

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique
Université Abderrahmane MIRA de Bejaia

Faculté des Sciences de la nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Option : Génétique appliquée



Réf :

Mémoire de fin de cycle
En vue de l'obtention du diplôme
Master

Thème

Evaluation de l'activité antioxydante des extraits
d'*Urtica dioica Linn*

Présenté par :

KHALDI Fadila et MEDJOU DJ Rahma

Devant le jury composé de

M ^{lle} .ADRRAR.S	MAA	Présidente
M ^{me} ABDERRAHIM- KHAMTACH.S	MAA	Promotrice
M ^{me} ZEMOURI. S	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2016 / 2017

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions le bon dieu tout puissant pour nous avoir donné la force et la patience et de nous avoir gardé en bonne santé pour mener ce travail à terme.

Nous exprimons nos sincères remerciements à notre promotrice Mme khamtache Sabiha pour avoir accepté de nous encadrer. Nous ne vous remercierons jamais assez pour votre patience, votre disponibilité, votre soutien et vos précieux conseils. Merci pour la confiance que vous nous avez faite. C'était un honneur d'avoir eu à travailler avec vous.

Nos remerciements les plus chaleureux vont au docteur Amir Hassiba qui nous a inlassablement accompagnés durant tout le travail avec son soutien et ses valeureux conseils.

On vous sera toujours reconnaissantes.

Nous adressons nos profonds remerciements à Mme Zemouri d'avoir accepté de présider le jury.

Nous tenons à remercier M^{elle} Adrar de nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Un grand merci au personnel de l'animalerie et du bloc 09 pour toutes les facilités qu'il nous apportées durant le travail pratique.

A Sabrina et Meryem pour leur aide et à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Nous adressons nos remerciements a toute la promotion de génétique appliquée.

Merci infiniment

Dédicace

A toi, mon ami, mon accompagnant, mon enseignant, mon conseiller, mon confident et mon exemple dans cette vie, à toi qui m'a toujours montré comment faire et continuer pour arriver là o'u je veux. Chère papa, que dieu te protège et te garde pour moi.

A toi my best, celle qui me fait échapper les mots et expressions quand je veux parler d'elle. A la personne pour qui je dis je suis vraiment chanceuse pour avoir être ta fille à toi. Maman, je t'aime infiniment, que dieu te garde pour nous, et qu'il m'aide à être assez reconnaissante pour tous ce que tu m'as donné.

Chers parents, je ne sais pas comment vous dire ce que je ne peux pas vous écrire, il me faut de nouveaux mots dans le dico, je vous laisse deviner la suite.

A mes sœurs, surtout Hdjila, Kahina et Zohra qui m'ont toujours appris à garder de l'espoir pour un demain qui doit toujours venir, et à ne jamais laisser tomber mes rêves.

A mes chers frères, qui m'ont toujours entourée d'amour et qui m'ont inlassablement fait sentir que la vie vaut la peine d'être vécue temps que ce sont eux mes frères. A Dhrifa et Amel, que dieu vous béni, et vous garde les petits Daoud et Ritadj.

A vous mes amies, Razika, Lydia, Nesrine, Ibtissem, Djamila et Meriem. Farnchement, la vie est un paradis sur terre parce que vous y exister.

A vous, les filles de la salle des prières de la résidence universitaire 17octobre1961, surtout pour ma cousine Saloua, , Djegdjiga, Wassila, Ilia, Zoubida, Dalila, Chafia, et ma copine de chambre Kamira.

A l'une des rares personnes qui me sont chères, à celle qui a su révélé en moi les capacités, la volante et les moralités que j'ignorais qu'elles existaient au plus profond de moi, à mon amie, binôme et sœur, je te dis un grand merci pour la personne que tu es.

A la personne qui a toujours été lointaine des yeux, prés du cœur. A toi qui me fait sourire juste en pensant à toi, et qui me l'a fait même aux pires moments que j'ai vécus. Merci pour ton existence dans ma vie.

Fadila

Dédicaces

Mes très chers parents, je ne saurais trouver les mots pour vous dire merci, car aucune parole ni expression ne serait suffisamment puissante pour vous exprimer mon immense gratitude et ma reconnaissance éternelle.

Merci pour votre soutien, vos encouragements, merci d'avoir cru en moi et de m'avoir accompagné durant toutes mes études, merci de m'avoir enseigné la vie, merci d'être les personnes que vous êtes, merci d'être mes parents. Je suis fier d'être votre fille.

Je vous adresse le plus respectueux et le plus émotionnel « je vous aime ».

Aux meilleurs sœurs du monde : Hania et Meryem qui sont aussi mes meilleures amies les mots me manquent mais je suis sûre que vous me comprenez.

A mes deux frères : Azeddine et Djamel eddine, je ne vous remercierais jamais assez pour avoir toujours prit soin de moi.

Aux maris de mes sœurs, surtout « Samir » qui a toujours été présent.

Aussi, je fais un clin d'œil à Nadia et à tous mes petits neveux et nièces qui mettent de la fantaisie dans ma vie.

A toute ma famille.

A mes copines de chambre : Lilia, Zahia, Thanina et récemment Sonia.les meilleures amies du monde.

A tous mes amis et toutes mes amies surtout Katia, Meryem, Hala, Malika Lydia.

A Fadila, mon amie et binôme pour avoir fait ce travail avec moi et pour tous les bons moments qu'on a partagé ensemble.

A toutes les personnes qui me sont chères et que je n'ai pas pu citer.

Rahma

Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	01

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. La plante <i>Urtica dioica</i> L.....	03
I.1.1. Description botanique.....	03
I.1.2. Noms vernaculaires	04
I.1.3. Classification	04
I.1.4. Composition chimique	04
I.1.5. Distribution géographique	05
I.1.6. Utilisation thérapeutique	05
I.2. Stress oxydant, radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène	06
I.2.1. Stress oxydant.....	06
I.2.1.1. Définition.....	06
I.2.1.2. Origine du stress oxydatif.....	06
I.2.2. Espèces réactives de l'oxygène.....	06
I.2.3. Radicaux libres	07
I.2.4. principales cibles des ERO	08
I.3. Antioxydants	09

I.3.1. Antioxydants exogènes.....	09
I.3.2. Antioxydants endogènes.....	09
I.4. Métabolites secondaires	10
I.4.1. Polyphénols.....	10
I.4.2. Flavonoïdes.....	11
I.4.3. Tanins.....	11
I.4.4. Activité antioxydant des polyphénols.....	12

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétal	13
II.2. Extraction des composés phénoliques totaux.....	13
II.3. Dosage des antioxydants des extraits phénoliques d' <i>Urticadioica L.</i>	13
II.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	13
II.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	14
II.3.3. Dosage des tanins condensés.....	14
II.4. Détermination de l'activité antioxydante.....	15
II.4.1. Activité réductrice du molybdate.....	15
II.4.2. Pouvoir réducteur du fer.....	15
II.4.3. Activité « scavenger » du radical DPPH.....	16
II.4.4. Activité «scavenger» du radical ABTS	16
II.5. Etude statistique.....	17

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Dosage des antioxydants des extraits d' <i>UrticadioicaL.</i>	18
III.1.1. Teneur en composés phénoliques.....	18

III.1.2. Teneur en flavonoïdes.....	19
III.1.3. Teneur en tanins condensés.....	20
III.2. Activités antioxydantes des extraits phénoliques d' <i>Urtica dioica</i> L.....	21
III.2.1. Activité réductrice du molybdate.....	21
III.2.2. Pouvoir réducteur du fer.....	22
III.2.3. Activité « scavenger » du radical DPPH.....	24
III.2.4. Activité « scavenger » du radical ABTS.....	25
Conclusion et perspectives.....	26
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

ABTS : 2,2'- azinobis (3- amidinopropane)- dihydrochloride.

ANOVA : Analyse de variance.

DPPH : 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl.

EAA : Equivalent acide ascorbique.

EAG : Equivalent acide gallique.

EC : Equivalent catéchine.

ERN : Espèce réactive nitrogénée.

ERO : Espèce réactive oxygénée.

GPx : Glutathion peroxydase.

Mn : Manganèse.

NO : Azote radicalaire.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HOONO : Peroxynitrite.

O₂⁻ : Anion superoxyde.

O₂¹ : Oxygène singulet.

OH[°] : Radical hydroxyle.

8-OH-dG: 8-hydroxy-2'- déoxyguanosine.

R[°] : Radical.

ROO[°] : Radical peroxide.

ROOH: Radical hydroperoxyde.

SOD: Superoxide dismutase.

Q10: Ubiquinone.

Liste des figures

Figure 01: <i>Urtica dioica</i> Linn.....	03
Figure 02: <i>Urtica dioica</i> Linn.....	03
Figure 03: Aperçu des différentes espèces oxygénées activées et des antioxydants régulateurs de leur production.....	10
Figure 04: Structure de base des flavonoïdes.....	11
Figure 05: Piégeage des radicaux libres par les flavonoïdes.....	12
Figure 06: Effet du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques d' <i>Urtica dioica</i> L.....	18
Figure 07: Effet du solvant d'extraction sur la teneur en flavonoïdes d' <i>Urtica dioica</i> L.....	19
Figure 08: Effet du solvant d'extraction sur la teneur en tanins condensés d' <i>Urtica dioica</i> ..	20
Figure 09: Effet du solvant d'extraction et de la concentration sur l'activité réductrice de molybdate des extraits des e d' <i>Urtica dioica</i> L.....	21
Figure 10: Effet du solvant d'extraction et de la concentration sur l'activité réductrice du fer des d' <i>Urtica dioica</i> L.....	23
Figure 11: Effet du solvant d'extraction et de la concentration et du solvant d'extraction sur l'activité « scavenger » du radical DPPH des extraits d' <i>Urtica dioica</i> L.....	24
Figure 12: Effet du solvant d'extraction et de la concentration et du solvant d'extraction sur l'activité « scavenger » du radical ABTS des extraits d' <i>Urtica dioica</i> L.....	25

Liste des tableaux

Tableau I : Classification de quelques radicaux libres et leurs effets.....07

Introduction

Introduction

Depuis son apparition sur terre, l'homme n'a cessé d'évoluer en s'inspirant de la nature et de ce qu'il y puise. Faisant partie des aspects quotidiens de sa vie, les maux et les douleurs l'ont instinctivement poussé à se servir des plantes à partir desquelles il a élaboré des remèdes qui fonctionnaient à priori très bien, puisque ces plantes se sont alors vu attribuer le statut de « plantes médicinales » et c'est le savoir-faire de nos aïeux, qui a permis de nous transmettre cette médecine ancestrale. Néanmoins, bien que les vertus thérapeutiques de ces plantes aient été approuvées, l'homme ignorait toujours la façon par laquelle elles agissaient ainsi que la raison de leur efficacité.

Ces plantes utilisées autrefois, ont durant longtemps fait l'objet d'innombrables recherches qui tentaient de trouver les composés miracles qui leurs attribuent leurs propriétés bienfaisantes.

Un grand nombre d'investigations chimiques ont été faites afin d'apporter une explication scientifique à l'efficacité des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle. Le résultat fut la découverte de composés chimiques, dits métabolites secondaires qui sont répartis en plusieurs classes, parmi lesquelles la plus étudiée et celle des composés phénoliques qui sont reconnus comme de très bons antioxydants (Bouayed *et al.*, 2007).

Les études qui sont menées aux laboratoires, les investigations épidémiologiques ainsi que les problèmes de santé publique, indiquent que les polyphénols apportent d'importants effets sur les cancers, les maladies cardiovasculaires et le vieillissement ainsi qu'un grand nombre d'autres pathologies (Wafaa *et al.*, 2013).

Parmi les plantes les plus connues, *Urtica dioica* Linn qui porte le nom commun de l'ortie et qui fait partie de ces plantes aux vertus bienfaisantes, mais qui est malheureusement réputée pour être une mauvaise herbe.

Urtica dioica Linn est une plante herbacée vivace appartenant à la famille des urticacées qui est utilisée comme une plante en médecine traditionnelle dans le traitement de plusieurs maladies telle que : la jaunisses, les hémorragies, le rhumatisme...etc (Bhuwan *et al.*, 2014).

L'objectif de cette étude est le dosage des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins condensés après leur extraction à partir d'*Urtica dioica* L, en utilisant plusieurs

solvants de différentes polarités. Ainsi qu'à la détermination de l'activité antioxydante des extraits obtenus en utilisant différentes méthodes à savoir : la capacité antioxydante totale, le pouvoir réducteur et les activités « scavenger » contre le radical DPPH et le radical ABTS.

Synthèse bibliographique

I.1. La plante *Urticadioica L*

I.1.1. Description botanique d'*Urticadioica L*

Urticadioica Linn appelée communément l'ortie est une plante herbacée vivace appartenant à la famille des urticacées, utilisée par nos ancêtres depuis des millénaires pour soigner de nombreuses maladies (Ait hajsaid *et al.*, 2016). Originaires des régions froides de l'Europe du nord et de l'Asie, c'est aujourd'hui une plante qui pousse dans le monde entier et colonise préférentiellement les sols riches notamment en nitrogène (Wagner *et al.*, 1989).

La plante se dresse en de nombreuses tiges feuillées, d'une hauteur allant de 0,60 à 1 m. Ses feuilles sont de couleur vert sombre, de forme ovoïdes et dentées présentant à leurs surfaces des poils urticants (Reader's Digest., 2008, 2006, 2003), et sont responsables des rougeurs et des brûlures au niveau de la peau lorsque celle-ci entre en contact avec eux (Baytop, 1989). Les fleurs mâles et femelles sont portées par des tiges différentes. Elles sont de couleur verdâtre lorsque celles-ci sont femelles et jaunâtre lorsqu'elles sont de sexe masculin. Le fruit est un akène de couleur beige brun et dégage une odeur de graine de carotte (Reader's Digest., 2008, 2006, 2003).



Figure 01: *Urticadioica Linn*

D'après (Lenglen, 2000).



Figure 02: *Urticadioica Linn* (original).

I.1.2. Noms vernaculaires

D'origine latine, le nom du genre *Urtica* provient du verbe «urere» qui signifie «brulé» à cause des poils urticants. Le nom de l'espèce *dioica* veut dire :« deux maisons » parce que les fleurs mâles et femelles sont portées par des tiges différentes (Baytop, 1989). Voici quelques noms usuels de la plante :

- En anglais: Nettle, common nettle, stinging nettle, tall nettle.
- En français : Ortie dioïque, grande ortie, ortie piquante ou ortie élevée.
- En arabe : Hourriga ou al quarras (Ait Haj Said *et al.*, 2016).
- En kabyle : Azegtouffe, azegtef.

I.1.3. Classification

Selon Le Moal MA, 1988, *Urtica dioica* est classée comme suit :

Règne : Plantae

Sous-règne : Trachéobionta

Super division : Spermatophyta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Hamamelidae

Ordre : Urticales

Famille : *Urticaceae*

Genre : *Urtica L*

Espèce : *Urtica dioica L*

I.1.4. Composition chimique d'*Urtica dioica L*

Vu son usage traditionnel millénaire, les scientifiques ont accordé un important intérêt à sa composition chimique (Tita *et al.*, 2009).

L'étude phytochimique d'*Urtica dioica* La révéle que cette plante contient des métabolites secondaires, essentiellement des flavonoïdes, des tanins et des composés volatiles, mais aussi des acides gras, des polysaccharides, des stérols, des terpènes,

des protéines, des vitamines et des minéraux (Wetherlit, 1992 ; Rafajlovska *et al.*, 2001 ; Krystofova *et al.*, 2010 ; Gul *et al.*, 2012).

En effet, les parties aériennes d'*Urtica dioica* L (les feuilles) contiennent de la chlorophylle, plusieurs vitamines (vitamine C, K, B1 et B2...), caroténoïdes, huiles essentielles et des minéraux parmi lesquels on cite : Fe, Cu, Mn et Ni.

Quant aux polyphénols présents dans cette plante, il s'agit principalement d'après la littérature de kaempferol, isorhamnetine, quercétine, isoquercétine et d'astragaline qui confèrent à la plante ses propriétés antioxydantes (Bhuwan *et al.*, 2014).

En plus de la composition des feuilles, les poils contiennent de l'acétylcholine, de l'histamine, 5-hydroxytryptamine (sérotonine), des leukotriènes et de l'acide formique qui sont responsables de l'effet urticant de la plante (Collier *et al.*, 1956 ; Fu *et al.*, 2006).

I.1.5. Distribution géographique d'*Urtica dioica* L

L'ortie est une plante qu'on peut rencontrer dans toutes les régions du monde : de l'Afrique du nord et du sud à l'Asie, en Europe et dans les deux Amériques. Jusqu'à 2400m d'altitude, elle peut signaler de sa présence. Cette plante est qualifiée de « rudérale » car elle pousse dans les clairières, aux voisinages des habitations dans les décombres, les haies, les chemins, les jardins et les champs fumés. Elle pousse aussi bien dans les endroits ensoleillés que ceux bien ombrés. La présence d'*Urtica dioica* L symbolise la richesse d'un sol en nutriments car elle préfère les milieux riches et fertiles (APGII, 2003).

I.1.6. Utilisation thérapeutique d'*Urtica dioica* L

Urtica dioica L est une plante médicinale par excellence car elle est utilisée dans le traitement de plusieurs maladies depuis les temps anciens. Il est rapporté dans la littérature que cette plante présente de nombreuses activités pharmacologiques telle que : antioxydante, antibactérienne, analgésique, antivirale, immunomodulatoire, anti-inflammatoire, hépatoprotective, ainsi que des effets anticancéreux (Bhuwan *et al.*, 2014).

En Europe, la plante est réputée pour ses effets diurétiques. Le jus frais de l'ortie est un remède pour le traitement de toute sorte de saignements interne ou externe.

Une décoction des feuilles d'*Urtica dioica* L est utilisée dans le traitement des troubles cutanés, tandis que séchées elles sont utilisées contre l'asthme et les troubles bronchiaux. Cette plante est aussi utilisée contre la sciatique, les difficultés respiratoires et autres troubles cardiaques mais aussi contre le rhumatisme (Kirtikar et Bbasu, 2008).

La plante a même été utilisée en Egypte ancienne dans le traitement des arthrites et des lumbagos (Harison, 1966).

En plus d'être une plante médicinale, l'ortie est servie en cuisine dans des plats variables, et sert aussi dans l'industrie de la peinture et des cosmétiques (Bhuwan *et al.*, 2014).

I.2. Stress oxydant, espèces réactives de l'oxygène et antioxydants

I.2.1. Stress oxydant

I.2.1.1. Définition

Le stress oxydatif désigne un déséquilibre de la balance entre radicaux libres et défenses anti oxydantes, traduisant une sorte d'agression biologique de l'organisme (Rock, 2003).

I.2.1.2. Origine du stress oxydatif

Ce processus physiopathologique peut être le résultat de plusieurs sources endogènes d'une part, incluant principalement une altération des mécanismes biochimiques comme une reperfusion ou une ischémie de la xanthine oxydase, une altération de la fonction endothéliale, une surcharge en fer, des altérations mitochondriales ou encore une inflammation...etc.

D'autre part, ce sont les facteurs exogènes comme le mode de vie entrepris ou l'environnement fréquenté qui peuvent être en partie responsables, soit de l'apparition du stress oxydatif, soit du développement du mécanisme et de l'accentuation des dommages qu'il cause. En effet, le tabagisme, l'alcoolisme, la prise excessive des médicaments et de la pilule contraceptive, une faible consommation des fruits et légumes, une forte exposition au soleil, le contact avec des substances cancérigènes et des radiations, peuvent être des habitudes mal saines pour certains ou une obligation professionnelle pour d'autres, mais ont un réel et puissant impact sur l'amorçage et l'évolution du stress oxydant en partant d'un mécanisme physiopathologique réversible vers une maladie grave irréversible (Haleng *et al.*, 2007).

I.2.2. Espèces réactives de l'oxygène

L'ensemble des radicaux libres comme l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) ou le radical hydroxyle (OH^{\cdot}) et d'autres molécules non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou l'oxygène singulet (O_2^1) sont regroupées sous le terme d'espèces réactives de

l'oxygène (ERO). En plus de ces dernières, il existe ce qu'on appelle les espèces réactives nitrogénées (ERN) dont la principale molécule représentative est le monoxyde d'azote radicalaire (NO^\bullet) qui est capable d'interagir avec l'anion superoxyde pour former le peroxy-nitrite (HOONO), une puissante molécule oxydante à l'origine de nombreux dommages sur des molécules organiques (Haleng *et al.*, 2007).

I.2.3. Radicaux libres

Ce sont des espèces chimiques caractérisées par la présence d'un ou plusieurs électrons célibataires sur leur couche de valence ce qui les rend hautement réactives et donc instables (Rock, 2003). Le radical libre tend toujours à remplir son orbitale atomique en arrachant un électron dans les molécules avoisinantes pour devenir stable (Goudable et Favier, 1997).

Tableau I: Principaux radicaux libres et leur structure chimique (Hanton, 2005).

Radicaux libres	Structure chimique
Radical hydroxyl	OH^\bullet
Radical hydroperoxyde	HOO^\bullet
Radical peroxyde	ROO^\bullet
Radical alkoxy	RO^\bullet
Peroxide d'hydrogène	H_2O_2
peroxy-nitrite	ONOO^\bullet
Anion superoxyde	$\text{O}_2^{\bullet-}$

La chimie particulière des ERO leur permet de jouer un rôle important dans de nombreux processus physiologiques ou à l'inverse être toxiques, dépendant de leurs concentration.

En effet, dans des conditions physiologiques et à des concentrations normales, ces espèces chimiques remplissent une fonction de seconds messagers qui activent des facteurs de transcription et régulent l'apoptose. Citons aussi le rôle clef que les ERO jouent lors de la fécondation. En effet le spermatozoïde secrète une importante quantité de ces espèces chimiques afin de pénétrer dans le cytoplasme de l'ovule à travers la membrane qu'auront détruit les radicaux libres sécrétés.

A l'inverse, et à des concentrations élevées, ces molécules deviennent dangereuses car elles sont capables d'activer l'expression de gènes codants pour des cytokines pro-inflammatoires ou des protéines d'adhésion. Toutes ces réactions enclenchées anormalement induisent des modifications responsables de diverses pathologies telles que le diabète, le cancer ou encore l'accélération de l'inévitable destin de l'homme, le vieillissement (Haleng *et al.*, 2007).

I.2.4. Principales cibles des espèces réactives de l'oxygène

Les radicaux libres agissent en s'attaquant à une large gamme de molécules d'importance majeure parmi lesquelles on cite :

- *L'ADN* : c'est la principale cible des ERO, ces dernières sont capables d'apporter des modifications à la molécule d'ADN en altérant de cette manière sa structure et donc son intégrité. Parmi ces modifications que peut apporter le radical OH° qui interagit avec la guanine (G) pour former la (8-OH-dG) qui s'apparie avec une adénine au lieu d'une cytosine, ce qui conduit à des mutations qui sont à l'origine de plusieurs pathologies.
- *Les protéines* : les acides aminés qui sont les plus réactifs avec les ERO, sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Ces interactions ont pour conséquences la formation de groupements carbonyles, des clivages des chaînes peptidiques et la formation de ponts bi-tyrosine intra et inter-chaînes. Ces modifications altèrent la fonction de la protéine (perte de son activité enzymatique ou non reconnaissance d'un site spécifique : récepteur ou ligand).
- *Les lipides* : les acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée des radicaux libres car ils s'attaquent aux carbones situés entre deux doubles liaisons, en arrachant un hydrogène. Cette étape, est la première d'un processus dit « la peroxydation lipidique », qui a des conséquences fâcheuses sur la cellule en altérant la fluidité de sa membrane lipidique la conduisant inévitablement à l'apoptose (Haleng *et al.*, 2007).

I.3. Antioxydants

Le terme antioxydant désigne toute molécule ayant la capacité de diminuer ou d'arrêter l'action d'espèces réactives oxygénées, soit directement en inhibant leur production ou bien en limitant leur propagation en agissant comme des piègeurs de radicaux libres pour donner finalement des composés stables (Favier,2003).

Pour lutter contre les radicaux libres, l'organisme dispose de deux sources d'antioxydants qui sont :

I.3.1. Antioxydants exogènes

Dont la présence est assurée par un apport nutritionnel sous forme de fruits et légumes riches en flavonoïdes, caroténoïdes, vitamines C et E, ubiquinone (**Q10**) et acide lipoïque(Haleng *et al.*, 2007).

I.3.2. Antioxydants endogènes

Ceux-ci sont représentés par des enzymes, des protéines et des endonucléases présentes naturellement dans l'organisme (Haleng *et al.*, 2007).

- Enzymatique : Comme la superoxydedismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx), la catalase et des endonucléases.
- Non enzymatiques : Protéines (ferritine, transferrine, céruloplasmine et albumine), en plus des oligoéléments tels que le sélénium, le cuivre et le zinc qui jouent le rôle de cofacteurs d'enzymes à activité antioxydante (Haleng *et al.*,2007).

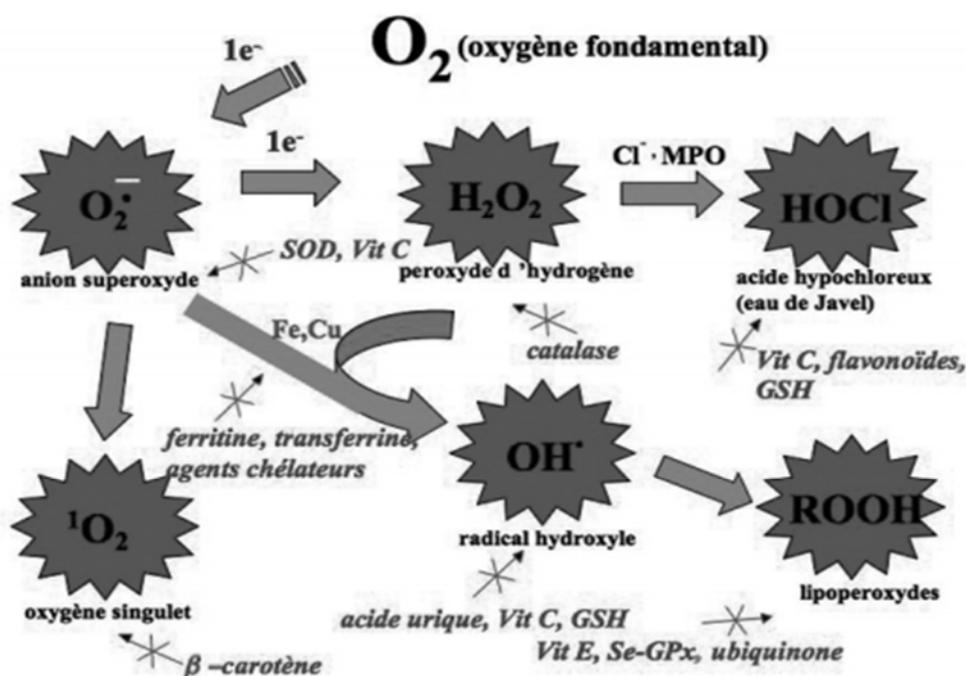


Figure 03: Aperçu des différentes espèces oxygénées activées et des antioxydants régulateurs de leur production (Haleng *et al.*, 2007).

I.4. Composés phénoliques

Ce sont des composés chimiques qui sont formés lors des processus métaboliques des végétaux. Ces composés sont définis comme étant des molécules bioactives non-nutritives qu'on trouve dans les fruits, les légumes, les graines et autres plantes comestibles (Hai, 2004 ; Magee and Rowland, 2004 ; Altameme *et al.*, 2015 ; Hamed *et al.*, 2015).

Les métabolites secondaires comprennent essentiellement trois grandes familles : les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (Lutge *et al.* 2002 ; Abderrazak et Joël., 2007).

I.4.1. Polyphénols

Ce sont des métabolites secondaires dont la structure présente un cycle aromatique lié à des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un autre groupement chimique tel que l'éther, ester...etc. (Bruneton, 1999 ; Lugasi *et al.* 2003).

On les retrouve dans toutes les parties des plantes supérieures (racines, tiges, feuilles, pollen, graines et bois). Ils interviennent dans plusieurs processus physiologiques tel que la rhizogenèse, la croissance cellulaire, la maturation des fruits, la germination des graines...etc. (Boizot et Charpentier, 2006).

Les principales classes représentatives des poly phénols sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les coumarines (King et Young. 1999 ; Tapiero *et al.* 2002).

I.4.2.Flavonoïdes

Ce sont des composés appartenant à la famille des polyphénols (Seyoumet *al.*, 2006).L'identification de plus de 6400 molécules différentes, révèle l'importante diversité structurale de ces composés (Harborne et Williams, 2000).Les flavonoïdes présentent une structure de base commune à toutes les classes qui les représentent qui est constituée de deux noyaux aromatiques désignés par les lettres A et B qui sont reliés par un hétérocycle oxygéné, désigné par la lettre C (Dacosta, 2003).

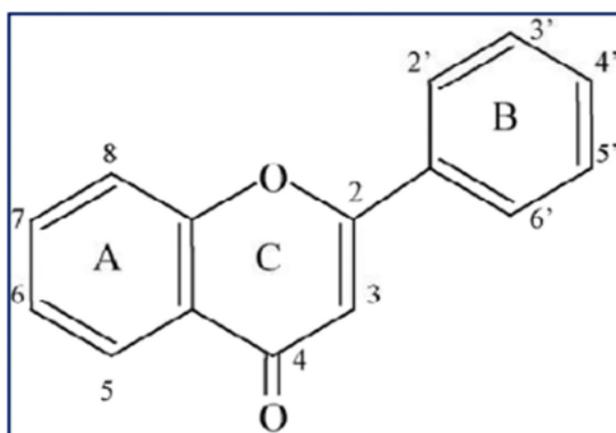


Figure 04: Structure de base de flavonoïdes (Di Carlo *et al.*, 1999)

D'un point de vue fonctionnel, les flavonoïdes sont responsables de la coloration et de la pigmentation des fleurs et des fruits chez les végétaux (Ghestem *et al.*, 2001 ; Bruneton,1999).

I.4.3.Tanins

Ceux- ci sont une classe polyphénolique qui présente une structure variée (Paris et Hurabeille., 1981). Cette structure est formée de cycles aromatiques greffés d'une ou plusieurs fonctions hydroxyles libres ou non, ce sont des composés non azotés (Bruneton *et al.*, 1999)

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal en particulier dans certaines familles comme les conifères, les fagacées et les rosacées (Ghestem *et al.*, 2001)

I.4.4. Activité antioxydant des polyphénols

Il a été rapporté que les composés phénoliques présentent des propriétés antioxydantes. Les flavonoïdes se voient attribuer un fort pouvoir antioxydant du fait de la multiplicité de leurs mécanismes d'action (Fuhrman *et al.*, 1995). En effet, ils agissent par le biais de plusieurs mécanismes d'action différents dont le résultat est l'inhibition de l'oxydation. Cela se fait soit par piégeage de radicaux libres par don direct d'un atome d'hydrogène ou d'un électron (figure 05).

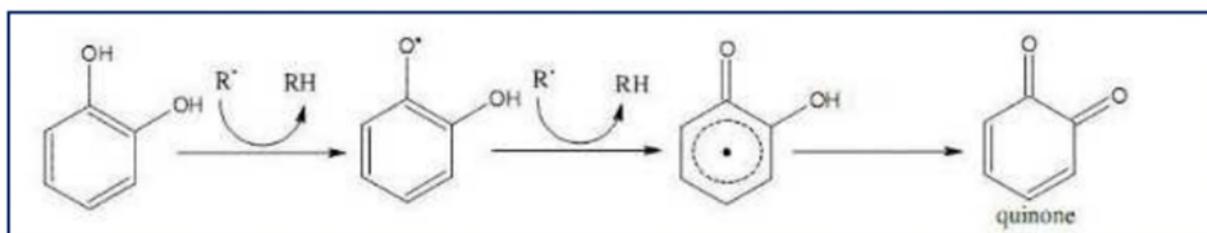


Figure 05 : Piégeage des radicaux libres par les flavonoïdes (Marfak, 2003).

Soit par chélation des ions métalliques comme le cuivre et le fer, ou bien par conversion d'hydroperoxydes à des espèces non-radicalaires et enfin par désactivation de l'oxygène singulet (Gordon, 1990, 2001).

Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétal

Les parties aériennes (les feuilles) d'*Urtica dioica L* ont été récoltées dans la région d'Ait Smail (wilaya de Bejaïa) durant le mois de février 2017. L'identification de la plante a été effectuée au laboratoire de biologie végétale de l'Université A/Mira de Bejaia. Une fois récoltées les feuilles ont été séchées dans l'étuve à une température de 40°C. Les feuilles séchées ont été broyées pour être réduites en poudre. Cette dernière a été tamisée à l'aide d'un tamiseur d'un calibre de 250µm.

La poudre ainsi homogénéisée a été conservée dans un bocal en verre pour une ultérieure utilisation.

II.2. Extraction des composés phénoliques totaux

Pour l'extraction des polyphénols totaux, trois solvants de différentes polarités ont été utilisés à savoir : l'eau distillée, le méthanol 50% et l'acétone 50%.

Un volume 40ml de chaque solvant a été rajouté à 100mg de poudre sèche d'*Urtica dioica L*. Chacun des trois mélanges a été macéré pendant 2 heures sur agitateur et à température ambiante puis filtré à l'aide de papier filtre. Seul les extraits liquides aqueux, méthanolique et acétonique ont été récupérés et conservés dans des fioles en verre au réfrigérateur pour être utilisés dans la présente étude.

II.3. Dosage des antioxydants des extraits phénoliques d'*Urtica dioica L*

II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

- **Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu, mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), oxyde les composés phénoliques ; les oxydes métalliques produits sont de couleur bleue, dont l'absorbance est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982).

- **Mode opératoire**

La teneur en composés phénoliques a été estimée selon la méthode de (Kähkönen *et al.*, 1999). Un volume de 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu a été ajouté à 200µl d'extrait dilué. Après 3 minutes, 0,8 ml de la solution de carbonate de sodium (7,5%) ont été ajoutés. Après une heure d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 770nm. La concentration en composés

phénoliques des extraits, exprimée en gramme équivalent acide gallique par 100 g de matière sèche, est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage (annexe).

II.3.2. Dosage des flavonoïdes

- **Principe**

Les flavonoïdes forment des complexes avec l'aluminium sous forme d'ions Al^{+3} , après décomposition de chlorure d'aluminium. Les complexes formés sont responsables de l'absorption de la lumière dans le visible (Ribéreau-Gayon., 1968).

- **Mode opératoire**

Les teneurs en flavonoïdes des extraits obtenus ont été déterminées par la méthode de (Lamaison et Carnet., 1990). Une partie aliquote de chaque extrait a été ajoutée à un volume égal de chlorure d'aluminium (2%). L'absorbance a été lue à 410nm après 20 min. Les résultats ont été exprimés en gramme équivalent quercétine par 100 g de matière sèche à partir de la courbe d'étalonnage (annexe).

II.3.3. Dosage des tanins condensés

- **Principe**

Le dosage des tanins condensés est basé sur la condensation des composés polyphénoliques (flavanes-3-ols) avec la vanilline en milieu acide (Price *et al.*, 1978).

- **Mode opératoire**

La méthode d'estimation de la teneur en tanins condensés a été proposée par (Swain et Hillis, 1959) ; Le réactif de la vanilline a été préparé par solubilisation de 0,5g de la vanilline dans 50ml d'acide sulfurique (70%). 1 ml de ce réactif a été mélangé avec 500µl ml d'extrait. Après incubation à 50°C pendant 20 min, l'absorbance a été mesurée à 500nm. Les résultats ont été exprimés en gramme équivalent de catéchine par 100 g de matière sèche à partir de la courbe d'étalonnage (annexe).

II.4. Détermination de l'activité antioxydante

La présente étude a été effectuée *in vitro* dans le but de déterminer l'activité antioxydante des extraits aqueux, méthanolique (50%) et acétonique (50%) d'*Urtica dioica L.*

II.4.1. Activité réductrice du molybdate

- **Principe**

Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo(VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} en molybdène Mo(V) MoO_2^+ , en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) dans un milieu acide (Prieto *et al.*, 1999).

- **Mode opératoire**

L'activité réductrice des extraits a été évaluée par la méthode de phosphomolybdène de (Prieto *et al.*, 1999). 0,3 ml de chaque extrait ont été ajoutés à 3 ml d'une solution préparée en mélangeant 0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium. Les tubes ont été incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695nm. L'activité réductrice du molybdate a été exprimée en gramme équivalent acide ascorbique par 100 g de matière sèche à partir d'une courbe d'étalonnage (annexe).

II.4.2. Pouvoir réducteur du fer

- **Principe**

L'analyse du pouvoir réducteur est basée sur la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure- Fe^{3+} en fer ferreux (Fe^{2+}), en présence d'antioxydants réducteurs (Bijoyet *al.*, 2008). La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (Gülçin *et al.*, 2003).

- **Mode opératoire**

Le pouvoir réducteur a été estimé par la méthode de (Yildirim *et al.*, 2001); 1 ml d'extrait est additionné à 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium (1%). Après incubation à 50°C pendant 20 min, 2,5 ml d'acide trichloracétique (10%) ont été ajoutés au mélange. Après centrifugation à 3000g pendant 10 min, 2,5 ml du surnageant ont été mélangés avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure ferrique (0,1%). L'absorbance a été mesurée à 700nm. Les résultats ont été exprimés en

gramme équivalent acide ascorbique par 100 g de matière sèche à partir d'une courbe d'étalonnage (annexe).

II.4.3. Activité « scavenger » du radical DPPH

- **Principe**

Un antioxydant a la capacité de donner un hydrogène au radical synthétique DPPH· (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl) de coloration violette (forme oxydée) pour le réduire en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picryl hydrazine) de coloration jaune-verte (Molyneux, 2004).

- **Mode opératoire**

L'effet «scavenger» du DPPH a été déterminé par la méthode de (Kroyer et Hegedus, 2001); 300 µl d'extrait ont été ajoutés à 2700µl de DPPH (60 µM).

L'absorbance a été lue à 517nm après 1 heure d'incubation à l'obscurité. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est exprimé par la formule suivante:

$$\% = [(A_{\text{témoin}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{témoin}}] \times 100$$

$A_{\text{témoin}}$: Absorbance du témoin (300µl méthanol + 2700µl DPPH);

$A_{\text{échantillon}}$: Absorbance de l'extrait (300 µl extrait + 2700µl DPPH).

II.4.4. Activité «scavenger» du radical ABTS

- **Principe**

La méthode qui détermine l'activité «scavenger» du radical ABTS est basée sur la capacité d'un antioxydant à piéger le radical cationique ABTS^{•+} (2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) de coloration bleue verte en le transformant en ABTS-H⁺ incolore, par un don d'hydrogène (Antolovichet *al.*, 2002). La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre.

- **Mode opératoire :**

Le piégeage du radical cationique ABTS^{•+} a été déterminé par la méthode de (Re *et al.*, 1999). La solution du radical cationique ABTS^{•+} a été préparée en mélangeant 2,45 mM d'ABTS avec 7 mM de persulfate de potassium. Après 16 heures d'incubation la solution ABTS^{•+} a été diluée avec l'éthanol, afin d'obtenir une absorbance de 0,7±0,02 à 734nm. Un volume de 20 µl d'extrait est additionné à 2 ml de la solution d'ABTS^{•+}. L'absorbance a été

lue à 734nm après 6 min d'incubation à l'obscurité. Le pourcentage de l'activité « scavenger » du radical ABTS^{•+} est exprimé par la formule suivante :

$$\% = [(A_{\text{témoin}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{témoin}}] \times 100$$

$A_{\text{témoin}}$: Absorbance du témoin (ABTS^{•+});

$A_{\text{échantillon}}$: Absorbance de l'extrait (extrait + ABTS^{•+}).

II.5. Etude statistique

L'analyse statistique des résultats a été effectuée avec l'application ANOVA (SATISTICA5.5) et la comparaison des résultats est prise à la probabilité $p < 0,05$. Toutes les données représentent la moyenne de trois essais \pm écartype.

Résultats et discussion

L'étude réalisée a pour objectif d'établir un dosage des composés phénoliques après leur extraction à partir d'*Urtica dioica* L en utilisant trois solvants d'extraction à différentes polarités, à savoir : l'eau distillée, le méthanol 50% et l'acétone 50%. Ainsi qu'à la détermination de l'activité antioxydante des extraits obtenus.

III.1. Dosage des antioxydants des extraits d'*Urtica dioica* L

III.1.1. Teneur en composés phénoliques

Les teneurs en composés phénoliques des extraits d'*Urtica dioica* L ont montré des différences significatives en fonction du solvant d'extraction utilisé ($p < 0,05$). La teneur en composés phénoliques la plus élevée qui est 4,35 g EAG/100g, a été obtenue en utilisant le méthanol aqueux (50%) comme solvant d'extraction, suivi par l'acétone aqueux (50%) avec une teneur de 4,22 g EAG/100g et enfin l'extrait aqueux avec une teneur de 4,14 g EAG/100g (Figure 6).

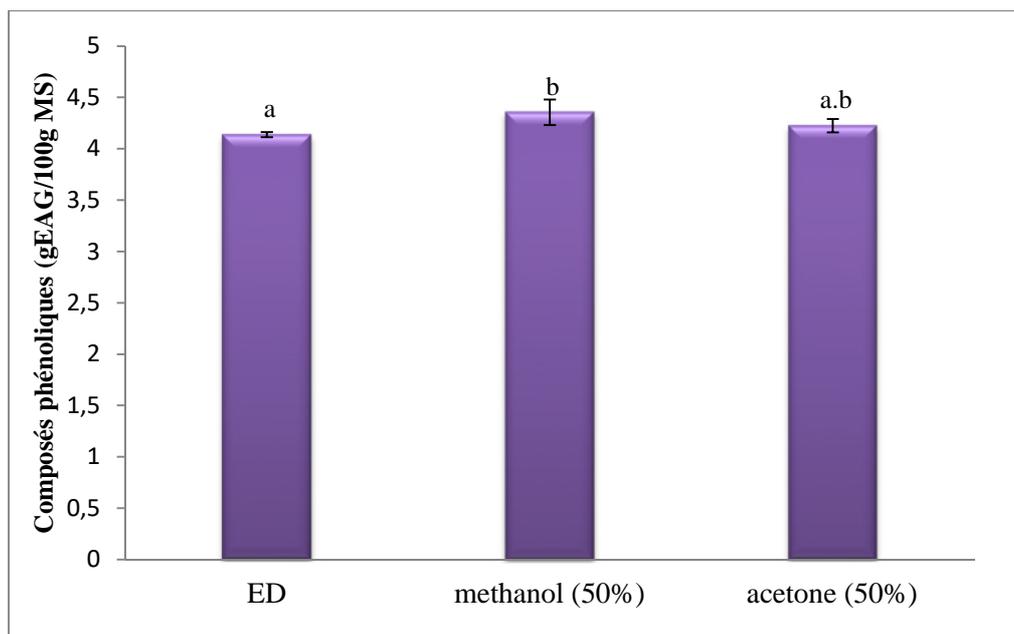


Figure 06 : Effet du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques d'*Urtica dioica* L.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($b > a$).

Les résultats de cette étude ont été comparés à plusieurs résultats de la littérature. Kukric *et al.*(2012) ont rapporté une teneur en composés phénoliques de 0,208 g EAG/100g MS, en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction. Dans une autre étude, réalisée par (Yildirim *et al.*,2013),sur l'effet de la région géographique d'*Urtica dioica* L, des teneurs en composés phénoliques varient entre 0.0192 et 0.0374g EAG/100g MS, ont été trouvées. (Pourmourad *et al.*,2006), ont utilisé comme solvant d'extraction le méthanol dans leur travail et ont obtenu un résultat de 0.0241 g EAG/100g MS. Toutes ces teneurs sont plus inférieures que celles trouvées dans la présente étude.

Les différences constatées entre les résultats obtenus et ceux rapportés par la littérature pourraient être dues à : la région géographique, la période de la récolte, la partie de la plante testée, le protocole d'extraction et la méthode utilisée pour le dosage, le solvant d'extraction. Cependant, (Nencu *et al.*,2013)ont trouvé que la teneur en composés phénoliques est liée aux phasesde maturation de la plante ; plus la plante est jeune, plus le taux de polyphénols qui y sont présents est élevé. Cela pourrait expliquer la haute teneur en composés phénoliques trouvée dans *Urtica dioica* L dans la présente étude, car la plante a été récoltée jeune au début du printemps.

III.1.2.Teneur en flavonoïdes

La teneur des extraits d'*Urtica dioica* L en flavonoïdes, varie d'une manière significative en fonction du solvant d'extraction utilisé ($P < 0,05$) (Figure 07).

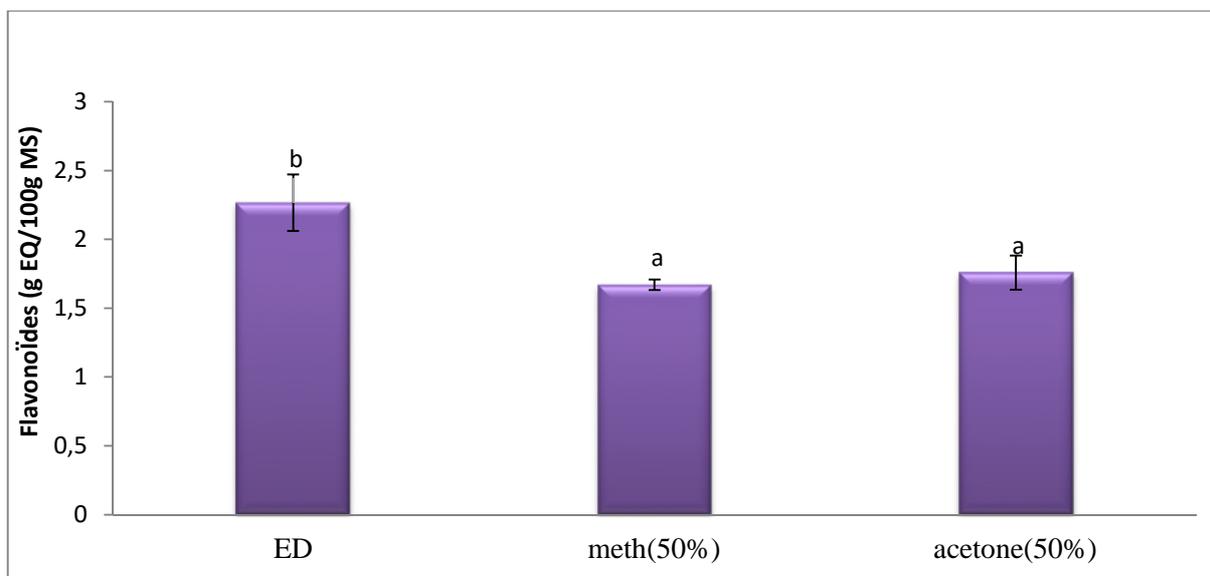


Figure 07 : Effet du solvant d'extraction sur les flavonoïdes d'*Urtica dioica* L

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($a > b$).

L'extrait aqueux est celui qui a révélé la plus haute teneur en flavonoïdes avec une teneur de 2,27 g EQ/100g, s'ensuit l'acétone aqueux (50%) avec une teneur de 1,76g EQ/100g, alors que la plus faible teneur a été révélée par le méthanol aqueux (50%) avec une valeur de 1,67 g EQ/100g.

Les teneurs en flavonoïdes obtenus dans cette étude sont plus élevées que celle trouvée par (Kukric *et al.*,2012), qui est de 0.022 g EQ/100g MS.

III.1.3.Teneur en tanins condensés

Les extraits d'*Urtica dioica* L présentent selon l'analyse statistique des différences significatives en fonction du solvant d'extraction utilisé ($P < 0,05$). C'est le méthanol aqueux (50%) qui a révélé la plus forte teneur en tanins condensés avec une valeur de 4,60 g EC/100g, ensuite vient l'extrait aqueux avec une teneur de 4,2g EC/100g.

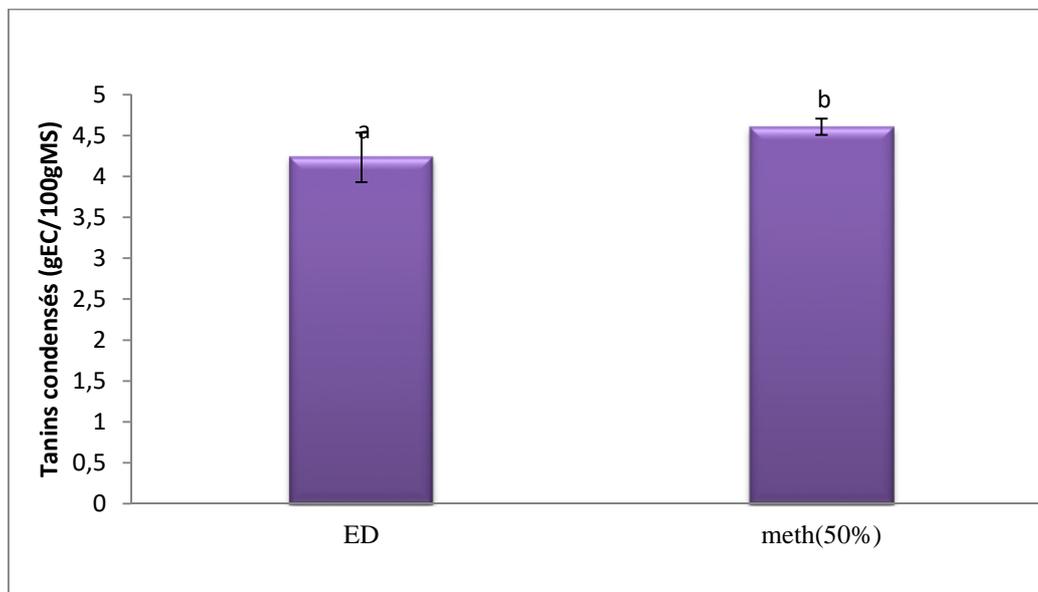


Figure 08 : Effet du solvant d'extraction sur les tanins condensés d'*Urtica dioica* L.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($a > b$).

Dans une étude réalisée par (Nencu *et al.*,2013) sur l'effet du stade de la maturité en récoltant la plant *Urtica dioica* L du mois de mars jusqu'en juillet, des teneurs comprises entre 0,74 et 1,11 g EAT/100g, ont été trouvées en utilisant le méthanol pour l'extraction. Les résultats obtenus dans cette étude sont plus importants que ceux rapportés par ces auteurs. Cette différence observée entre les résultats peut être due au climat et à la richesse du sol en nutriments.

D'une manière générale, les facteurs environnementaux et géographiques tel que : le climat, la température, la composition des sols...etc., ainsi que les techniques et les solvants d'extractions utilisés peuvent influencer d'une façon significative la qualité et la quantité des composés phénoliques (Pourmorad *et al.*,2006 ; Ozkanet *al.*,2011 ; Semih et Buket, 2012).

III.2.Activités antioxydantes des extraits phénoliques d'*Urtica dioica* L

Dans la présente étude l'activité antioxydante des extraits phénoliques de *Urtica dioica* L, a été déterminée en utilisant quatre tests différents à savoir ; l'activité réductrice du molybdate, le pouvoir réducteur du fer, l'activité « scavenger » du radical DPPH et enfin l'activité « scavenger » du radical ABTS.

III.2.1.Activité réductrice du molybdate

Dans la présente étude le pouvoir réducteur du molybdate a été testé en utilisant plusieurs concentrations à savoir ; 50, 100 et 250µg/ml (Figure 9).

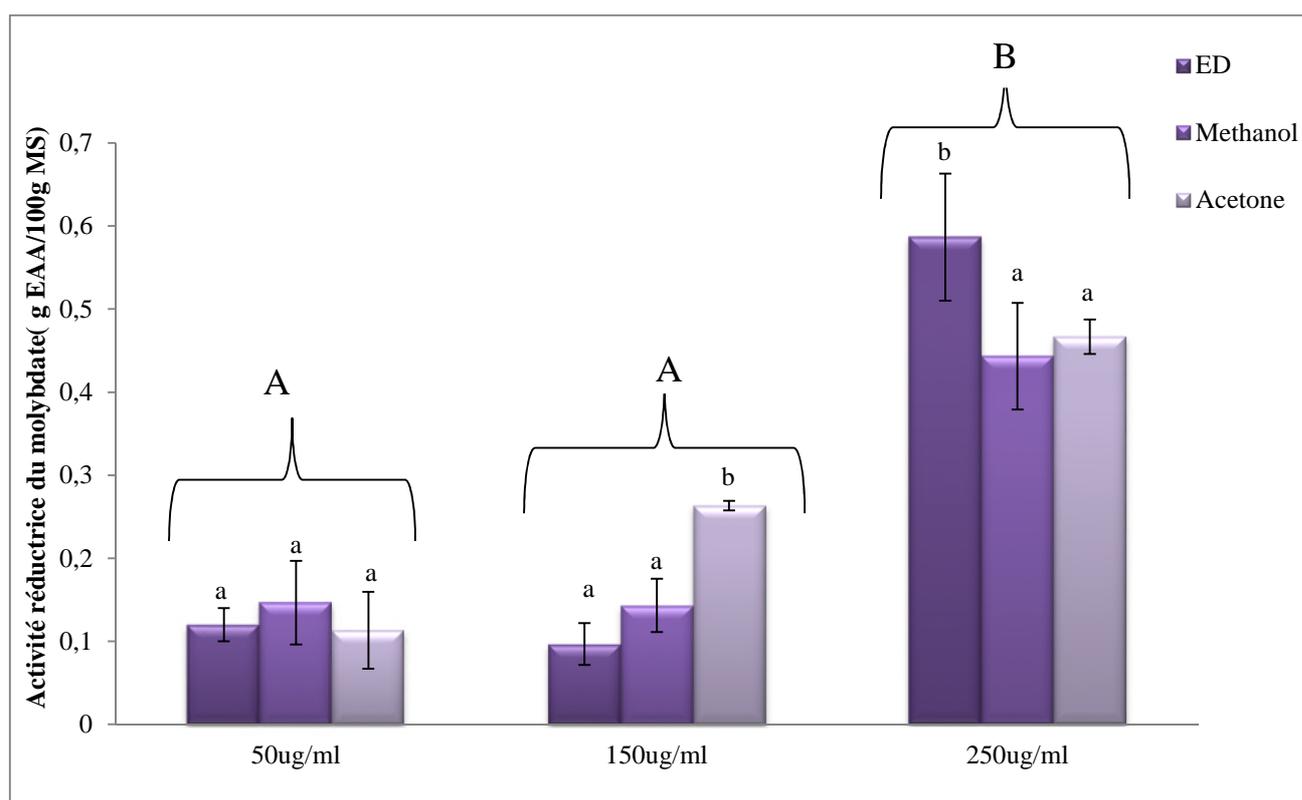


Figure 09: Effet du solvant d'extraction et de la concentration sur l'activité réductrice du molybdate d'*Urtica dioica* L.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

(Lettres majuscules : effet de la concentration ; Lettres minuscules : effet du solvant),(a>b).

Les résultats du pouvoir réducteur du molybdate des extraits phénoliques d'*Urticadioica*L présentent des différences significatives qui varient en fonction de la concentration étudiée et du solvant d'extraction utilisé ($P < 0,05$). Cependant à la concentration de 50 μ g/ml, aucune différence significative n'a été constatée entre les pouvoirs réducteurs des extraits aqueux, méthanolique (50%) et acétonique (50%). Ces extraits présentent des valeurs allant de 0,11 à 0,15g EAA/100g.

A la concentration de 150 μ g/ml, les résultats ont montré que c'est l'extrait préparé par l'acétone aqueux (50%) qui a donné la plus grande capacité à réduire le molybdate avec une valeur de 0,26 gEAA/100g, tandis que les extraits méthanoliques (50%) et aqueux ont présenté les plus faibles pouvoirs réducteurs du molybdate, dont les valeurs sont de 0,14 et 0,97 g EAA/100g, respectivement.

A la concentration de 250 μ g/ml, l'analyse des résultats a montré que la plus forte activité réductrice qui est de 0,59 g EAA/100g, a été exercée par l'extrait préparé avec l'eau, alors que les plus faibles activités réductrices ont été trouvées avec les extraits acétoniques (50%) et méthanoliques (50%) avec des valeurs de 0,47 et 0,44gEAA/100g, respectivement.

L'analyse des résultats a révélé que la plus importante capacité à réduire le molybdate a été présentée par les extraits d'*Urtica dioica* L à la concentration de 250 μ g/ml. L'étude n'a montré aucune différence significative entre les capacités réductrices du molybdate à la concentration 50 et 150 μ g/ml.

Les résultats de la présente étude ont montré que le solvant d'extraction qui a donné la plus forte activité réductrice est l'extrait aqueux à 250 μ g/ml, avec une valeur de 0,59g EAA/100g. Tandis que la plus faible capacité a été exercée par l'extrait préparé avec le même solvant à la concentration de 150 μ g/ml, avec une valeur de 0,097g EAA/100g.

III.2.2. Pouvoir réducteur du fer

Les résultats de l'étude de la capacité des extraits d'*Urticadioica*L à réduire le fer a montré une différence significative selon la concentration testée (50, 150 et 250 μ g/ml) et le solvant d'extraction utilisé ($p < 0,05$) (Figure 10).

L'étude statistique des résultats indique qu'à la concentration 50 et 150 μ g/ml, le plus fort pouvoir réducteur du fer a été obtenu en utilisant l'acétone (50%) et l'eau comme solvants

d'extraction, avec des valeurs de 0,61 et 0,5g EAA/100g. Alors que l'extrait méthanolique (50%) a donné la plus faible capacité réductrice avec une valeur de 0,04g EAA/100g. L'extrait aqueux n'a montré aucune différence significative avec l'extrait acétonique (50%)

Pour la concentration de 250µg/ml, les extraits étudiés ont montré une différence significative ($p < 0,05$). Les résultats obtenus ont révélé que l'extrait préparé avec le méthanol (50%) a montré la plus forte capacité à réduire le fer avec une valeur de 1,96g EAA/100g, ensuite vient l'extrait acétonique (50%) avec une valeur de 1,16g EAA/100g et enfin la plus faible activité réductrice a été révélée par l'extrait aqueux avec une valeur de 0,78g EAA/100g.

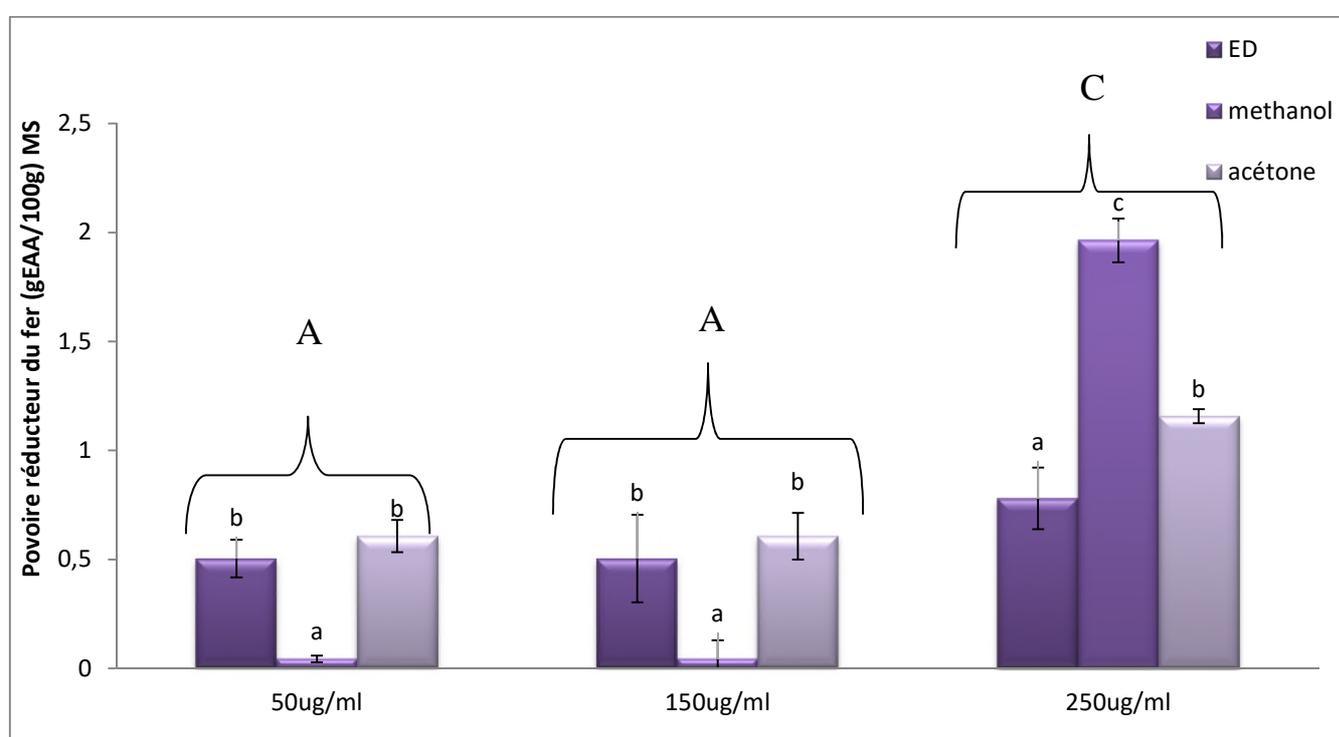


Figure 10 : Effet de la concentration et du solvant d'extraction sur l'activité réductrice du fer des extraits d'*Urtica dioica* L.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($b > a$)

(Lettres majuscules : effet de la concentration ; Lettres minuscules : effet du solvant).

L'analyse des résultats de cette activité a montré que le plus fort pouvoir réducteur du fer a été trouvé à la concentration de 250µg/ml, alors que les extraits préparés aux concentrations de 50 et 150 µg/ml ont présenté les pouvoirs les plus faibles.

Dans une étude réalisée par (Kuric *et al.*, 2012), le pouvoir réducteur du fer de l'extrait des feuilles d'*Urtica dioica* L a été comparé avec des standards qui sont la BHA, la BHT et la

vitamine C, il a été démontré que les feuilles d'*Urtica dioica* L ont un pouvoir réducteur relativement modéré, mais qui reste cependant plus élevé que celui révélé dans la présente étude.

III.2.3. Activité « scavenger » du radical DPPH

Les résultats de la capacité des extraits d'*Urtica dioica* L à piéger le radical DPPH en fonction de la concentration et du solvant d'extraction sont présentés sur la (figure 11).

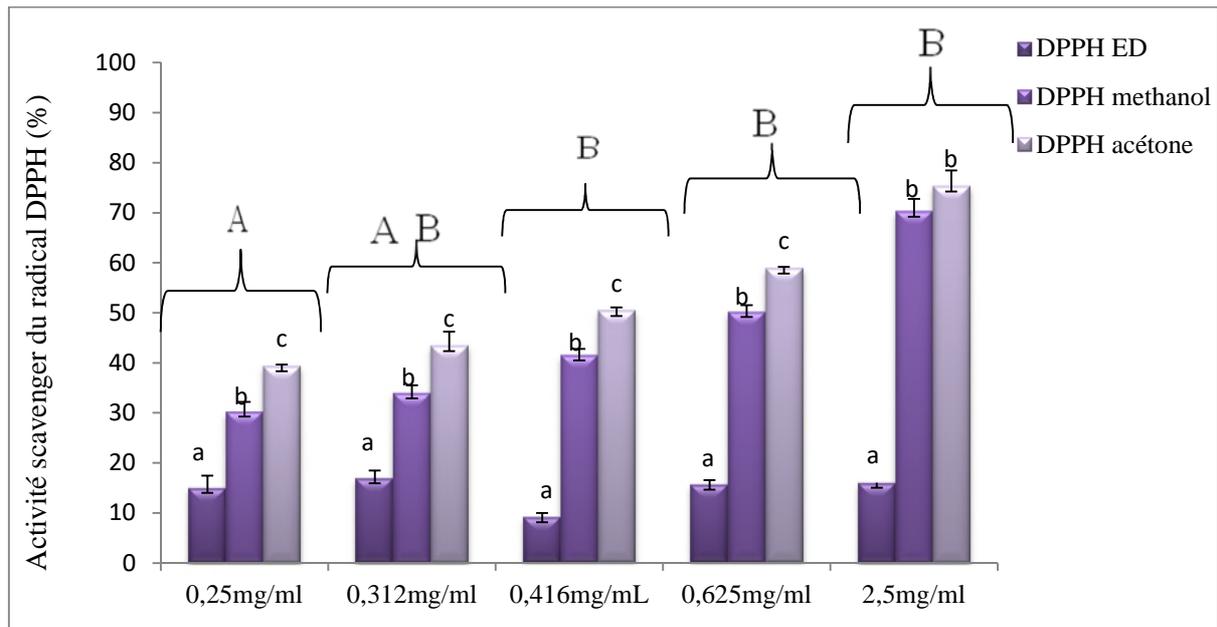


Figure 11 : Effet de la concentration et du solvant d'extraction sur l'activité « scavenger » du radical DPPH d'*Urtica dioica* L.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

(Lettres majuscules : effet de la concentration ; Lettres minuscules : effet du solvant).

L'analyse des résultats du test DPPH a montré une différence significative entre les extraits aqueux, méthanolique(50%) et acétonique(50%), pour toutes les concentrations testées.

L'activité « scavenger » du radical DPPH a été déterminée en utilisant différentes concentrations à savoir ; 0,25 ; 0,312 ; 0,416 ; 0,625 et 2,5mg/ml.

L'étude n'a montré aucune différence significative entre les concentrations suivantes : 0,416 ; 0,625 et 2,5 mg/ml. Cependant ces concentrations ont présenté les plus fortes activités anti-radicalaires vis-à-vis du radical DPPH. La plus faible activité inhibitrice du radical DPPH a été obtenue à la concentration 0,25mg/ml.

Pour toutes les concentrations testées, le plus haut pourcentage d'inhibition du radical DPPH, est obtenu avec l'extrait préparé par l'acétone (50%) suivi par l'extrait méthanolique (50%) et enfin par l'extrait aqueux. Cependant le pourcentage d'inhibition du radical DPPH le plus élevé, qui est de 75,23%, a été obtenu à la concentration de 2,5mg/ml avec l'extrait acétonique aqueux (50%) et le plus faible pourcentage d'inhibition a été obtenu avec l'extrait aqueux à la concentration de 0,25mg/ml, dont le pourcentage d'inhibition est de 9,15%.

L'analyse des résultats a montré que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH augmente avec la concentration.

Dans une étude réalisée par (Zeipina *et al.*, 2015) sur l'efficacité d'*Urtica dioica* L à piéger le radical DPPH, des pourcentages d'inhibitions compris entre 75,5 et 78,5%. Ces résultats sont plus ou moins similaires à ceux obtenus dans la présente étude.

III.2.4. Activité « scavenger » du radical ABTS

Le test de piégeage du radical ABTS par les extraits d'*Urtica dioica* L a révélé des différences significatives en fonction du solvant d'extraction utilisé ($P < 0,05$) (Figure 12).

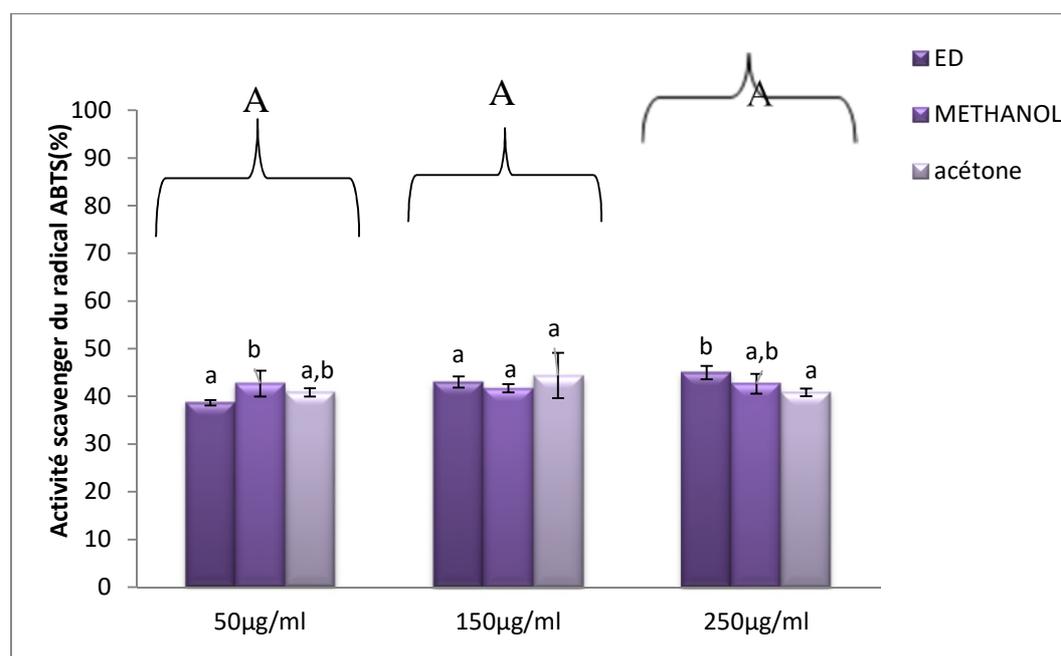


Figure 12 : Effet de la concentration et du solvant d'extraction sur l'activité « scavenger » du radical ABTS d'*Urtica dioica* L.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($b > a$).

(Lettres majuscules : effet de la concentration ; Lettres minuscules : effet du solvant).

L'activité « scavenger » du radical ABTS des différents extraits d'*Urtica dioica* L a été évaluée en testant les concentrations suivantes : 50 ; 150 et 250 µg/ml.

L'analyse des résultats de la capacité antiradicalaire vis-à-vis de radical ABTS a montré que les différents extraits d'*Urtica dioica* L ont piégé le radical ABTS avec une différence significative ($p < 0,05$), à la concentration de 50 et 250 µg/ml. Tandis qu'à la concentration de 150 µg/ml, l'étude n'a révélé aucune différence significative entre les extraits testés.

La présente étude a montré que le plus haut pourcentage d'inhibition, a été obtenu par l'extrait aqueux avec une valeur de 44,98% à la concentration de 250 µg/ml, tandis que la plus faible activité a été observée avec ce même extrait mais à une concentration de 50 µg/ml avec 38,68%.

Lors d'une étude réalisée par (Kukric *et al.*, 2012), il a été rapporté que les feuilles d'*Urtica dioica* L ont la capacité d'inhiber le radical ABTS mais avec des valeurs relativement faibles que celles trouvées avec la BHA et la vitamine C. Cependant ces valeurs restent similaires à celles trouvées dans la présente étude.

D'après les résultats de cette étude, les extraits d'*Urtica dioica* L ont présenté une efficace capacité à neutraliser les radicaux libres dans les tests effectués qui sont le DPPH et l'ABTS. Ils ont aussi exhibé une capacité à réduire le molybdate et le fer. L'analyse des résultats a permis de démontrer que les solvants utilisés et les concentrations considérées exercent une influence sur les activités antioxydantes d'*Urtica dioica* L. La diversité structurale des composés antioxydants contenus dans les extraits d'*Urtica dioica* L pourraient être à l'origine de l'activité antioxydante observée dans les tests effectués. Cette diversité structurale confère aux antioxydants une multiplicité en termes de mécanismes d'actions dans le piégeage des radicaux libres. L'utilisation de différents solvants d'extractions serait responsable des variations dans les résultats obtenus puisque chaque solvant possède des propriétés particulières qui lui permettent d'extraire des composés phénoliques de différente espèce et qui agissent via des mécanismes différents et c'est en effet ce qui est observé dans les résultats obtenus (Gulçinet *et al.*, 2003 ; Zhou et You., 2004 ; Tepeet *et al.*, 2005).

Conclusion

Conclusion et perspectives

Notre étude a été consacrée au dosage de quelques composés phénoliques dont les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés, afin d'étudier les activités antioxydantes des extraits d'*Urtica dioica* L.

L'extraction des composés phénoliques totaux d'*Urtica dioica* L a été faite par macération en utilisant différents solvants d'extraction : l'eau, le méthanol (50%) et l'acétone (50%).

L'étude statistique des résultats a révélé que les teneurs en composés phénoliques totaux, flavonoïdes et en tanins condensés présentaient des différences significatives qui varient en fonction des solvants d'extraction utilisés et des concentrations considérées $P < 0,05$. La plus forte teneur a été révélée par l'extrait méthanolique (50%) pour les composés phénoliques et les tanins condensés. Alors que l'extrait aqueux a révélé une plus forte teneur pour les flavonoïdes. La plus faible teneur a été révélée par l'extrait aqueux pour les composés phénoliques et les tanins condensés. Alors que pour les flavonoïdes, c'est l'extrait méthanolique (50%) qui a donné la plus faible teneur.

Les résultats de la présente étude, ont montré que les extraits d'*Urtica dioica* L ont une activité antioxydante qui varie toujours en fonction du solvant d'extraction et de la concentration ($P < 0,05$).

Les extraits d'*Urtica dioica* L ont exercé une activité réductrice du molybdate et du fer et une activité anti radicalaire vis-à-vis du radical DPPH et de l'ABTS.

Les activités antioxydantes exercées par les extraits d'*Urtica dioica* L peuvent être expliquées par la richesse de cette plante en molécules antioxydantes comme les polyphénols qui sont à l'origine des bienfaits de la plante. L'efficacité antioxydante d'*Urtica dioica* L n'est sans doute qu'une simple partie de toutes les activités dont elle est dotée. Il serait donc intéressant d'envisager comme perspective d'approfondir les recherches afin de caractériser des composés autres que les polyphénols qui peuvent avoir d'autres activités et donc d'autres effets thérapeutiques. Ce qui aiderait à valoriser la plante dans le domaine de la médecine moderne.

- Abderrazak M. et Joël R., (2007). La botanique de A à Z. Ed. Dounod.paris.177 P.
- Akguel A. (2013). Spies science and technology. Association food technology, pub. NO :15. Ankara. Turkey.
- Al Tameme, H.J; Hamed, I.H; Kareem M.A. Analysis of alkaloids phitochemicals compound in the ethanolic extract of *Datura stramonium* and evaluation of antimicrobial activity. Afr. J. biotechnol.14: 11668-1674.
- Al Tameme, H.J., Hadi, M.Y., Hameed., I.H., 2015. Phytochemical analysis of *Urtica dioica* leaves by fourrier transform- infrared spectroscopy and gas chromatography- mass spectrometry.vol.7(10): pp.238- 252.
- Ait haj said, A., Al Otmani, I.S., Derfoufi, S., Ben Moussa, A .,2016 .Nutritional and therapeutic potentiel (*urtica dioica* L). Hegel vol.6 n°3.
- Antalovich, M., Prenzler, P.D.,Patsalides, E., Mc Donald, S., Robards, K., 2002. Methods for testing antioxidant activity. Analyst. 127, 183-198.
- An up date of Angiosperm Phylogeny Group classification for the order and families of flowering plants: APGII. Bot. J. linn.sol, 2003., 141.4, 399-436.
- Baytop, T., 1989. Therapy with plant in Turkey Istanbul University. Faculty of pharmacy (second press). Nobel medicine bookstores, Istanbul, Turkey.
- Bhuwan Chandra Joshi, Minky Mukhija, Ajudia Nath Kalia., 2014.Pharmacognostical review of *Urtica dioica* L.
- Bhuwan Chandra Joshi, Minky Mukhija, Sushmita Semwal., 2015.Antioxydant potential and total phenolic contents of *Urtica dioica* (whole plant). Vol.7; issue 2: 120-128.
- Bijoy, M., Jayati, S., Probir, K.S., 2008. Antioxidant activities of soybean as affected by bacillus- fermentation to kinema. Food research international. 1, 586-593.
- Boizot, N., Charpentier, J.P., 2006. Méthode rapide d'évaluation des composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le cahier des techniques de l'inra.pp79-82.
- Bouayed, J., 2007. Etude de la corrélation anxiété/ statut oxydatif des granulocytes chez la souris et des effets antioxydants/neuroactifs des polyphénols extraits de *Prunus domestica* L. thèse de doctorat, université Verlaine- Metz.

- Bruneton, J., 1999. Pharmacognosie, phytochimie - plantes médicinales - 3^{ème} Ed : Techniques et documentations. Paris. PP : 227-310-312-313-314.494.
- Cushine, T.P.T., Lamb, A.J., 2005. Antimicrobial activity of flavonoids, Int. J. antimicrobial agents. 26: 343- 356.
- Collier, H., Chesher, G.B.,1956. Identification of 5-hydroxy tryptamine in the stinging nettle (*Urtica dioica*). Pharmaco/chemometer.186-9.
- Dacosta, Y., 2003.Les phytonutriments bioactifs. Ed :Yves Dacosta. Paris. 317p.
- Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A., Capasso, F.,1999. Flavonoids : Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life. Sci. 65(4): 337-53.
- Favier, A., 2003. Le stress oxydant. L'actualité chimique. 108-115.
- Fu, H.Y., Chen, S.J., Chen, R.F., Ding, W.H., Kuo- Huang, L.L., Huang, N., 2006. Identification of oxalic acid and tartaric acid as major persistent pain inducing toxins in the stinging hair of the nettle extract(*Urtica thumbergiana*) Ann Bot. 98: 57- 65.
- Fuhrman, B., Lavy, A., Avirm, M., 1995. Consumption of red wine with meats reduces the susceptibility of human plasma an low density lipoproteins to lipid peroxydation. Am .J. Clin. Nutr. 61: 549-554.
- Ghestem, A., Saguin, E., Paris, M.,Orecchioni, A. M., 2001. Le préparateur en pharmacie dossier 2^{ème} Ed TEC & DOC. Paris.pp 275.
- Gordon, M. H., 1990. The mechanism of antioxydant action *in vitro*.In Hudson, B.J.F.(Ed), food antioxydants. Elsevier applied science, London.pp.1-8.
- Gordon, M.H.,2001. The developpement of oxidative rancidity in foods. In: pokorny, J., yanishlieva, N., Gordon, M.H.(EDS), antioxydants in food: practical applications. Cambridge: woodhead publishing. Pp. 7-21.
- Goudable, J., favier, A., 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition chimique et métabolisme.11, 115-120.
- Gulçin, I., Oktay, M., kirecçi, E., kùfrevioglù, O.I.,2003. Screenning of antioxydant and antimicrobial activities of anise(*Pimpinella anisum* L) seed extracts. Food chemistry.83(3), 371-382.

- Gul, S., Demerci, B., Baser, K.H., Akpulat, H.A., Aksu, P., 2012. Chemical composition and *in vitro* cytotoxic, genotoxic effects of essential oil from *Urtica dioica* L. *Bul Environ Contum Toxicol.* 88: 66-71.
- Hai, L.R., 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanisms of action. *J. Nutr.* 134: 3479-3485.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Calier, C., Chapelle, J.P., 2007. Le stress oxydant. *62: 10: 628- 638.*
- Hameed, I.H., Hussein, H.J., Kreem, M.A., Hamad, N.S., 2015a. Identification of five newly described bioactive chemical compounds in methanolic extract of *Mentha viridis* by using chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *J. Phacogn. Phytother.* 7(7)/ 107-125.
- Hanton, C., 2005. Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France, pp : 43.
- Harborne, J.B., Williams, C.A., 2000. Advances in flavonoid research since 1992 *phytochemistry.* 55: 481-504.
- Harrison, R.K., 1966. *Healing herbs of the bible.* Leiden: EJ Brill publishers. P. 58.
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Viorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., Heinonen, M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agriculture and food chemistry.* 47, 3954- 3962.
- King, A., Young, G., 1999. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J of the American dietetic association.* 99: 213- 218.
- Kirtikar, K.R., Babsu, B.D., 2008. *Indian medicinal plant* 2nd Ed. Dehradun – international book distributors. P. 2340.
- Kristofova, O., Adam, V., Babula, P., Zehmalek, J., Beklova, M, Havel, L., 2010. Effects of various doses of selenite on stinging nettle (*Urtica dioica*). *Intr Environ Health Res Public Health.* 7, 3804-15.
- Kroyer, G., Hegedus, N., 2001. Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. *Innovative food science and emerging technologies.* 2, 171- 174.

Kukric, Z.Z., Topalic-Trivunovic, L.N., Kukavica, B.M., Matos, S.B., Pavicic, S.S., Broja, M.M., Savic, A.V., 2012. Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L). 43, 257- 272.

Lamaison, J.L.C., Carnet, A., 1990. Teneurs en principaux flavonoïdes de *Cratageus monogyna* Jacq et de *Cratageus laevigata* (poiret D.C) en fonction de la vegetation. Pharmaceutica acta elvetiae. 65,315- 320.

Le Moal, M.A ., Truffa-bachi, P., 1981. *Urtica dioica* agglutinin. A new nitrogen for murine T lymphocytes: unaltered interleukin-1production but late interleukn-2 mediated proliferation. Cell immunology.III 5(1):24- 35.

Lenglen, S., 2000. L'ortie dioique (*Urtica dioica* L) dans l'hypertrophie de la prostate. 104p Th : pharmacie : Lille2. 158.

Lugasi, A., Ovari, J., Saji, K., Birol., 2003. The role of antioxidant phytonutrients in the ptevention of deseases. *J. Acta.Biologica. Szegediensis*.47(1-4) : 119-125.

Lutge,U., Kluge, M., Bauer, G., 2002. Botanique 3^{ème} Ed : technique et documentation. Lavoisier. Paris. 211p.

Magee, P.G., Rowland, I.R., 2004. Phyto-oeustrogens, their mechanism of action: current evidence for a role in breast and prostate cancer.Brit.J. Nutr.91:513- 531.

Marfak, A., 2003. Thèse de doctorat radiolyse Gamma des flavonoides; étude de leur activité avec des radicaux issus des alcools. pp : 6- 7- 10.

Molyneux, P., 2004. The use of stable free radical diphenyl picryl hydrazyl (DPPH) for estimating antioxydant activity. Songklana Karin journal of science and technology. 26(2), 211- 219.

Nencu, I., Istudor, V., Ilies , D-C., Ra Dulescu, V., 2013. Preliminary research regarding the therapeutic uses of urtica dioica L NOTE II. The dynamics of accumulation of phénolic compounds and ascorbic acid. Vol. 61, 12.

Ozkan, A., Yumrutas, O., Saygideger, S.D., Kulak, M., 2011. Evaluation of antioxidant activities and phenolic contents of some edible and medicinal plants from turkey's flora. Adv.Env.r.Biol. 5, 2.231- 236.

Paris, M et Hurabielle., 1981. Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris .pp: 102- 103- 104- 107.

Price, M.L., Vanscoyoc, S., Butler, G., 1978. Article evaluation of vanillin reaction an assay for tannin sorghum grain.I- agric. Food chemistry.26, 1210- 1218.

Prieto, P., Prineda, M., Aguitar, M., 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E.analytical biochemistry. 269, 337- 341.

Rafajlovska, V., Rizova, V., Djarmati , Z, Tsevic, V., Cvetkovl, L., 2001. Contents of fatty acids in stinging nettle extract (*Urtica dioica* L). obtained with super critical carbon dioxid. Actafarm.51: 45- 51.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice- Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved radica ABTS cation decolorisation assay. Free radical biology and medicine. 26, 1231- 1237.

Reader's Digest., 2008, 2006, 2003. Les plantes medicinales. 2^{ème} ED.

Ribereau- gayon, P., 1982. Notions générales sur les composes phénoliques, méthodes générales d'étude des composés phénoliques, In : « composés phénoliques des végétaux ». Ed. dunod, Paris.pp. 173- 201.

Rock, E., 2003. Stress oxydant, micronutriments et santé. *Université d'été de nutrition Clermont- Ferrand*. 37- 42.

Semih, O., Buket, Y., 2012. Phenolic compounds analysis of root stalk and leaves of nettle. 564367, 12.

Seyoum, A., Asres, K., El- Fiky, F.K., 2006. Structure- radical scavenging activity relationships of flavonoids. Phytochemistry .67: 2058- 2070.

Swain, T., Hillis, W.E., 1959. The phenolics constituents of prinus domestica. I. the quantitative analysis of phenolics constituents. Journal of the science of food and agriculture.10, 63-68.

Tapiero, H., Tew, K.D., Nguyen., B.G., Mathé, G., 2002. Polyphénols do they play a role on the prevention of the human pathologies? Biomed . pharmacother. 56: 200-207.

Tepe, B., Daferera, D., Sokomen, A., Sokomen, M., Poulissiou, M., 2005. Antimicrobial and antimicrobial activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller(Lamiaceae). Food chemistry. 90, 333- 340.

Tita, I., Mogusam, G.D., Tita., 2009. Ethnobotanical inventory of medicinal plants from the south-west of Romania, Farmacia, 57 (2): 1416156.

Wafa, M.A., Al Shaikh, H., Al Omari, N.A., 2013. Phytochemical and cytotoxic studies of polyphenolic flavonoid contents of *Urtica dioica*. Int. Res.J.Pharm. 4(12).

Wagner, J., Willer, F., Krecher, B., 1989. Biologically active compounds from the aqueous extract of *Urtica dioica*. Planta Med. 55(5): 452- 4.

Wetherlit, H., 1992. Evaluation of *Urtica* species as potential sources of important nutrients. Dev Food Sci. 29: 15- 25.

Yildrin, A., Oktay, M., Bilaloglu, V., 2001. The antioxidant activity of leaves of *Cydonia vulgaris*. Turkish journal of medical sciences. 31, 23-27.

Zeipina, S., Alsina, I., Lepse, L., Duma, M., 2015. antioxidant activity in nettle (*Urtica dioica* L) and garden orache (*Atriplex Hortensis* L) leaves during vegetation period. Nr. 1(66).

Zhou, K., Yu, L., 2004. Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. Lebensmittel- wissenschaft & Technologie. 37, 717- 721.

Annexes

Annexe 01 : courbes d'étalonnage.

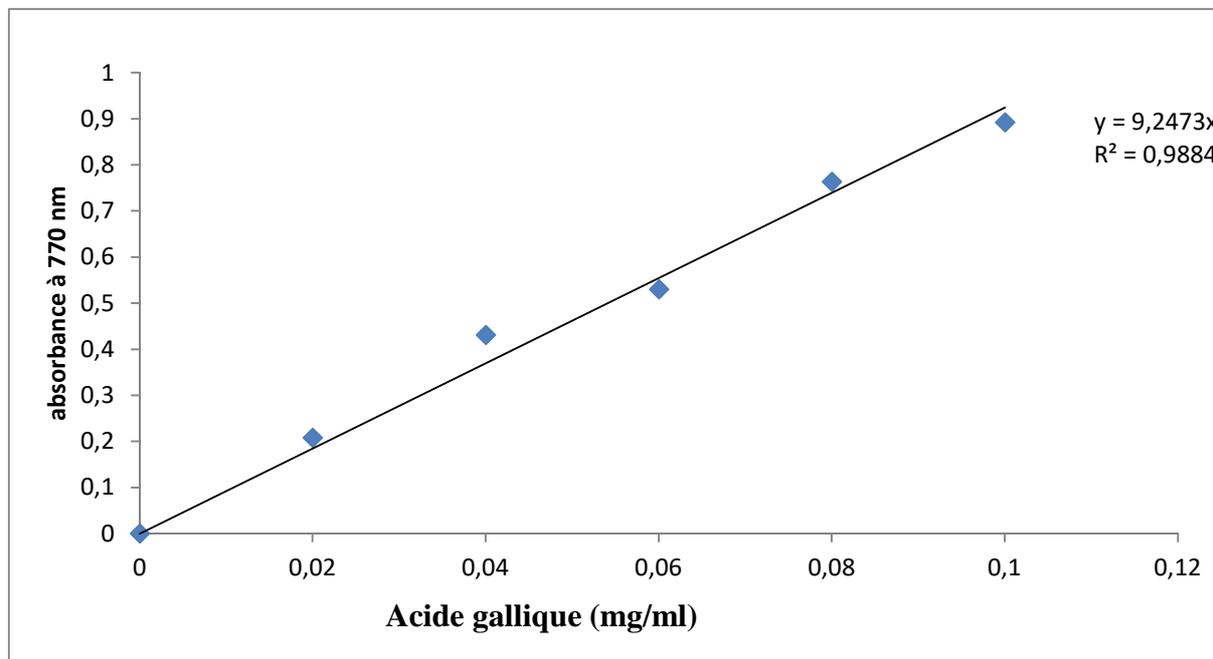


Figure 01 : droite d'étalonnage des composés phénoliques

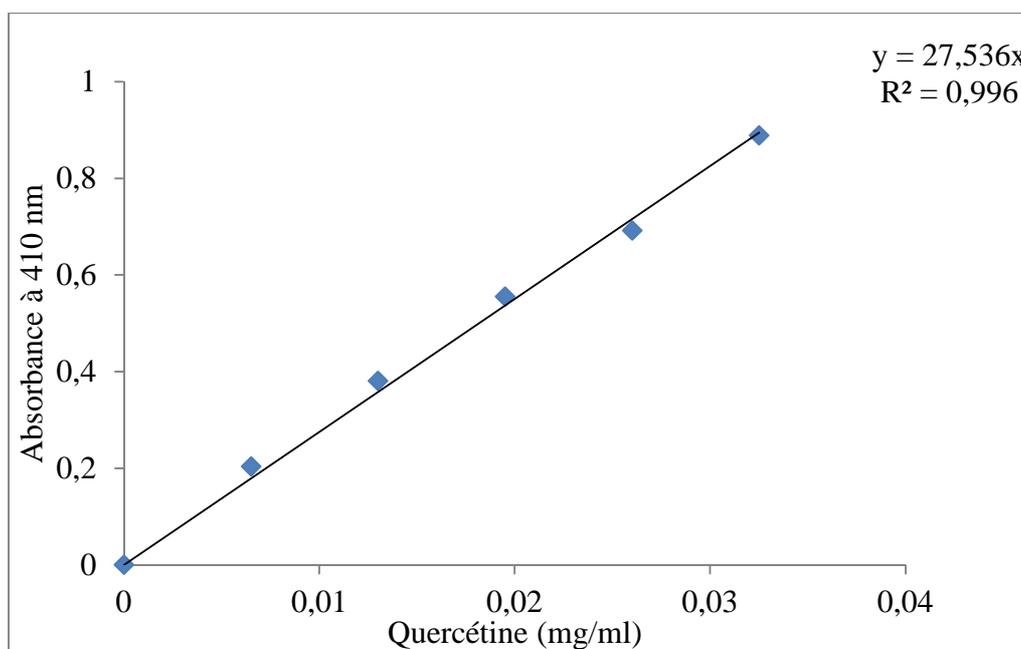


Figure 02 : droite d'étalonnage des flavonoïdes.

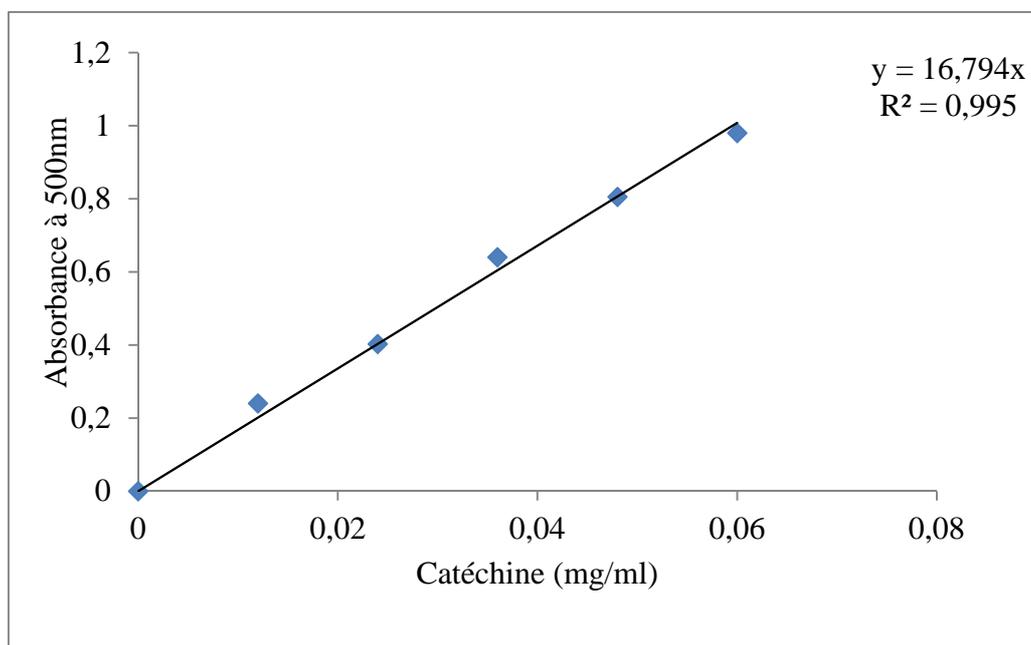


Figure 03 : droite d'étalonnage des tanins condensés

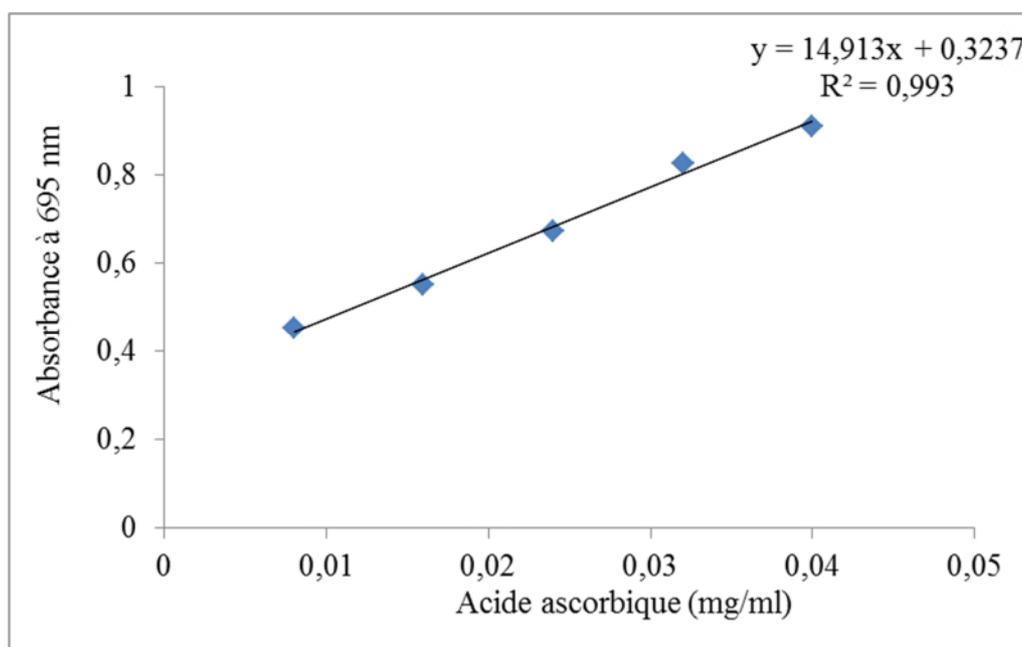


Figure 04 : droite d'étalonnage de l'activité réductrice du molybdate.

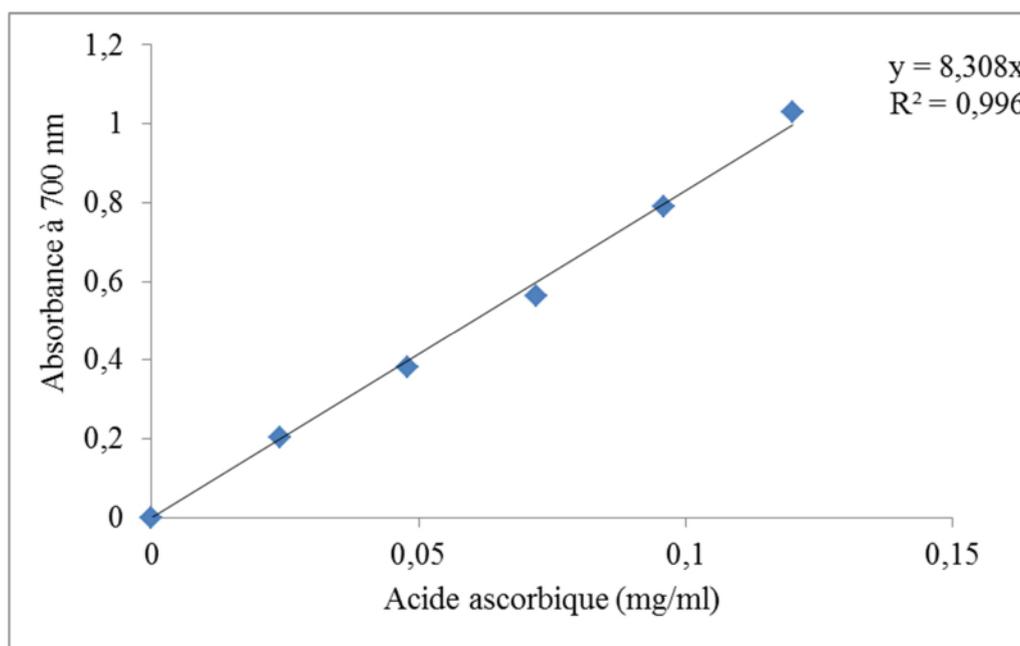


Figure 04 : droite d'étalonnage du pouvoir réducteur.

Résumé

Urtica dioica L est une plante médicinale reconnue par ses nombreux effets thérapeutiques. La présente étude a été consacrée à l'extraction des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés), en utilisant des solvants de différentes polarités, suivi par leur dosage et par l'évaluation de leur activité antioxydante. Les résultats obtenus ont montré que la plante contient des polyphénols qui exercent une activité anti radicalaire vis-à-vis du radical DPPH et ABTS et aussi une activité réductrice du molybdate et du fer.

Mots clés : *Urtica dioica* Linn, polyphénols, activité antioxydante, activité anti radicalaire, activité réductrice.

Abstract

Urtica dioica L is a medicinal plant known for its numerous therapeutic effects. The present study was devoted to the extraction of phenolic compounds (total polyphenols, flavonoids and condensed tannins), using solvents of different polarities, followed by their determination and evaluation of their antioxidant activity. The results obtained showed that the plant contains polyphenols, which exert an anti-radical activity with respect to the DPPH and ABTS radical and a reducing activity of molybdenum and iron.

Key words: *Urtica dioica* Linn, polyphenols, antioxidant activity, antiradical activity, reducing activity.