de la région de l'Himalaya, où elle se développe entre 2500 et 3 500 mètres d'altitude (**Rao et al, 2013**).

Dans les régions subalpines du Jammu et du Cachemire, de l'Himachal Pradesh et de l'Uttaranchal, cette plante est présente en Inde. Depuis environ 2500 ans, cette plante est bien connue et est couramment employée dans la médecine traditionnelle indienne. (**Kuniyal et al, 2019**).

Elle utilise couramment comme plante médicinale dans le Middle Est pour traiter différents soucis de santé, en particulier des affections respiratoires. Il possède des composés actifs tels que des flavonoïdes, des sesquiterpène terpènes et des anthraquinones qui possèdent des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires puissantes. (**Fadal, 2023**).

Les appellations vernaculaires de costus indien sont les suivantes :

Tableau 2: Les différents noms du *Saussurea Costus*.

La langue	Le nom
En arab	القسط الهندي
Hindi et bengali	Kut, Kur, Pachak
Nom vernaculaire	Costus indien
Nom vernaculaire	Saussurea costus

III.2. Origine

Le costus indien se trouve généralement à une altitude de 2500 à 3 000 m en Inde y compris le Cachemire, le Jammu, l'Himalaya, les gâtes occidentaux, l'Himachal Pradesh, l'Uttaranchal et la vallée Kishenganga (**Lammari, 2021**).

La disponibilité de cette plante importante dans la nature. Elle est diminuée de jour en jour en raison de la surexploitation à différentes fins médicinales et commerciales. Inscrite à l'annexe de la Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore

sauvage menacées d'extinction (CITE), cette espèce médicinale en danger critique d'extinction est l'une des 37 plantes médicinales menacées de l'Himalaya et a été priorisée pour la conservation in situ et ex situ (Pandey *et al*, 2006).



Figure 11: Carte montrant la distribution de *S.costus* (les cercles rouges indiquent la distribution de plante (Mshwani et Wali, 2017).

III.3. La classification systématique

La famille des Asterales est composée d'environ 1000 genres et de 30.000 espèces, réparties à travers le monde, avec environ 177 genres et 1052 espèces présents en Inde. La famille Saussure. Environ 300 espèces appartiennent à la même famille à travers le monde. D'après sa classification, il est répertorié comme suit : (Rao *et al*, 1988)

- ❖ **Règne :** Plantae
- ❖ **Division :** Magnoliophyta
- ❖ **Classe :** Magnoliopsida
- ❖ **Ordre :** Asterales
- ❖ **Famille :** Asterales
- ❖ **Genre :** Saussurea
- ❖ **Espèce :** *Saussurea lappa* C.B. Clarke (Lammari ,2021).

III.4. Utilisation médicinale

Le Prophète (paix et bénédictions d'Allah soient sur lui.) À, ordonné à ses compagnons (qu'Allah soit satisfait d'eux) de se soigner avec le bâton indien dans de nombreux hadiths, et l'exemple que j'aborderai ici est le hadith rapporté par Al-Bukhari d'Umm Qays bin Muhsan, qui a dit : "J'ai entendu le Prophète (Paix et bénédictions d'Allah soient sur lui).Dire «Vous devriez utiliser ce bâton indien, car il contient sept guérisons et il est utilisé comme remède pour la virginité, et il est utilisé pour délivrer un enfant de la pleurésie ».

(عليكم بهذا العود المندي , فان فيه سبعة اشفية : يمتط به العطرة , ويلد به من طامه الجنين)

رواه البخاري- ص 2965 -

(Daana et Burqan ,2024).

Tableau 3: utilisation médicinale de costus indien (pandey *et al* ,2006)

États	Méthode d'application du costus
Maux d'estomac	La poudre des racines prise avec de l'eau. La décoction des racines. La poudre de racine est torréfiée dans de l'huile de moutarde et la pâte est appliquée sur l'estomac.
Maux de tête	L'huile du costus est chauffée avec des racines est appliquée au niveau des maux.
Toux et rhume	La poudre de racine est prise avec de l'eau tiède
Infection de la gorge	La racine est mâchée.
Mal de dos et douleur thoracique	La poudre de racine est prise avec du lait décoction de poudre de racine/L'huile de racine chauffée et masser la zone touchée.
Rhumatismes et douleurs au niveau des articulations	Les racines sont grillées dans du beurre et moulues, la poudre est prise avec du lait, le beurre obtenu est frotté sur la zone affectée et bande pour rester chaud.
Épuisement	Des morceaux de racine sont brides et in funée inhalce

III.5. Morphologie du costus indien

III.5.1. Les feuilles

La plante herbacée est une plante vivace avec des feuilles persistantes qui peut mesurer jusqu'à 2,7 mètres de long. Elle a une croissance modérée et se développe dans les broussailles sous des forêts humides avec des sols organiques. Les feuilles sont de forme simple, avec des formes ovales à oblongues, des bords ondulés et des nervures parallèles, disposées de manière alternée sur la tige en spirale, et elles sont de couleur verte vive (Warrier *et al*, 1994 et Kirtikar *et al*, 1987).



Figure 12: Les feuilles de Costus indien (Jani *et al* ., 2017)

III.5.2. Les fleurs

Les fleurs possèdent des arômes, des coniques les fruits se présentent sous la forme d'une capsule d'un diamètre de 2 cm, avec des graines noires sphérique. De nombreuses branches épaisses de couleur brune rougeâtre sont présentes sur elle, tandis que les racines évoluent de manière horizontale.



Figure 13: Les Fleurs de costus indien (Liu *et al.* 2012)

III .5.3. Les racines

Présente un goût légèrement amer, une odeur caractéristique et une couleur grisâtre à marron foncé. Elles sont épaisses, dures, striées, fusiformes à cylindriques de 7 à 15 cm de long et 1.5 cm d'épaisseur avec un centre effondré



Figure 14: La racine de Costus indien (Bhogaonkar *et al.*, 2012)

III.6. Les bienfaits

- Il sert à soigner les vers chez les enfants. Le nombre d'œufs de vers dans les fèces est réduit par la racine de la plante.
- La racine de la quenouille diminue le nombre d'œufs de vers dans les fèces par rapport aux niveaux de traitement des médicaments chimiques classiques.
- Estomac la saveur piquante, aromatique, vivifiante, et antiseptique de la racine de ricin
- Contribue à améliorer les performances du système digestif.

- La racine de ricin a un effet bénéfique sur l'arrêt du sang.
- Les racines de la casse stimulent les muscles et les tissus, ainsi que leur action diurétique.
- Elles sont également bénéfiques pour éliminer les vomissements, les mucosités des bronches, et les problèmes respiratoires.
- L'huile de ricin indien est employée dans le traitement de l'asthme, de la toux, des gaz, des maladies gastro-intestinales aiguës comme le choléra, etc.
- Il est aussi employé comme un stimulant digestif, un stimulant de la libido masculine, un stimulant de la puissance sexuelle, un stimulant des nerfs et une thérapie pour un nombre restreint de spermatozoïdes.
- Il est extrêmement bénéfique pour améliorer la santé sexuelle.
- Très bénéfique pour les hépatites, les douleurs aux reins et à la rate, ainsi que pour la laryngite et les douleurs à l'estomac.
- On l'utilise pour éliminer les conséquences des blessures et des brûlures.
- Il sert de stimulant, de tonique et de diurétique.
- Prend en charge les troubles ovariens et favorise la croissance des ovaires, ainsi que les troubles utérins, les blocages et les tumeurs de l'utérus. Il est bénéfique pour les femmes qui souffrent d'infertilité, de fausses - couches récurrentes et de grossesses retardées, ainsi que pour contrôler l'hormone du lait.
- Il prend en charge et contrôle les troubles des glandes, notamment la glande thyroïde, et équilibre la plupart des hormones. Le taux de cholestérol peut varier, avec une diminution du mauvais cholestérol.
- Bénéfique pour les neurones, renforce le cœur et les organes internes, élimine les poisons et les éléments toxiques.
- Élimine les impuretés et les substances nocives du sang, élargit les artères et les veines, stimule le pancréas et contrôle le taux de sucre dans le sang.
- Pancréas et contrôle du taux de sucre
- Préviend les affections de l'appareil génital et contribue à combattre la constipation. Séduit et apaise les nerfs, diminuant ainsi la dépression et l'incertitude
- Contribue à l'évaluation de la paralysie de la langue et du pharynx et diminue les problèmes d'articulation.
- Le ricin indien est employé en tant qu'antibiotiques, anticoagulants, toniques articulaires, toniques générales et est employé pour soulager les problèmes d'haleine, diminuer les maux de tête et les maux de dents (**Ahmed Shams El-Din ,2000**).

III.7. Les activités biologiques

III.7.1 Anti microbienne

La croissance est inhibée par les extraits à l'éthanol de *saussurea costus*. Selon **Sheikuduman (2012)**, on a étudié la production d'acide, l'adhérence et la synthèse de glucanes insolubles dans l'eau de streptococcus mutant à une dose d'un (0,5 - 4 mg/ml). Le passage à L'utilisation de l'éthanol de *Saussurea costus* (0,25–4 mg/ml) a également diminué de manière significative l'adhérence des mutants de Streptococcus en fonction de la dose. Le test de synthèse de glucanes insolubles dans l'eau a montré une inhibition significative de la formation de glucanes insolubles dans l'eau à 2 à 4 mg/ml d'extrait à l'éthanol de *Saussurea costus*.

Saussurea costus est réputé pour être doté d'Influences thérapeutiques sur les affections bucco-dentaires comme l'halitose, les caries dentaires, et les problèmes parodontaux. Ces résultats ont donné des raisons scientifiques pour son utilisation dans le traitement des maladies dentaires et n'ont suggéré que *Saussurea costus* pourrait bloquer les propriétés carcinogènes de Streptococcus. (**Pandey et al, 2006**)

III.7.2. Antioxydant

Chez les organismes vivants, les réactions radicalaires sont présentes partout et jouent un rôle plus ou moins direct dans la reproduction, la modification des gènes, et la protection contre les maladies. On a découvert des substances antioxydants qui les radicaux libres peuvent être éliminés.

Les antioxydants synthétiques sont développés et utilisés pour accroître l'hépatomégalie et la compatibilité microsomiale intestinale. On a mentionné des problèmes d'effets secondaires tels que l'hydrotoxicité et la carcinogénèse. (**Cha et al, 2008**)

III.7.3. Anti-inflammatoires

De nombreuses études ont prouvé l'activité anti-inflammatoire des composés phénoliques. Ces substances actives peuvent agir à différents niveaux de la réaction inflammatoire. Des recherches portant sur des extraits comme l'extrait d'éthanol révèlent une activité anti-inflammatoire aiguë et chronique (**Pandey et al.2006**).

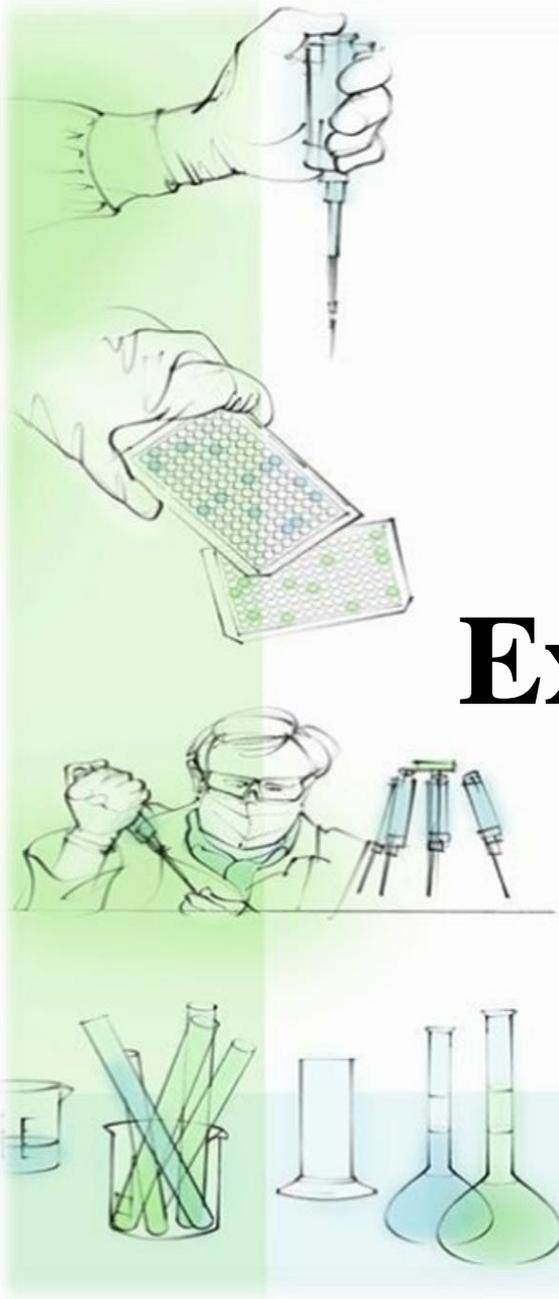
La matière Le LPS cellules activées par la déshydroxylactone inhibent la synthèse d'oxyde nitrique dans les cellules RAW 264.7. In-vitro, l'extrait de Cynaropicrin provenant de *saussurea costus* a démontré un effet inhibiteur puissant sur la production de TNF-alpha, une

cytokine pro-inflammatoire. Cette plante pourrait être utilisée dans un puissant médicament (Jubayer et al, 2019).

III.8. Les effets de la toxicité de costus indien

Le costus indien est perçu comme inoffensif par la majorité des individus. Néanmoins, la plante renferme fréquemment des substances polluantes connues sous le nom d'acide aristolochique, qui sont néfastes pour les reins et peuvent entraîner des cancers. Aucun produit n'est utilisé aux États-Unis à moins que des tests de laboratoire ne démontrent qu'il ne contient pas d'acide aristolochique. Selon la législation, la Food and Drug Administration (FDA) a la possibilité de faire fermer tout produit fabriqué dont on estime qu'il renferme de l'acide aristolochique.

En raison de la forte utilisation de cette plante, l'acide aristolochique a joué un rôle essentiel dans l'incidence de ce type de cancer à Taïwan, où l'incidence de ce cancer est la plus élevée au monde. Selon les chercheurs, 83 % des cas étaient caractérisés par des modifications de l'ADN dans les reins, liées aux toxines de cette plante qui sont responsables du cancer (Ahmed Shams El-Din, 2000).



Partie 02

Partie

Expérimentale



Chapitre IV

Matériel

et

Méthodes

La majorité des espèces végétales ont des propriétés thérapeutiques grâce à leurs substances actives directement appliquées à l'organisme. Nombreuses régions en Algérie utilisent de plus en plus les plantes connues pour leur activité antioxydante, antibactérienne et anti-inflammatoire.

Notre travail a eu lieu au laboratoire de biochimie 18 de l'université Abdelhafid Boussouf de Mila et au niveau du Centre de recherche en biotechnologies de Constantine (CRBT).

IV. Matériel végétal

Le matériel végétal utilise :

1. Feuilles de l'ortie récoltée de la région de Hamala wilaya de Mila.



Figure 15: Les feuilles d'ortie (photo originale)

2. costus indien acheté (elle n'existe pas en Algérie, d'origine indien).



Figure 16: Les Racines de costus indien (photo originale)

IV.1. Préparation des deux plantes médicinales**IV.1.1. Séchage**

Pour la plante de l'ortie, une fois les feuilles sont récupérées, préalablement débarrassées de toutes les impuretés, on procédera au séchage à température ambiante dans un endroit aéré et ombragé pendant quelques jours.

IV.1.2. Broyage et tamisage

Il est essentiel de réaliser cette étape de manière méticuleuse et non dénuée afin d'obtenir une poudre végétale fine et homogène. Le matériau sec obtenu a été écrasé à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à ce qu'il se transforme en poudre. Les poudres obtenues ont été préalablement mélangées et stockées à l'abri de la chaleur.



Figure 17: Poudre de feuilles d'ortie (photo originale).



Figure 18: Poudre des racines de costus indien (photo originale)

IV.2. Préparation des extraits

Pour chaque plante (l'ortie et le costus indien), nous avons préparé trois extraits :

1. L'extrait hydroéthanolique:

- Ajouter 15 g de la poudre de plante aux 150 ml du mélange d'éthanol et de l'eau distillée (120 ml / 30 ml).
- Agitation du mélange obtenu pendant 24 heures dans un agitateur électrique,
- La filtration à trois reprises sur du papier filtre,
- conservation du mélange dans des boîtes de Pétri en verre dans une étuve à 37°C jusqu'à ce qu'il s'évapore complètement et avoir un extrait sec.
- l'extrait sec a été gratté avec une spatule, et conservé dans des eppendorf, l'extrait hydroéthanolique est prête.

2. L'extrait l'hdydrométhanologique:

- Ajouter 15 g de la poudre de plante aux 150 ml du mélange de méthanol et de l'eau distillée (120 ml/30 ml).

Les mêmes étapes précédentes sont utilisées pour avoir L'extrait l'hdydrométhanologique.

3. L 'extrait aqueux:

- Ajouter 15 g de la poudre de plante à 150 ml de l'eau distillée.
- Les mêmes étapes précédentes sont utilisées pour avoir L'extrait aqueux.

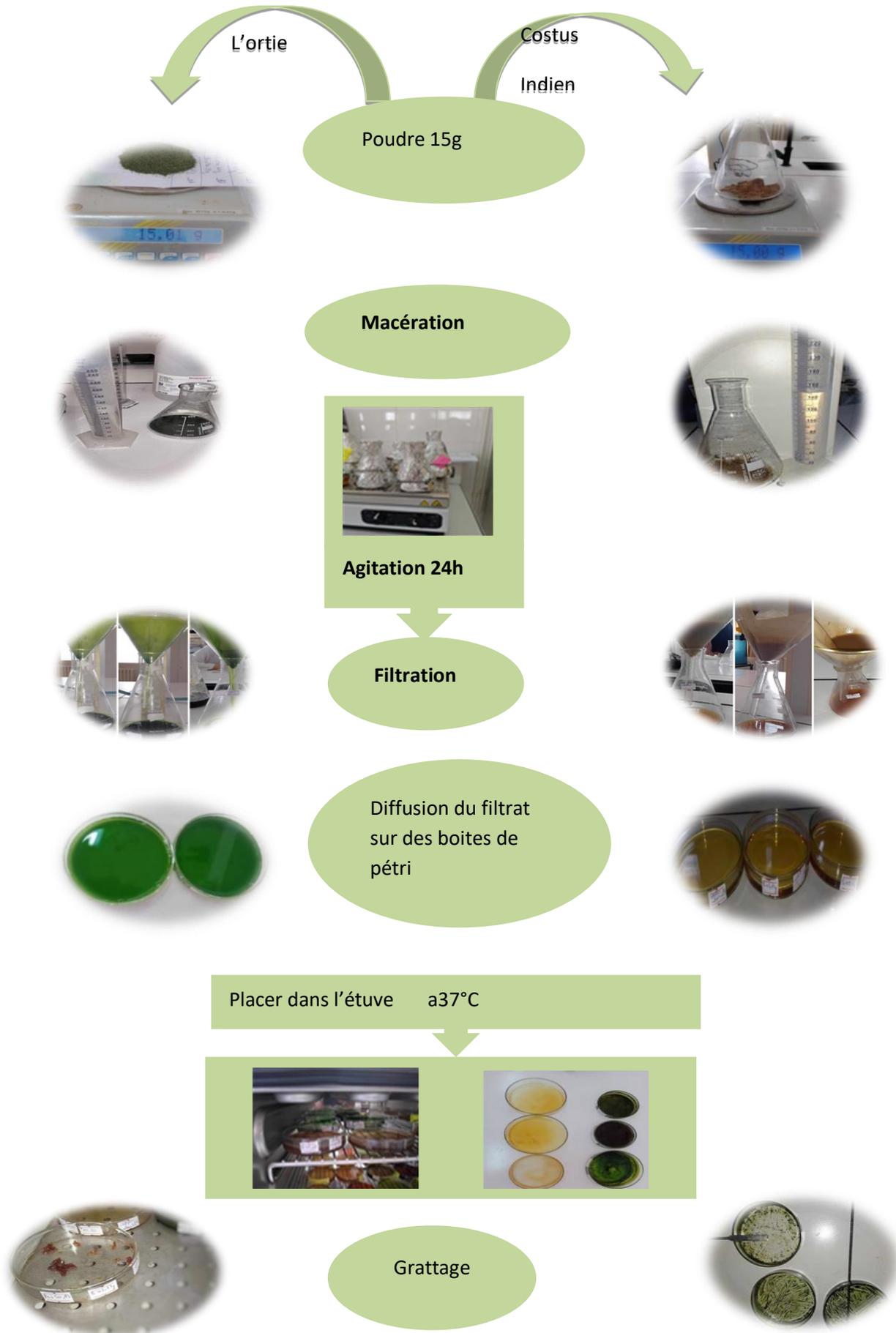


Figure 19 : Les étapes de préparation des trois extraits de l'ortie et costus indien (photos originale)

IV.3. Détermination de rendement

Le rendement d'extraction correspond au pourcentage des métabolites secondaires dissouts dans un solvant organique et/ou aqueux utilisé pour l'extraction (Abe *et al*, 2010).

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = [(P1 - P0)/E] 100$$

Avec :

Po : Poids vide de la boîte de Pétri

P1 : Poids après évaporation

E : Poids de la poudre initiale du départ

IV.2. Etude phytochimique (Analyse qualitative)

IV.2.1. Dosage des flavonoïdes

➤ Principe de la réaction :

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre Al^{+3} et les flavonoïdes. La méthode de (Topçu *et al*, 2007) est utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque 96 puits.

➤ Réactifs utilisés :

- ✓ Méthanol
- ✓ Eau distillée
- ✓ 3-10% nitrate d'aluminium ($Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$)
- ✓ M Potassium acétate (CH_3COOK)
- ✓ Quercetin (Flavonoïde)
- ✓ Extrait de plante

➤ Préparation des solutions :

- Pour 1 M Potassium acétate (CH_3COOK) on dissout 9.80 grammes de (CH_3COOK) dans 100 ml d'eau distillé pour obtenir la solution S_1
- Pour 10% nitrate d'aluminium ($Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$) on pèse 10g de ce produit dans 100ml d'eau distillée.

➤ Préparation des extraits des plantes :

Une masse de 1 milligramme d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol pour obtenir la solution (S2).

➤ Préparation de la gamme d'étalonnage de la Quercétine:

On prend 1 mg de la Quercétine et on le dissolvé dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution 0,2mg/ml Sm

Les dilutions sont préparées dans des Eppendorf comme la suite :

Quercetin (25) → 25 µl Sm + 175 µl MeOH

Quercetin (50) → 50 µl Sm + 150 µl MeOH

Quercetin (75) → 75 µl Sm + 125 µl MeOH

Quercetin (100) → 100 µl Sm + 100 µl MeOH

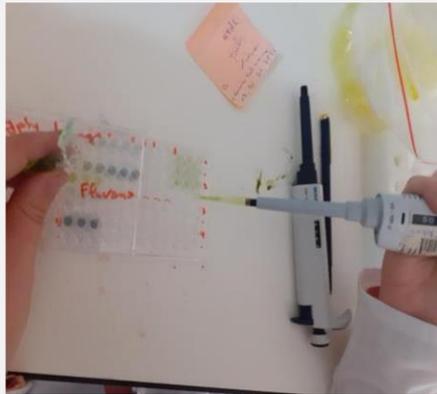
Quercetin (125) → 125 µl Sm + 75 µl MeOH

Quercetin (150) → 150 µl Sm + 50 µl MeOH

Quercétine (175) → 175 µl Sm + 25 µl MeOH

Quercetin (200) → 200 µl Sm + 0 MeOH

50 µl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque 96 puits + 130 µl (MeOH) + 10 µl (S1) (CH₃COOK) + 10 µl (Al(NO₃)₂, 9H₂O) + attendre 40 mn + lecture à 415 nm.



- Prendre 50 μ l d'extrait et ajouter dans la plaque
- Les trois extraits (éthanoïque, méthanoïque et aqueux) de chaque plante (ortie/costus) sont ajoutés à trois répétitions.



20 μ l de NaNO_2

20 μ l AlCl_3

100 μ l NaOH

Incubation 40 min



Lecture à 415 nm

Figure 20: Protocol expérimental de Détermination du total flavonoïde.

IV.3. les activités biologiques

IV.3.1. L'activité antioxydante

IV.3.1.1. Test de DPPH radical libre

Le DPPH, également connu sous le nom de 2,2-Diphényl-1-picrylHydrazyl, est un radical libre stable qui a un électron célibataire sur l'atome d'azote. Il est d'un violet brillant et absorbe à 517nm. (Chaabi, 2008). Il a été l'un des premiers radicaux libres employés dans l'étude de la relation entre la structure et l'activité antioxydante des composés phénoliques. (Popovici, 2009)

Le DPPH⁺ est réduit en DPPH-H, ce qui entraîne une modification de sa couleur violette en jaune, dont l'intensité de la couleur jaune est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à libérer des protons. En raison de la rapidité de la perte de couleur, le donneur d'hydrogène est perçu comme un antioxydant puissant. (Hashemi Met al ,2009)

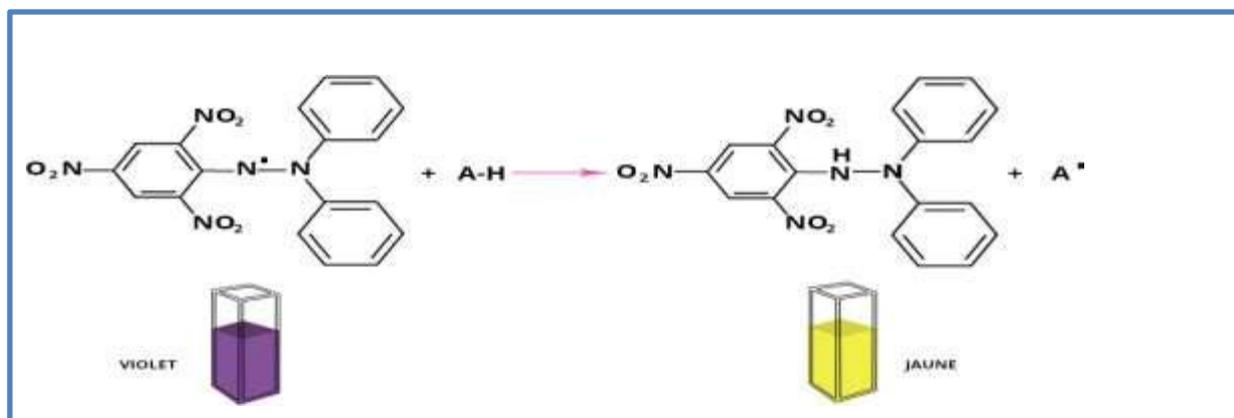


Figure 21: Réaction entre le DPPH•et le composé antioxydant pour former le DPPH (Sarrs *et al* 2015).

➤ Principe de la réaction :

L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH (Blois ,1958), l'acide ascorbique et Trolox sont utilisés comme standards antioxydants.

➤ Réactifs utilisés :

- ✓ Ethanol
- ✓ DPPH
- ✓ L'acide ascorbique
- ✓ trolox
- ✓ Quercetine ou Catéchine
- ✓ Extrait de plante

➤ Mode opératoire :**❖ Préparation de la DPPH :**

Dissoudre 4 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre.

❖ Préparation de l'extrait :

- 4 mg pour chaque extrait +1 ml de méthanol

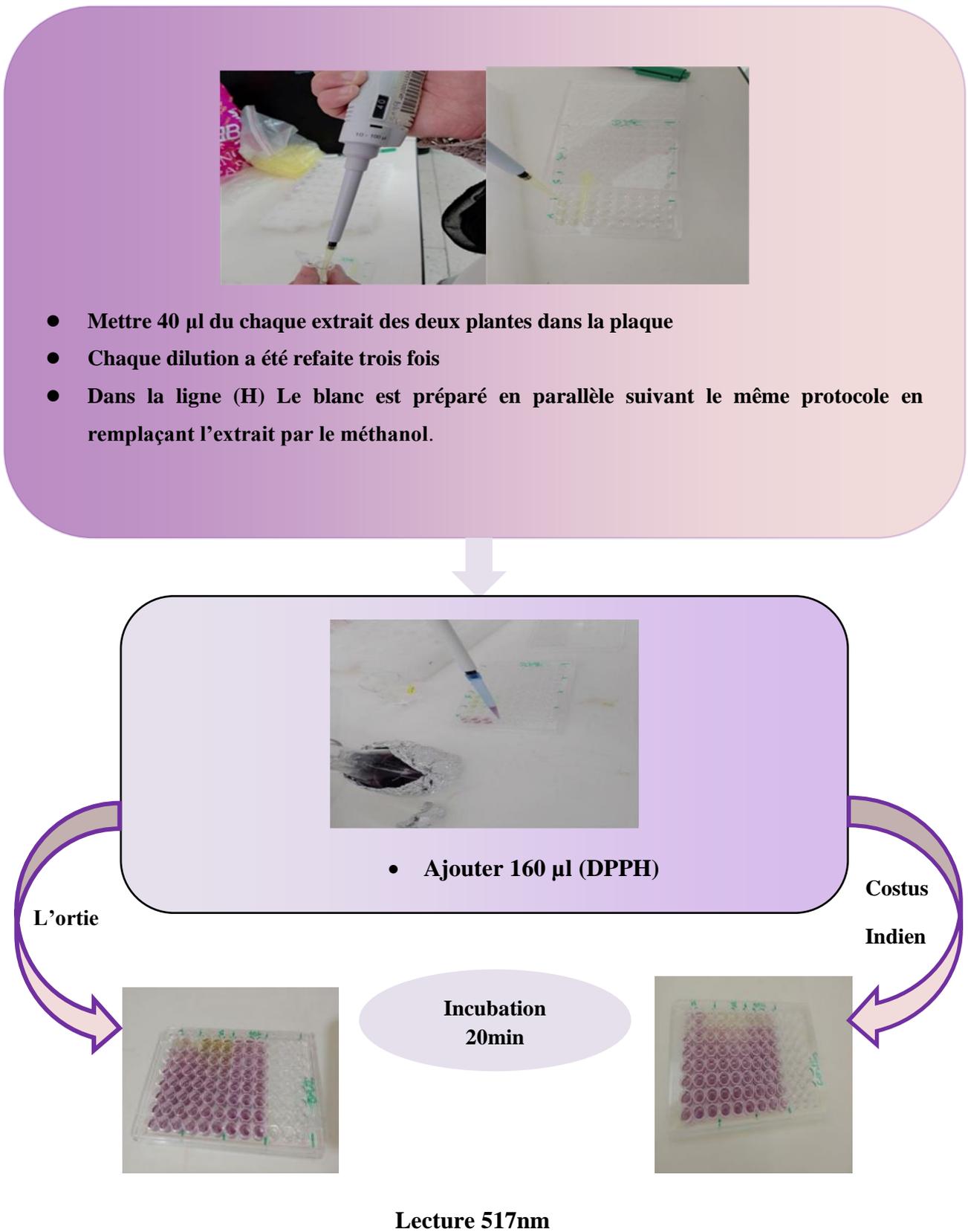


Figure 22: Protocol expérimental de DPPH radical libre

IV.3.1.2. Test du piégeage du cation radical ABTS•+

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de (Re *et al*, 1999).

Réactifs utilisés :

- ✓ K₂S₂O₈
- ✓ ABTS
- ✓ Eau distillé
- ✓ Ethanol
- ✓ Trolox et l'acide ascorbique

Mode opératoire :**❖ Préparation de l'ABTS :**

A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium K₂S₂O₈. Les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16h, l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (Ethanol ou H₂O) à 0.700 ± 0.020 à 734 nm avant l'usage.

(ABTS⁺) → 19,2 mg (7 mM) ABTS + 5 ml H₂O + 3,3 mg (2.45 mM)(K₂S₂O₈) +5 ml H₂O+ attendre

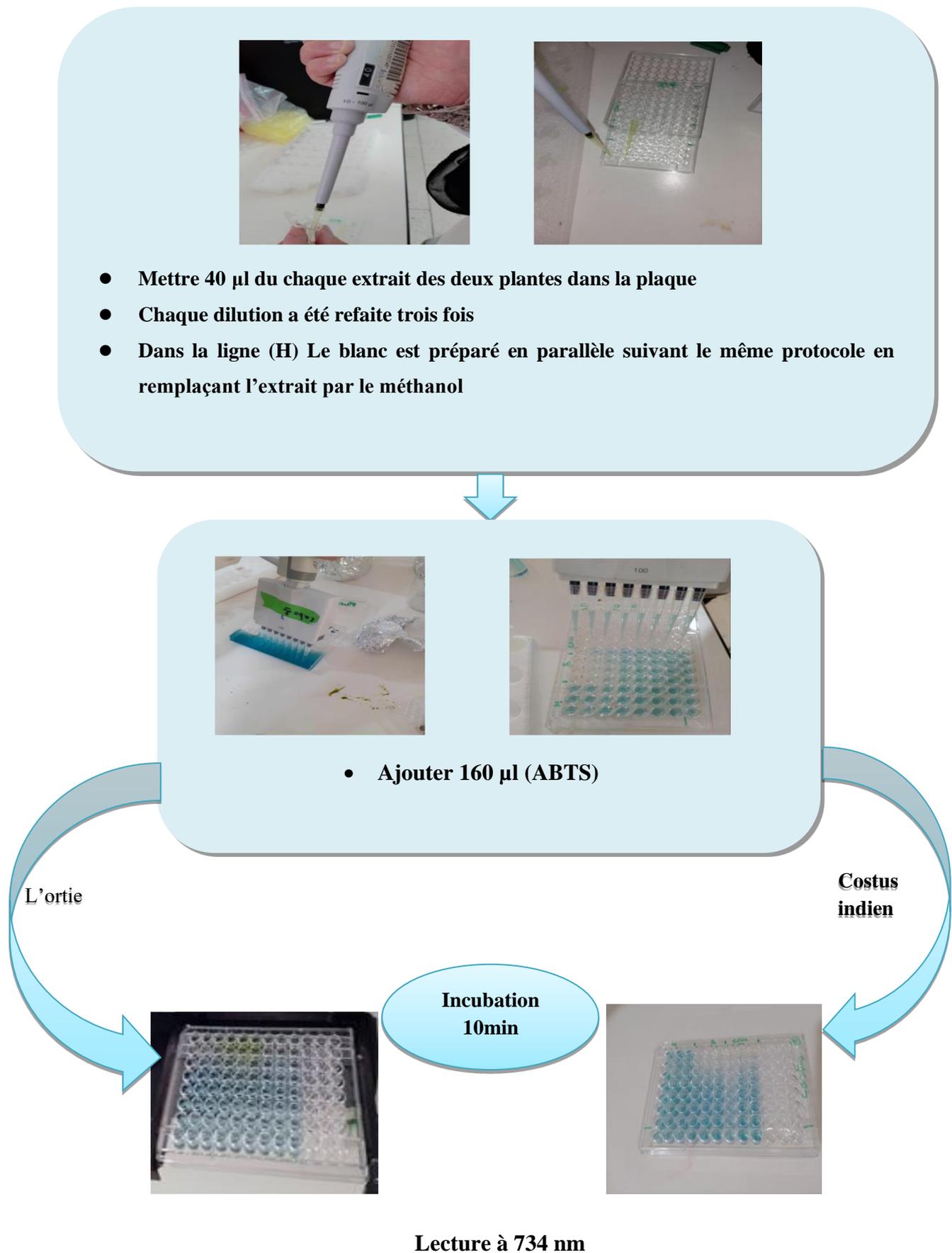


Figure 23: Protocol expérimental d'Activité du piégeage du cation radical ABTS•+

IV.3.1.3. Test de Phénanthroline activité

L'activité de phénanthroline est déterminée par la méthode de (Szydłowska-Czerniaka, 2008)

Réactifs utilisés :

- ✓ Phénanthroline
- ✓ Chlorure ferrique FeCl₃
- ✓ MeOH , Eau distillée
- ✓ Trolox et l'acide ascorbique (utilisé comme standard)

Mode opératoire :

➤ **Préparation :**

❖ **Phenanthroline (0.5%)**

0.05g de Phénanthroline dans 10ml de MeOH

❖ **Ferric chloride FeCl₃ (0.2%)**

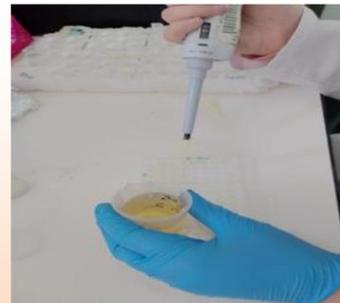
0.02g de FeCl₃ dans 10ml de H₂O



- Mettre 10 μ l du chaque extrait des deux plantes dans la plaque
- Chaque dilution a été refaite trois fois
- Dans le 4 ème répétition on ajout (10 μ l de l'extrait + 190 μ l de méthanol)
- Dans la ligne (H) Le blanc est préparé en parallèle suivant le même protocole en remplaçant l'extrait par le méthanol



50 μ l FeCl₃ (0.2%)



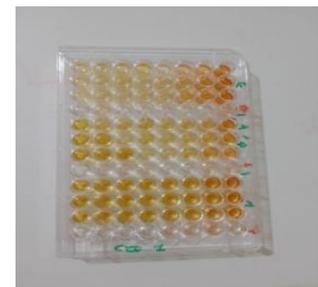
30 μ l Phenanthroline (0.5%) + 110 μ l MeOH

L'ortie

Costus indien



Incubation à l'obscurité pendant 20 min à 30°C



Lecture à 510 nm

Figure 24: Protocol expérimental d'Activité Phenanthroline activité.

IV.3.1.4. test du pouvoir réducteur (FRAP)**❖ Principe de la réaction :**

L'activité Reducing power est déterminée par la méthode de **(Oyaizu ,1986)** avec une légère modification.

Réactifs utilisés :

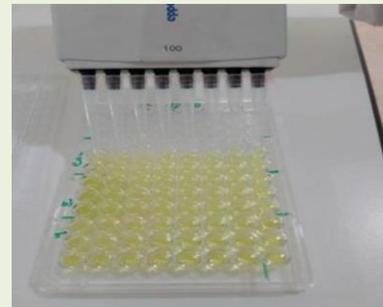
- ✓ TCA
- ✓ $K_3Fe(CN)_6$
- ✓ $FeCl_3$
- ✓ phosphate buffer
- ✓ Eau distillée



Mettre 10 μ l de chaque extrait des deux plantes dans la plaque
 Chaque dilution a été refaite trois fois
 Dans la ligne (H) Le blanc est préparé en parallèle suivant le même protocole en remplaçant l'extrait par le méthanol



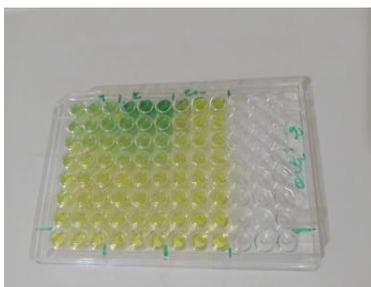
Ajouter 40 μ l phosphate buffer (pH 6.6)



Ajouter 50 μ l potassium ferricyanide (1%)

L'Ortie

Costus
Indien



Incubé a 50°C
pendant 20mn



Lecture à 700 nm

Figure 25: Protocol expérimental d'activité du pouvoir réducteur (FRAP).

IV.3.2. L'activité Anti-inflammatoire in-vitro

Principe de la réaction :

L'activité Anti-inflammatoire in-vitro est déterminée par la méthode de (Kandikattu K, 2013) avec de légères modifications.

Le principe consiste à l'inhibition de dénaturation du BSA provoquée par la chaleur (72°C) par les extraits.

Réactifs utilisés :

- ✓ Tampon Tris-Hcl 0.05M pH 6,6
- ✓ BSA (bovine serum albumin)
- ✓ Diclofénac de sodium (Standard)

Procédure :

❖ Préparation du Tris-HCl 0.05 M PH : 6,6

1,2144g est dissous dans 200 ml de l'eau distillée. Le PH est par la suite ajusté à 6,6 avec l'HCl.

❖ Préparation des extraits :

Différente concentration de l'extrait de plante sont préparée à partir d'une solution mère de 1ml.

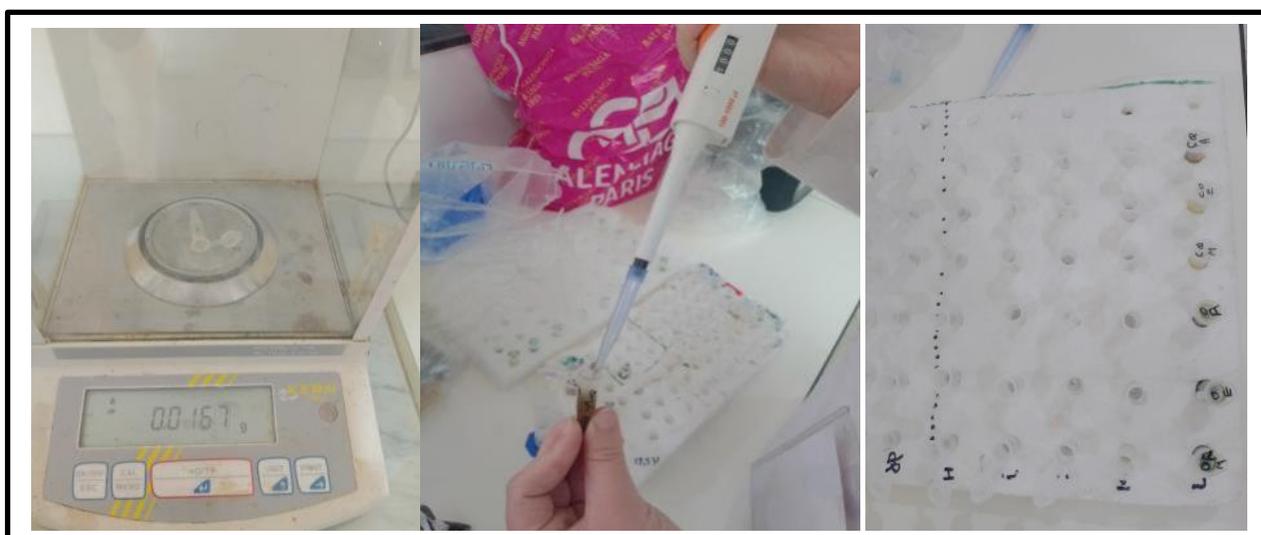


Figure 26: les étapes de préparation l'extrait.

❖ Préparation du standard :

Différente concentration de Diclofénac sodique (forme injectable) sont préparée dans l'eau distillée à partir d'une solution mère de 500 μ l.



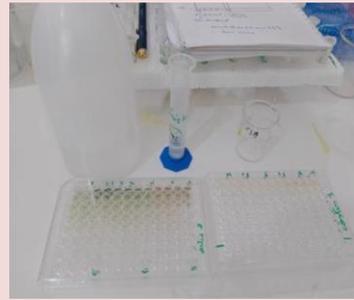
Figure 27: Préparation de standard diclofénac.

❖ Préparation des blancs :

- 1) Pour chaque concentration d'extrait de plante un blanc extrait est préparé dans lequel 1ml d'extrait est ajouté à 1 ml de Tris-Hcl (Ce blanc a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait des résultats obtenus).
- 2) Un blanc BSA contenant 1 ml de la solution de BSA ajouté à 1 ml du solvant utilisé pour les extraits (le résultat obtenu correspond à la dénaturation totale du BSA en absence de substance inhibitrice).

❖ Préparation de la solution BSA 0,2% :

0,2 g de BSA est dissoute dans 100 ml de tampon Tris-Hcl.

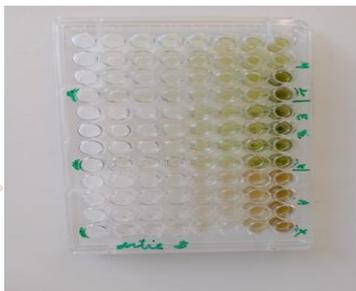


- **Extrait 100ul + BSA 100ul**
- **Test positif extrait 100 µl + tris hcl 100ul**
- **Test négatif 100 µl de BSA +100ul d'eau distillée**



- **Incubation dans un bain marie à 72°C pendant 20 min**

L'ortie



Costus

Indien



Lecteur à 660 nm

Figure 28: Protocol expérimental de l'activité Anti-inflammatoire in-vitro.

IV.3.3. Evaluation de L'activité Antibactérienne

IV.3.3.1. Les souches utilisées

Tableau 4: Tableau des différentes souches bactériennes testées.

Nom de souche	Gram	Référence
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	NCTC10538
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 6538
<i>Bacillus Subtilis</i>	Positif	ATCC 6633
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	NCIMB8626

IV.3.3.2. Principe

Nos extraits ont été évalués pour leur activité antibactérienne en utilisant la méthode de diffusion sur disques. Les bactéries pathogènes utilisées dans cette étude sont des souches issues de l'ATCC (American Type Culture Collection).

IV.3.3.3. Mode opératoire

a) Préparation de Mueller-Hinton (GMH)

Le choix de ce milieu permet une évaluation précise de l'efficacité des antibiotiques sur les diverses souches bactériennes, pour cela :

- Dissoudre 38 grammes dans 1 litre d'eau distillée sur une plaque chauffante agitateur.
- Verser la solution obtenue dans des flacons (Stériliser par un autoclave à une pression de 15 lb (120 °C) Pendant 15 min).
- Laisser la solution refroidir à 45-50 °C.
- La gélose Mueller-Hinton (MH), coulée en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm jusqu'à ce que l'agar soit solidifié (avant l'utilisation, les flacons doivent être placés dans un bain marie jusqu'à ce que le contenu se fonde).



Figure 29: Les étapes de préparation le Mueller-Hinton (GMH).

Tableau 5: Regroupe d'autres milieux de culture utilisés pour l'activité antibactérienne.

Milieu de culture	Utilisation	Rôle
Gélose nutritive (GN)	Repiquage des colonies	La GN est utilisée pour cultiver des souches bactériennes et évaluer l'efficacité des produits antibactériens,
la gélose Chapman au mannitol	l'isolement des staphylocoques	évaluer l'activité antibactérienne des substances ou produits testés contre ces bactéries.

b) Préparation de l'eau physiologique

On a choisi l'utilisation de l'eau physiologique pour ses propriétés de facilitation la diffusion des agents antibactériens.

- Dans un litre d'eau distillée, dissoudre 9 g de NaCl sur une plaque agitatrice pendant 2 minutes.
- Prendre 9 ml d'eau physiologique en utilisant une pipette graduée de 10 ml.

- Stériliser le mélange en utilisant un autoclave à une pression de 15 lb (120 °C) pendant 15 min.



Figure 30: Les étapes de Préparation L'eau physiologiques.

c) Préparation des disques

Les disques fabriqués avec du papier wattman N° 3, sont placés dans une boîte en verre et stérilisés à l'autoclave à une température de 120° C pendant 15 minutes. Ensuite, ils sont conservés à une température ambiante, et stockés dans une boîte étanche.

d) Préparation des différentes concentrations des extraits

Afin d'obtenir diverses concentrations, nous avons mélangé des extraits purs avec le diméthyle sulfoxyde (DMSO). On a opté pour ce choix, car le DMSO est considéré comme le solvant préféré par la plupart des chercheurs, qui ont démontré que le DMSO n'a aucun effet efficace antimicrobien.

Pour préparer la solution mère, on a dissous 100 mg pour chaque extrait dans 1 ml de diméthyle sulfoxyde (DMSO), puis on a dilué la solution mère par des concentrations différentes avec des dilutions successives au demi (à 0.5 ml)

Tableau 6: les différentes dilutions utilisées.

Solution mère (SM)	Dilution 1 (D1)	Dilution 2 (D2)	Dilution 3 (D3)	Dilution 4 (D4)
-100mg d'extrait -1ml de dmso	-500 de SM -500 de DMSO	-500 de D1 -500 de DMSO	-500 de D2 -500 de DMSO	-500 de D3 -500 de DMSO



Figure 31: Préparation des dilutions des extraits.

e) Repiquage des souches microbiologiques de souches bactériennes :

Les diverses souches bactériennes sont renouvelées en utilisant la technique des stries sur la gélose nutritive (*Bacillus Subtilis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*), la gélose Chapman au mannitol (*Staphylococcus aureus*), puis elles sont incubées dans l'étuve à 37 °C durant 18 à 24 heures. On prélève les colonies pures de ces cultures jeunes afin de préparer l'inoculum bactérien.

❖ Préparation de l'inoculum bactérien :

- avec une Pipette Pasteur, prélever quelques colonies bien séparées et parfaitement identiques à partir des boîtes de pétri auparavantensemencées.
- Placer les colonies dans une quantité d'eau physiologique stérilisée à 0,9 % de chlorure de sodium (NaCl)
- Mélanger la suspension bactérienne de manière homogène.

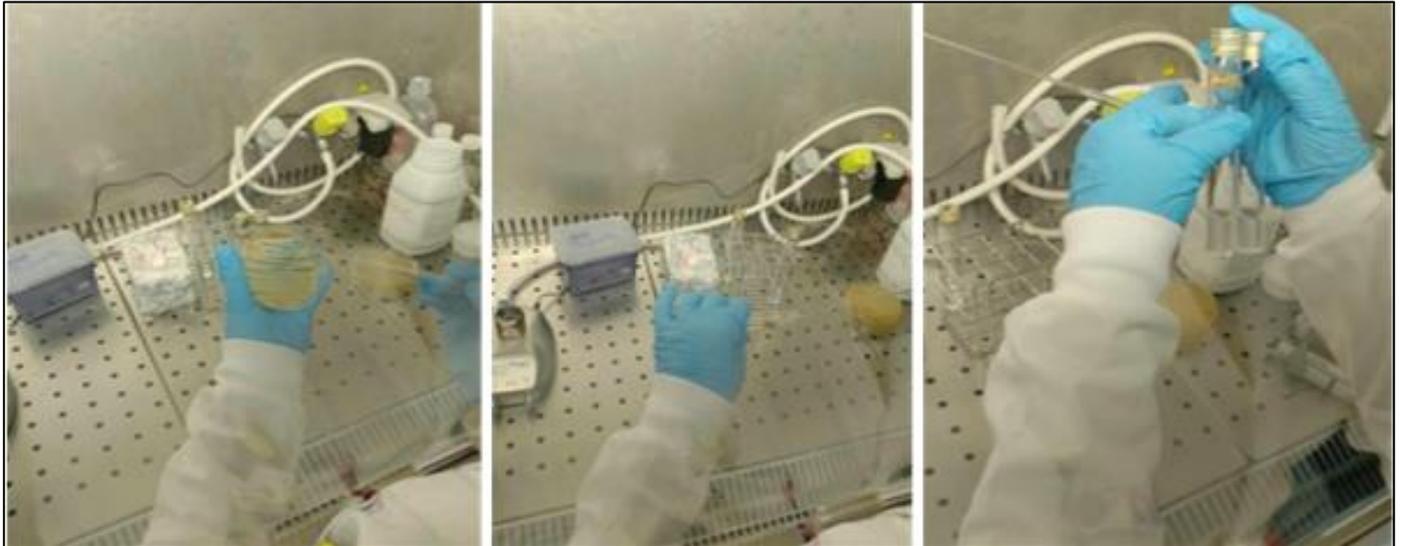


Figure 32: Les étapes de Préparation de l'inoculum bactériennes.

f) Ensemencement et Dépôt des disques :

- Procéder à l'ensemencement de l'inoculum en utilisant un écouvillon
- Tremper dans une suspension bactérienne
- Essorer en pressant fermement sur la paroi interne l'écouvillon
- Frotter la totalité de la surface gélose
- Répéter cette opération trois fois en tournant la boîte à 60° afin d'obtenir une distribution uniforme de l'inoculum (l'écouvillon doit être rechargé à chaque fois quand on ensemence plusieurs boites de pétri avec la même souche)
- A l'aide d'une pince stérile, les disques se sont déposés à la surface de la gélose MH
- Remplir les disques avec 10µl du chaque extrait à tester (SM, D1, D2, D3, D4) (un disque imprégné de DMSO a été utilisé comme témoin négatif).

g) Incubation :

- Placer les boites dans le réfrigérateur pendant 1 à 2 heures, l'incubation des boites se faite dans l'étuve à 37°C pendant 24h.
- La lecture du résultat se faite après 24h de l'incubation en mesurant les diamètres des zones d'inhibition.



Figure 33: Les étapes d'ensemencement et dépôts des disques.

h) Lecture des résultats :

La mesure des zones d'inhibition après 24 heures d'incubation à une température de 37° C a été faite par une règle. Ces zones sont représentées par une auréole claire formée autour de chaque disque.

Les résultats se présentent sous la forme de quatre niveaux d'activité :

- Non sensible ou résistant (-) → Diamètre < 8 mm
- Sensible (+) → Diamètre compris entre 9 à 14 mm
- Très sensible (++) → Diamètre compris entre 15 et 19 mm
- Extrêmement sensible (+++) → Diamètre > 20 mm

Chapitre V



V.1. Détermination de rendement d'extraction

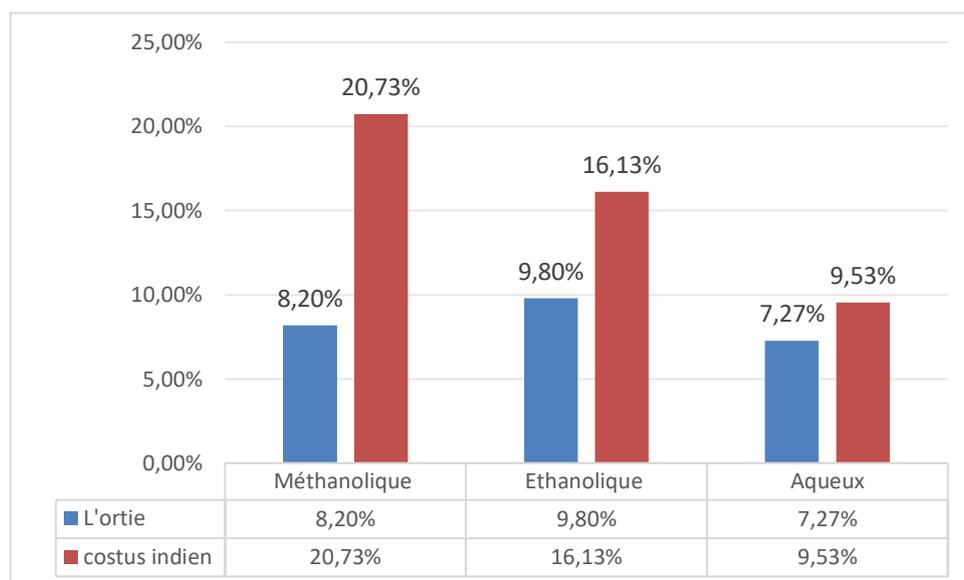


Figure 34: Rendement d'extraction des trois extraits d'*Urtica dioica* L. et costus indien.

D'après les données obtenues présentées par la figure 34, pour plante d'ortie, le pourcentage le plus élevé de rendement d'extraction est observé pour l'extrait éthanologique avec un pourcentage de 9,80 %, suivi par celui de l'extrait méthanologique avec un pourcentage de 8,20 %. Tandis que le rendement le plus bas est enregistré pour l'extrait aqueux avec un pourcentage de 7,27 %.

Et pour le costus indien, le pourcentage le plus élevé du rendement d'extraction est observé pour l'extrait méthanologique avec un pourcentage de 20,73 %, suivi par celui de l'extrait éthanologique avec un pourcentage de 16,13 %. Tandis que le rendement le plus bas est enregistré pour l'extrait aqueux avec un pourcentage de 9,53 %.

Le rendement est purement subjectif et semble être influencé par les caractéristiques génétiques de la plante, l'origine géographique, les conditions de stockage, la récolte et les conditions dans laquelle l'extraction a été réalisée. (Lee *et al*, 2003).

On peut expliquer la disparité du rendement d'extraction par la variabilité de la solubilité des composés chimiques dans le solvant d'extraction, leur polymérisation ou leur participation à d'autres structures moléculaires, ce qui entraîne la formation des complexes insolubles (Cacace et Mazza, 2003).

En raison de l'influence de la solubilité différentielle des composants phénoliques et d'autres métabolites secondaires présents dans l'extrait méthanoïque et ses fractions, la polarité des solvants utilisés est influencée. (Garciasalas *et al*, 2010).

Cependant, d'autres facteurs peuvent également expliquer cette disparité, telle que le pH et la température du milieu, le temps d'extraction... Etc (Quy DiemDo *et al*, 2014).

V.2 résultats de l'Analyse quantitative des deux plantes

V.2.1 Estimation quantitative de Dosage des flavonoïdes

L'analyse quantitative des flavonoïdes est effectuée en utilisant la méthode du trichlorure d'aluminium. Qui se repose sur la création d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium avec une absorbance maximale à 430 nm. La Quercitrine a été utilisée comme standard.

La courbe d'étalonnage obtenue est la suivante :

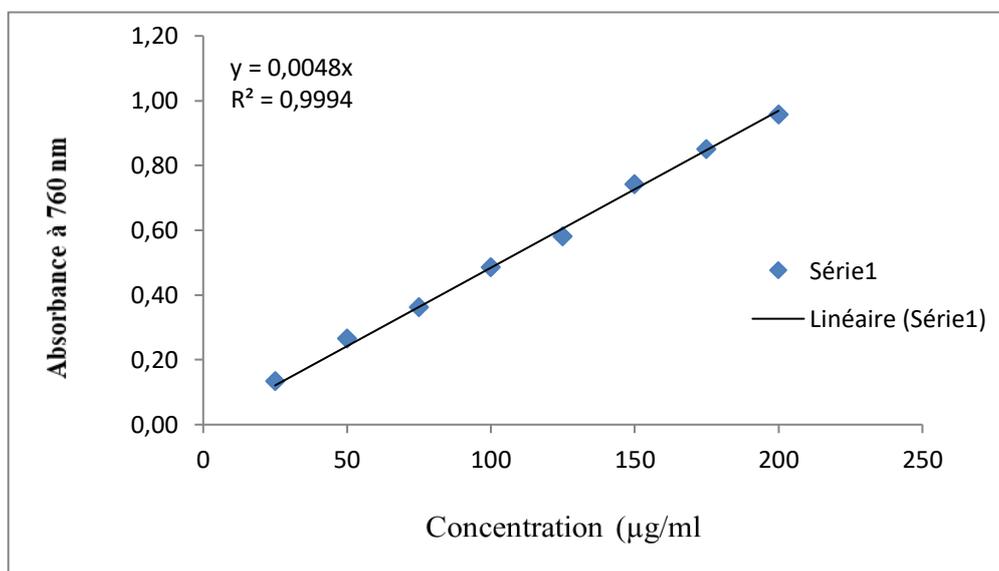
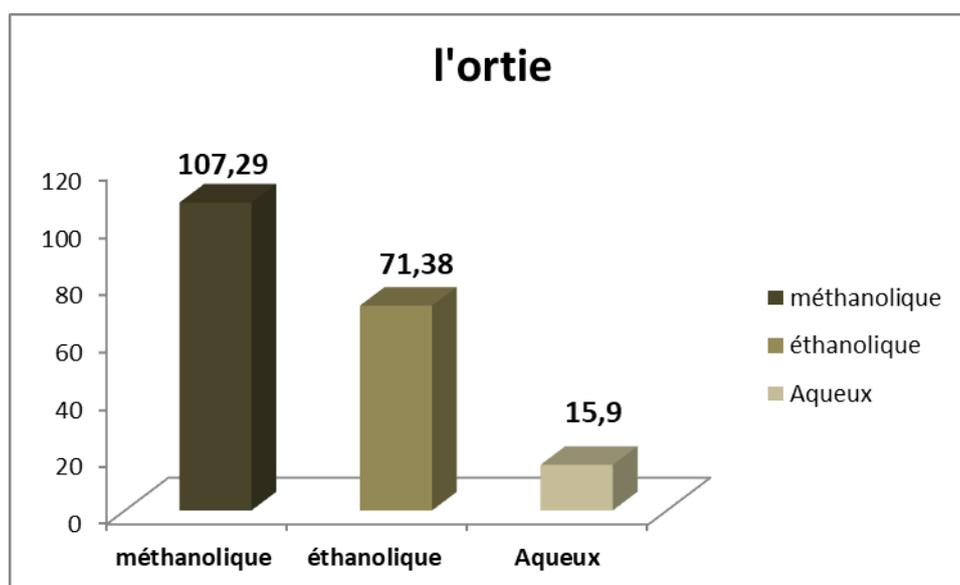


Figure 35: Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Tableau 7: Le contenu total en Flavonoïde de l'ortie et costus indien.

Extrait	Flavonoïde content (μg QE/ml)
Mor	107,29 \pm 3,38
Eor	71,38 \pm 4,56
Aor	15,90 \pm 0,44
Eco	24,23 \pm 0,00
Aco	16,31 \pm 0,29
Mco	30,69 \pm 0,58

**Figure 36:** Evaluation des flavonoïdes totaux des extraits de l'ortie

Selon la figure 36 et le tableau 6, l'extrait méthanolique est le plus riche en flavonoïdes, avec une teneur de $107,29 \pm 3,38 \mu\text{g}$ QE/ml. Ensuite, l'extrait éthanolique avec une teneur de $71,38 \pm 4,56 \mu\text{g}$ QE/ml, et enfin, l'extrait aqueux avec une teneur de $15,90 \pm 0,44 \mu\text{g}$ EQ/ml.

D'après (Chaabna et Meni Ghed, 2022), l'extrait aqueux a une teneur de 47,99 mg EAG/gE, ce qui est supérieur à celle enregistrée dans notre étude.

D'autre part, l'extrait méthanolique a une teneur de 83,2 mg QE/ml. Ce qui est également supérieur à celui enregistré dans notre étude.

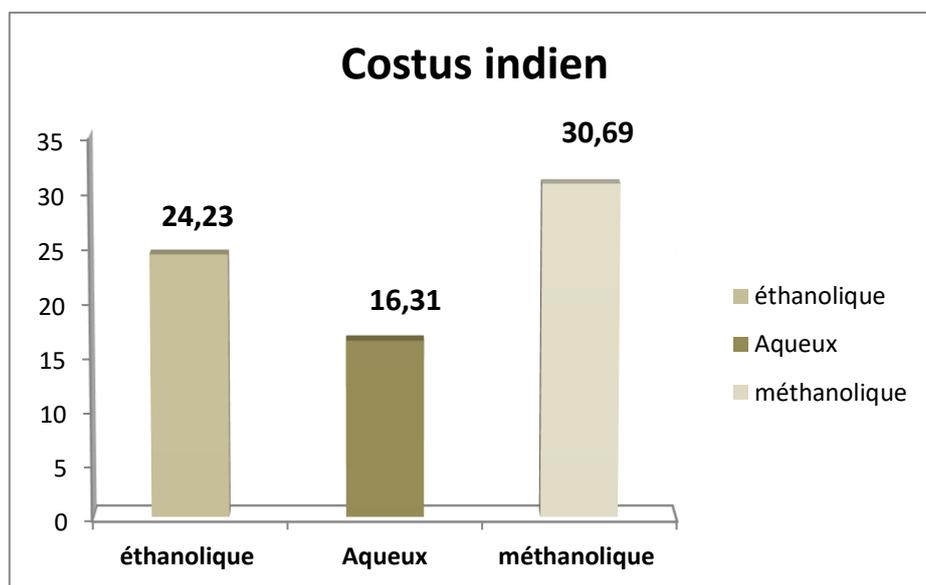


Figure 37: Evaluation des flavonoïdes totaux des extraits de costus indien

Selon la figure 37 et le tableau 6, l'extrait méthanolique est le plus riche en flavonoïdes, avec une teneur de $30,69 \pm 0,58 \mu\text{g QE/ml}$. Ensuite, on retrouve l'extrait éthanolique avec une teneur de $24,23 \pm 0,00 \mu\text{g QE/ml}$ et en dernier, l'extrait aqueux avec une teneur de $16,31 \pm 0,29 \mu\text{g EQ/ml}$.

D'après (Elshaer, S est al 2022), l'extrait aqueux a une teneur de $98.60 \pm 9.40 \text{ mg QE/g}$ ce qui est supérieur à celle enregistrée dans notre étude.

D'autre part, les extraits méthanolique et éthanolique ont des teneurs de $101.31 \pm 8.78 \text{ mg QE/g}$ et de $103.75 \pm 9.97 \text{ mg QE/g}$ en successive. On remarque qu'ils sont supérieurs à ceux enregistrés dans notre étude.

La richesse des extraits méthanolique en flavonoïdes par rapport aux extraits éthanoïques et aux distillés s'explique principalement par la polarité plus élevée du méthanol, qui solubilise mieux les flavonoïdes, des interactions solvant-composés plus efficaces, et une meilleure capacité d'extraction du méthanol. De plus, les flavonoïdes sont plus stables en solution méthanolique, et les conditions d'extraction avec le méthanol sont souvent optimisées pour préserver leur intégrité. En revanche, les extraits éthanolique peuvent diluer la concentration de flavonoïdes avec d'autres composés, et la distillation, utilisée pour les composés volatils, ne récupère pas efficacement les flavonoïdes non-volatils.

V.3. Résultats des activités biologiques

V.3.1. Les activités antioxydantes

V.3.1.1. Activité anti radicalaire DPPH

L'activité anti radicalaire des différents extraits (méthanolique/éthanolique/aqueux) des deux plantes (l'ortie et costus indien) est basée sur la capacité d'une substance à réduire le radical DPPH par rapport à un antioxydant standard (Trolox et acide ascorbique).

Les résultats sont présentés au-dessous :



Figure 38: La plaque de dosage de l'activité anti radicalaire (DPPH) des extraits de L'ortie et costus indien.

Calculer IC₅₀ :

La valeur de concentration inhibitrice, Nous avons calculé la valeur de IC₅₀ pour chaque extrait. Cette valeur correspond à la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH.

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

$$(\%) = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

Les IC₅₀ sont calculés graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés : pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations des fractions testées.

$$\mathbf{IC_{50} = (Y-b) / a}$$

Tableau 8: Inhibition du radical DPPH par les extraits de L'ortie et costus indien.

Extrait	% inhibition							
	12.5	25	50	100	200	400	800	IC ₅₀ (µg/ml)
Mco	2,63±5,84	4,50±1,89	4,09±1,58	14,06±5,14	10,89±3,00	41,79±19,04	54,46±28,15	510,68±1,49
Eco	NA	3,67±2,86	3,72±1,38	11,46±8,32	22,88±4,39	51,86±1,35	80,32±1,68	392,60±0,81
Aco	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Mor	NA	NA	1,16±2,84	4,84±4,46	12,25±9,14	21,38±4,25	79,15±11,09	587,41±3,77
Eor	9,78±8,90	2,75±1,61	4,05±2,55	8,02±5,09	13,30±0,36	22,01±0,45	37,75±3,29	>800
Aor	0,99±1,63	0,45±3,02	1,58±1,85	4,51±3,19	10,62±11,45	11,54±2,69	21,59±10,61	>800
	0.78125	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	IC ₅₀ (µg/ml)
Trolox	6.42±0.91	13.33±2.14	30.19±0.67	61.48±2.98	87.16±0.28	88.46±0.11	87.72±0.47	5.12±0.21
Ascorbic acid	0.31±1.02	12.90±0.28	29.69±0.39	76.67±0.37	84.94±0.84	87.78±0.49	86.36±0.21	4.39±0.01

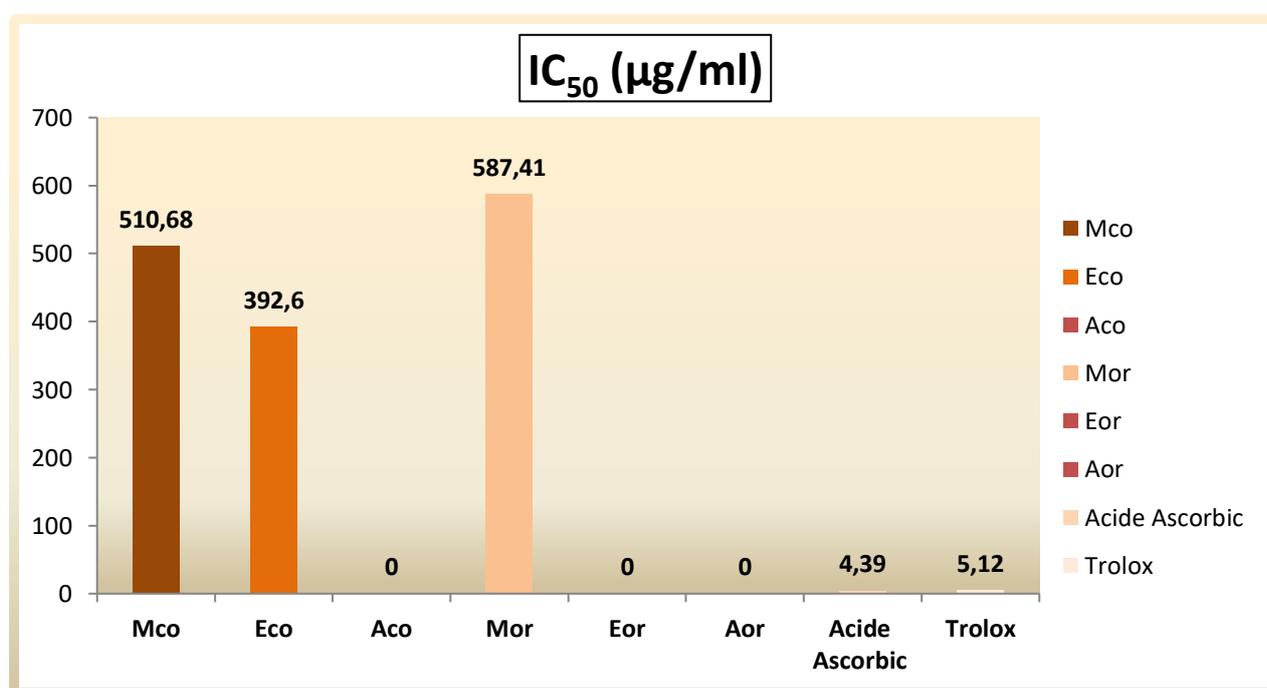


Figure 39: Valeurs des CI₅₀ du test DPPH.

L'activité antiradicalaire de l'extrait éthanolique de costus (Eco) est la meilleure par rapport aux autres extraits avec un $IC_{50} = 392,60 \pm 0,81 \mu\text{g/ml}$. Cette activité est soixante-seize fois plus faible que le Trolox ($IC_{50} = 5,12 \pm 0,21 \mu\text{g/ml}$) et quatre-vingt-neuf fois plus faibles que l'acide ascorbiques ($IC_{50} = 4,39 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$).

L'activité anti radicalaire de l'extrait méthanolique de costus (Mco) ($IC_{50} = 510,68 \pm 1,49 \mu\text{g/ml}$) est meilleure que celle de l'extrait méthanolique de l'ortie (Mor). Cette activité est quatre-vingt-dix-neuf fois plus faible que celle du Trolox : $IC_{50} = 5.12 \pm 0.21 \mu\text{g/ml}$ et cent-seize fois plus faibles que celle de l'acide ascorbique : $IC_{50} = 4,39 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$.

Tandis que l'extrait aqueux de l'ortie (Aor) et l'extrait aqueux de costus indien (Aco) ont des activités anti radicalaires les plus faible par rapport aux standards et aux autres extraits avec un $CI_{50} > 800$.

D'après (Zhao, 2014), l'extrait (Mco) a une activité antioxydante de $IC_{50} = 29,74 \pm 2,63 \mu\text{mol}$, ce qui est dix-sept fois moins élevé que celle-ci enregistrée dans notre étude.

Zangeneh *et al*, (2019) et Kumar *et al*, (2022) ont obtenu un IC_{50} de $92 \mu\text{g/m}$ pour l'extrait aqueux des racines de costus indien (Aco). Par contre, nous résultats montre que la plante ne possède pas d'activité antioxydante.

Dall'Acqua *et al*, (2008) ont obtenu un IC_{50} de $419.1 \pm 10 \mu\text{g/mL}$ pour l'extrait méthanolique d'ortie (Mor) et qui est inférieure à celle enregistrée dans notre étude.

Zekovic *et al*, (2017) ont obtenu un IC_{50} de $220 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait éthanolique d'ortie (Eor), et qui est inférieur à celle enregistrée dans notre étude.

Khati, (2016) ont obtenu un IC_{50} de $301,32 \pm 1,73 \mu\text{g/ml}$ l'extrait aqueux, ce qui est également inférieur à celle enregistrée dans notre étude.

Nos résultats, nous conduisons à prendre en compte les propositions de (Rice-Evans *et al*, 1996 et Pietta, 2000) qui avaient conclu que les composés phénoliques présentent dans leur structure moléculaire des anneaux aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyles permettent d'agir comme antioxydants, car leur système, étendu d'électrons conjugués, permet un transfert rapide d'électrons ou d'atomes d'hydrogène vers les radicaux libres.

Effectivement, selon (Djeridane *et al*, 2006), il est considéré que la présence d'une synergie entre les divers composés phénoliques peut jouer un rôle déterminant dans la capacité

antioxydante d'une plante spécifique. De cette façon, cette activité n'est pas seulement influencée par la quantité de polyphénols, mais également par la structure et l'interaction entre les divers composés.

On peut expliquer cette bonne activité antioxydant remarquable de l'extrait éthanolique par la nature des composés phénoliques, tels que l'acide gallique et ses dérivés, les flavonoïdes, ainsi que par l'environnement, le climat et la culture de la plante.

V.3.1.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS•+ :

Le composé organique stable ABTS (acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)) est utilisé pour évaluer l'activité anti radicalaire. Il présente un pic d'absorption à 734 nm. En présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène, le cation. ABTS•+ diminue et passe d'un bleu-vert à un état neutre incolore.



Figure 40: La plaque d'Activité du piégeage du cation radical ABTS•+ d'extraits de L'ortie et costus indien.

Tableau 9: Inhibition du cation radical ABTS.

Extrait	% inhibition							IC50 (µg/ml)
	12.5	25	50	100	200	400	800	
Mco	2,59±0,68	3,32±1,86	6,34±3,01	11,65±1,41	20,53±8,22	16,27±3,33	17,51±4,72	>800
Eco	2,91±1,82	10,87±0,21	12,06±1,28	22,54±4,73	45,60±1,59	74,15±5,03	84,63±1,32	262,31±7,37
Aco	7,53±2,54	9,91±1,51	14,31±0,40	24,74±1,27	40,93±1,98	63,76±3,09	83,16±1,51	287,54±19,62
Mor	2,27±3,35	5,13±2,79	8,56±1,34	20,07±4,10	39,36±2,79	61,70±6,05	83,63±5,95	318,90±9,09
Eor	8,19±1,48	11,66±0,79	20,86±1,18	34,23±0,77	54,21±1,44	72,57±1,94	83,49±1,20	178,67±5,67
Aor	NA	NA	4,67±6,89	14,89±2,20	29,14±6,81	60,55±9,18	85,01±4,70	374,53±41,67
	0.78125	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	IC50 (µg/ml)
Trolox	14.74±0.37	26.15±0.65	51.70±1.51	89.72±0.67	92.89±0.19	92.89±0.19	91.84±1.19	3.21±0.06
Ascorbic Acid	13.43±0.82	28.76±0.67	52.94±0.94	93.21±0.11	93.08±0.19	92.40±0.88	92.96±0.11	3.04±0.05

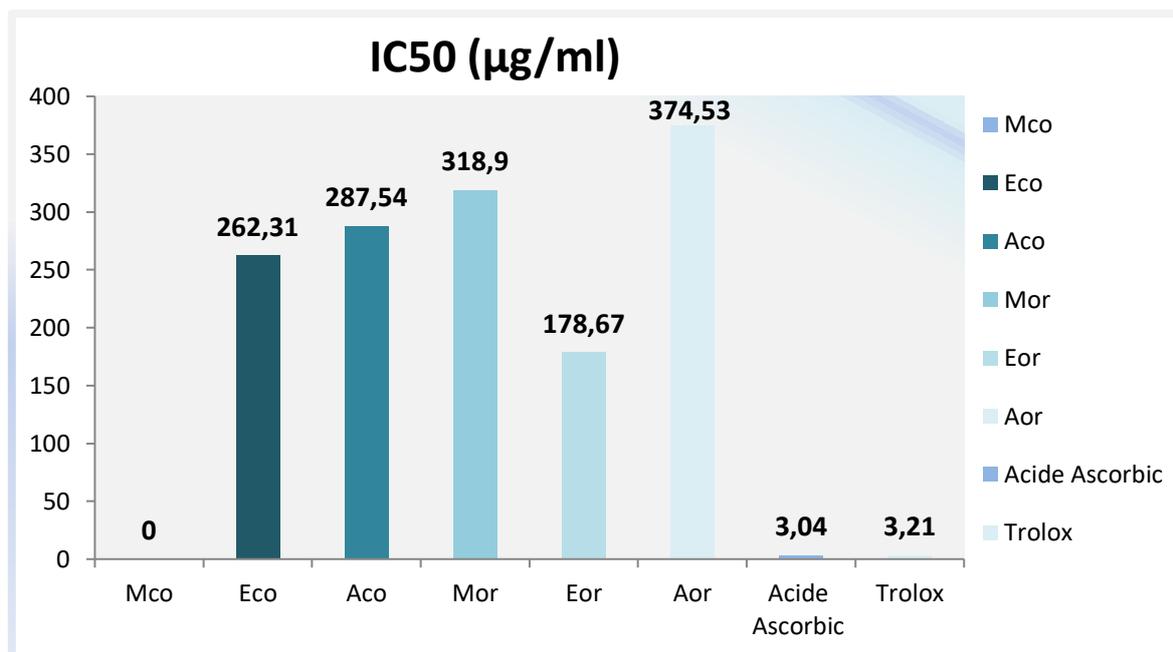


Figure 41: Valeurs des IC₅₀ dans le test ABTS.

Les résultats du test ABTS ont révélé que l'extrait (Eor) avec une valeur d'IC₅₀ égale à 178.67 ±5.67 µg/ml a la meilleure activité Anti radicalaire par rapport aux autres extraits. Tandis que, l'extrait (Eco) avec IC₅₀ = 262.31 ±7.37 µg/ml, l'extrait (Aco) avec IC₅₀ = 287.54 ±19.62 µg/ml, l'extrait (Mor) CI₅₀=318.90 ±9.09 µg/ml et l'extrait (Aor) avec IC₅₀=374.53 ± 41.67 µg/ml montrent que les quatre extraits sont plus faibles par rapport au standard utilisé.

Soukkou, (2019) a trouvé un IC₅₀ de 6,58 ± 0,0059 µg/mL pour l'extrait (Mor), ce qui est quarante-huit fois inférieur à celui enregistré dans notre étude.

Également (**Sidaoui, 2015**) a constaté une augmentation de IC₅₀ par rapport à celle obtenue pour l'extrait (Mor) avec une IC₅₀=23,55 µg/mL.

(**Mazid et al, 2017**) Ont obtenu une IC₅₀ de 30,88 ± 3,03 µg/ml pour l'extrait (Eor), ce qui est inférieur de cinq fois à celle enregistrée dans notre étude. Pour l'extrait aqueux, on a obtenu une IC₅₀=14,65 ± 11,09 µg/ml, ce qui n'est également inférieur que celle-ci enregistrée dans notre étude.

D'après (**Manal et al, 2024**), pour l'extrait (Aco) on a obtenu une IC₅₀ de 137,15 ± 1,45 µg/mL ce qui est et deux fois moins faibles à celui enregistré dans notre étude.

V.3.1. 3. Activité de réduction par la formation du complexe Fe²⁺- phénantroline

Le fer ferrique (Fe³⁺) est converti en fer ferreux (Fe²⁺) par l'action d'un antioxydant, ce dernier formant un complexe stable avec la phénantroline de couleur rouge orange, avec une absorbance maximale à 510 nm.



Figure 42: La plaque de phénantrolinedes d'extraits de L'ortie et costus indien

Tableau 10: Réduction du fer par la méthode phenanthroline.

Extrait	% inhibition							
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	A _{0,5} (µg/ml)
Eco	0,22±0,01	0,24±0,04	0,26±0,05	0,24±0,03	0,46±0,05	0,81±0,11	1,56±0,17	53,45±1,23
Aco	0,32±0,08	0,29±0,17	0,24±0,06	0,22±0,03	0,29±0,02	0,40±0,00	1,05±0,26	110,64±0,71
Mco	0,38±0,01	0,37±0,01	0,39±0,01	0,42±0,01	0,44±0,01	0,69±0,10	0,98±0,07	65,57±2,92
Eor	0,22±0,01	0,24±0,04	0,26±0,05	0,24±0,03	0,46±0,05	0,81±0,11	1,56±0,17	76,18±2,04
Mor	0,32±0,08	0,29±0,17	0,24±0,06	0,22±0,03	0,29±0,02	0,40±0,00	1,05±0,26	66,96±1,71
Aor	0,38±0,01	0,37±0,01	0,39±0,01	0,42±0,01	0,44±0,01	0,69±0,10	0,98±0,07	120,53±1,25
	0.0976µg	0.195µg	0.390 µg	0.781 µg	1.562 µg	3.125 µg	6.25 µg	A _{0,5} (µg/ml)
Trolox	0.25±0.01	0.24±0.01	0.26±0.01	0.26±0.00	0.32±0.01	0.38±0.01	0.56±0.02	5.21±0.27
Ascorbic acid	0.26±0.01	0.29±0.00	0.29±0.02	0.31±0.01	0.37±0.01	0.50±0.00	0.80±0.00	3.08±0.02

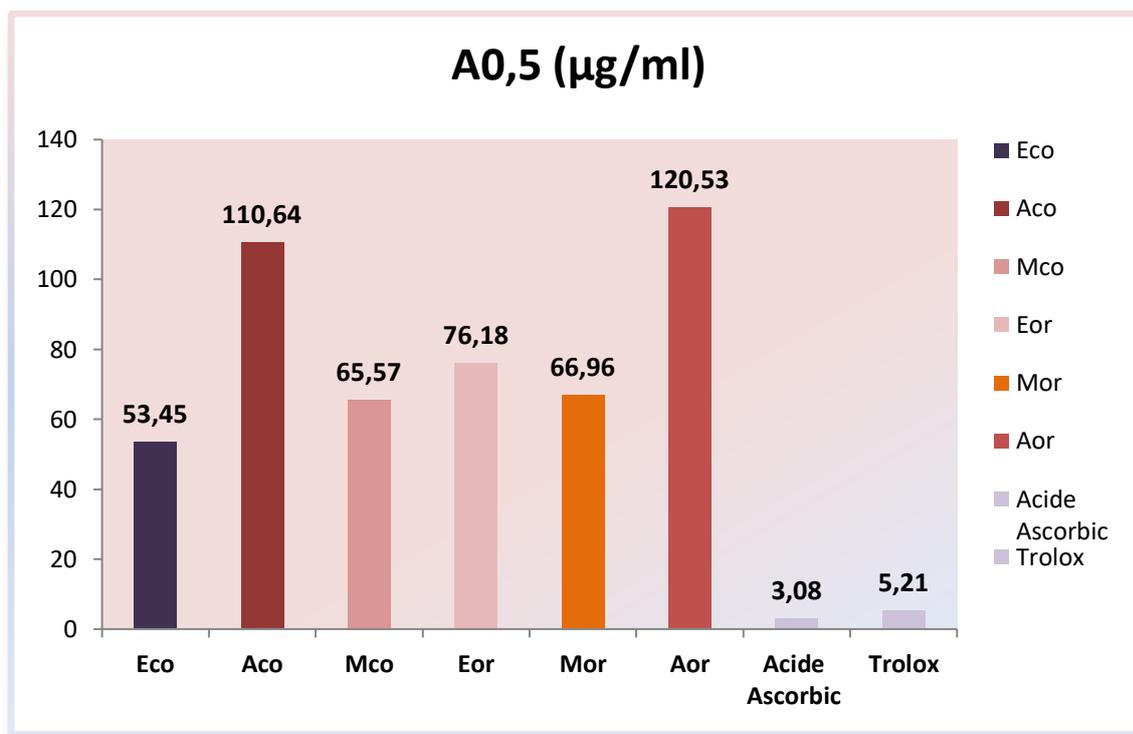


Figure 43: Valeurs des $A_{0,5}$ dans le test phénanthroline

Les résultats obtenus révèlent que les trois extraits des deux plantes sont capables de réduire le fer et de former un complexe Fe^{+2} phénanthroline.

À partir du Tableau 9 et la Figure 43, on déduit que l'extrait (Eco) a le pouvoir réducteur le plus important ($A_{0,5} = 53,45 \pm 1,23 \mu\text{g/ml}$) par rapport aux autres extraits. Cette activité est dix fois plus faible que le Trolox ($A_{0,5} = 5,21 \pm 0,21 \mu\text{g/ml}$) et dix-sept fois plus faible que l'acide ascorbique ($A_{0,5} = 3,08 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$).

Le pouvoir réducteur de l'extrait (Mor) et l'extrait (Mco) sont $66,96 \pm 1,71 \mu\text{g/ml}$ et $65,57 \pm 2,92 \mu\text{g/ml}$ respectivement, ce qui signifie que les deux extraits sont douze fois moins faibles que le trolox et vingt-et-une fois moins faibles que l'acide ascorbique.

L'extrait (Eor) a une faible activité : $A_{0,5} = 76,18 \pm 2,04 \mu\text{g/ml}$. Tandis que les extraits (Aco) ($A_{0,5} = 110,64 \pm 0,71 \mu\text{g/ml}$) et de l'ortie (Aor) ($A_{0,5} = 120,53 \pm 1,25 \mu\text{g/ml}$) ont le pouvoir réducteur le plus faible par rapport aux standards et aux autres extraits.

V.3.1.4. Activité du pouvoir réducteur (FRAP) :

En présence d'un antioxydant, le ferricyanide de potassium est réduit en ferrocyanide de potassium, qui réagit ensuite avec le chlorure ferrique pour donner un complexe du fer ferreux de couleur bleu-vert avec une absorbance maximale à 700 nm. Les résultats sont présentés au-dessous :



Figure 44: La plaque de dosage du pouvoir réducteur (FRAP) des extraits de L'ortie et costus indien

Tableau 11: Absorbance du pouvoir réducteur par les extraits.

Extrait	% inhibition							A _{0,5} (µg/ml)
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	
Mco	0,17±0,02	0,18±0,01	0,24±0,01	0,34±0,03	0,52±0,02	0,94±0,15	1,24±0,10	46,68±2,86
Eco	0,12±0,02	0,14±0,01	0,14±0,02	0,19±0,01	0,32±0,01	0,60±0,09	0,95±0,28	79,01±4,65
Aco	0,09±0,01	0,10±0,01	0,09±0,01	0,14±0,01	0,21±0,04	0,33±0,05	0,75±0,18	125,22±0,19
Mor	0,12±0,01	0,13±0,03	0,17±0,01	0,21±0,03	0,30±0,02	0,45±0,02	0,42±0,60	>200
Eor	0,14±0,00	0,18±0,00	0,17±0,08	0,27±0,01	0,42±0,02	0,71±0,03	1,09±0,90	63,45±0,68
Aor	0,12±0,01	0,12±0,01	0,16±0,02	0,18±0,02	0,20±0,01	0,20±0,04	0,33±0,18	>200
	0.0976µg	0.195µg	0.390 µg	0.781 µg	1.562 µg	3.125 µg	6.25 µg	A _{0,5} (µg/ml)
Trolox	0.07±0.00	0.08±0.00	0.09±0.01	0.13±0.00	0.19±0.02	0.28±0.05	0.60±0.04	5.25±0.20
Ascorbic acid	0.07±0.00	0.09±0.01	0.12±0.01	0.17±0.01	0.25±0.02	0.47±0.03	0.79±0.09	3.62±0.29

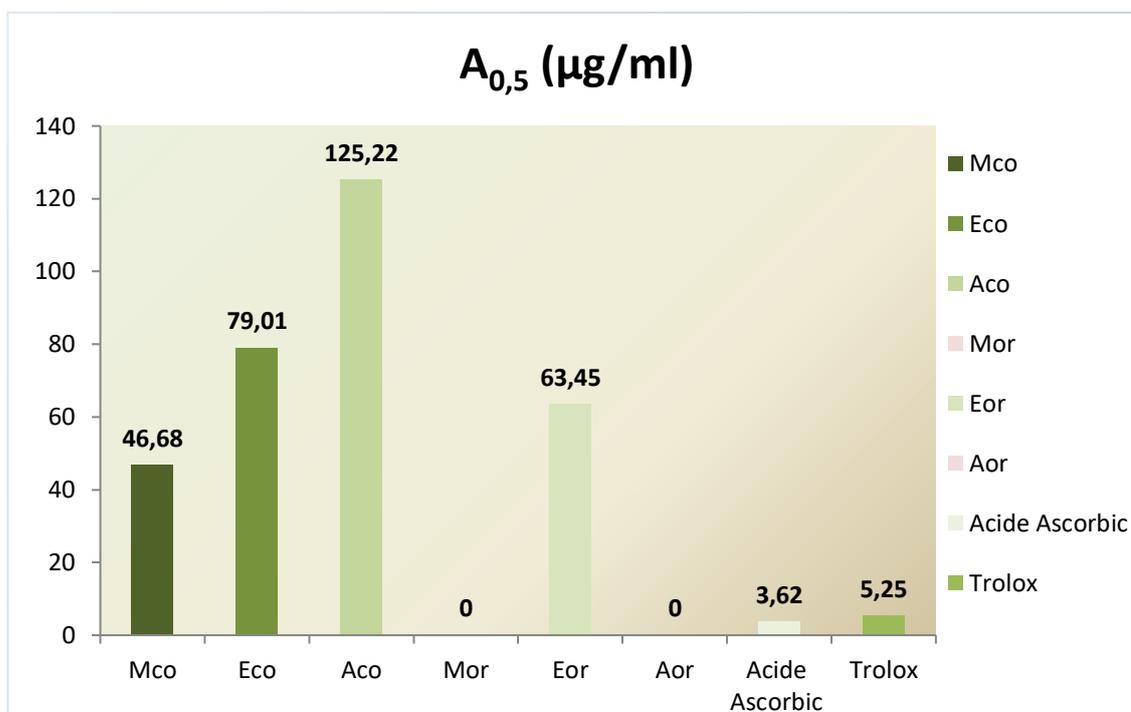


Figure 45: Valeurs des $A_{0,50}$ du test pouvoir réducteur

L'extrait méthanolique de costus (Mco) avec une valeur de $A_{0,5} = 46,68 \pm 2,86 \mu\text{g/ml}$ a une meilleure activité par rapport aux autres extraits. Cette activité est neuf fois plus faible que le Trolox ($A_{0,5} = 5,12 \pm 0,21 \mu\text{g/ml}$) et dix fois plus faibles que l'acide ascorbique ($A_{0,5} = 4,39 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$). Tandis que, l'extrait éthanolique de costus (Eco) avec un $A_{0,5} = 79,01 \pm 4,65 \mu\text{g/ml}$ et l'extrait aqueux (Aco) avec un $A_{0,5} = 125,22 \pm 0,19 \mu\text{g/ml}$ ont le pouvoir réducteur le plus faible par rapport aux autres extraits.

L'extrait éthanolique de l'ortie (Eor) avec une valeur de $A_{0,5} = 63,45 \pm 0,68 \mu\text{g/ml}$ a une meilleure activité par rapport aux autres extraits. Cette activité est douze fois plus faible que le Trolox ($A_{0,5} = 5,12 \pm 0,21 \mu\text{g/ml}$) et quatorze fois plus faibles que l'acide ascorbique ($A_{0,5} = 4,39 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$). Tandis que, les extraits méthanolique (Mor) et aqueux (Aor) ($A_{0,5} > 200$) ont le pouvoir réducteur le plus faible par rapport aux autres extraits.

V.4. L'activité Anti inflammatoire in vitro

Tableau 12: L'activité anti- inflammatoire.

Extrait	% inhibition							A _{0,5} (µg/ml)
	125	250	500	1000	2000	4000	8000	
Mco	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Eco	24,56±2,58	42,70±1,20	48,40±1,66	50,92±0,31	NA	NA	NA	861,13±19,44
Aco	NA	NA	28,24±3,58	30,30±0,79	43,81±0,96	54,95±3,12	57,06±2,62	3367,31±137,79
Mor	15,40±4,78	39,62±6,96	66,39±4,27	96,33±3,27	Sat	Sat	Sat	364,26±8,73
Eor	25,08±6,56	42,75±3,14	59,93±5,71	96,75±6,56	Sat	Sat	Sat	374,44±57,27
Aor	35,34±4,71	48,19±2,21	69,03±2,86	90,07±2,48	86,41±0,49	99,79±2,98	99,34±3,91	299,41±2,79
Dichlofenac	26,97±0,07	45,65±2,27	71,90±2,60	93,52±0,15	92,89±0,80	94,03±0,07	93,90±0,15	24,01±0,41

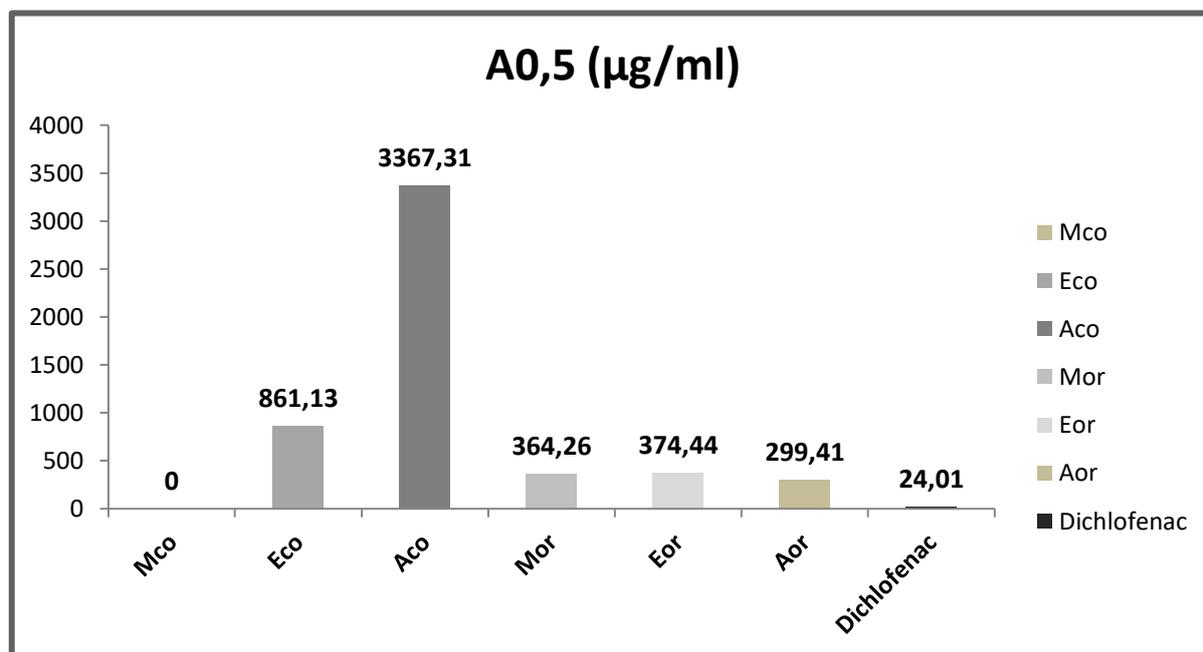


Figure 46: Valeurs des A_{0,5} dans le test anti inflammatoire

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire montrent que tous les extraits sont actifs sauf l'extrait (Mco).

L'extrait (Aor) avec une IC₅₀ de 299.41 ± 2.79 µg/ml a la meilleure activité anti-inflammatoire. Ensuite, on trouve l'extrait (Mor) avec une IC₅₀ de 364.26 ± 8.73 µg/ml, l'extrait (Eor) avec

une IC_{50} de $374.44 \pm 57.27 \mu\text{g/ml}$, l'extrait éthanolique de costus (Eco) avec une IC_{50} de $861.13 \pm 19.44 \mu\text{g/ml}$. En dernier, on trouve l'extrait aqueux de costus (Aco) avec une IC_{50} de $3\ 367.31 \pm 137.79 \mu\text{g/ml}$.

En prenant en considération les valeurs élevées d'inhibitions des extraits aux différentes concentrations, ces résultats sont presque dans l'intervalle du standard utilisé (dichlofenac $IC_{50} = 24.01 \pm 0.41 \mu\text{g/ml}$).

De même les deux extraits (Aor) avec ($IC_{50} : 299.41 \pm 2.79 \mu\text{g/ml}$) et l'extrait (Mor) ($IC_{50} : 364.26 \pm 8.73 \mu\text{g/ml}$) ont manifesté une très bonne activité, ces résultats sont proches au résultat de standard utilisé.

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de costus indien est très faible par rapport aux résultats obtenus par (**Houchi et Messasma, 2022. Singh et al, 2018**) avec une valeur d' $IC_{50} = 6.25 \mu\text{g/mL}$.

Selon ces résultats, nous avons conclu que les extraits aqueux présentent un effet anti-inflammatoire significatif par rapport aux autres extraits. Nos résultats concordent avec ceux de (**Baba Aissa, 1999**), (**Robert et Rombi, 2001**), qui ont démontré le pouvoir anti-inflammatoire de la partie aérienne de l'ortie dioïque. Aussi avec (**Meziti, 2009**), ce qui confirme que l'ortie présente une activité anti-inflammatoire in-vitro grâce à ses extraits hydroalcooliques. Cela explique le rôle de l'ortie dans la cascade anti-inflammatoire.

Selon (**Robert et Rombi, 2001**), la présence de flavonoïdes dans les feuilles d'*Urtica dioica L.* Est associée à son activité anti-inflammatoire.

Une valeur élevée de l'activité anti-inflammatoire d'un extrait de plante peut être attribuée à une forte concentration de composés bioactifs tels que les flavonoïdes, phénols, terpènes, alcaloïdes, saponines et tannins, qui peuvent agir en synergie pour renforcer l'effet anti-inflammatoire. Des méthodes d'extraction et de purification efficace garantissent une richesse en composants actifs. L'extrait peut cibler divers enzymes et voies de signalisation inflammatoires, et ses propriétés antioxydantes aident à réduire le stress oxydatif associé à l'inflammation. Enfin, une bonne biodisponibilité et distribution des composés actifs dans l'organisme augmentent l'efficacité thérapeutique, expliquant ainsi la valeur élevée de l'activité anti-inflammatoire observée.

V.5.Evaluation de L'activité Antibactérienne

Dans le cadre de cette étude, nous avons expérimenté l'effet des extraits aqueux, méthanoliques et éthanoliques des feuilles de l'ortie et les racine de costus indien sur diverses souches bactériennes Gram positif et Gram négatif en diffusant des disques sur un milieu gélosé solide tel que Muller Hinto.

V.5.1.Résultats de l'activité antibactérienne de costus indien.

Tableau 13: Les Activité antibactérienne des déférents extraits Saussurea costus.

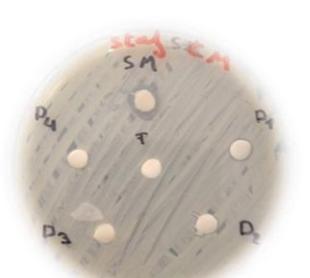
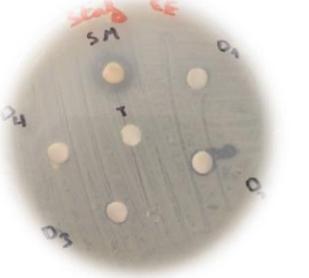
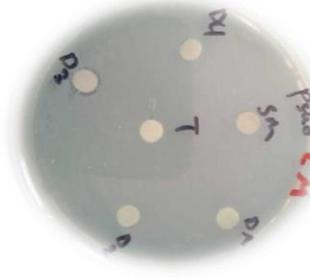
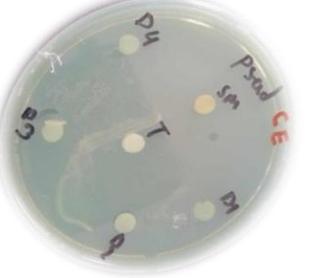
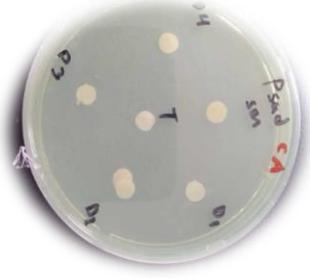
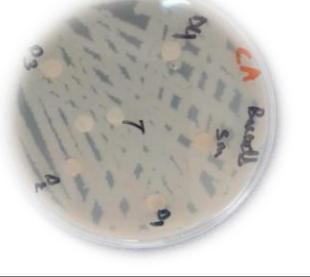
Les souches bactériennes testées	Les différents extraits		
	Méthanolique	éthanolique	Aqueux
<i>Escherichia coli</i>			
<i>Staphylococcus aureus</i>			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
<i>Bacillus Subtilis</i>			

Tableau 14: Diamètres d'inhibition de l'extrait méthanolique éthanolique et aqueux de *Saussurea costus*.

Bactérie	Les concentrations des extraits	Diamètre de zone d'inhibition (mm) de chaque extrait		
		méthanolique	éthanolique	Aqueux
<i>Escherichia coli</i>	SM	6.98(-)	6.54(-)	6.63(-)
	D1	-	-	-
	D2	-	-	10.64(+)
	D3	-	-	7.60(-)
	D4	-	6.83(-)	7.11(-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	SM	10.82(+)	12.95(+)	-
	D1	8.06(+)	7.83(-)	-
	D2	-	8.35(+)	-
	D3	-	6.93(-)	-
	D4	-	7.78(-)	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SM	5.99(-)	(-)	-
	D1	6.11(-)	6.44(-)	5.78(-)
	D2	5.83(-)	6.69(-)	5.97(-)
	D3	7.85(-)	-	-
	D4	5.85(-)	-	-
<i>Bacillus Subtilis</i>	SM	10.03(+)	13.21(+)	-
	D1	8.12(+)	8.23(+)	-
	D2	-	-	-
	D3	-	-	-
	D4	-	-	-

D'après Les résultats obtenus, l'effet antibactérienne des extraits méthanolique et éthanolique est aperçu contre les deux souches bactérienne (*staphylococcus aureus*, *Bacillus Subtilis*). Tandis que pour l'extrait aqueux, il est aperçu contre la souche (*Escherichia coli*)

Pour la souche (*Escherichia coli*), nous avons trouvé un résultat négatif pour les deux extraits méthanolique et éthanolique. Par contre, nous avons trouvé un résultat positif avec un diamètre d'inhibition de 10,64mm pour l'extrait aqueux sur la dilution D2 (absence sur les autres dilutions). L'extrait aqueux possède un pouvoir anti bactérienne.

Pour la souche (*staphylococcus aureus*), nous avons trouvé un résultat négatif pour l'extrait aqueux. Par contre, nous avons trouvé une sensibilité pour les deux extraits méthanolique avec un diamètre d'inhibition de (SM=10.82mm, D1=8.06mm) et éthanolique (SM= 8.35mm, D2=12.95mm)

Pour la souche (*Bacillus Subtilis*), nous avons trouvé un résultat négatif pour l'extrait aqueux. Par contre, nous avons trouvé une résultats positif (sensible) pour les deux extraits méthanolique (SM=10.03mm, D1=8.12mm) et éthanolique (SM= 13.21mm, D2=8.23mm) Les deux extraits avèrent actif contre sur les deux souches.

Pour la souche (*Pseudomonas aeruginosa*), nous avons trouvé un résultat négatif pour les trois extraits méthanolique , éthanolique et aqueux.

D'après (**Kuniyal et al, 2019**) sur l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de *Saussurea costus*. On a effet inhibiteur a été démontré sur les souches bactériennes *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. On a constaté que les échantillons des concentrations plus élevées avaient la plus forte activité antibactérienne.

V.5.2 .Résultats de l'activité antibactérienne de l'ortie.

Tableau 15: Les Activité antibactérienne des différents extraits d'*Urtica dioïque*.

Les souches bactériennes testées	Les différents extraits		
	Méthanolique	éthanolique	Aqueux
<i>Escherichia coli</i>			
<i>Staphylococcus aureus</i>			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
<i>Bacillus Subtilis</i>			

Tableau 16: Diamètres d'inhibition de l'extrait méthanolique ,éthanolique et aqueux *d'Urtica dioica* .

Bactérie	Les concentrations des extraits	Diamètre de zone d'inhibition (mm) de chaque extrait		
		méthanolique	éthanolique	Aqueux
<i>Escherichia coli</i>	SM	-	6.26(-)	6.14(-)
	D1	-	-	7.51(-)
	D2	-	-	7.97(-)
	D3	-	7.17(-)	6.81(-)
	D4	-	7.97(-)	6.38(-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	SM	9.80	-	-
	D1	7.12(-)	-	-
	D2	12.08(+)	-	-
	D3	10.58(+)	-	-
	D4	9.28(+)	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SM	-	-	-
	D1	-	-	-
	D2	-	-	-
	D3	-	-	-
	D4	-	-	-
<i>Bacillus Subtilis</i>	SM	-	-	-
	D1	-	-	-
	D2	-	-	-
	D3	-	-	-
	D4	-	-	-

D'après les résultats obtenus l'effet antibactérien dans l'extrait méthanoïque est aperçu contre la souche bactérienne *staphylococcus aureus*. Tandis que les souches (*Bacillus Subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*) l'effet antibactérien est absent dans les trois l'extrait.

Les souches (*staphylococcus aureus*) nous avons trouvé un résultat négatif (non-sensible) pour l'extrait aqueux et éthanoïque. Tandis que l'extraits méthanoïque donner un résultat positif (sensible) avec un diamètre d'inhibition vairé dans les dilutions suivant : D2= 9,20 D3=10.58et D4=12,08. Donc les deux extraits semblent être actifs contre cette souche.

Selon les recherches menées par **Albayrak et ses collègues (2012)**, ils sont démontrés que l'extrait hydro-méthanoïque a un effet inhibiteur qui se manifeste par des zones d'inhibition d'environ (9 mm) contre *staphylococcus aureus*.

Différents extraits montrent un diamètre différent de la zone d'inhibition ont causé à les changements de composition chimique des extraits sont dus à la variation de leur activité antibactérienne, et la présence des flavonoïdes, qui sont des métabolites secondaires, est responsable de cet effet (**Sari et al, 2006**).

On peut expliquer les résultats obtenus par la toxicité de nos extraits bruts à ces bactéries. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les multiplications microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire. (**Kalembe et Kunicka, 2003**).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Actuellement, les plantes médicinales continuent à d'être le principal fournisseur de nouveaux médicaments. Elles sont perçues comme une source fiable de principes actifs connus pour leur efficacité thérapeutique, ainsi que de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules indispensables à la création de futurs médicaments.

Dans cette étude de recherche, notre objectif était de mener des études phytochimiques sur les extraits de deux plantes médicinales l'ortie (*Urtica dioica*) et le costus indien : aqueux, méthanolique, éthanolique. Cela a permis d'obtenir une quantité adéquate de composés, en particulier des flavonoïdes, qui peuvent varier d'un extrait à l'autre.

Aussi, l'évaluation in-vitro des activités biologiques antioxydantes des différents extraits des deux plantes en utilisant quatre méthodes différentes : le piégeage du radical libre DPPH, le pouvoir réducteur (FRAP), la réduction par la formation du complexe Fe⁺²-phenanthroline et le piégeage de l'ABTS. Selon les résultats obtenus, les extraits de la plante de costus indien montrent une forte activité antiradicalaire par rapport aux extraits de l'ortie.

On a également étudié l'activité anti-inflammation in-vitro des deux plantes. L'extrait aqueux de l'ortie montre une forte activité par rapport aux autres extraits.

Les résultats de l'activité antibactérienne ont démontré que les extraits méthanolique et éthanolique de Costus indien ont aperçu une sensibilité contre les souches de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, alors que l'extrait méthanolique de *Urtica dioica* a aperçu une sensibilité contre les souches de *Staphylococcus aureus*.

Des études plus approfondies sont nécessaires pour la découverte des composés antibactériens afin de permettre le développement des traitements phyto-thérapeutiques.

D'autre part, des études cliniques sont indispensables pour évaluer l'efficacité et la sécurité des deux plantes dans les traitements des maladies telles que l'arthrite, les allergies et les problèmes cardiaques.

*Les références
bibliographiques*

Les références bibliographiques

(A)

- **Ait Haj Said A., Sbai El Otmani I., Derfoufi S., Benmoussa A.(2016).** Mise en valeur du potentiel nutritionnel et thérapeutique de l'ortie dioïque (*Urtica dioïca* L.). *Hegel*, 6(3), 280-292.
- **Akbay P., Basaran A., Undeger U., Basaran N. (2003).** In vitro immune modulatory activity of flavonoid glycosides from *Urtica dioica* L. *Phytother Res*, Vol. 17. p34-37.
- **Amas. (1997).** Food and Agricultural Research Council, Réduit Maurit.
- **AL-Kattan M. (2013).** Anti-bacterial effect of Indian costus and sea-qust and their water extracts on some pathogenic bacteria of the human respiratory system. *Food Chemistry* ,7(20) ,1418-1423.
- **Albayrak S., Aksoy A., Sagdic O., Albayrak S. (2012).** Antioxidant and antimicrobial activities of different extracts of some medicinal herbs consumed as tea and spices in turkey. *Journal of Food Biochemistry* 36 :547-554.

(B)

- **Broer J., Behnke B. (2002).** Immunosuppressant effect of IDS30, a stinging nettle leaf extract, on myeloid dendritic cells in vitro. *J Rheumatol*, vol.29, p 659-666.
- **Boyrie J. (2016).** *Urtica dioica* L une plante aux usages multiples. Thèses d'exercice, Université de Bordeaux, France . p40-41.
- **Bessas A. (2008).** Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien, Ingénieur d'état en biologie option controle de qualité et analyses, Université Djillali Liabes, -Sidi Bel Abbes.
- **Botineau M. (2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes a fleurs. Ed par Tec et Doc. Paris. p699.
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie (photochimie, plante médicinales,. médicinales internationales), Paris. p 233-783-1120.
- **Bouzouita K. (2016).** Phytovigilance : Enquête auprès des pharmaciens officinaux D'Oujda. Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie. Faculté de médecine et De pharmacie-RABAT. P25.

Les références bibliographiques

- **Bertrand B., Jeanne A. (2008).** Les secrets de l'Ortie ,10^{ème} Ed. Du Terran . 45-95.
- **Benhammou N. (2011).** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.
- **Robert D ; Rombi. (2001).** 120 plantes médicinales : composition, mode D'action et intérêt thérapeutique - de l'Ail à la Vigne rouge. Alpen, France.p528.
- **Benzanger-Beauquesne L. (1980).** Plantes médicinales des régions tempérées, le rédition, Ed par Maloine, Paris. p439.
- **Baba Aissa. 1999:** Les plantes médicinales en Algérie. Ed. Bouchène, Alger. p181.
- **Ben Sassi A., Harzallah-Skhiri F., and Aounil M. (2007).** Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities J.Pharmaco. Bio.45 (5):421-428.
- **Bhogaonkar P., Devarkar V., Lande S. (2012).**Physical characterization of *Costus speciosus* (Koenig Ex Retzi), Smith-A well Known Ayurvedic Drug plant. p70.
- **Boudjouef M. (2011).** Etude de l'activitéantioxydant et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisiacampestris* L.p51.

(C)

- **Couplan F. (2012).** Spécial plantes sauvages comestibles, PCD News, N° 42. p 10.
- **Camille D., Christine O. (2010).** L'ortie dioïque, Guide de production sous régie biologique, Editeur Filière de plantes médicinale biologique du Québec Canada.p11-25.
- **Cacace J.E., Mazza G. (2003).** Mass transfer process during extraction of phenolic compound from milled berries. Journal of Food Engineering, 59(4), 379-389.
- **Couplan F.(2013).** Guide nutritionnel des plantes sauvages et cultivées. Paris : Delachaux et Niestlé. p256.
- **Carvalho A.R., Costa G., Figueirinha A., Liberal J., Prior J.A.V., Lopes M.C., Cruz M.T., Batista M.T. (2017).** *Urtica* spp. : Phenolic composition, safety, antioxidant and anti-inflammatory activities. Food Research Internationa. 99: 485-494.
- **Chaabi M. (2008).** Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines : *Euphorbia steclada* Bail. (Euphorbiaceae), *Anogeissus leiocarpus* Guill.Perr. (Combretaceae), *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. (Plumbaginaceae). Thèse de doctorat. Université de Mentouri de Constantine et université de louis Pasteu.

(D)

- **Draghi F. (2005).** L'Ortie dioïque (*Urtica dioica* L.) étude bibliographique. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Henri Poincaré Nancy.p14-15.
- **Durak I., Biri H., Devrim E., Sözen S., Avci A. (2004).** Aqueous extract of *Urtica dioica* makes significant inhibition on adenosine deaminase activity in prostate tissue from patients with prostate cancer. *Cancer Biol. Ther.* p2.
- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.
- **Dutertre J. (2011).** Enquete prospecive au sein de la population consultant dans Les cabinets de médecine générale sur de réunion : à propos des plantes médicinales.France. UNIVERSITE BORDEAUX 2-VICTOR SEGALEN U. F. R des sciences médicales (thèse doctorat)
- **Dall'Acqua S., Cervellati R., Loi M.C., Innocenti G. (2008).** Evaluation of in vitro antioxidant properties of some traditional Sardinian medicinal plants : Investigation of the high antioxidant capacity of *Rubus ulmifolius*. *Food Chemistry*, 106 (2), 745-749.
- **Davis P.H. (1982).** Flora of Turkey and the East Aegean Islands, 1e édition .Vol.7, Editor Édimbourg, Edinburgh University Press.p64.
- **Dar S.A., Ganai F.A., Yousuf A.R., Balkhi M., Bhat T.M., Sharma P. (2012).** Pharmacological and toxicological evaluation of *Urtica dioica*. *Pharmaceutical*.
- **Daana W., Burqan I. (2024).** Honey and Indian *Costus* as found in Prophetic Medicine and Pharmacognosy: A Creedal Comparison. *Jordan Journal of Islamic Studies*, 20(1), 197-226.)

(E)

- **Eloff A. (2005).** L'ortie ses propriétés alimentaires médicales, agricoles, et industrielles.Ed. Albessard et Bérard, France, p14.
- **El Haouari M., Bnouham M., Bendahou M., Aziz M., Ziyat A., Legssyer A., Mekhfi H. (2006).** Inhibition of rat platelet aggregation by *Urtica dioica* leaves extracts. *Phytother. Res*, Vol.20. p4.

(F)

- **François J., Gaudry M. (2016).** Les végétaux, un nouveau pétrole. Ed. Quae. France, p129.
- **Fletcher N. (2007).** Guides nature, reconnaître comestible et savoureuse sans peine, éditeur Nathan, France, p2-27.
- **Fadal S.A. (2023).** Is Indian Costus Effective Against the SARS-CoV-2 Virus?. Qeios.

(G)

- **Gulçin I., Kufreviöglu O.I., Oktay M., Buyukokuroglu M.E. (2004).** Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *J. Ethnopharmacol.*, 90, 205–215.
- **Ghassan Hijjawi. (2009).** Pharmacologie et plantes médicinales. P 5.6.7.
- **Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A. (2010).** Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15(12), 8813-8826.
- **Guy Baudoin J. (2004).** Les fibres végétales en Région Wallonne. Les potentialités du chanvre et ses utilisations. Valorisation de la biomasse.p12.

(H)

- **Hijjawi GH. (2009).** Pharmacologie et plantes médicinales. P 5-6-7.
- **Hansen J.M., Hallas J., Lauritsen J.M., Bytzer P. (1996).** Non-steroidal anti-inflammatory drugs and ulcer complications: a risk factor analysis for clinical decision-making. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 31(2) : 126-130.
- **Hashemi M., Dostar Y., Rohani S., Saraji A., Bayat M.(2009).** Influence of Aloxanes on the Apoptosis of Pancreas B-Cells of Rat. *World Journal of Medical Sciences*. 2009 ,4 (2) .p70-73.

(J)

- **Jubayer M.F., Kayshar M.S., Mazumder M.A.R., Akter S.S. (2019).** A review on five medicinal plants considering the therapeutic potentials in the management of COVID-19.

Les références bibliographiques

- **Jerome P. (2007).** Pouvoir urticant [JPG] (5/06/2020), Disponible sur : http://fr.wikipedia.org/wiki/ortie#/media/fichier_urtica-stinging-hair.jpg, page consulté le 20/05/2020.
- **Jani D.P., Jani K.D. (2017).** Analytical profile of Kushtha (*Saussuria lappa*) extensively used medicinal plant in the Ayurveda system of medicine. *J Ayurveda Integr Med Sci* ; 2: 63–67.
- **Jean-Jacques M., Annie F., Christian A. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolite secondaires d'importance économique, Lausanne, Presses Polytechniques et universitaires romandes.

(K)

- **Kuniyal P. (2019).** Is cultivation of *Saussurea costus* (Asterales: Asteraceae) sustaining its conservation? *Journal of Threatened Taxa* 13, 14745- 14752.
- **Kirtikar K., Basu D. (1987).** Indian Medicinal Plants. Internat. Book Distributors, Dehra Dun, 2444-2449.
- **Kumar N., Kumar A. (2022).** Durlabh hoti chatmatkaric aushadhi-Kuth. *Sachitra Ayurveda* 25–29.
- **Kalemba D., Kunicka A. (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*. 10: 813-829 .

(L)

- **Luc F. (2010).** *Urtica dioica* Guide de production sous régie biologique, Bibliothèque et Archives nationales du Québec, février. p5.
- **Lee K.W., Kim Y.J., Lee H .J., Lee C.Y. (2003).** Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry*, 51:7292-7295.
- **Lammari N. (2021).** Nanoencapsulation des huiles des plantes extraites par CO₂ supercritique pour des applications pharmaceutiques (Doctoral dissertation, Université de Lyon).

Les références bibliographiques

- **Limonier A.S. (2018).** La Phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie. Le diplôme d'état de Docteur en pharmacie. Faculté de pharmacie de Marseille.p20.
- **Leinmüller E., Steingass H., Menke K. (1991).** Tannins in Ruminant feed stuff , Institute of Animal Nutrition, University of Hohenheim, (Germany).
- **Liu ZL., He Q., Chu S. (2012).**Essential oil composition and larvicidal activity of Saussurea lappa roots against the mosquito Aedes albopictus (Diptera: Culicidae). Parasitol Res; 110: 2125–2130.

(M)

- **Mostade J.P. (2015).** L'ortie et ses mille secrets. Ed. The Book Edition, France, p8-22.
- **Mario P. (2004).** Les purins, infusions et décoctions de plantes. p3.
- **Moutsie. (2008).** L'ortie une plante qui vous veut du bien, l'encyclopédie d'utovie, Editions d'Utovie. P8.
- **Martine G. (2016).** Ortie piquante : une plante polyvalente [En linge], Disponible sur :[http:// Martinegomichon.fr/ortie/](http://Martinegomichon.fr/ortie/).page consulté le 19/05/2020.
- **Moutsie. (2002).** L'ortie une amie qui vous veut du bien. Edition Utovie. France.p29-34.
- **Markaoui M. (2009).** cours de biochimie alimentaire (oxydation des lipides, brunissement enzymatique et non enzymatique).
- **Mzid M ; Ben Khedir S ; Ben Salem M., Regaieg W ;Rebai T. (2017).** Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol and aqueous extracts from *Urtica urens* Pharmaceutical biology 775-781.
- **Mansour A. (2009).** Investigation photochimique de l'extrait n- butanol de l'espèce *centaurea Africana*.
- **Meziti H. (2009).** Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de *Malva parviflora* L. UNIVERSITE FERHAT Abbas –SETIF.p80.
- **Manallah A. (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L., Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas, Sétif.

(N)

Les références bibliographiques

- **Nogaret A.S. (2011).** La phytothérapie se soigner par les plantes, Editions Eyrolles.

(O)

- **Ouedraogo S., Yoda J., Traore T.K., Nitiema M., Sombie B.C., Diawara H.Z., Semde R. (2021).** Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(2). P 752.
- **Orčić D., Francišković M., Bekvalac K. (2014).** Quantitative determination of plant phenolics in *Urtica dioica* extracts by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection. *Food Chemistry*.143p48-53.
- **Oliver F., Amon E.U., Breathnach A. (1991).** Contact urticaria due to the common stinging nettle (*Urtica dioica*). Histological, ultrastructural and pharmacological studies. *Clinical and Experimental Dermatology*; 16(1). p1-7.

(P)

- **Pandey M.M., Rastogi S., Rawr AKS. (2006)** .Evaluation of pharmacognostical.
- **Pietta P. G. (2000).** Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63(7), 1035-1042.
- **Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réaction avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4: 25-39.

(Q)

- **Quy Diem Do Q. D. D., Angkawijaya A. E., Phuong Lan Tran Nguyen P. L. T. N., Lien Huong Huynh L. H. H., Soetaredjo F. E., Ismadji S., Ju YiHsu J. Y. (2014).** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*.

(R)

- **Rabasso N. (2006).** Chimie organique : Généralités, études des grandes fonctions et méthodes spectroscopiques. p. 79.
- **Rice-Evans C. A., Miller N. J., Paganga G. (1996).** Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7), 933-956.

(S)

- **Schaffner W. (1992).** Les plantes médicinales et leurs propriétés. Manuel d'herboristerie. Delachaux et Niestlé. P 215.
- **Sarr S.O., Fall A.D., Gueye R., Diop A., Diatta K., Diop N., Diop Y. M. (2015).** Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). International Journal of Biological and Chemical Sciences, 9(3), 1263-1269.
- **Sadasivam S., Thayumanavan B. (2003).** Molecular host plant resistance to pests. De Books in soils, plants and the environment. CRC Press.
- **Soukkou H., Derdour Lebsir S., Zabalou N.E. (2019).** Evaluation de l'activité antioxydante et antinflammatoire de (extrait méthanolique d'*Urtica dioica* L (Doctoral dissertation Université de jijel.
- **Sidaoui F., Belghith S.I., Barth D., Trabelsi-Ayadi M., Cherif J.K. (2015).** Study of Tunisian nettle leaves (*Urtica dioica* L.): mineral composition and antioxidant capacity of their extracts obtained by maceration and supercritical fluid extraction. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 7(4), 707-713.
- **Shams El-Din A. (2000).** Medication avec herbes et plantes, anciennes et modernes. p 363-249.
- **Sari M., Biondi D.M., Kaâbeche M., Mandalari G., D'Arrigo M., Bisignano G., Saija A., Daquino C., Ruberto G. (2006).** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum* Des f. Flavour and Fragrance Journal.21: 890-898.

(T)

- **Tanuja Uniyal M.C. (2018).** *Saussurea Costus* : Boon for the Himalaya communities (AReview). 1-2.

(W)

- **Warrier K., Nambiar V., Ramankutty C. (1994)** . Indian Medicinal Plants, 1-5. Orient Longman Ltd., Madras.
- **Waksmundzka-Hajnos M., Sherma J. (2011).** Biology, 51:170–180. « High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical science. Chromatographic Science Series ». p. 477-478.
- **Wichtl M., Anton R. (2003).** Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale,

Les références bibliographiques

science et thérapeutique. 2^{ème} édition, éd. Tee & Doc ; Cachan. Médicale Internationales, française. Paris. p69.

(Z)

- **Zangenh M., Maria B. (2019)** .Potassium thiocyanat
- **Zhao T. (2014)**. Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques et médicinales oubliées ou sous-utilisées de Midi-Pyrénées (France) et de Chongqing (Chine) (Doctoral dissertation, Toulouse, INPT).
- **Zeković Z., Pintać D., Majkić T., Vidović S., Mimica-Dukić N., Teslić N., Pavlić, B. (2017)**. Utilization of sage by-products as raw material for antioxidants recovery—Ultrasound versus microwave-assisted extraction. *Industrial Crops and Products*, 99, 49-59.