

Faculté des sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique

MEMOIRE

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER en Sciences Biologiques

Option : **Biochimie**

Présenté par :

BELAL Souad

Thème :

**Évaluation du pouvoir antioxydant de quelques extraits
d'*Urtica dioïca***

Soutenu le : 14 / 06 / 2023 devant le jury :

| | | | |
|-----------|----------------------------------|-----|-----------------------|
| Président | Mr RAHMOUN Mohammed Nadjib | Pr | Université de Tlemcen |
| Examineur | Mr AZZI Rachid | Pr | Université de Tlemcen |
| Encadrant | M ^{elle} MEZOUAR Dounia | MCA | Université de Tlemcen |

Année universitaire 2022-2023

Remerciements

Après avoir rendu grâce à Dieu le tout Puissant et Miséricordieux, qui m'a donné la santé et la volonté d'atteindre et d'accomplir ce modeste travail.

En tout premier lieu, j'exprime ma profonde gratitude à mon promotrice Mlle **MEZOUAR Dounia**, Maître de conférences classe A, au département de biologie à l'Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen, pour l'aide compétente qu'elle m'a apportée, pour le temps qu'elle m'a consacré, pour les précieuses informations et conseils, ses encouragements qu'elle m'a prodigués avec intérêt et compréhension. Je veux vraiment vous remercier car j'ai eu beaucoup de chance de vous avoir comme directrice de mon mémoire.

Je remercie également, les membres de jury :

Mr **RAHMOUN Mohammed Nadjib**, Professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid, de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Mr. **AZZI Rachid**, Professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid, d'avoir accepté d'examiner ce mémoire de master.

Je tiens également à remercier mes collègues et amis au cours de mes études, et qui m'ont apporté leur soutien et leur amitié.

Je remercie tous les enseignants du département de biologie de l'université de Tlemcen, qui nous ont transmis leur savoir durant les cinq années d'étude.

Dédicaces

À Allah, qui a tracé le chemin de ma vie et de m'avoir donné la capacité, la force d'y croire et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

À *ma très chère mère*, Quoi que je fasse ou que je dise je ne saurais point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Que Dieu, le tout puissant, te préserve et t'accorde santé, longue vie et bonheur.

À *ma deuxième maman Fatiha*, Ces quelques lignes ne sauraient exprimer toute l'affection et tout l'amour que je te dois. Que dieu te préserve et t'accorde santé et prospérité.

À *mon cher père, à mes chers frères Hicham et Sofiane*, pour les efforts qu'ils ont suscités en moi de par leur rigueur et pour tout leur soutien.

J'ai le plaisir à dédier ce modeste travail à mes tantes, mes oncles, mes cousines et à toute ma famille.

À tous mes amies et à tous les gens que j'aime.

À tous mes professeurs.

À toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

الملخص

نبذة *Urtica dioica*، هي نبات طبي تنتمي إلى عائلة Urticaceae. تعتبر من أكثر النباتات الطبية شيوعاً والأكثر استخداماً في الطب التقليدي. لقد كانت موضوع العديد من الدراسات التي سلطت الضوء على خصائصها البيولوجية المختلفة، مثل النشاط المضاد لمرض السكري، إلخ.

يركز هذا العمل على الدراسة الكيميائية النباتية (الاختبارات النوعية للكيمائيات النباتية، التحديد الكمي للمركبات الفينولية) للمستخلصات الخامة الهيدروأستون والهيدروإيثانول، التي حضرناها عن طريق النقع للأجزاء الهوائية لنبات القراص. بالإضافة إلى ذلك، تم إجراء تقييم للنشاط البيولوجي من خلال تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر، من خلال طريقتين: تثبيط الجنور الحرة DPPH وإرجاع الحديد (FRAP).

أظهرت نتائج الفحص الكيميائي النباتي وجود قلويدات مع كاشف Wagner والعفص والمركبات المختزلة، وعدم وجود قلويدات مع كاشف Mayer، الفلافونويد، كينونات حرة، أنثراكينون، تربينويدات وسابونين.

أظهرت النتائج الكمية للمركبات الفينولية والفلافونويد كميات مختلفة في المستخلصين المدروسين. حيث أظهر مستخلص الهيدروإيثانول نسبة عالية من المركبات الفينولية بقيمة 24.481 ± 0.003 ملغ مكافئ حمض الغاليك لكل غرام من المستخلص، بينما أظهر مستخلص الهيدروأستون محتوى عالي من الفلافونويد بقيمة 14.153 ± 0.002 ملغ مكافئ كاتشين لكل غرام من المستخلص.

أظهرت دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الخامة لنبات القراص أن مستخلص الهيدروأستون له نشاط جيد لتثبيط الجذر الحر DPPH، حيث أن قيمة IC_{50} تساوي 12.121 ± 0.013 ملغ/مل. أظهر نفس المستخلص قيمة جيدة لإرجاع الحديد بقيمة EC_{50} تعادل 10.438 ± 0.02 ملغ/مل.

تشير هذه النتائج إلى أن نبات القراص له نشاط جيد كمضاد للأكسدة، وهو ما يفسر استخداماته التقليدية في علاج الأمراض المختلفة، خاصة تلك المتعلقة بالإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية: *Urtica dioica*، المستخلصات الخامة، دراسة كيميائية نباتية، نشاط مضاد للأكسدة.

Résumé

Urtica dioïca L., est une plante médicinale qui appartient à la famille des Urticaceae. Elle est considérée comme l'une des plantes médicinales les plus fréquentes et les plus utilisées en médecine traditionnelle. Elle a fait l'objet de nombreuses études qui ont souligné ses différentes propriétés biologiques tel que l'activité antidiabétique, ... etc.

Ce travail porte sur l'étude phytochimique (tests phytochimiques qualitatifs, dosage quantitatif des composés phénoliques) des extraits bruts hydroacétonique et hydroéthanolique, préparés par macération des parties aérienne d'*Urtica dioïca*. De plus, une évaluation de l'activité biologique est réalisée par évaluation de l'activité antioxydante, *in vitro*, par deux méthodes : piégeage du radical libre DPPH[·] et pouvoir réducteur de fer (FRAP).

Les résultats du screening phytochimique ont révélé la présence des alcaloïdes avec le réactif de Wagner, les tanins et les composés réducteurs, et l'absence des alcaloïdes avec le réactif de Mayer, les flavonoïdes, les quinones libres, les anthraquinones, les terpénoïdes et les saponines.

Les dosages quantitatifs des composés phénoliques et des flavonoïdes ont montré des quantités variables dans les deux extraits étudiés. L'extrait hydroéthanolique a présenté une teneur élevée en composés phénoliques avec une valeur de $24,481 \pm 0,003$ mg EAG /g d'extrait, alors que l'extrait hydroacétonique a exhibé une teneur élevée en flavonoïde $14,153 \pm 0,002$ mg EC / g d'extrait.

L'étude de l'activité antioxydante des extraits bruts de l'ortie, a montré que l'extrait hydroacétonique présente une bonne activité anti-radicalaire avec une CI_{50} de l'ordre de $12,121 \pm 0,013$ mg/ml pour le test de piégeage du radical libre DPPH. Ce même extrait a présenté une CE_{50} de l'ordre de $10,438 \pm 0,02$ mg/ml pour le test de réduction de fer (FRAP).

Ces résultats indiquent qu'*Urtica dioïca* a une bonne activité antioxydante, ce qui explique ses utilisations traditionnelles pour le traitement de diverses maladies, particulièrement celles qui sont liées au stress oxydant.

Mots clés : *Urtica dioïca*, extraits bruts, étude phytochimique, activité antioxydante.

Abstract

Urtica dioica L., is a medicinal plant belonging to the Urticaceae family. It is considered one of the most common and widely used medicinal plants in traditional medicine. It has been the subject of numerous studies that have highlighted its various biological properties, such as anti-diabetic activity, etc.

This research focuses on the phytochemical study (qualitative phytochemical tests, quantitative determination of phenolic compounds) of hydroacetic and hydroethanolic crude extracts, prepared by maceration of the aerial parts of *Urtica dioica*. In addition, a biological activity is assessed by evaluating antioxidant activity, *in vitro*, by two methods: DPPH[•] free radical scavenging and iron reducing power (FRAP).

Phytochemical screening results revealed the presence of alkaloids with Wagner's reagent, tannins and reducing compounds, and the absence of alkaloids with Mayer's reagent, flavonoids, free quinones, anthraquinones, terpenoids and saponins.

Quantitative assays of phenolics compounds and flavonoids showed variable quantities in the two extracts studied. The hydroethanolic extract showed a high content of phenolic compounds with a value of 24.481 ± 0.003 mg GAE /g extract, while the hydroacetic extract exhibited a high flavonoid content with 14.153 ± 0.002 mg CEQ / g extract.

The study of the antioxidant activity of crude nettle extracts showed that the hydroacetic extract exhibited a good scavenging activity, with an IC₅₀ value around of 12.121 ± 0.013 mg/ml for the DPPH free radical scavenging test. The same extract showed an EC₅₀ in the order of 10.438 ± 0.02 mg/ml for the iron reduction assay (FRAP).

These results indicate that *Urtica dioica* has a good antioxidant activity, which explains its traditional uses in the treatment of various diseases, particularly those linked to oxidative stress.

Key words: *Urtica dioica*, crude extracts, phytochemical study, antioxidant activity.

Table des matières

| | |
|------------------------|---|
| Liste des figures | |
| Liste des tableaux | |
| Liste des abréviations | |
| Introduction..... | 1 |

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : stress oxydatif

| | |
|--|---|
| 1. Radicaux libres..... | 2 |
| 2. Stress oxydatif..... | 2 |
| 2.1 Définition..... | 2 |
| 2.2 Origine du stress oxydatif..... | 3 |
| 2.3 Conséquences du stress oxydatif..... | 3 |
| 3. Antioxydants..... | 4 |
| 3.1 Définition..... | 4 |
| 3.2 Antioxydants enzymatiques..... | 4 |
| 3.2.1 Superoxyde dismutase SOD..... | 5 |
| 3.2.2 Catalase (CAT)..... | 5 |
| 3.2.3 Glutathion peroxydases (GPx)..... | 6 |
| 3.3 Antioxydants non enzymatiques..... | 6 |
| 3.3.1 Vitamine E..... | 7 |
| 3.3.2 Vitamine C..... | 7 |
| 3.3.3 Glutathion (GSH)..... | 7 |
| 3.3.4 Caroténoïdes..... | 8 |
| 3.3.5 Composés phénoliques..... | 8 |
| 4. Plantes à activité antioxydante..... | 8 |

Chapitre 2 : Plante étudiée (*Urtica dioïca*)

| | |
|----------------------------------|----|
| 1. Introduction..... | 10 |
| 2. Habitats et Origine..... | 10 |
| 3. Dénomination..... | 10 |
| 4. Classification botanique..... | 10 |
| 5. Description botanique..... | 11 |
| 5.1 Appareil végétative..... | 11 |

| | | |
|-------|---|----|
| 5.1.1 | Feuilles | 11 |
| 5.1.2 | Tiges | 12 |
| 5.1.3 | Poils urticants | 12 |
| 5.1.4 | Racines | 13 |
| 5.2 | Appareil reproducteur | 14 |
| 5.2.1 | Fruits et graines | 14 |
| 5.2.2 | Fleurs | 14 |
| 6. | Composition chimique d' <i>Urtica dioïca</i> L..... | 15 |
| 7. | Utilisations thérapeutiques de la plante | 16 |

Partie expérimentale

Matériel et Méthodes

| | | |
|--------|--|----|
| 1. | Analyse phytochimique | 17 |
| 1.1. | Matériel végétal..... | 17 |
| 1.2. | Préparation des extraits bruts d' <i>Urtica dioïca</i> L. | 17 |
| 1.3. | Rendement de l'extraction..... | 17 |
| 1.4. | Analyse phytochimique qualitative des extraits bruts de l'ortie | 18 |
| 1.4.1. | Alcaloïdes | 18 |
| 1.4.2. | Composés phénoliques | 18 |
| 1.4.3. | Saponines..... | 19 |
| 1.4.4. | Terpénoïdes : Test de Slakowski | 19 |
| 1.4.5. | Composés réducteurs | 19 |
| 1.5. | Dosage des composés phénoliques | 19 |
| 1.5.1. | Dosage des composés phénoliques totaux..... | 19 |
| 1.5.2. | Dosage des flavonoïdes | 20 |
| 2. | Evaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts d' <i>Urtica dioïca</i> | 21 |
| 2.1. | Test de piégeage du radical libre DPPH..... | 21 |
| 2.2. | Réduction du fer (FRAP) des extraits d' <i>Urtica dioïca</i> | 22 |

Résultats et Discussion

| | | |
|----|--|----|
| 1. | Rendement des extraits bruts d' <i>Urtica dioïca</i> | 24 |
| 2. | Screening phytochimique qualitatif | 25 |
| 3. | Dosage des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes | 26 |
| 4. | Evaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts d' <i>Urtica dioïca</i> | 29 |

| | |
|--|----|
| 4.1. Piégeage du radical libre (DPPH)..... | 29 |
| 4.2. Réduction de fer (FRAP)..... | 31 |

Conclusion

Références bibliographiques

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Origines du stress oxydant | 3 |
| Figure 2 : Conséquences moléculaires du stress oxydatif. | 4 |
| Figure 3 : Systèmes d'antioxydants enzymatiques..... | 5 |
| Figure 4 : Structure chimique de la vitamine E (α -Tocopherol). | 7 |
| Figure 5 : Structure chimique de la vitamine C..... | 7 |
| Figure 6 : Structure du glutathion..... | 8 |
| Figure 7 : <i>Urtica dioïca</i> L. | 11 |
| Figure 8 : Feuille d' <i>Urtica dioïca</i> L..... | 12 |
| Figure 9 : Tige dressée d' <i>Urtica dioïca</i> | 12 |
| Figure 10 : Poils urticants d' <i>Urtica dioïca</i> | 13 |
| Figure 11 : Racines d' <i>Urtica dioïca</i> L. | 14 |
| Figure 12 : Fruit d' <i>Urtica dioïca</i> L..... | 14 |
| Figure 13 : Fleurs mâles et femelles d' <i>Urtica dioïca</i> | 15 |
| Figure 14 : Structures des constituants chimiques d' <i>Urtica dioïca</i> L..... | 16 |
| Figure 15 : Réaction entre le DPPH• et le composé antioxydant pour former le DPPH..... | 21 |
| Figure 16 : Rendement des extraits bruts de la partie aérienne d' <i>Urtica dioïca</i> | 24 |
| Figure 17 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques totaux..... | 27 |
| Figure 18 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des composés phénoliques totaux..... | 27 |
| Figure 19 : Représentation de régression logarithmique des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique..... | 29 |
| Figure 20 : Représentation de régression logarithmique des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroacétonique.. | 30 |
| Figure 21 : Représentation de régression logarithmique des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroéthanolique. | 30 |
| Figure 22 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique..... | 32 |
| Figure 23 : Pouvoir réducteur de l'extrait brut hydroacétonique. | 32 |
| Figure 24 : Pouvoir réducteur de l'extrait brut hydroéthanolique. | 33 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées..... | 6 |
| Tableau 2 : Tableau représentant quelques-unes des plantes dont le potentiel antioxydant a été étudié à Tlemcen..... | 9 |
| Tableau 3 : Caractéristiques des extraits bruts hydroéthanolique et hydroacétonique de la partie aérienne d' <i>Urtica dioïca</i> | 24 |
| Tableau 4 : Résultats des tests phytochimiques qualitatifs des extraits bruts de la partie aérienne d' <i>Urtica dioïca</i> | 25 |
| Tableau 5 : Teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes dans les extraits d' <i>Urtica dioïca</i> | 28 |
| Tableau 6 : Valeurs des CI ₅₀ des extraits bruts d' <i>Urtica dioïca</i> et de l'acide ascorbique..... | 31 |
| Tableau 7 : Valeurs des CE ₅₀ calculées pour les extraits hydroéthanolique, hydroacétonique et de l'acide ascorbique. | 33 |

Liste des abréviations

$^1\text{O}_2$: Oxygène singulet

CAT : Catalase

CE₅₀ : Concentration efficace à 50 %

CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

DPPH : Radical 2.2 diphényle-1-picrylhydrazyl

ERO : Espèce réactive de l'oxygène

Fe²⁺ : Ions ferreux

Fe³⁺ : Ions ferriques

FRAP: Ferric reducing antioxidant power

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion oxydé

GPx : Glutathion peroxydase

HO• : Le radical hydroxyle

O₂•- : Le radical superoxyde

ROO• : Le radical peroxyde

ROOH : Peroxyde alkyle

SOD : Superoxydes dismutases

µg EAG/ mg E : Microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait.

µg EC / mg E : Microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait.

Introduction

Depuis l'antiquité, les plantes ont été la pierre angulaire des pratiques de santé mondiale. En fait, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime que la médecine traditionnelle satisfait 80 % des besoins en soins de santé primaires dans les pays en développement **(Bousta & Ennabili, 2011)**. Les plantes utilisées, sont généralement considérées comme médicinales, car certaines parties de ces plantes possèdent des propriétés curatives et naturelles **(Derbré, 2016)**.

Les aliments d'origine végétale, sont particulièrement riches en composés phytochimiques aux propriétés antioxydantes tels que l'acide ascorbique, les tocophérols, les caroténoïdes, les acides phénoliques et les flavonoïdes **(Hokayem et al., 2012)**. Ces molécules participent à la lutte vis-à-vis des actions agressives des radicaux libres dérivés de l'oxygène, faisant du monde végétal une source importante de médicaments **(Eddouks et al., 2007)**.

Un déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants peut avoir des conséquences néfastes via une diminution des défenses antioxydantes et une augmentation des états pro-oxydants, communément appelés stress oxydatif. Cela peut se produire pendant une courte ou une longue période **(Berger, 2006)**. La prévention des maladies associées au stress oxydatif, peut se faire grâce à l'utilisation des produits à base de plantes, qui ralentissent l'oxydation des lipides et d'autres molécules en inhibant la propagation des réactions oxydatives en chaîne.

L'ortie, *Urtica dioïca* L., fait partie des plantes que l'on reconnaît très tôt, et sa piqûre douloureuse est un souvenir désagréable. Mais ne croyez pas cette première impression. Car derrière ce système de défense se cache une véritable panacée. Nos ancêtres le savaient, car ils l'utilisaient pour la guérison, entre autres. Cependant, elle fut progressivement oubliée et réapparut au milieu du 20^{ème} siècle. De nombreuses études ont été menées ces dernières années, pour mieux comprendre son activité et son mécanisme d'action **(Delahaye, 2015)**.

C'est dans cette optique que nous nous intéressons à étudier et évaluer l'activité antioxydante d'*Urtica dioïca* L. Notre approche expérimentale s'intéresse au screening phytochimique et aux dosages quantitatifs des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes des extraits bruts de la partie aérienne d'*Urtica dioïca*. Suivie par une évaluation du pouvoir antioxydant, *in vitro*, des extraits hydroacétonique et hydroéthanolique par deux méthodes : piégeage du radical DPPH et le pouvoir réducteur de fer (FRAP).

Chapitre 1 : Stress oxydatif

1. Radicaux libres

Un radical libre peut être défini comme toute espèce moléculaire capable d'exister de manière indépendante et contenant un électron non apparié dans une orbitale atomique. La présence d'un électron non apparié entraîne certaines propriétés communes à la plupart des radicaux, et de nombreux d'entre eux sont instables et très réactifs (**Lobo et al., 2010**).

En raison de leur réactivité élevée, ils peuvent enlever des électrons à d'autres composés pour gagner la stabilité. En conséquence, la molécule attaquée perd des électrons et se transforme en radical libre, déclenchant une série de réactions qui finit par endommager les cellules vivantes (**Phaniendra et al., 2015**).

La dérivation des radicaux libres peut se faire par l'oxygène (espèce réactives de l'oxygène ERO), par l'azote (espèce réactives de l'azote), ou par d'autres atomes, comme le chlore (espèce réactives de chlore) (**Halliwell & Whiteman, 2004**), qui peuvent être radicalaires ou non radicalaires (**Phaniendra et al., 2015**).

En faible quantité, ces radicaux libres sont inoffensifs. En revanche, en quantité importante et/ou si l'exposition est prolongée (**Geny et al., 2019**), ces composés sont dangereux pour plusieurs constituants cellulaires (**Serviddio et al., 2013**). De ce fait, on remarque que le rôle des radicaux libres est très complexe, car ce sont des médiateurs clés qui instituent et exacerbent le processus pathologique (**Haleng et al., 2007 ; Geny et al., 2019**).

2. Stress oxydatif

2.1 Définition

Le stress oxydatif représente l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'attaque des espèces oxygénées activées, entraînant un déséquilibre associé à une production accrue de radicaux libres oxygénés ou à une diminution des défenses antioxydantes (**Defraigne & Pincemail, 2008**). Ces phénomènes vont conduire à une perturbation de la signalisation et du contrôle de l'oxydoréduction et/ou à des dommages moléculaires (**Sies, 2020**).

2.2 Origine du stress oxydatif

L'apparition du stress oxydatif (**figure 1**) chez les organismes vivants est due à une production excessive de radicaux libres ou à des phénomènes externes toxiques (**Favier, 2003**).

Selon **Favier (2006)**, le stress oxydant pourrait aussi émaner d'une production endogène massive de radicaux par activation de macrophages de polynucléaires, des cellules endothéliales ou de la mitochondrie et une exposition à des générateurs environnementaux (soleil, radioactivité, pollution atmosphérique, tabac, alcool...).

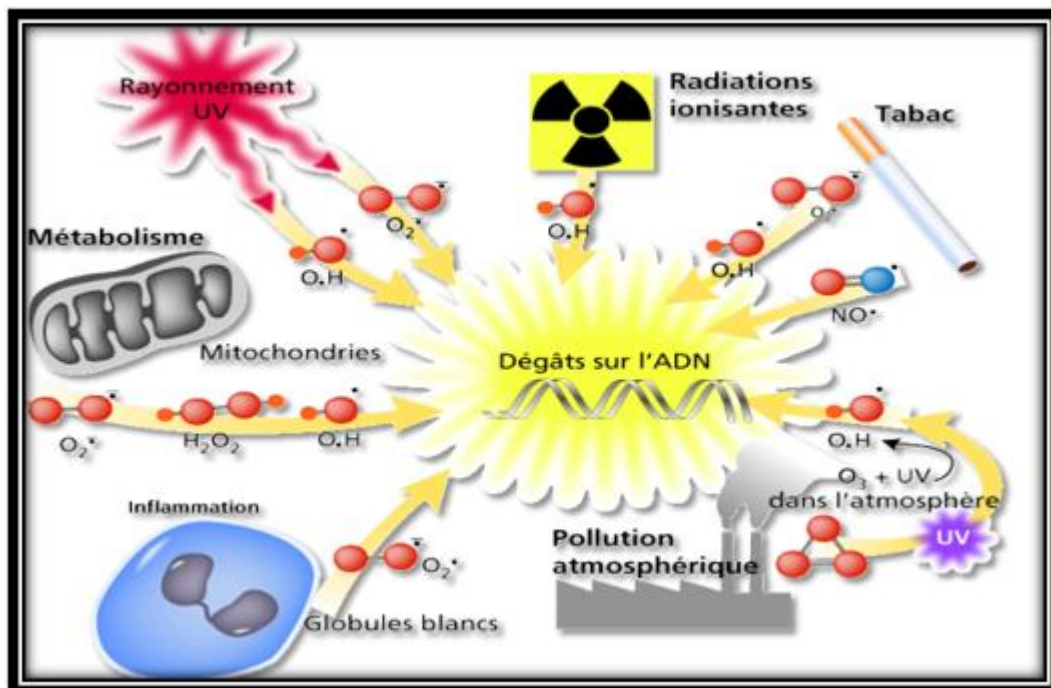


Figure 1 : Origines du stress oxydant (**Durackova, 2008**)

2.3 Conséquences du stress oxydatif

Les effets du stress oxydatif sont très variables selon la dose et le type cellulaire (**Figure 2**) (**Favier, 2006**). La surproduction de radicaux libres entraîne des dommages directs aux biomolécules (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides). Cependant, des lésions secondaires peuvent également survenir du fait de la cytotoxicité et de la mutagenicité des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (**Favier, 2003**).

Ainsi, un certain nombre de pathologies impliquant le stress oxydatif dans leur développement ont été identifiées (**Haleng et al., 2007**), telles que le diabète sucré, la maladie

d'Alzheimer, les rhumatismes, les maladies digestives et les maladies cardiovasculaires (Ambe et al., 2023).

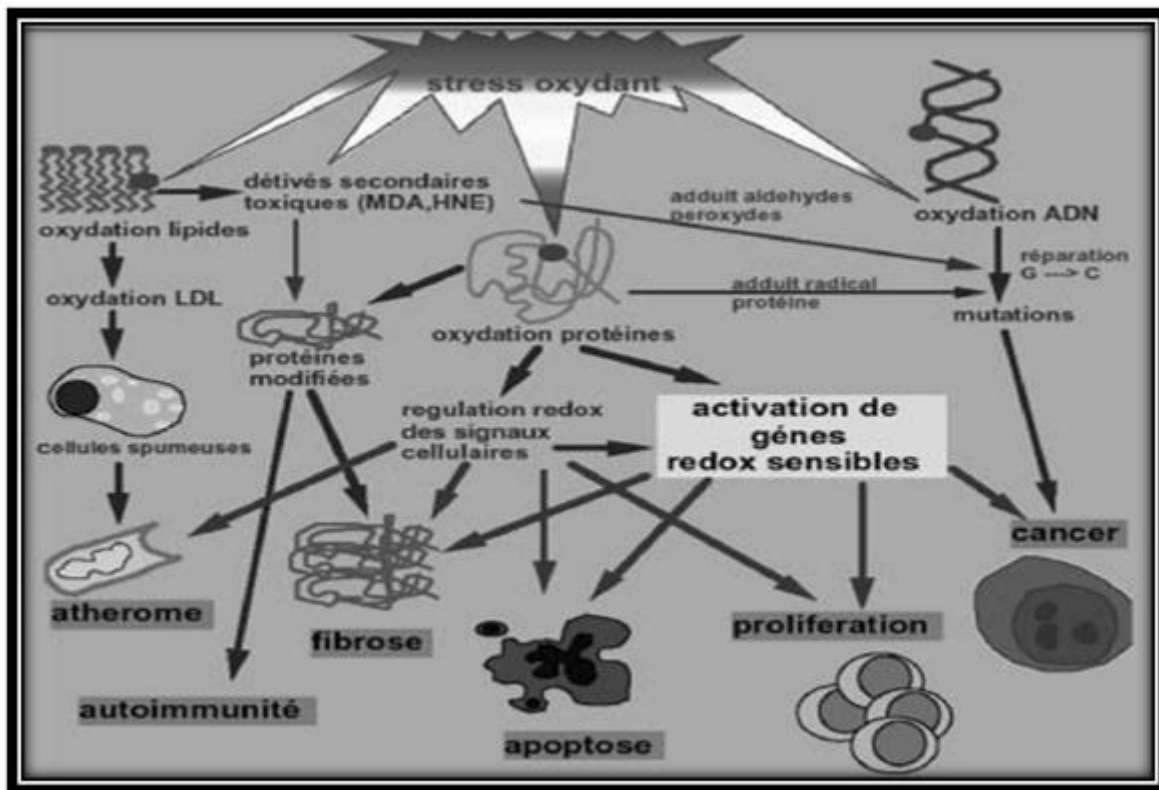


Figure 2 : Conséquences moléculaires du stress oxydatif (Favier, 2006).

3. Antioxydants

3.1 Définition

Les antioxydants sont des substances qui retardent, préviennent ou éliminent les dommages oxydatifs, afin de protéger les cellules de l'organisme de l'oxydation (Teh et al., 2014 ; Milisav et al., 2018). Ils possèdent des capacités telles que le piégeage des radicaux libres, l'inhibition de la peroxydation des lipides, l'extinction de l'oxygène singulet, l'activité réductrice et la chélation des métaux pro-oxydants (Teh et al., 2014).

3.2 Antioxydants enzymatiques

Les principaux antioxydants enzymatiques (figure 3) sont le superoxyde dismutase, la catalase et glutathion peroxydase.

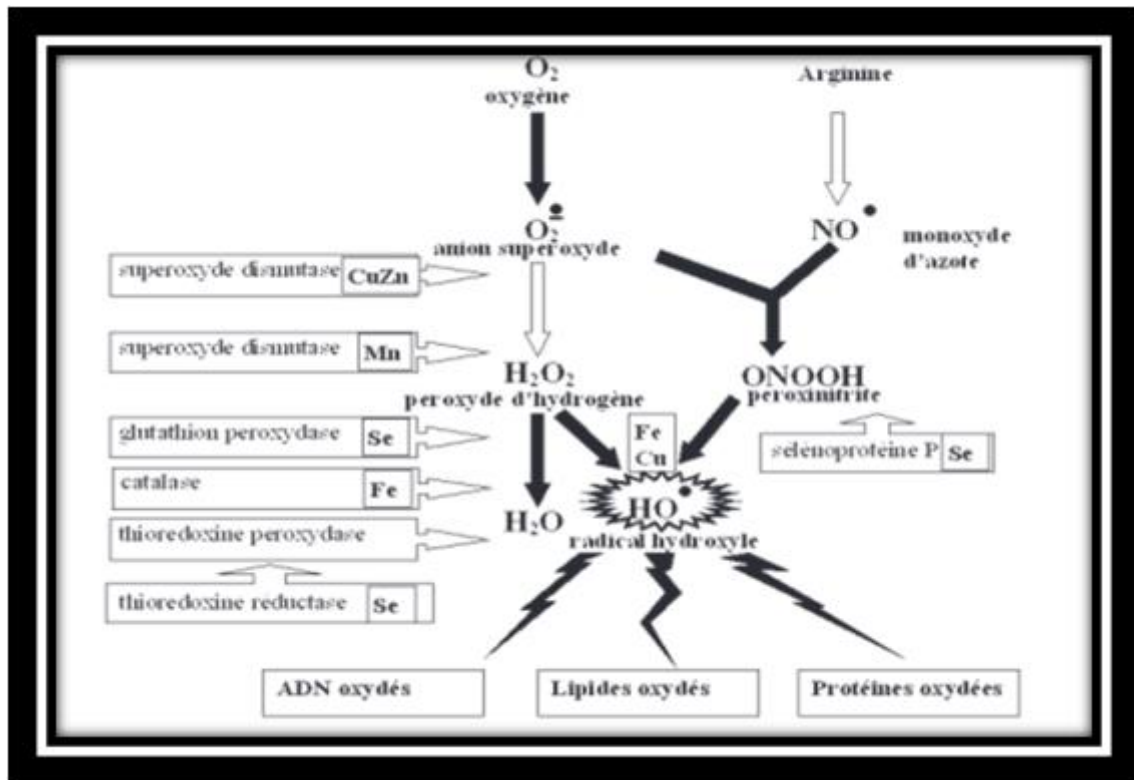
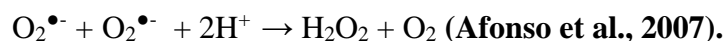


Figure 3 : Systèmes d'antioxydants enzymatiques (Favier, 2006).

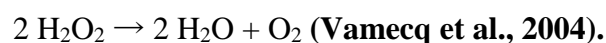
3.2.1 Superoxyde dismutase SOD

Les superoxydes dismutases représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant (Haleng et al., 2007). Ils catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire (Vamecq et al., 2004). Il existe trois isoenzymes chez l'homme : la Cu/Zn-SOD-1 (cytosolique), la Mn-SOD-2 (mitochondriale) et la Cu/Zn SOD-3 (extracellulaire) (Haleng et al., 2007).



3.2.2 Catalase (CAT)

La catalase est une enzyme hémique tétramérique constituée de quatre sous-unités identiques, disposées en tétraèdre de 60 KDa (Matés et al., 1999). Elle décompose deux molécules de peroxyde d'hydrogène en une molécule d'oxygène et deux molécules d'eau dans une réaction comprenant deux étapes (Nandi et al., 2019).



3.2.3 Glutathion peroxydases (GPx)

La glutathion peroxydase (GPx) favorise la décomposition de l'H₂O₂ et du peroxyde organique en molécule d'eau (H₂O), avec l'oxydation simultanée du glutathion (GSH) en GSH oxydé, sous la forme de GSSG (**Kumar et al., 2021**). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés (**Haleng et al., 2007**).



3.3 Antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques (**tableau 1**) font référence à la neutralisation des substances oxydantes par des substances dites antioxydantes. Lorsque l'espèce oxydante est de nature radicalaire, les antioxydants neutralisent les radicaux libres nocifs, mais les transforment en radicaux libres. L'efficacité des antioxydants, donc, réside dans le fait que les espèces radicalaires résultantes, sont significativement plus stables et moins réactives que les espèces oxydantes radicalaires initiales ciblées par l'antioxydant (**Vamecq et al., 2004**).

Tableau 1 : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées (Koechlin, 2006).

| Principaux nutriments antioxydants | Sources alimentaires |
|--|--|
| Vitamine C | Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron |
| Vitamine E | Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, œufs, noix |
| β-carotène | Légumes et fruits orangés, et vert foncés |
| Sélénium | Poisson, œufs viandes, céréales, volaille |
| Zinc | Viande, pain complet, légumes verts, huitres, produits laitiers |
| Flavonoïdes | Fruits, légumes, thé vert |
| Acides phénoliques | Céréales complètes, baies, cerises |
| Tanins | Lentilles, thé, raisins, vin |
| Métabolisme de la cystéine, glutathion | Caséine, Lactalbumine (petit-lait), produits laitiers Brocoli, chou, poissons, viandes |

Ces antioxydants peuvent donc être divisés en endogènes (si la cellule eucaryote est capable de les synthétiser) et exogènes (si l'antioxydant est apporté par l'alimentation) (**Sharifi et al., 2020**).

3.3.1 Vitamine E

La vitamine E (**figure 4**) est une vitamine liposoluble qui se présente sous huit formes différentes. C'est un puissant antioxydant biologique et elle est considérée comme le principal antioxydant membranaire utilisé par les cellules (**valko et al., 2006**). Elle protège contre la propagation de la peroxydation lipidique en réagissant avec les radicaux peroxydes ($\text{ROO}\cdot$) pour former les radicaux tocophéryles (**Haleng et al., 2007**).

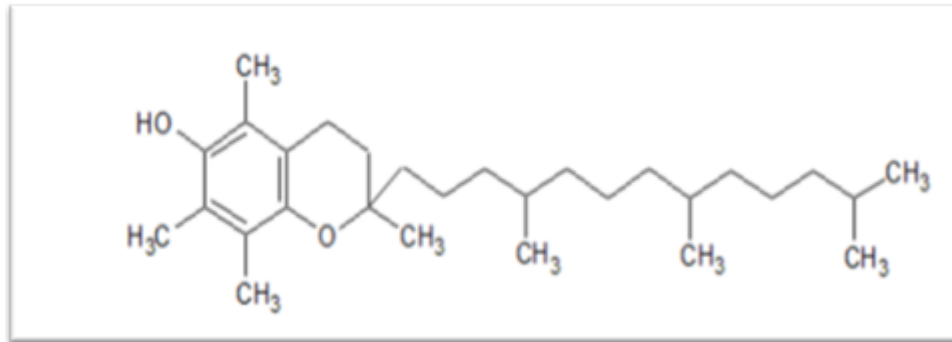


Figure 4 : Structure chimique de la vitamine E (α -Tocopherol) (**Azzi, 2019**).

3.3.2 Vitamine C

La vitamine C hydrosoluble (**figure 5**), également connue sous le nom d'acide ascorbique, est située dans le compartiment cytoplasmique de la cellule (**Evans, 2000**). Elle peut réagir rapidement avec l' O_2^- , le monoxygène et l'ozone (chimiquement) pour neutraliser leurs toxines via l'ascorbate peroxydase (**Forni et al., 2019**).

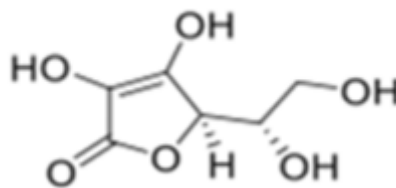


Figure 5 : Structure chimique de la vitamine C (**Abosaooda et al., 2021**).

3.3.3 Glutathion (GSH)

Le GSH (**figure 6**), un tripeptide sulfhydryle (γ -l-glutamyl-l-cystéinyl-glycine), est l'antioxydant le plus important, impliqué dans l'inactivation des espèces oxygénées activées. Sa fonction la plus importante est la détoxification des xénobiotiques, qui sont particulièrement dépendants des groupes thiols de leurs résidus de cystéine (**Bjørklund et al., 2020 ; Farina & Aschner, 2019**).

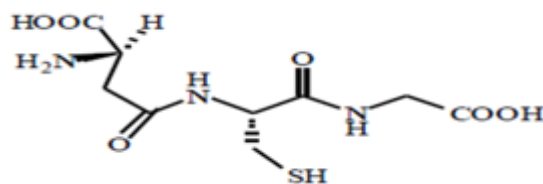


Figure 6 : Structure du glutathion (Vertuani et al., 2004).

3.3.4 Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments tétraterpéniques qui présentent des couleurs jaune, orange, rouge et violette (Maoka, 2020). Tous dérivent d'une structure linéaire ($C_{40}H_{56}$) avec de nombreuses doubles liaisons (Haleng et al., 2007). Les caroténoïdes jouent un rôle majeur dans la protection des plantes contre les processus photo-oxydatifs (Stahl & Sies, 2003).

3.3.5 Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites végétaux secondaires qui se trouvent non seulement dans les fruits et légumes, mais aussi dans les céréales, les haricots secs, le chocolat et les boissons comme le thé et le café (El-Missiryet et al., 2021). La structure des composés phénoliques est caractérisée par au moins un cycle aromatique auquel sont attachés un ou plusieurs groupes hydroxyles (Nurzyńska-Wierdak, 2023).

Ils sont principalement synthétisés à partir des hydrates de carbone via les voies de l'acide shikimate et de l'acétate (Auger et al., 2014). Ils font partie du système immunitaire de la plante, permettant la défense contre les parasites et les rayons UV (Abdel-Moneim et al., 2020).

4. Plantes à activité antioxydante

Au vu de l'importance des plantes médicinales en phytothérapie, de nombreuses plantes ont été étudiées pour leur capacité antioxydante. Certains laboratoires de recherches de l'université de Tlemcen ont réalisé de nombreuses études sur plusieurs plantes médicinales, parmi eux, nous retrouvons les exemples cités dans le **tableau 2**.

Tableau 2: Tableau représentant quelques-unes des plantes dont le potentiel antioxydant a été étudié à Tlemcen

| Nom de la plante | Famille | Partie utilisée | Piégeage du radical DPPH (CI₅₀) | Références |
|---------------------------|----------------|------------------------|---|--------------------------------------|
| <i>Olea europaea</i> | Oléacée | Feuilles | 14,29 µg/ml | (Ghaffour et Rahmani, 2020) |
| <i>Inula viscosa</i> | Astéracées | Feuilles | 0,33 mg/ml | (Lakhal, 2020) |
| <i>Pinus halepensis</i> | Pinacées | Fruits (Cônes) | 13,13 µg/ml | (Belarbi, 2020) |
| <i>Crocus sativus</i> | Iridacée | Partie aérienne | 0,548 mg/ml | (Benkhaldi et Benyoubi, 2022) |
| <i>Salvia officinalis</i> | Lamiacée | Partie aérienne | 26,63 µg/ml | (Mimoun et Matallah, 2022) |

Chapitre 2 :

Plante étudiée (*Urtica dioica*)

1. Introduction

Urtica dioica L., également connue sous le nom de plante d'ortie, est une plante herbacée vivace qui pousse dans les régions arides, tempérées et tropicales du monde entier). (Asgarpanah & Mohajerani, 2012). *Urtica* comprend environ 2000 espèces dans 54 genres (Assaf et al., 2020).

Urtica dioica L. est une plante à fleurs de la famille des Urticaceae et au genre *Urtica*, Elle est considérée comme une plante thérapeutique. L'ortie est un aliment très nutritif, facilement digestible et riche en minéraux (Dhouibi et al., 2020).

Depuis près d'un siècle, l'ortie est considérée comme un aliment ou une portion d'aliment ayant des propriétés thérapeutiques et censées prévenir et traiter les maladies (Bhusal et al., 2022).

2. Habitats et Origine

Originnaire des régions tempérées d'Eurasie, l'ortie est une plante qui est naturalisée sur tous les continents tempérés comme l'Afrique, l'Amérique, l'Asie, l'Australie et l'Europe (Rawat et al., 2020 ; Ghedira, 2009). Elle pousse dans les sols riches en azote, et peut atteindre jusqu'à un mètre de hauteur (Ghedira, 2009).

3. Dénomination

Les noms vernaculaires d'*Urtica dioica* L. (Ait Haj Said et al., 2016) sont les suivants :

- Nom latin : *Urtica dioica* L. Syn.
- Noms anglais : Nettle, Common nettle, Stinging nettle, Tall nettle, Slender nettle, Greater nettle.
- Noms français : Ortie dioïque, Grande ortie, Ortie piquante, Ortie élevée.
- Noms arabes : الحريكة، القراص (Hourriga, al quarâs).
- Noms espagnols : Ortiga, Ortiga gran, Ortiga grossa, Ortiga major, Ortiga inayor.
- Noms allemands : Brennessibatter, brennessel-kraut, Nesslkraut, Haarnesselkr.

4. Classification botanique

La classification botanique de l'Ortie (Toubal, 2018) est comme suit :

- Règne : Plantae (plantes).
- Sous-règne : Tracheobionta (plantes vasculaires).

- **Embranchement** : Magnoliophyta (phanérogames).
- **Sous-embranchement** : Magnoliophytina (angiospermes).
- **Classe** : Rosidaeae.
- **Sous-classe** : Rosidaeae dialycarpellées.
- **Ordre** : Rosales.
- **Famille** : Urticaceae.
- **Genre** : *Urtica* L.
- **Espèce** : *Urtica dioïca* L (**figure 7**).



Figure 7 : *Urtica dioïca* L. (Asgarpanah & Mohajerani, 2012).

5. Description botanique

5.1 Appareil végétative

5.1.1 Feuilles

Les feuilles (**Figure 8**) sont vert foncé, ovales ou oblongues, alternes et dentelées des deux côtés. La base est en forme de cœur et présente des poils urticants des deux côtés (Taheri et al., 2022). Ils mesurent environ 3 à 5 cm de long et sont portés de manière opposée sur une tige verte dressée (Asgarpanah & Mohajerani, 2012).



Figure 8 : Feuille d'*Urtica dioïca* L. (Asgarpanah & Mohajerani, 2012).

5.1.2 Tiges

Les tiges d'ortie sont vertes (**Figure 9**), rigide et lisse à l'intérieur. Ils sont fibreux et durs, mais peuvent être percés. Ils ont une couverture de pointes et de poils durs appelés indument (en Latin : indumentum) (Taheri et al., 2022).



Figure 9 : Tige dressée d'*Urtica dioïca* (Reaume, 2010).

5.1.3 Poils urticants

U. dioïca se caractérise par la présence de poils unicellulaires en forme de cône (**Figure 10**) sur le dessus des feuilles et des tiges. Ils sont constitués d'un bulbe enrobé de silice et surmonté d'une pointe incurvée (Draghi, 2005).



Figure 10 : Poils urticants d'*Urtica dioïca* (Asgarpanah & Mohajerani, 2012).

Deux parties peuvent être distinguées dans les poils :

- Une base qui est semblable à une ampoule renfermant plusieurs molécules urticantes dont, l'acétylcholine, la sérotonine, l'histamine, l'acide formique, le formiate de sodium et le leucotriène.
- Une pointe effilée à l'apparence d'une aiguille, couverte d'une petite boule qui se brise facilement lors d'un contact. Après un contact de cette pointe, le contenu sort de l'ampoule qui pénètre dans la peau, provoquant ainsi, une irritation locale (Wichtl & Anton, 2003 ; Mor, 2014).

5.1.4 Racines

Le système racinaire (**figure 11**) est composé d'une racine pivotante qui se ramifie en racelles fines permettant à l'ortie de se propager (Ait Haj Said et al., 2016). Les rhizomes et les stolons s'étendent largement et sont de couleur jaune vif, tout comme les racines vivaces (Asgarpanah & Mohajerani, 2012).



Figure 11 : Racines d'*Urtica dioïca* L. (Asgarpanah & Mohajerani, 2012).

5.2 Appareil reproducteur

5.2.1 Fruits et graines

Le fruit (figure 12) de l'ortie est constitué d'un akène ovale de couleur brune jaunâtre. Il est entouré d'un calice persistant et de quatre folioles. Il contient une seule graine, albuminée à embryon. Les Orties peuvent se reproduire sexuellement et asexuellement (Fleurentin & Hayon, 2008).

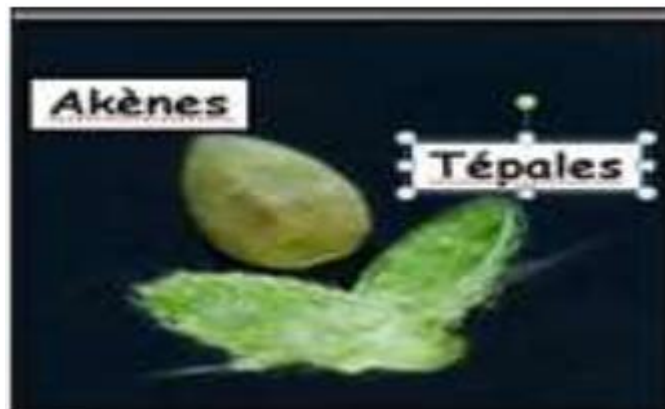


Figure 12 : Fruit d'*Urtica dioïca* L. (Reaume, 2010).

5.2.2 Fleurs

Les fleurs sont vertes et fleurissent de mai à octobre. Chacun d'eux mesure 2 à 8 cm de long à partir de l'aisselle des feuilles supérieures (Reaume, 2010). Les fleurs (figure 13) sont unisexuées, comprenant un ovaire avec de nombreux cristaux d'oxalate de calcium en grappe très petits et des grains de pollen sphéroïdaux avec une exine lisse et un diamètre de 16 à 20 m (Upton, 2013).

- **Fleurs femelles** : Les fleurs femelles sont vertes et ont un ovaire uniloculaire et anovulatoire avec un style en brosse et un stigmate (Ait Haj Said et al., 2016).
- **Fleurs mâles** : Les fleurs mâles sont jaune pâle avec quatre étamines et de longs filaments élastiques pliés en bourgeons (Ait Haj Said et al., 2016).



Figure 13 : Fleurs mâles et femelles d'*Urtica dioïca* (Reaume, 2010).

6. Composition chimique d'*Urtica dioïca* L.

Les composés phytochimiques communément connus d'*U. dioïca* (figure 14) sont les flavonoïdes, les tanins, les composés volatils et les stérols (Rawat et al., 2020 ; Asgarpanah & Mohajerani, 2012 ; Joshi et al., 2014 ; Bhusal et al., 2022).

Les feuilles d'Ortie sont riches en flavonoïdes, ainsi qu'en composés phénoliques acides organiques, vitamines et sels minéraux. La racine contient des lectines, des polysaccharides, des stérols et des lignanes (Ait Haj Said et al., 2016).

Selon Ghedira (2009), Les principaux composants dans les parties aériennes sont :

- **Acides phénols** : Acide caféique et ses esters (acide caféyl-malique), acide chlorogénique, acide néochlorogénique.
- **Flavonoïdes** : 3-glucosides et 3-rutinosides du quercétol, du kaempférol et de l'isorhamnétol.
- **Neuromédiateurs** : Histamine, acétylcholine, sérotonine, leucotriènes, choline acétyltransférase.
- **Minéraux** : Calcium, potassium et silicates.

- **Autres constituants** : Scopolétole, sitostérol, glycoprotéines, lipides, sucre, acides aminés libres, vitamine C, chlorophylle, vitamine K, huile essentielle et tanins.

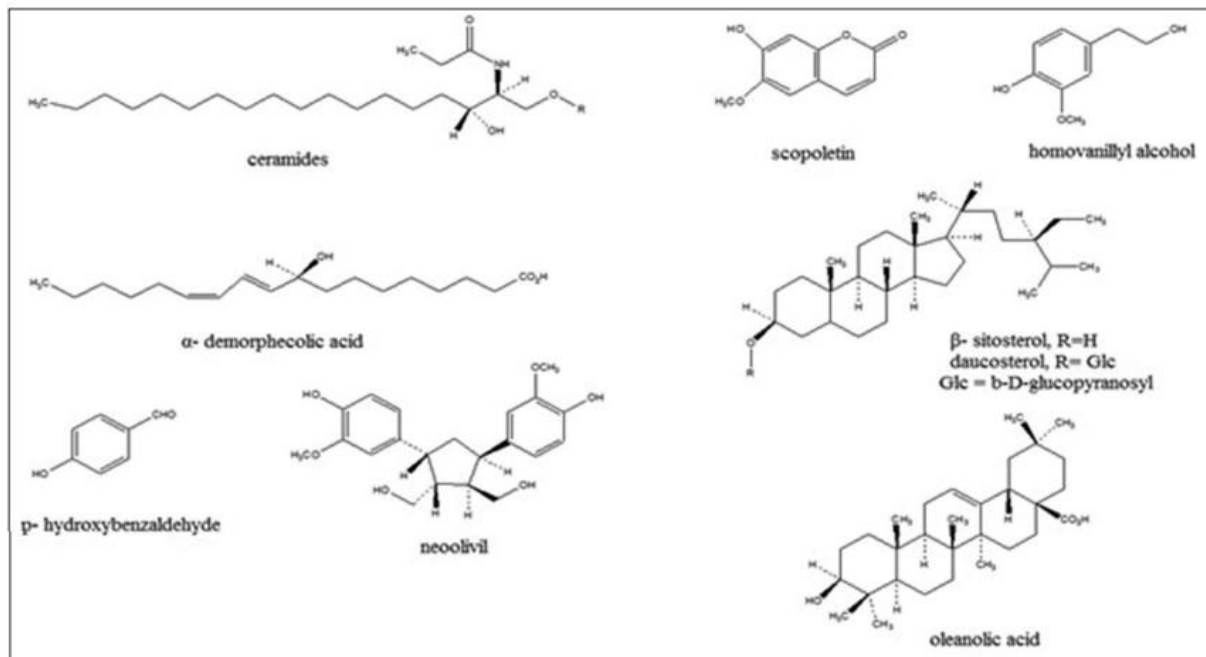


Figure 14 : Structures des constituants chimiques d'*Urtica dioïca* L. (Joshi et al., 2014).

7. Utilisations thérapeutiques de la plante

L'Ortie est l'une des plantes les plus connues en médecine traditionnelle. Plusieurs études scientifiques ont montré qu'elle possède de nombreuses propriétés médicinales.

Toutes les parties de l'ortie sont utilisées en médecine traditionnelle (Ait Haj Said et al., 2016). Elle est utilisée comme anti-inflammatoires, anticancéreuses, antioxydantes antidiabétiques, antimicrobiennes, antivirales (Taheri et al., 2022), diurétiques antihypertensives, purifiantes, hémostatiques, antiasthéniques, antianémiques antispasmodiques, antirhumatismales, et comme remède contre les maux de tête et les rhumes (Ait Haj Said et al., 2016).

D'autres utilisations traditionnelles ont également été décrites dans la littérature, comme dans le traitement de la tuberculose, des calculs biliaires et des calculs rénaux. Elle est utilisée par voie topique pour traiter les plaies buccales et les hémorroïdes. Ses graines sont prises par voie orale pour leurs propriétés émulsionnantes et aphrodisiaques, et sont utilisées par voie topique contre la gale et le prurit (Ait Haj Said et al., 2016). Elle est également utilisée dans de nombreux autres domaines tels que l'agriculture, les arts culinaires ou le textile (Draghi, 2005).

Partie expérimentale

Matériel et Méthodes

Notre partie expérimentale a été effectuée au sein du laboratoire de recherche LAPSAB : « Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie, Synthèse et Activités Biologiques », Faculté des sciences de la nature et de la vie, des sciences de la terre et l'univers (SNV-STU) Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen.

Dans ce mémoire de master, nous nous intéressons à réaliser deux parties :

- ✓ Une étude phytochimique qualitative et quantitative
- ✓ Une évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts hydroéthanolique et hydroacétonique de la partie aérienne de l'ortie : *Urtica dioïca*.

1. Analyse phytochimique

1.1. Matériel végétal

La partie aérienne d'*Urtica dioïca*, comprenant les feuilles et les tiges, a été récoltée en Février 2023, dans la région de Maghnia - Wilaya de Tlemcen. Les deux parties ont été récoltées la veille de leur utilisation dans la partie expérimentale de notre étude.

1.2. Préparation des extraits bruts d'*Urtica dioïca* L.

Les extraits bruts hydroéthanoliques et hydroacétoniques, ont été obtenus par une macération de 72 heures, à une température ambiante et à l'abri de la lumière.

Cette préparation des deux extraits consiste à macérer 20 g de la partie aérienne fraîche de l'ortie avec 200 ml de deux systèmes de solvants : eau/acétone et eau/éthanol. Les deux systèmes sont préparés dans les proportions de (30/70) (v/v).

Après une macération de 72 heures, les deux mélanges ont été filtré sur papier filtre et les filtrats ont été évaporé par un évaporateur rotatif (rotavapor) à 45°C pour éliminer les phases organiques de chaque extrait. Les extraits aqueux obtenus ont été placés dans l'étuve à une température de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 24 heures. Les résidus des extraits hydroacétoniques et hydroéthanoliques ont été récupérés, puis, conservés jusqu'à leur utilisation.

1.3. Rendement de l'extraction

Le rendement de l'extraction, exprimé en pourcentage, représente le rapport entre la masse de l'extrait préparé après évaporation de son solvant (M) et la masse du matériel végétal utilisé au début de l'extraction (M_0).

Pour chaque extrait brut de l'ortie, nous avons calculé le pourcentage en rendement d'extraction par la formule ci-dessous.

$$R (\%) = \frac{M}{M_0} \times 100$$

Où,

- ✓ **R** : Rendement en pourcentage (%) ;
- ✓ **M** : Masse de l'extrait brut sec (hydroéthanolique et hydroacétonique) obtenu après une extraction (en gramme) ;
- ✓ **M₀** : Masse de la partie aérienne de l'ortie avant l'extraction (en gramme).

1.4. Analyse phytochimique qualitative des extraits bruts de l'ortie

Afin de détecter la présence des classes chimiques contenues dans les extraits bruts préparés à partir d'*Urtica dioïca*, une étude phytochimique qualitative a été réalisée. Cette étude est réalisée par des tests basés sur le changement de coloration et la formation de précipité (**Bruneton, 1999 ; Harbone, 1998**).

1.4.1. Alcaloïdes

Dans un tube, introduire 0,5 ml de l'extrait, puis, l'acidifier par une solution d'acide chlorhydrique HCl à 1 %. Diviser la solution dans deux tubes et ajouter quelques gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube et quelques de réactif de Wagner dans le deuxième tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement, révèle la présence des alcaloïdes.

1.4.2. Composés phénoliques

a. Tanins

Dans un tube, ajouter quelques gouttes de la solution aqueuse de chlorure de fer FeCl₃ à 1 % à 0,5 ml d'extrait. L'apparition d'une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre révèle la présence des tanins.

b. Flavonoïdes

Dans un tube, ajouter à 0,5 ml d'extrait, un volume de 0,5 ml d'une solution d'acide chlorhydrique à 1 % et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rouge rose ou jaune indique la présence des flavonoïdes.

c. Quinones libres

Dans un tube, ajouter à 1 ml d'extrait, 0,1 ml d'hydroxyde de sodium NaOH à 1 %. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violette révèle la présence des quinones libres.

d. Anthraquinones

Dans un tube, ajouter 0,5 ml de NH_4OH à 10 % à un volume de 0,5 ml d'extrait, puis agiter. L'apparition d'une coloration violette révèle la présence des anthraquinones.

1.4.3. Saponines

Introduire 5 ml d'extrait dans un tube, agiter pendant 15 secondes. Laisser le mélange au repos pendant 15 minutes. Une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 cm indique la présence des saponines.

1.4.4. Terpénoïdes : Test de Slakowski

Ajouter 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml de l'acide sulfurique concentré à 1 ml d'extrait. La présence des terpénoïdes est indiquée par la formation de deux phases avec une interphase de couleur marron.

1.4.5. Composés réducteurs

Dans un tube, ajouter 1 ml de liqueur de Fehling (0,5 ml Liqueur de Fehling A et 0,5 ml Liqueur de Fehling B) à 1 ml d'extrait et incuber l'ensemble pendant 8 minutes dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

1.5. Dosage des composés phénoliques

1.5.1. Dosage des composés phénoliques totaux

Pour déterminer la quantité en composés phénoliques totaux dans nos extraits bruts étudiés, nous avons suivi la méthode de dosage décrite par **Vermerius & Nicholson (2006)**.

Le principe de la méthode repose sur une réaction chromogénique avec le réactif de Folin-Ciocalteu, de couleur jaune, constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_4$), qui induit l'oxydation des composés phénoliques et la formation d'un complexe bleu « tungstène (W_8O_{23}) - molybdène

(Mo_8O_{23}) ». L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 700 nm (**Vermerius & Nicholson, 2006**).

○ Mode opératoire

Les extraits bruts hydroéthanolique ou hydroacétonique (100 μl) à une concentration de 1 mg/ml, sont mélangés avec 2 ml de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 2 %. Après agitation et une incubation de 5 minutes, 100 μl de réactif Folin-Ciocalteu à 1N sont additionnée à chaque extrait brut. Les solutions sont incubées pendant 30 minutes à l'abri de la lumière et à une température ambiante. La mesure des absorbances est effectuée à la longueur d'onde de 700 nm.

En parallèle, nous avons préparé une gamme d'étalonnage, dans les mêmes conditions expérimentales, en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations allant de 50 à 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Ce test est effectué en triplicate pour la gamme d'étalonnage, ainsi que pour les extraits bruts de l'ortie. Les résultats sont exprimés en μg équivalent acide gallique par mg de l'extrait.

1.5.2. Dosage des flavonoïdes

Pour quantifier les flavonoïdes contenus dans les extraits bruts d'*U. dioica*, nous avons réalisé un dosage quantitatif colorimétrique selon la méthode de **Zhishen et al (1999)**. Le principe de cette méthode repose sur l'oxydation des flavonoïdes par le nitrite de sodium (NaNO_2) et le chlorure d'aluminium (AlCl_3), en milieu alcalin pour former un complexe rose qui absorbe à la longueur d'onde de 510 nm (**Zhishen et al, 1999**).

○ Mode opératoire

Un volume de 250 μl des extraits bruts de concentration de 1mg/ml, est mélangé avec 1 ml de l'eau distillée et 75 μl du réactif de nitrite de sodium (NaNO_2) à la concentration de 15 %. Après 6 minutes d'incubation à température ambiante, 75 μl du réactif de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à la concentration de 10 % sont ajoutés, puis, les solutions sont incubées une nouvelle fois pendant 6 minutes.

Ensuite, 1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à une concentration de 4 %, est additionnée, et le volume total de chaque solution des extraits bruts est complétée par de l'eau distillée à 2,5 ml.

Après agitation et incubation à la température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 minutes, les absorbances sont mesurées à la longueur d'onde de 510 nm contre un blanc.

Une gamme d'étalonnage de la catéchine à différentes concentrations allant de 10 à 300 µg/ml, est préparée en parallèle, dans les mêmes conditions expérimentales précédents.

Ce test est effectué en triplicate pour la gamme d'étalonnage, ainsi que pour les extraits bruts de l'ortie. Les résultats sont exprimés en µg équivalent catéchine par mg de l'extrait.

2. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts d'*Urtica dioïca*

2.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

2.1.1. Principe de la méthode

La méthode de piégeage du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine), est l'une des techniques les plus couramment utilisées pour mesurer l'activité anti-radicalaire des extraits de plantes médicinales.

La présence de ces radicaux libres laisse apparaître une solution de couleur violette absorbant près de 517 nm. La réduction de ces radicaux libres DPPH par les antioxydants permet de changer la couleur de la solution, qui va devenir incolore (**figure 15**) (**Référence**).

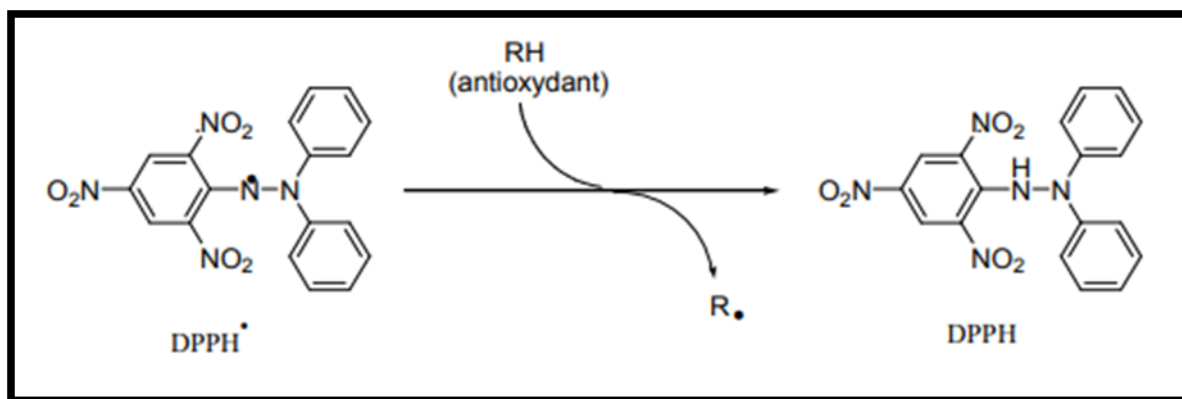


Figure 15 : Réaction entre le DPPH• et le composé antioxydant pour former le DPPH (Sarr et al., 2015).

2.1.2. Mode opératoire

Pour évaluer l'activité antioxydante, nous avons suivi le protocole décrit par **Atoui et al., 2005**.

À un volume de 975 µl d'une solution méthanolique de DPPH d'une concentration de $6,34 \times 10^{-5} \text{M}$, est additionné un volume de 25 µl des deux extraits bruts d'*Urtica dioïca* à différentes concentrations préparées. Pour chaque concentration des extraits testés, un blanc est préparé, par addition de 975 µl de méthanol et de 25 µl de l'extrait à tester.

Le contrôle négatif est préparé en parallèle, en mélangeant 25 µl de méthanol avec 975µl de la solution méthanolique de DPPH. Après une incubation de 30 minutes à l'abri de la lumière et à température ambiante, les absorbances sont mesurées à la longueur d'onde de 517 nm.

L'acide ascorbique, à différentes concentrations, est testé comme contrôle positif dans cette technique, et dans les mêmes conditions expérimentales.

Cette méthode a été réalisée en triplicate pour chaque extrait brut, ainsi que l'acide ascorbique. Le pourcentage d'inhibition (PI) est calculé selon la formule ci-dessous.

$$PI (\%) = \frac{Ac - Ae}{Ac} \times 100$$

Où,

Ac : Absorbance du contrôle négatif ;

Ae : Absorbance de l'échantillon à tester.

2.2. Réduction du fer (FRAP) des extraits d'*Urtica dioïca*

2.2.1. Principe de la méthode

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette méthode est développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) (**Hubert, 2006**).

Dans cette technique, la couleur jaune de la solution vire au vert et bleu, selon le pouvoir réducteur de l'échantillon testé. Une absorbance élevée à 700 nm indique un pouvoir réducteur élevé (**Zovko Končić et al., 2010**).

2.2.2. Mode opératoire

La méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power), est réalisée selon le protocole de **Karagözler et al (2008)**.

Les extraits bruts d'*Urtica dioïca* (100 µl) sont mélangés avec 250 µl de tampon phosphate à la concentration de 0,2 M et un pH 6,6, et 250 µl de ferricyanure de potassium à 1 %. Le mélange est incubé à une température de 50° C, pendant 20 minutes.

Après cette incubation, un volume de 250 µl d'acide trichloroacétique à 10 % est ajouté pour stopper la réaction. Ensuite, les solutions sont centrifugées pendant 10 minutes à 3000 rpm, et un volume de 500 µl des surnageants sont prélevés, puis, additionnés à 500 µl d'eau distillée et 100 µl de la solution de chlorure de fer à 0,1 %. Les absorbances sont mesurées par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 700 nm.

L'acide ascorbique a été utilisé dans ce test, comme un contrôle positif à différentes concentrations et dans les mêmes conditions expérimentales.

Cette méthode a été réalisée en triplicate pour chaque extrait, ainsi que pour l'acide ascorbique.

Résultats et Discussion

1. Rendement des extraits bruts d'*Urtica dioïca*

Les extraits bruts, hydroéthanolique et hydroacétonique de la partie aérienne d'*Urtica dioïca*, ont été préparés par une macération de 72 heures. Les rendements d'extraction, ainsi que certaines caractéristiques physico-chimiques de chaque extrait brut sont résumés dans la **figure 16** et le **tableau 3** :

Tableau 3 : Caractéristiques des extraits bruts hydroéthanolique et hydroacétonique de la partie aérienne d'*Urtica dioïca*.

| Extraits | Rendement (%) | Couleurs | Aspects | Solubilités |
|-------------------------|---------------|-------------|----------|---------------|
| Hydroéthanolique | 1,66 | Vert claire | Pâteux | Eau / éthanol |
| Hydroacétonique | 1,8 | Vert foncé | Visqueux | Eau distillée |

A travers les résultats obtenus, nous avons constaté que les deux extraits bruts de l'ortie présentent une couleur verte. L'extrait hydroacétonique a un aspect pâteux, et est soluble dans l'eau distillée, alors que l'extrait hydroéthanolique, avec un aspect visqueux, est soluble dans un système eau-éthanol aux proportions (50/50) (v/v).

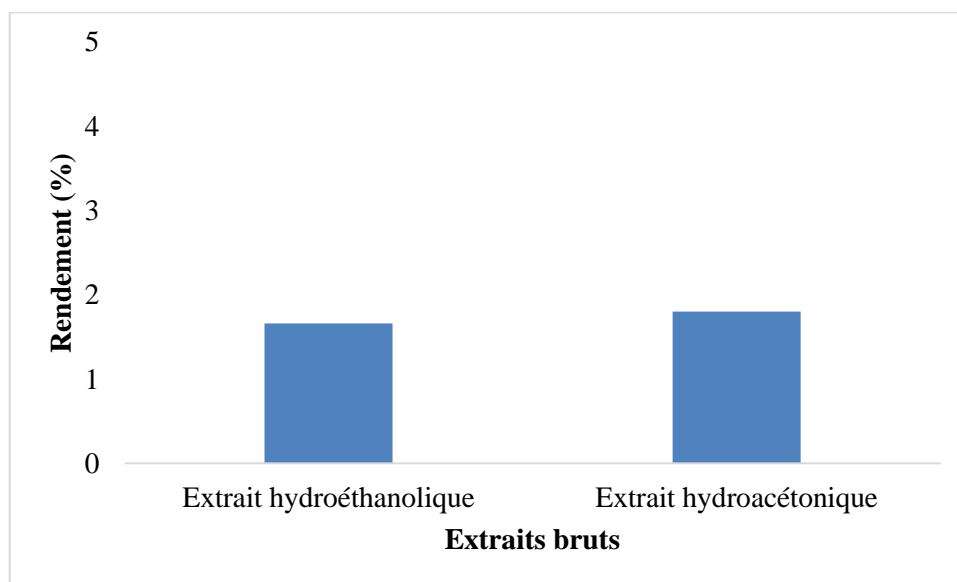


Figure 16 : Rendement des extraits bruts de la partie aérienne d'*Urtica dioïca*.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait brut hydroacétonique a un rendement légèrement élevé (1,8%), par rapport à celui de l'extrait brut hydroéthanolique (1,66%).

Grace à l'étude faite par **Ounough & Yalaoui (2022)** sur les extraits macérés pendant 24 heures des feuilles de l'ortie, les auteurs ont obtenu un rendement de l'ordre de $20,592 \pm 0,27$ % pour l'extrait éthanolique 70%, suivi de l'extrait acétonique 70% ($19,708 \pm 0,24$ %). Ces valeurs sont supérieures à ceux obtenus dans notre étude (**Ounough & Yalaoui, 2022**).

Plusieurs facteurs peuvent influencer et contribuer à la variation des rendements des extraits de plantes, notamment les espèces végétales étudiées, l'organe utilisé pour réaliser l'extraction, les conditions de séchage de la plante, la teneur en composés chimiques par espèce, le choix du solvant ou système de solvant, et les méthodes d'extraction et/ou de fractionnement (**Zbadi et al., 2018**).

2. Screening phytochimique qualitatif

Nous avons réalisé des tests phytochimiques qualitatifs sur les extraits bruts macérés d'*Urtica dioïca*, afin de détecter la présence ou l'absence des composés phytochimiques de l'ortie. Les résultats obtenus de ces tests, sont mentionnés dans le **tableau 4**.

Tableau 4 : Résultats des tests phytochimiques qualitatifs des extraits bruts de la partie aérienne d'*Urtica dioïca*.

| Classes chimiques | | Extrait hydroacétonique | Extrait hydroéthanolique |
|---------------------------|----------------|-------------------------|--------------------------|
| Alcaloïdes | Test de Mayer | - | - |
| | Test de Wagner | ++ | ++ |
| Tanins | | +++ | ++ |
| Flavonoïdes | | - | - |
| Quinones libre | | - | - |
| Anthraquinones | | - | - |
| Terpénoïdes « Slakowski » | | - | - |
| Saponines | | - | - |
| Composés réducteurs | | +++ | +++ |

(-) : Test négatif ; (+) : test faiblement positif ; (++) : test moyennement positif ; (+++) : test fortement positif.

D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué la présence des alcaloïdes avec le réactif de Wagner, les tanins et les composés réducteurs dans les deux extraits bruts hydroacétonique et hydroéthanolique, préparés à partir des parties aériennes d'*Urtica dioïca*.

Par contre, nous avons noté l'absence totale des alcaloïdes avec le réactif de Mayer, les flavonoïdes, les quinones libres, les anthraquinones, les terpénoïdes et les saponines dans les deux extraits bruts préparés d'*U. dioïca*.

Diverses molécules phytochimiques, notamment les flavonoïdes, les acides phénoliques (composés dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide cinnamique), les caroténoïdes et autres composés ont été rapportés dans les différentes parties d'*Urtica dioïca*, et la plupart des études phytochimiques se sont concentrées sur les feuilles (**Devkota et al., 2022**).

Parmi les composants chimiques bioactifs des feuilles d'*U. dioïca* rapportés dans certains travaux scientifiques, les flavonoïdes (dont, l'apigénine, l'apigénine 7-O- β -d-glucoside, la catéchine, l'épicatéchine, le kaempférol, le kéampférol 3-O- β -d-glucoside, la lutéoline, la lutéoline 7-O- β -d-glucoside, la naringénine, la quercétine, la quercétine 3-O- β -d-glucoside, la quercétine 3-O- β -d-galactoside et la rutine) (**Otles & Yalcin, 2012 ; Orcic et al., 2014 ; Đurović et al., 2017**), les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (acide gallique, acide vanillique, acide syringique, acide protocatéchuique et acide gentsique) et les dérivés de l'acide cinnamique (acide cinnamique, acide caféique, acide p-coumarique, acide férulique, acide chlorogénique et acide sinapique) (**Otles & Yalcin, 2012 ; Orcic et al., 2014 ; Đurović et al., 2017**).

3. Dosage des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes

Les teneurs en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes des deux extraits bruts d'*Urtica dioïca*, ont été déterminées par des méthodes colorimétriques. Des courbes d'étalonnage ont été tracées pour l'acide gallique (dosage des composés phénoliques totaux) et la catéchine (dosage des flavonoïdes) (**figure 17** et **figure 18**). Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent acide gallique / mg d'extrait ($\mu\text{g E AG/mg E}$) pour les composés phénoliques et en μg équivalent catéchine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EC/ mg E}$) pour les flavonoïdes.

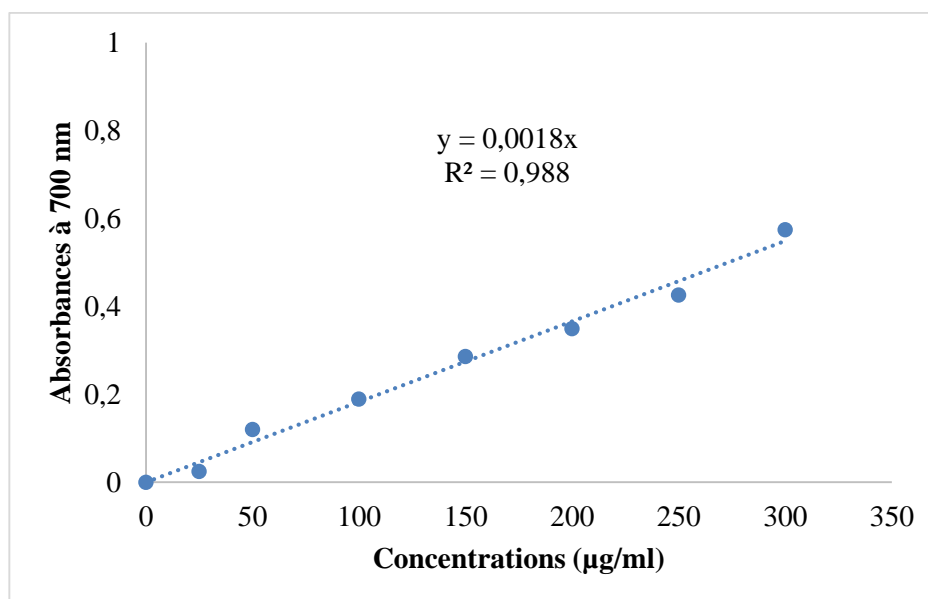


Figure 17 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques totaux.

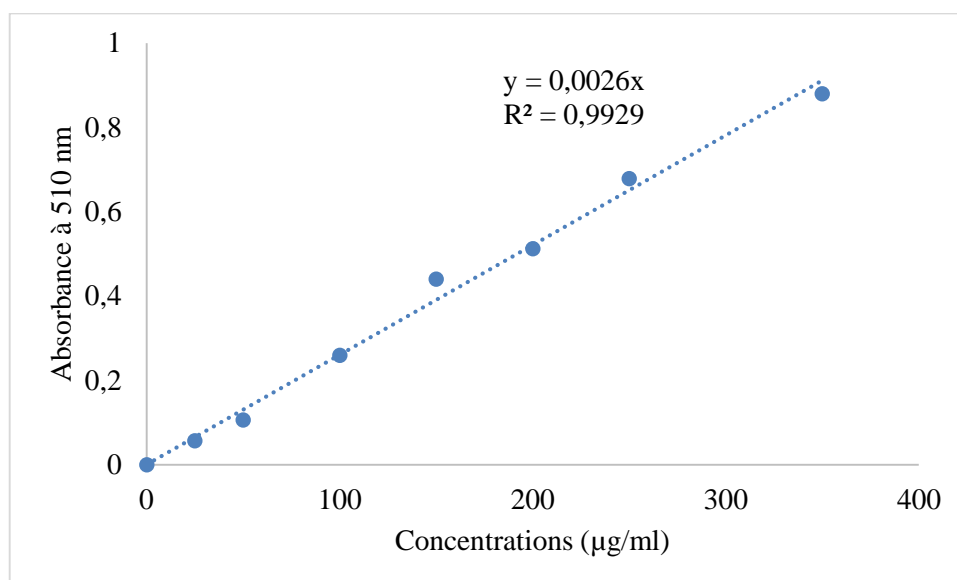


Figure 18 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des composés phénoliques totaux.

Les quantités des composés phénoliques et des flavonoïdes dans les extraits bruts hydroacétonique et hydroéthanolique, sont présentés dans le **tableau 5**.

Tableau 5 : Teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes dans les extraits d'*Urtica dioïca*.

| Extraits | Composés phénoliques totaux (μg EAG/ mg E) \pm Ecart type (n=3) | Flavonoïdes (μg EC / mg E) \pm Ecart type (n=3) |
|------------------|---|---|
| Hydroacétonique | 20,018 \pm 0,003 | 14,153 \pm 0,002 |
| Hydroéthanolique | 24,481 \pm 0,003 | 13,576 \pm 0,002 |

Comme indiqué dans le **tableau 5**, les résultats montrent que les deux extraits préparés par macération des parties aériennes d'*Urtica dioïca*, contiennent des quantités variables d'un extrait brut à l'autre, en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes.

L'extrait hydroéthanolique contient une teneur plus élevée en composés phénoliques totaux, alors que l'extrait hydroacétonique contient une teneur légèrement supérieure en flavonoïdes.

Selon **Ounough & Yalaoui (2022)**, les extraits des feuilles de l'ortie macérés pendant 24 heures dans deux solvants différents, ont également montré une teneur moyenne pour les composés phénoliques, qui est égale à $38,61 \pm 2,447 \mu\text{g}$ EAG/mg ES (extrait sec) pour l'extrait éthanolique et $62,09 \pm 4,133 \mu\text{g}$ EAG/mg ES pour l'extrait acétonique. Concernant les flavonoïdes, les auteurs mentionnent que l'extrait éthanolique a exhibé une moyenne de $25,26 \pm 0,51 \mu\text{g}$ EQ/mg ES et l'extrait acétonique contient $11,28 \pm 0,3 \mu\text{g}$ EQ/mg ES (**Ounough & Yalaoui, 2022**).

Cette différence de résultats peut être liée à plusieurs facteurs qui pourraient influencer sur les teneurs en composés phénoliques, dont les facteurs climatiques, le stade de maturité de la plante, la station de la récolte, la partie utilisée de la plante (**Djenane et al., 2019**).

De plus, d'autres paramètres expérimentaux peuvent influencer sur les quantités en composés bioactifs, comme le mode d'extraction, le temps, la température, ainsi que les solvants utilisés pour extraire ces composés chimiques bioactifs.

4. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts d'*Urtica dioïca*

4.1. Piégeage du radical libre (DPPH)

En utilisant une méthode spectrophotométrique à une longueur d'onde de 517 nm, nous avons mesuré les absorbances des extraits d'*Urtica dioïca* vis-à-vis du piégeage du radical DPPH, puis, calculer les pourcentages d'inhibition ce même radical.

Le DPPH est un radical organique stable, dont la bande d'absorption se situe entre 515 et 528 nm. Il est couramment utilisé comme réactif pour évaluer l'activité de piégeage des antioxydants. Étant donné qu'il permet de tester de nombreux échantillons en peu de temps et qu'il est suffisamment sensible pour détecter de faibles concentrations d'ingrédients actifs, il est largement utilisé pour évaluer l'activité antiradicalaire des extraits de fruits, de légumes et autres extraits (Yi et al., 2008).

Les valeurs obtenues dans notre partie expérimentale ont permis de tracer des courbes qui représentent le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits bruts des parties aériennes d'*Urtica dioïca* ou de l'acide ascorbique (contrôle positif), et qui sont illustrées dans les figures 19, 20 et 21.

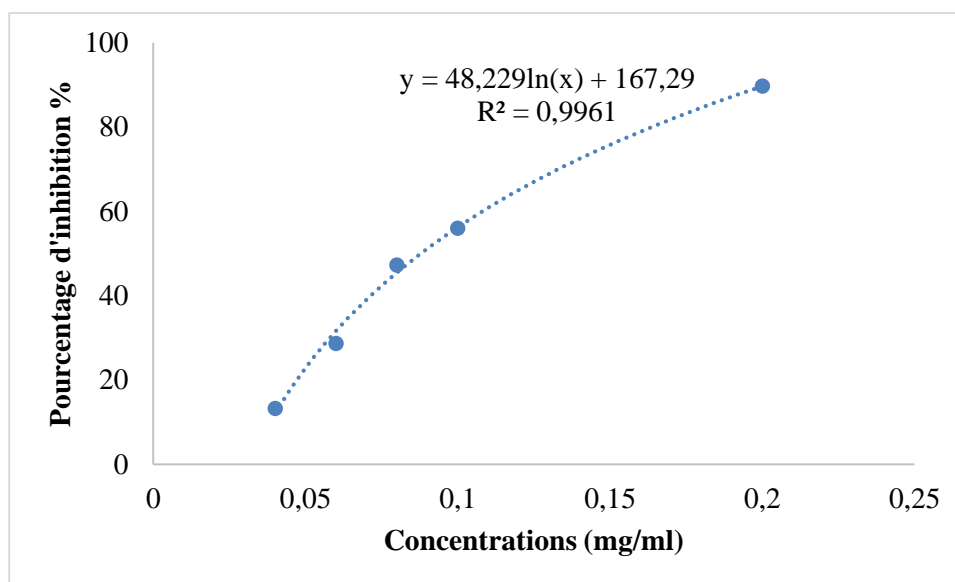


Figure 19 : Représentation de régression logarithmique des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.

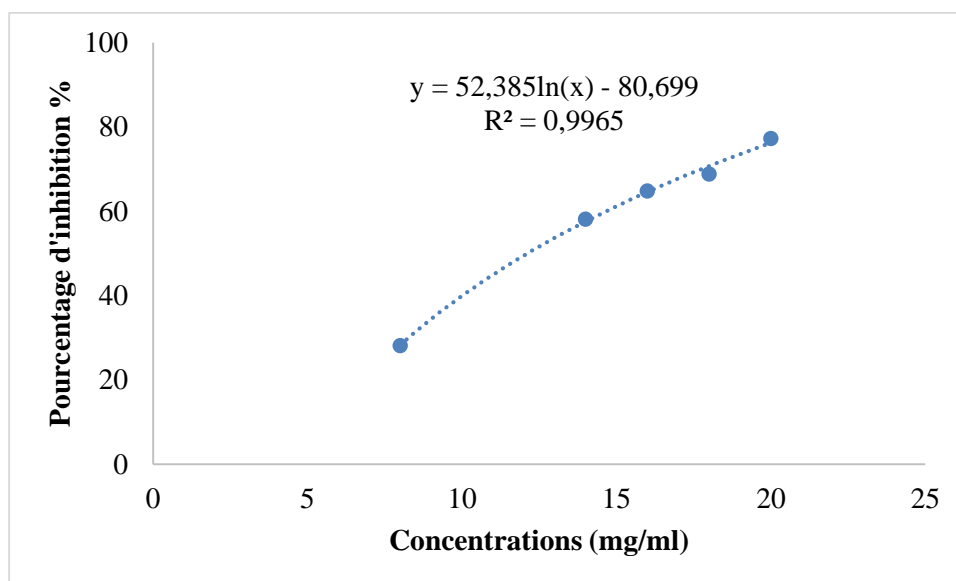


Figure 20 : Représentation de régression logarithmique des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroacétonique.

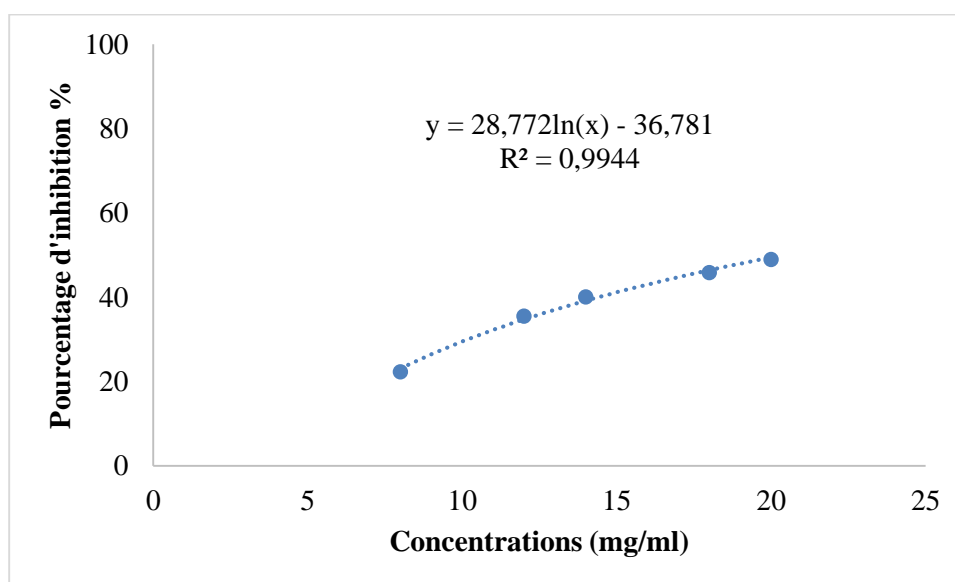


Figure 21 : Représentation de régression logarithmique des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroéthanolique.

La concentration inhibitrice moyenne 50 de la réduction du radical DPPH (CI_{50}), est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante d'une molécule antioxydante, car plus la valeur de CI_{50} est faible, plus l'activité antioxydante est élevée. La concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50 % de DPPH radicalaire est déterminée à partir de l'équation des courbes de régression logarithmique représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits préparés d'*Urtica dioica* et de l'acide ascorbique. Les résultats obtenus des CI_{50} , sont présentés dans le **tableau 6**.

Tableau 6 : Valeurs des CI_{50} des extraits bruts d'*Urtica dioïca* et de l'acide ascorbique.

| Echantillons | CI_{50} exprimée en mg/ml |
|------------------|-----------------------------|
| Acide ascorbique | $0,087 \pm 0,06$ |
| Hydroacétonique | $12,121 \pm 0,013$ |
| Hydroéthanolique | Non déterminée |

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que l'extrait brut hydroacétonique a exhibé la meilleure activité antiradicalaire, avec une valeur de CI_{50} égale à $12,121 \pm 0,013$ mg/ml, par rapport à l'extrait brut hydroéthanolique, qui est testé aux mêmes concentrations et dont la valeur de sa CI_{50} n'a pas été déterminée en expérimentation.

Ces valeurs restent inférieures en comparaison avec le résultat obtenu par **Khare et al., (2012)**, et qui ont obtenu pour l'extrait hydro-alcoolique, préparé par extraction en soxhlet de la partie aérienne d'*Urtica dioïca*, une CI_{50} de $88,33 \pm 2,88$ $\mu\text{g/ml}$ (**Khare et al., 2012**).

Ounough & Yalaoui en (2022), ont montré que l'extrait éthanolique a donné l'activité antiradicalaire sur le DPPH plus intéressante avec une valeur de CI_{50} de l'ordre de $1,76 \pm 0,07$ mg/ml. L'extrait acétonique, quant à lui, a donné une activité antiradicalaire plus faible que le premier extrait, avec une valeur de CI_{50} égale à $3,31 \pm 0,05$ mg/ml (**Ounough & Yalaoui, 2022**). Ces valeurs montrent une activité antiradicalaire meilleure par rapport à ceux obtenus dans notre étude.

Nous remarquons aussi que l'acide ascorbique (molécule de référence) exhibe le meilleur pouvoir antiradicalaire en comparaison avec les extraits bruts de notre plante, présentant une CI_{50} de l'ordre de $0,087 \pm 0,06$ $\mu\text{g/ml}$.

4.2. Réduction de fer (FRAP)

La méthode FRAP consiste à évaluer l'augmentation de l'absorbance des ions de fer (Fe^{3+}) dans les échantillons testés. Dans notre partie expérimentale, nous avons évalué l'activité antioxydante des extraits bruts des parties aériennes d'*Urtica dioïca*. Les résultats obtenus sont présentés dans les **figures 22, 23 et 24**.

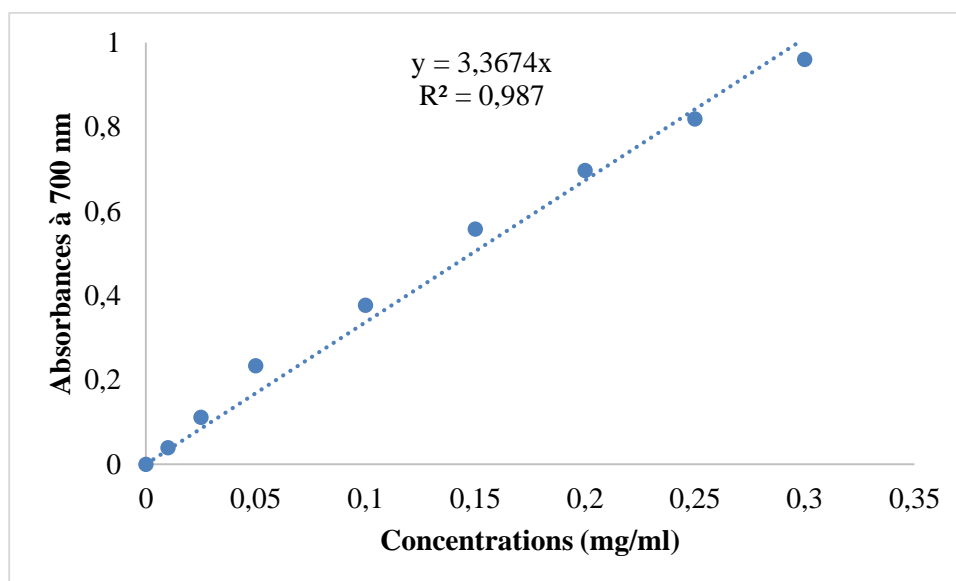


Figure 22 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.

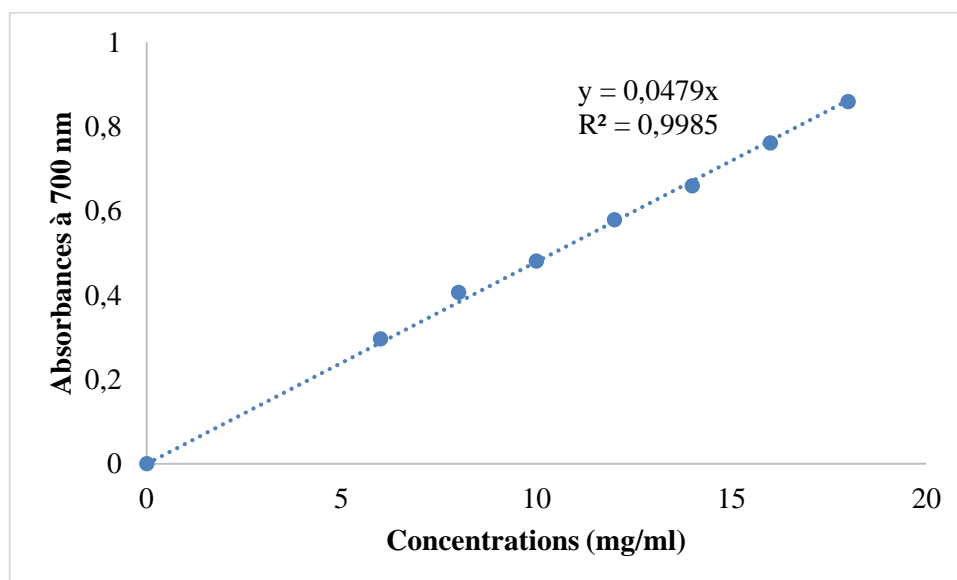


Figure 23 : Pouvoir réducteur de l'extrait brut hydroacétonique.

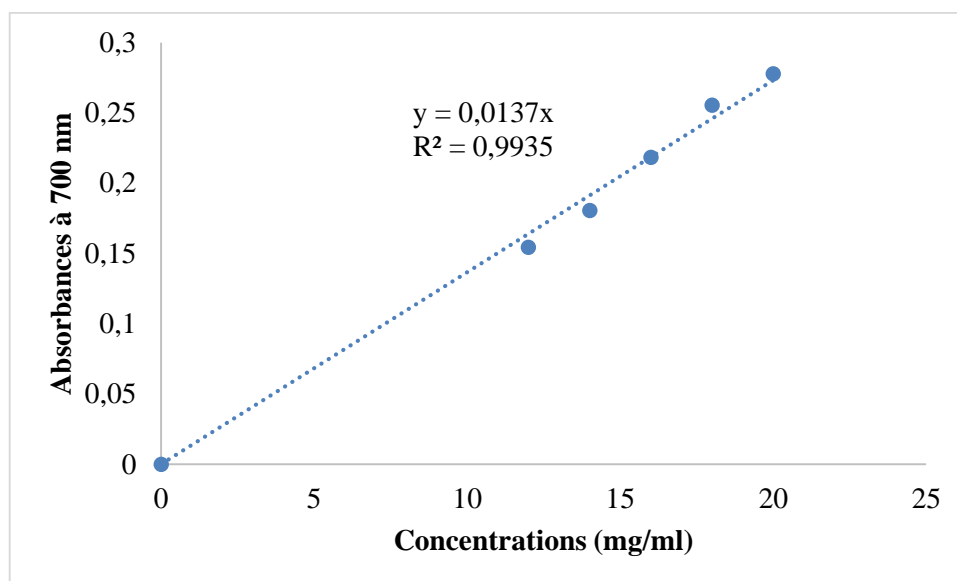


Figure 24 : Pouvoir réducteur de l'extrait brut hydroéthanolique.

Le test de réduction du fer réalisé dans notre étude, est basé sur des réactions d'oxydoréduction entre les composés de l'extrait à tester et les ions de métaux de transition (Fe^{3+}). Ces composés réduisent les ions de fer ferrique (Fe^{3+}) fournis par le ferricyanure en fer ferreux (Fe^{2+}). Une augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique une réduction développée du fer (**Ouerghemmi et al., 2017**).

Par la suite, nous avons calculé les concentrations efficaces 50 (CE_{50}) à partir des courbes de régressions linéaires précédentes et les valeurs obtenues sont présentées dans le **tableau 7**.

Tableau 7 : Valeurs des CE_{50} calculées pour les extraits hydroéthanolique, hydroacétonique et de l'acide ascorbique.

| Echantillons | CE_{50} exprimé en (mg/ml) |
|------------------|-------------------------------------|
| Acide ascorbique | $0,148 \pm 0,02$ |
| Hydroacétonique | $10,438 \pm 0,02$ |
| Hydroéthanolique | Non déterminé |

D'après le **tableau 7**, nous remarquons que l'extrait brut hydroacétonique a présenté le pouvoir réducteur le plus élevé, avec une valeur de CE_{50} de l'ordre de $10,438 \pm 0,02$ mg/ml. Cependant, nous n'avons pas pu déterminer la CE_{50} de l'extrait brut hydroéthanolique, qui a été testé aux mêmes concentrations que le premier extrait.

La valeur de CE_{50} de l'extrait hydroacétonique reste nettement inférieure à celle obtenu pour l'acide ascorbique (contrôle positif), qui a une valeur de CE_{50} de l'ordre de $0,148 \pm 0,02$ mg/ml.

Dans l'étude d'**Akrab & Mouhadi** en (2019), les auteurs ont évalué l'activité des extraits macérés des parties aériennes de l'Ortie. Parmi les quatre extraits testés, l'extrait butanolique a exhibé le meilleur pouvoir réducteur, avec une concentration de 0,33 mg/ml, suivi de l'extrait aqueux avec une CE_{50} de 0,37 mg/ml. Tandis que l'extrait de l'acétate d'éthyle et l'extrait de l'éther de pétrole ont présenté un pouvoir inférieur, avec des CE_{50} de 0,70 mg/ml et de 1,15 mg/ml, respectivement (**Akrab & Mouhadi, 2019**).

La variabilité du pouvoir réducteur des extraits, peut être expliquée par la différence quantitative et qualitative de leurs composés phénoliques. En effet, les données de la littérature indiquent que les composés phénoliques diffèrent par leurs pouvoirs réducteurs dans chaque plante étudiée (**Ouerghemmi et al., 2017**).

Conclusion

La présente étude réalisée dans notre mémoire de master, s'intéressait à réaliser une analyse phytochimique et une évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts hydro-acétonique et hydro-éthanolique de la partie aérienne d'*Urtica dioïca* L.

L'analyse phytochimique réalisée sur les extraits bruts de l'ortie ont montré la présence des alcaloïdes avec le réactif de Wagner, les tanins, ainsi que les composés réducteurs. Cependant, les flavonoïdes, les quinones libres, les anthraquinones, les terpénoïdes et les saponines étaient absents dans les deux extraits bruts.

Pour le dosage des composés phénoliques, l'extrait hydro-éthanolique a montré une teneur légèrement élevée en composés phénoliques totaux, avec une quantité de $24,481 \pm 0,003$ mg EAG /g d'extrait. Cependant, l'extrait hydro-acétonique a montré plus élevée en flavonoïdes, avec une quantité de $14,153 \pm 0,002$ mg EC /g d'extrait.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts de la partie aérienne d'*Urtica dioïca*, a été réalisée par deux tests : le piégeage du radical libre DPPH et la réduction de fer (FRAP). Les résultats de l'activité antioxydante révèlent que l'extrait hydro-acétonique exhibe la meilleure activité pour les deux techniques testées dans notre partie expérimentale avec des valeurs de CI_{50} de $12,121 \pm 0,013$ mg/mL et de CE_{50} de $10,438 \pm 0,02$ mg/mL.

Ces résultats restent encore préliminaires et pourraient contribuer dans la réalisation d'autres études, comme :

- Utiliser d'autres méthodes d'extraction (décoction, ...) et d'autres solvants d'extraction (méthanol, chloroforme, eau distillée, éther de pétrole...), en choisissant aussi des parties différentes de la plante (racine, graine).
- Tester *in vitro* l'activité antioxydante en utilisant des méthodes différentes, comme le blanchiment du β -carotène, l'ORAC (Oxygen Radical Absorbance Activity), le piégeage du radical ABTS (2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate), TRAP (Total Antioxidant Potential measurement).
- Evaluer d'autres activités biologiques de la plante *Urtica dioïca*, comme antimicrobienne, anti-inflammatoire, ...

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Abdel-Moneim, A. M. E., Shehata, A. M., Alzahrani, S. O., Shafi, M. E., Mesalam, N. M., Taha, A. E., ... & Abd El-Hack, M. E. (2020). The role of polyphenols in poultry nutrition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104(6), 1851-1866.
2. Abosaooda, M., Wajdy, J. M., Hussein, E. A., Jalil, A. T., Kadhim, M. M., Abdullah, M. M., ... & Almashhadani, H. A. (2021). Role of vitamin C in the protection of the gum and implants in the human body: theoretical and experimental studies. *International Journal of Corrosion and Scale Inhibition*, 10(3), 1213-1229.
3. Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7), 636-643.
4. Ait Haj Said, A., Sbai El Otmani, I., Derfoufi, S., & Benmoussa, A. (2016). Mise en valeur du potentiel nutritionnel et thérapeutique l'ortie dioïque (*Urtica dioïca L.*). *Hegel*, 6(3), 280-292.
5. Akrab, C., & Mouhadi, Z. (2019). Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de feuilles d'*Urtica dioïca L.* (mémoire de master). Université de Frères Mentouri Constantine 1.
6. Ambe, A. S. A., Odoh, A. E., Kanga, Y., Kouassi, R. H., & Zirihi, G. N. (2023). Activité antioxydante et détermination des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux de *Bridelia ferruginea Benth.* et *Enantia polycarpa (DC) Engl. et Diels*, deux plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la diarrhée à Abidjan. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 21(2), 46-53.
7. Asgarpanah, J., & Mohajerani, R. (2012). Phytochemistry and pharmacologic properties of *Urtica dioïca L.* *Journal of medicinal plants research*, 6(46), 5714-5719.
8. Assaf, H. K., Nafady, A. M., Allam, A. E., Hamed, A. N., & Kamel, M. S. (2020). Phytochemistry and biological activity of family. *Journal of advanced Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 3(3), 150-176
9. Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89: 27-36.
10. Auger, C., & Schini-Kerth, V. B. (2014). Potentiel des polyphénols à améliorer la protection vasculaire en stimulant la fonction endothéliale. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(4), 160-172.

11. Azzi, A. (2019). Tocopherols, tocotrienols and tocomonoenols: Many similar molecules but only one vitamin E. *Redox biology*, 26, 101259.
12. Belarbi, B. (2020). Contribution à l'étude phytochimique et à l'activité antioxydante des extraits de *Pinus halepensis* et *Centaurea pungens* (mémoire de master). université de Tlemcen.
13. Benkhaldi, A., & Benyoubi, A. (2022). Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits de *Crocus sativus* (mémoire de master). université de Tlemcen.
14. Berger, M. M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant: état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(1), 48-53°.
15. Bhusal, K. K., Magar, S. K., Thapa, R., Lamsal, A., Bhandari, S., Maharjan, R., ... & Shrestha, J. (2022). Nutritional and pharmacological importance of stinging nettle (*Urtica dioica* L.): A review. *Heliyon*, e09717.
16. Bousta, D., & Ennabili, A. (2011). L'Institut national des plantes médicinales et aromatiques au service du développement de la phytothérapie au Maroc. *Phytothérapie*, 9(5), 297-303).
17. Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales* (4ème Ed.). Paris: Lavoisier.
18. Defraigne, J. O., & Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63.
19. Delahaye, J. (2015). Utilisations de l'ortie-*Urtica dioica* L. : étude bibliographique (Thèse de doctorat en pharmacie). Université de Rouen.
20. Derbré, S. (2016). Proposer des solutions efficaces et sûres en phytothérapie. *Actualités pharmaceutiques*, 55(557), 47-53).
21. Devkota HP, Paudel KR, Khanal S, Baral A, Panth N, Adhikari-Devkota A, Jha NK, Das N, Singh SK, Chellappan DK, Dua K, Hansbro PM (2022). Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.): Nutritional composition, bioactive compounds, and food functional properties. *Molecules*. 27 (16) : 5219.
22. Dhoubi, R., Affes, H., Salem, M. B., Hammami, S., Sahnoun, Z., Zeghal, K. M., & Ksouda, K. (2020). Screening of pharmacological uses of *Urtica dioica* and others benefits. *Progress in biophysics and molecular biology*, 150, 67-77.

23. Djenane, D., Gómez, D., Yangüela, J., Roncalés, P., & Ariño, A. (2019). Olive leaves extract from algerian oleaster (*Olea europaea* var. *Sylvestris*) on microbiological safety and shelf-life stability of raw halal minced beef during display. *Foods*, 8(1), 10.
24. Draghi, F. (2005). L'Ortie dioïque (*Urtica dioica* L.) : étude bibliographique. (Thèse de Doctorat en Pharmacie). Université Henri Poincaré.
25. Ďuračková, Z., & Gvozdjaková, A. (2008). Oxidants, antioxidants and oxidative stress. In *Mitochondrial medicine*, P: 19-54. Springer, Dordrecht.
26. Đurović S, Pavlić B, Šorgić S, Popov S, Savić S, Pertonić M, Radojković M, Cvetanović A, Zeković Z (2017). Chemical composition of Stinging Nettle leaves obtained by different analytical approaches. *Journal of Functional Foods*. 32 : 18–26.
27. Eddouks, M., Ouahidi, ML, Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A., & Lemhadri, A. (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*, 5 (4), 194-203.
28. El-Missiry, M. A., Fekri, A., Kesar, L. A., & Othman, A. I. (2021). Polyphenols are potential nutritional adjuvants for targeting COVID-19. *Phytotherapy Research*, 35(6), 2879-2889.
29. Evans, W. J. (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. *The American journal of clinical nutrition*, 72(2), 647S-652S.
30. Farina, M., & Aschner, M. (2019). Glutathione antioxidant system and methylmercury-induced neurotoxicity: an intriguing interplay. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1863(12), 129285
31. Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108 (10), 863-832.
32. Favier, A. (2006, November). Oxidative stress in human diseases. In *Annales pharmaceutiques francaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396).
33. Fleurentin, J., & Hayon, J. C. (2008). *Plantes médicinales: traditions et thérapeutique*. Rennes: Éd. Ouest-France, 104-105.
34. Forni, C., Facchiano, F., Bartoli, M., Pieretti, S., Facchiano, A., D'Arcangelo, D., ... & Jadeja, RN (2019). Rôle bénéfique des composés phytochimiques sur le stress oxydatif et les maladies liées à l'âge. *Recherche BioMed internationale* , 2019 .
35. Geny, B., Charles, A. L., Lejay, A., & Meyer, A. (2019). Pollution et stress oxydant. *Revue Française d'Allergologie*, 59(3), 174-176.

36. Ghaffour, Y., & Rahmani, S. (2020). Evaluation de l'activité antioxydante in vitro des extraits des feuilles d'*Olea europaea* (mémoire de master). université de Tlemcen.
37. Ghedira, K., Goetz, P., & Le Jeune, R. (2009). *Urtica dioica L., Urtica urens* et/ou hybrides (Urticaceae). *Phytothérapie*, 7, 279-285.
38. Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10).
39. Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Mesurer les espèces réactives et les dommages oxydatifs in vivo et en culture cellulaire : comment faire et que signifient les résultats ?. *Journal britannique de pharmacologie*, 142 (2), 231-255.
40. Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis*. 3ème Ed. 203-234, Chapman et Hall Thomson science (uk).
41. Hokayem, M., Bisbal, C., Lambert, K., & Avignon, A. (2012). Quelle place pour les antioxydants dans la prévention du diabète de type 2?. *Médecine des maladies métaboliques*, 6(4), 327-331.
42. Joshi, B. C., Mukhija, M., & Kalia, A. N. (2014). Pharmacognostical review of *Urtica dioica L.* *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 8(4).
43. Karagözler, A. A., Erdag, B., Emek, Y.G., Uygum, D. A. (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*, *Food Chemistry*, 111: 400-407.
44. Khare, V., Kushwaha, P., Verma, S., Gupta, A., Srivastava, S., & Rawat, A. K. S. (2012). Pharmacognostic evaluation and antioxidant activity of *Urtica dioica L.*
45. Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.
46. Kumar, M., Pratap, V., Nigam, A. K., Sinha, B. K., Kumar, M., & Singh, J. K. G. (2021). Plants as a source of potential antioxidants and their effective nanoformulations. *J. Sci. Res*, 65.
47. Lakhal, H. (2020). Etude phytochimique et recherche d'activité antioxydante des extraits enrichis en polyphénols des feuilles d'*Inula viscosa* (mémoire de master). Université de Tlemcen.
48. Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Review*, 4 (8): 118-26.

49. Maoka, T. (2020). Carotenoids as natural functional pigments. *Journal of natural medicines*, 74(1), 1-16.
50. Matés, J. M., & Sánchez-Jiménez, F. (1999). Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 4(4), 339-345.
51. Milisav, I., Ribarič, S., & Poljsak, B. (2018). Antioxidant vitamins and ageing. *Biochemistry and Cell Biology of Ageing: Part I Biomedical Science*, 1-23.
52. Mimoun, A., & Matallah, F. (2021). Recherche in vitro de l'activité antioxydante et antidiabétique de l'extrait eau-acétone de *Salvia officinalis*. L (La sauge) (mémoire de master). université de Tlemcen.
53. Mor, Héloïse. (2014). « *Urtica_dioica* - urtica_dioica.pdf ». (Consulté le 13 octobre 2014) http://galerie.pierre.free.fr/Labo_Ouvert/pdf/urtica_dioica.pdf.
54. Nandi, A., Yan, L. J., Jana, C. K., & Das, N. (2019). Role of catalase in oxidative stress-and age-associated degenerative diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019.
55. Nurzyńska-Wierdak, R. (2023). Phenolic Compounds from New Natural Sources— Plant Genotype and Ontogenetic Variation. *Molecules*, 28(4), 1731.
56. Orcic D, Franciškovic M, Bekvalac K, Svircev E, Beara I, Lesjak M, Mimica-Dukic N (2014). Quantitative determination of plant phenolics in *Urtica dioica* extracts by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection. *Food Chemistry*. 143 : 48–53.
57. Otles S, Yalcin B (2012). Phenolic Compounds Analysis of Root, Stalk, and Leaves of Nettle. *Scientific World Journal*. 2012 : 12.
58. Ouerghemmi, I., Bettaieb rebey, I., Harbaoui, H., Hammami, M., Ksouri, R., Saidani Tounsi, M. (2017). Etude de la composition phénolique et des potentialités antioxydantes des extraits de fruits de *Solanum sodomaeum* au cours de deux stades de maturation, Volume 46(3), pp. 2517-2526.
59. Ounough, A., Yalaoui. R. (2022). Etude physico-chimique et évaluation des propriétés antioxydantes des extraits d'*Urtica dioica*. L, et leur application sur du lait commercial stérilisé (Doctoral dissertation). University Mohamed El Bachir El Ibrahim.
60. Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry*, 30, 11-26.

61. Rawat, G., Bameta, A., & Gaur, A. (2020). *Urtica dioica* (Stinging Nettle): A Pharmacologically Important Medicinal Plant Species of Himalayan Region. *International Research Journal of Pure and Applied Chemistry*, 21(17), 49-58.
62. Reaume, T. (2010). Stinging Nettle *Urtica dioica* Urticaceae—Nettle Family. *Nature*.
63. 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.
64. Serviddio, G., Bellanti, F., & Vendemiale, G. (2013). Free radical biology for medicine: learning from nonalcoholic fatty liver disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 65, 952-968.
65. Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., ... & Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in physiology*, 11, 694.
66. Sies, H. (2020). Oxidative stress: Concept and some practical aspects. *Antioxidants*, 9(9), 852.
67. Stahl, W., & Sies, H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular aspects of medicine*, 24(6), 345-351.
68. Taheri, Y., Quispe, C., Herrera-Bravo, J., Sharifi-Rad, J., Ezzat, S. M., Merghany, R. M., ... & Cho, W. C. (2022). *Urtica dioica*-derived phytochemicals for pharmacological and therapeutic applications. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2022.
69. Teh, S. S., Bekhit, A. E. D., & Birch, J. (2014). Antioxidative polyphenols from defatted oilseed cakes: effect of solvents. *Antioxidants*, 3(1), 67-80.
70. Toubal, S. (2018). Caractérisation de la relation chémotypes de l'ortie-bactéries vectorisées associées et évaluation de leurs activité sur culex sp (Doctoral dissertation). Université M'hamed Bougara de Boumerdès.
71. Upton, R. (2013). Stinging nettles leaf (*Urtica dioica* L.): Extraordinary vegetable medicine. *Journal of herbal medicine*, 3(1), 9-38.
72. Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1–40. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>
73. Vamecq, J., Vallée, L., Storme, L., Gelé, P., & Bordet, R. (2004). Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *Pharmacologie*, 18(8).

74. Vermerris, W., & Nicholson, R. (2006). *Phenolic Compounds Biochemistry*. Springer, Dordrecht, the Netherlands.
75. Vertuani, S., Angusti, A., & Manfredini, S. (2004). Le réseau des antioxydants et pro-antioxydants : un aperçu. *Conception pharmaceutique actuelle*, 10 (14), 1677-1694.
76. Wichtl, M., & Robert, A. (2003). *Plantes thérapeutiques, Tradition, pratique officinale, science et thérapeutiques*. Tec & Doc. p : 156.
77. Yi, Z., Yu, Y., Liang, Y., & Zeng, B. (2008). In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus cultivar and its main flavonoids. *LWT-Food Science and technology*, 41(4), 597-603.
78. Zbadi, R., Mohti, H., & Moussaoui, F. (2018). Stress oxydatif: évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. *Médecine thérapeutique*, 24(2), 134-141.
79. Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559.