



*République Algérienne Démocratique Et Populaire*

*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la  
Recherche Scientifique*

*Université Abbas LAGHROUR-Khenchela-*

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*

*Département de Biologie Moléculaire et cellulaire*



**Mémoire**

*En vue de l'obtention du diplôme de Master académique en **Biologie***

*FILIERE : **Sciences Biologiques***

*OPTION : **Biochimie Appliquée***

**Thème**

***Etude in vitro des effets biologiques de deux plantes  
médicinales de la pharmacopée traditionnelle***

***Urtica dioica L. et Origanum majorana L.***

**Présenté par**

AOUAIDJIA Romaiassa & BENABBES Ikram Manar & SOUALHI Amina

**Membres du jury**

**Présidente :** Dr. DJEMIL Randa (M.C.B) Université Abbas Laghrou -Khenchela-

**Encadrante :** Dr. DOUAOUYA Lilia (M.C.A) Université Abbas Laghrou-Khenchela-

**Examineur :** Dr. BADIS Zakaria (M.C.B) Université Abbas Laghrou-Khenchela-

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2023/2024

## *Remerciements*

Nous voudrions exprimer notre gratitude et remercier au tout-puissant **ALLAH** avant tout qui nous a donné le courage et la volonté d'accomplir ce travail.

A toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Tout d'abord, nous remercions notre encadrante, **Dr. DOUAOUYA Lilia** pour sa patience, ses conseils avisés, et son soutien indéfectible tout au long de ce projet. Sa rigueur scientifique et ses encouragements nous ont permis de surmonter les nombreux défis rencontrés.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude à **Dr. BADIS Zakaria** pour avoir accepté de faire partie de notre jury de soutenance. Votre expertise et vos conseils seront précieux pour l'évaluation de notre travail, et nous vous remercions sincèrement pour votre disponibilité et votre engagement.

Nous tenons à remercier chaleureusement **Dr. DJEMIL Randa** pour avoir accepté de rejoindre notre jury de soutenance. Votre participation et vos précieux conseils enrichiront grandement notre travail. Nous vous sommes reconnaissantes pour le temps et l'attention que vous consacrez à cette évaluation.

Nous exprimons également notre gratitude aux **Personnels du Laboratoire Pédagogique de Biologie de l'Université Abbas Laghrou -El Hamma** et **Etablissement Public Hospitalier Ahmed Ben Bella – Khenchela**, pour leur gentillesse, aide et à nous avoir fournis les informations nécessaires afin de mieux mener nos expériences au laboratoire.

Un grand merci à nos collègues et amis, pour leurs encouragements et leur soutien moral. Vos échanges et discussions ont été une source de motivation et d'inspiration constante.

Nous n'oublions pas nos familles, dont le soutien inconditionnel a été une véritable force motrice tout au long de ce parcours. Merci pour votre compréhension et votre amour.

Enfin, nous tenons à exprimer notre gratitude à toutes les personnes et institutions qui ont directement ou indirectement contribué à ce travail. Votre aide a été inestimable et nous vous en sommes profondément reconnaissants.



## Dédicace

C'est avec l'aide et la grâce d'**ALLAH** que j'ai achevé ce modeste travail et avec tous mes sentiments de respect et de reconnaissance, que je le dédie :

A l'âme bienveillante de mon père **Ali** qui aurait tant aimé me voir en ce jour, dans l'ombre de ton absence, chaque succès est teinté de tristesse, car tu n'es pas là pour le partager. Mais aujourd'hui plus que jamais je sens ta présence à mes côtés. Je dédie ce triomphe à ta mémoire éternelle avec l'espoir que d'où tu es, tu puisses ressentir toute la fierté et l'amour que je garde pour toi. JE T'AIME PAPA

A ma merveilleuse mère **Djemila**, aucun mot n'aurait capturé la profondeur de l'amour et l'affection que je ressens pour toi. Tu es bien plus qu'une mère, tu es ma lune mon exemple et mon fil d'espoir qui allume mon chemin, je te suis infiniment reconnaissante pour chaque instant que tu as été là pour moi et mes frères sans jamais faillir, pour ton dévouement et tes sacrifices. Ce triomphe est le tien aussi, Merci pour ta présence rassurante et pour tous ces instant ou ton amour inconditionnel a été ma plus grande force. Que dieu t'accorde une longue vie, te protège et te garde en bonne santé. JE

T'AIME MAA

A mon adorable frère **Younes**, tu es bien plus qu'un frère tu es mon guide mon confident et mon modèle. Ta présence est un cadeau précieux que je chérie chaque jour, merci pour ta force, ton soutien inconditionnel et ton amour sans faille, je suis infiniment reconnaissante de t'avoir toi et **Aymen** comme frère. Que dieu vous protège et vous offre la chance et le bonheur. LOVE UU

A mon âme sœur **Sabrine**, ma cousine qui n'as pas cessée de me conseiller , encourager, soutenir et m'aimée tout au long de mon parcours .Ta présence est un précieux cadeau qui inonde ma vie de joie et tendresse. Que tu sois toujours entourée de bonheur et de sérénité.

A tous les membres de ma famille, mes tantes, oncles et mes cousins

A tous mes amies avec lesquelles j'ai partagé de merveilleux moments,

**Joujou** ma confidente, **Amani** ma twinny, **Ikram** ma cookie, **Dalia**, **Zohra**, **Chaima**, **Nadia**, **Letisia**, **Kaouther**, **Noor**, **Selma**.

Chacun de vous a enrichie ma vie de votre amitié sincère et de votre présence précieuse.

A mes binômes **Ikram & Amina** notre collaboration a été un pilier essentiel pour réussir ce projet. Travailler ensemble a été une expérience enrichissante qui a renforcé nos liens d'amitié, c'était un plaisir d'avoir partagé cette expérience avec vous.

A mon club MYLAND étant une expérience précieuse dans mon chemin universitaire, sans oublier tous les membres en particulier **Randa**, **Nessrine**, **Dounia**, **Soheib**, **Chihab**. Votre soutien, votre camaraderie et vos encouragements ont été d'une valeur inestimable.

Last but not least, i wanna thank me. I wanna thank me for believing in me. I wanna thank me for all doing this hard work. I wanna thank me for having no days off. I wanna thank me for never quitting. I wanna thank me for always being a giver & traying to give more than i receive. I wanna thank me for trying to do more right than wrong. I wanna thank me for just being me all times.

وكان فضل الله عظيمًا

 Romeissa

## Dédicace

Tout d'abord, je tiens à remercier **DIEU** de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

« **À ma chère maman SABAH**, partie trop tôt, ton départ a laissé un vide immense dans ma vie, mais ton amour, ton soutien et ta sagesse continuent de m'accompagner chaque jour. Ta force et ton courage face aux défis de la vie m'ont toujours inspiré, et c'est en pensant à toi que j'ai trouvé la motivation pour mener à bien ce travail.

Tu as été mon premier modèle, celle qui m'a appris l'importance de la persévérance et du travail acharné. Ton sourire, ta gentillesse et ta bienveillance restent gravés dans mon cœur. Ce mémoire, je te le dédie avec toute ma gratitude et mon amour éternel. Je t'aime maman. »

« **À mon très cher père LAZHAR**, tu as toujours été pour moi un exemple de père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le respect que j'ai toujours eu pour toi. Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

« **À ma très chère grand-mère DJAMILA**, tu as été mon refuge, mon guide, et mon inspiration. Ton sourire, ta tendresse et ta patience m'ont apporté un immense réconfort. Je te suis éternellement reconnaissante pour tous les sacrifices que tu as faits et pour l'amour inconditionnel que tu m'as offert. Ta présence dans ma vie a été un cadeau inestimable, et je t'en remercie du fond du cœur. »

« À mes amies, devenues mes sœurs, **SELMA, ROMEISSA, KAWTHER, CHAIMA,**

**NOOR** ... votre amitié a été une source de réconfort et de motivation tout au long de ce parcours. Ce mémoire est dédié à vous toutes, et à cette université qui nous a réunies. Merci pour ces belles années et pour ces liens indéfectibles que nous avons tissés ensemble.

« À tous les membres de ma famille, ainsi que mes amis, **MAISSA, WISSAL, ACHRAF, CHOUAIB, MIMOU**. Vous avez été bien plus que des amis : vous avez été des partenaires, des confidents et une véritable source de force et d'inspiration. Et un grand merci à mes deux collègues de ce travail **ROMEISSA** et **AMINA**.

وكان فضل الله عليكم عظيماً

 Iqram

## *Dédicace*

Avant tout, je tiens à remercier le dieu ﷻ et l'unique qui m'a offert le courage et la volonté nécessaire pour affronter les différentes épreuves de la vie.

Je dédie ce modeste travail à :

A moi-même.

À la plus belle créature que Dieu a créée sur terre, À la fleur qui rehausse et aromatise mes jours et la lumière de mes yeux, **Ma cher mère SEKKIOU SOUAAD.**

Symbole de tendresse et de sacrifice, ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles. Merci pour son soutien moral pendant toutes mes longues années d'études et pour tout l'amour qu'elle m'a donnée. Que dieu te garde pour nous.

À la chose la plus précieuse que j'ai, qui m'a donné la vie, **Mon Cher Père EL HADI**, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite. Merci papa. Que dieu te protège et te donne longue vie.

À Mes chères frères **AMINE** et **MOHAMMED ANIS**, À ma chère sœur **RITAJ**. À tous les membres de ma grande famille de **SOUALHI** et **SEKKIOU**,

À mes belles copines **NOUR EL HOUDA**, **MALAK**, **MERIEEM**, **RAYEN**, **KHAWLA**, **AICHA** qui on partagé tous les bons et les Mauvais moments avec moi, sans oublier mes binômes **IKRAM & RO-MAISSA** pour le temps qu'on a passé ensemble grâce à cette étude et ce mémoire.

A tous ceux qui sont proches de mon cœur. Et dont je n'ai pas cité les noms.

À tous personnes qui connaissent et aime **AMINA** ♥.

وكان فضل الله عظيمًا

 Amina

## **Etude *in vitro* des effets biologiques des plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle *Urtica dioica* L. et *Origanum majorana* L.**

### **Résumé**

Dans le but de valoriser deux plantes de la pharmacopée traditionnelle, notre recherche vise à étudier la composition phytochimique et à évaluer *in vitro* le pouvoir antioxydant et anti-inflammatoire des extraits hydro-éthanoliques et des hydrolats issus d'*Origanum majorana* L. et d'*Urtica dioica* L.

Le criblage phytochimique a révélé que les extraits éthanoliques sont plus riches en métabolites secondaires, tels que les tanins, les saponosides, les flavonoïdes, les composés réducteurs et les terpénoïdes, que les hydrolats.

L'examen qualitatif par CCM a mis en évidence une grande variété des empreintes flavonoïques telles que les anthocyanidines, les flavonols, les acides phénoliques et les flavones, principalement dans l'EE Orig.

En termes quantitatifs, notre étude a démontré que l'hydrolat d'Ortie présente une teneur plus élevée en polyphénols ( $358.39 \pm 18.569 \mu\text{gEAG/mg}$ ), suivi par  $265,27 \pm 10.5 \mu\text{gEAG/mg}$  d'EE Orig, ce dernier ayant la plus grande teneur en flavonoïdes ( $31,53 \pm 3,11 \mu\text{gEQ/mg}$  d'extrait).

L'étude *in vitro* de l'activité anti-oxydante en utilisant l'effet scavenger du radical libre DPPH a démontré que l'EE d'Orig présente une activité anti-radicalaire très élevée, traduite par une faible concentration IC<sub>50</sub> d'environ  $4,2 \mu\text{g/ml}$ , suivie par l'EE Ort, suivie par les hydrolats.

Les extraits ont été testés aussi pour leur effet anti-inflammatoire en utilisant la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines et l'activité anti-hémolytique, qui évalue la stabilité de la membrane des hématies humaines. Il ressort des résultats que l'Hyd Ort à diverses doses a montré une protection efficace contre la dénaturation thermique des protéines, supérieure à celle du diclofénac sodique (médicament anti-inflammatoire de référence). Or, l'EE Ort a réussi à inhiber l'hémolyse des érythrocytes de manière dose-dépendante, avec une inhibition très élevée allant jusqu'à 92,97 %, ce qui est supérieur à celui du médicament référentiel anti-hémolytique (Dicynone) avec un pourcentage d'inhibition de 75,3 %.

En conclusion, l'*Origanum majorana* L. possède une activité anti-oxydante tandis que l'*Urtica dioica* L. est une supplémentaire anti-inflammatoire exceptionnelle ; dont ces activités biologiques prouvées sont en relation avec la quantité et la qualité des flavonoïdes. De ce fait, elles peuvent être utilisées comme une ressource naturelle pour réduire les conséquences du stress oxydant qui entraîne des problèmes inflammatoires et cardiovasculaires.

**Mots clés :** *Origanum majorana*, *Urtica dioica*, Activité anti-oxydante, Activité Anti-inflammatoire, Polyphénols, Flavonoïdes.

***In vitro* study of the biological effects of medicinal plants from the traditional pharmacopoeia *Urtica dioica* L. and *Origanum majorana* L.**

## Abstract

Our research aims to investigate the phytochemical content and assess the antioxidant and anti-inflammatory properties of hydro-ethanolic extracts and hydrolats from *Origanum majorana* L. and *Urtica dioica* L. *in vitro*, with the objective of providing value to two plants from the traditional pharmacopoeia.

The results of phytochemical screening showed that the ethanolic extracts had higher concentrations of secondary metabolites than the hydrolats, including tannins, saponosides, flavonoids, reducing chemicals, and terpenoids. Many flavonoid imprints, including anthocyanidins, flavonols, phenolic acids, and flavones, were found during a qualitative TLC analysis, primarily in EE Orig.

In quantitative terms, our study showed that Hyd Ort has a higher polyphenol content ( $358.39 \pm 18.569 \mu\text{gEAG/mg}$ ), followed by  $265.27 \pm 10.5 \mu\text{gEAG/mg}$  in EE Orig, the latter having the highest flavonoid content ( $31.53 \pm 3.11 \mu\text{g EQ/mg extract}$ ).

EE d'Orig has very high antiradical activity, as evidenced by a low IC<sub>50</sub> concentration of about  $4.2 \mu\text{g/ml}$ , followed by EE Ort, and finally the hydrolates in the *in vitro* evaluation of antioxidant activity employing the DPPH free radical scavenger effect.

Protein denaturation inhibition and anti-haemolytic activity tests, which evaluate the stability of the human red cell membrane, were also conducted on the extracts to determine their anti-inflammatory properties. Results indicated that Hyd Ort, at different doses, offered more effective protection against heat protein denaturation than the standard anti-inflammatory medicine, diclofenac sodium. With an extremely high inhibition rate of up to 92.97%, EE Ort was able to effectively block erythrocyte hemolysis in a dose-dependent manner. This is in comparison to the reference anti-haemolytic medicine, Di clone, which only had an inhibition rate of 75.3%.

Conclusively, *Origanum majorana* L. exhibits antioxidant activity, while *Urtica dioica* L. is a remarkable supplement for reducing inflammation. These established biological actions are associated with the amount and caliber of flavonoids. Their utilization as renewable resources can therefore help reduce the effects of oxidative stress, which can cause cardiovascular and inflammatory disorders.

**Keywords :** *Origanum majorana*, *Urtica dioica*, Antioxidant activity, Anti-inflammatory activity, Polyphenols, Flavonoids.

## دراسة في المختبر للتأثيرات البيولوجية للنباتات الطبية من دليل الأدوية التقليدية *Urtica dioica L.* و *Origanum majorana L.*

### ملخص

في إطار تثمين قيمة نباتين من النباتات الطبية التقليدية، تهدف هذه الدراسة إلى دراسة التركيب الكيميائي النباتي والتقييم المخبري للقدرة المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات للمستخلصات الهيدروإيثانولية و ناتج التقطير المستخلص من نباتي البردقوش (*Origanum majorana L.*) والقراص (*Urtica dioica L.*)

أظهر التحليل الكيميائي النباتي أن المستخلصات الإيثانولية تحتوي على كميات أكبر من المركبات الثانوية مثل التانينات، الصابونينات، الفلافونويدات، المركبات المختزلة، والتربينويدات، مقارنةً بناتج التقطير.

كشف الفحص النوعي باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة عن تنوع كبير في البصمات الفلافونويدية مثل الأنثوسيانينات، الفلافونولات، الأحماض الفينولية، والفلافونات، خاصة في مستخلص البردقوش الإيثانولي. (EE Orig)

من الناحية الكمية، أظهرت دراستنا أن ناتج التقطير للقراص يحتوي على أعلى تركيز من البوليفينولات ( $358.39 \pm 18.569$  ميكروغرام مكافئ حمض الجاليك/ملغ)، يليه مستخلص البردقوش الإيثانولي ( $265.27 \pm 10.5$  ميكروغرام مكافئ حمض الجاليك/ملغ)، الذي يحتوي أيضاً على أعلى تركيز من الفلافونويدات ( $31.53 \pm 3.11$  ميكروغرام مكافئ كيرسيتين/ملغ مستخلص)

في دراسة النشاط المضاد للأكسدة في المختبر باستخدام تأثير تقليل الجذور الحرة (DPPH)، تبين أن مستخلص البردقوش الإيثانولي (EE Orig) يمتلك نشاطاً مضاداً للجذور الحرة مرتفعاً جداً، يليه مستخلص القراص الإيثانولي، ثم ناتج التقطير. يعكس هذا النشاط المضاد للجذور الحرة بتركيز  $IC_{50}$  منخفض يقارب 4.2 ميكروغرام/مل.

تم اختبار تأثير المستخلصات المضاد للالتهابات باستخدام طريقة تثبيط تحلل البروتينات والنشاط المضاد لانحلال الدم، الذي يقيم استقرار غشاء خلايا الدم الحمراء البشرية. أظهرت النتائج أن ناتج التقطير للقراص بجرعات مختلفة يقدم حماية فعالة ضد تحلل البروتينات الحراري، متفوقاً على الديكلوفيناك الصوديوم (الدواء المضاد للالتهابات المرجعي). بينما نجح مستخلص القراص الإيثانولي في تثبيط انحلال الدم بطريقة تعتمد على الجرعة، حيث وصلت نسبة التثبيط إلى 92.97%، متفوقاً على الدواء المرجعي المضاد لانحلال الدم (Dicynone) الذي حقق نسبة تثبيط 75.3%.

في الختام، يتمتع نبات البردقوش (*Origanum majorana L.*) بنشاط مضاد للأكسدة، بينما يتميز نبات القراص (*Urtica dioica L.*) بنشاط مضاد للالتهابات استثنائي؛ وترتبط هذه الأنشطة البيولوجية بكمية ونوعية الفلافونويدات. وبذلك يمكن استخدامهما كمصدر طبيعي لتقليل آثار الإجهاد التأكسدي الذي يؤدي إلى مشاكل التهابات وأمراض قلبية وعائية.

### الكلمات المفتاحية:

البردقوش (*Origanum majorana L.*)، القراص (*Urtica dioica L.*)، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهاب، بوليفينول، فلافونويد

## Table des matières

Remerciements

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....1

### SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.	LES PLANTES MEDICINALES ET LA PHYTOTHERAPIE .....	3
1.	La phytothérapie.....	3
1.1.	Définition .....	3
1.2.	Les différents types de la phytothérapie.....	3
2.	Les plantes médicinales.....	3
2.1.	Définition .....	3
2.2.	Composition chimique .....	4
II.	GENERALITES SUR LES PLANTES SELECTIONNEES .....	5
1.	La plante <i>Urtica dioica</i> L. ....	5
1.1.	Présentation de la famille Urticacées .....	5
1.2.	Présentation du genre <i>Urtica</i> .....	5
1.3.	Classification du genre <i>Urtica</i> .....	5
1.4.	L'espèce <i>Urtica dioica</i> L. ....	6
1.5.	Description morphologique.....	6
1.6.	Composition chimique .....	7
1.7.	Propriétés.....	7
2.	La plante <i>Origanum majorana</i> L. ....	8
2.1.	Présentation de la famille des <i>Lamiacées</i> .....	8
2.2.	Présentation du genre <i>Origanum</i> .....	8
2.3.	Classification du genre <i>Origanum</i> .....	8
2.4.	L'espèce <i>Origanum majorana</i> L. ....	9
2.5.	Description morphologique.....	9
2.6.	Composition chimique .....	10
2.7.	Propriétés.....	10
III.	ACTIVITES BIOLOGIQUES ETUDIEES .....	11
1.	L'activité anti-oxydante .....	11
2.	L'activité anti-inflammatoire .....	11
I.	MATERIEL ET METHODES .....	13
1.	Matériel .....	13
1.1.	Matériel biologique .....	13
1.1.1.	Matériel végétal.....	13
1.1.2.	Echantillons du sang.....	13
1.2.	Médicaments .....	13

1.3.	Réactifs chimiques et instrumentations.....	13
2.	Méthodes .....	14
2.1.	Préparation de l'extrait éthanolique .....	14
2.2.	Détermination du rendement d'extraction.....	14
2.3.	Préparation de l'hydrolat .....	15
2.4.	Criblage phytochimique .....	16
2.5.	Etude quantitative.....	17
2.5.1.	Dosage des polyphénols .....	17
2.5.2.	Dosage des flavonoïdes .....	17
2.6.	Etude qualitative (Identification des flavonoïdes par CCM) .....	18
2.6.1.	Protocole de CCM sur gel de silice .....	18
2.6.2.	Révélation.....	19
2.7.	Étude <i>in vitro</i> des activités biologiques.....	19
2.7.1.	Évaluation de l'activité anti-oxydante (Test de piégeage du radical libre DPPH) 19	
2.7.2.	Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	20
2.7.2.1.	Méthode de dénaturation du SAB (Sérum Albumin Bovin) .....	21
2.7.2.2.	Evaluation de l'activité anti-hémolytique .....	21
<b>II.</b>	<b>RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>	<b>23</b>
1.	Rendement de l'extraction .....	23
2.	Criblage phytochimique .....	24
3.	Analyse quantitative .....	27
3.1.	Dosage des polyphénols totaux .....	27
3.2.	Dosage des flavonoïdes .....	29
4.	Analyse qualitative .....	31
4.1.	Résultats de l'étude qualitative par CCM .....	31
5.	Résultats des effets biologiques <i>in vitro</i> .....	34
5.1.	L'activité antioxydante (Test scavenger du radical libre DPPH).....	34
5.2.	L'activité anti-inflammatoire .....	36
5.2.1.	Inhibition de la dénaturation du SAB.....	36
5.2.2.	L'activité anti-hémolytique .....	37
	<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>39</b>
	<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>41</b>

**Annexe**

## *Liste des figures*

<b>Figure 1:</b> Différentes parties aériennes d' <i>Urtica dioica</i> L.....	7
<b>Figure 2:</b> Différentes parties aériennes d' <i>Origanum majorana</i> L. ....	10
<b>Figure 3:</b> Rotavapeur utilisé pour sécher les extraits éthanoliques .....	14
<b>Figure 4:</b> Schéma de l'extraction par hydro distillation (Huile essentielle/Hydrolat) .....	15
<b>Figure 5:</b> Réduction du DPPH par un antioxydant.....	19
<b>Figure 6:</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne $\pm$ SD de trois mesures). ....	28
<b>Figure 7:</b> Histogramme représente la teneur en polyphénols totaux des plantes <i>Urtica dioica</i> L. et <i>Origanum majorana</i> L. ....	28
<b>Figure 8:</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine (moyenne $\pm$ SD de trois mesures). ....	30
<b>Figure 9:</b> Histogramme représente la teneur en flavonoïdes des plantes <i>Urtica dioica</i> L. et <i>Origanum majorana</i> L. ....	30
<b>Figure 10 :</b> Photo du chromatogramme résultant de l'analyse de l'extrait EEB par CCM sur gel de silice par les systèmes de solvants 1 : ( TEM) et 2 : (AW) à 365 nm .....	31
<b>Figure 11:</b> Photo du chromatogramme résultant de l'analyse de l'extrait EEB par CCM sur gel de silice par les systèmes de solvants 1: (BAW) , 2 : ( ATM) et à 365 nm .....	32
<b>Figure 12 :</b> Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration des extraits éthanoliques et des hydrolats.....	35
<b>Figure 13 :</b> Concentrations des extraits, des hydrolats et de l'acide ascorbique qui inhibent 50% du radical DPPH .....	35
<b>Figure 14 :</b> Effet des extraits, des hydrolats et du diclofénac sur la dénaturation de SAB .....	36
<b>Figure 15 :</b> Evolution de l'effet anti-hémolytique des extraits, des hydrolats en fonction de leur concentration en comparaison avec le contrôle positif .....	37

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1 :</b> Rendement et caractéristiques des extraits issus d' <i>Urtica dioica</i> L. et d' <i>Origanum majorana</i> L. ....	23
<b>Tableau 2:</b> Screening phytochimique des extraits éthanoliques et des hydrolats d' <i>Urtica dioica</i> L. et <i>Origanum majorana</i> L.....	24
<b>Tableau 3:</b> Résultats de la CCM de de l'extrait EEB des deux plantes (EE Ort, EE Org) .....	32

## *Liste des abréviations*

**% PI** : Pourcentage d'Inhibition.

**µg EAG/mg** : Microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait.

**Abs** : Absorbance.

**Ac as** : acide ascorbique.

**AlCl<sub>3</sub>** : Trichlorure d'aluminium.

**ATM** : Acide acétique, toluène, méthanol

**AED** : Acétone/eau distillé .

**BAE** : Butanol, acide acétique, eau distillé.

**CCM** : Chromatographie sur couche mince.

**CMED** : Chloroforme, méthanol, eau distillé.

**DMSO** : Diméthyl Sulfoxide.

**DPPH** : Diphénylpicryl-hydrazyl (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>).

**EDTA** : Ethylène Diamine Tétra-acétique.

**EE Orig** : Extrait éthonilque d'*Origanum*.

**EE Ort** : Extrait éthanolique d'*Ortie*.

**FeCl<sub>3</sub>** : Trichlorure de fer.

**FRAP** : Pouvoir Antioxydant Réducteur du Fer.

**HCl** : Acide chlorhydrique.

**HRBC** : globule rouge humain.

**Hyd Orig** : Hydrolat *Origan*.

**Hyd Ort** : Hydrolat *Ortie*.

**IC 50** : Concentration inhibitrice à 50 %.

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium.

**NaOH** : Hydroxyde de sodium.

**ND** : Non déterminé.

**NH<sub>4</sub>OH** : Ammoniaque.

**OMS** : l'organisation mondiale de la santé.

**ORAC** : Capacité d'Absorption des Radicaux d'Oxygène.

**PBS** : Tampon Phosphate Saline.

**pH** : potentiel d'hydrogène.

**Pp** : Poids de la poudre en gramme (g).

**Ps** : Poids de l'extrait sec en gramme (g).

**Rf** : Rapport frontal.

**SAB** : Sérum albumine bovin.

**SD** : écart type.

**TEM** : Toluène, acétate d'éthyle, méthanol.

**Tr** : Tour.

**UV**: Ultraviolet.

**µg EQ/mg** : Microgramme Equivalent de quercétine par milligramme d'extrait

**Hydr** : Hydrolat

## *Introduction*

Dans le domaine thérapeutique, les plantes aromatiques et médicinales ont suscité un vif intérêt. Effectivement, les éléments naturels extraits de ces plantes ont été très utiles en raison de leur apport précieux dans la fabrication de divers produits (**Amarti et al., 2011**).

Selon **Fouché** et ses collègues (**2000**), le savoir traditionnel ancestral qui se transmet de génération en génération est devenu une source d'information extrêmement précieuse pour l'industrie pharmaceutique. On connaît traditionnellement les effets des plantes médicinales, mais leurs propriétés thérapeutiques peuvent différer selon la partie utilisée de la plante (**Colette, 2004**). De plus, la biodiversité du continent africain est la plus étendue au monde, avec de nombreuses plantes utilisées comme herbes, aliments naturels et à des fins thérapeutiques (**Khia et al., 2014**).

En raison de sa position géographique au cœur de la Méditerranée, l'Algérie possède une végétation abondante et variée. Il est propice à la croissance spontanée de nombreuses plantes aromatiques. L'étude de la flore algérienne, riche et unique, revêt un intérêt scientifique essentiel pour comprendre la pharmacopée traditionnelle et la valorisation des substances naturelles (**Baba Aissa, 1991**).

Deux familles majeures dans la flore algérienne sont les *Lamiaceae* et les *Urticacées*, qui sont les plus couramment utilisées par les thérapeutes traditionnels. Selon **Kechar** et ses collaborateurs (**2016**), les espèces de ces familles sont considérées comme actives en raison des composés bioactifs qu'elles contiennent. Se sont parmi les familles d'épices et d'extraits à fort pouvoir antimicrobien et antioxydant sont les plus couramment utilisées à l'échelle mondiale (**Bouhdib et al., 2006**).

Environ 260 genres et 7000 espèces de *Lamiaceae* (*Labiatae*) sont répartis dans la région méditerranéenne (**Mechergui et al., 2010**), dont le genre *Origanum* est très riche en plantes économiquement significatives (**Giani et al., 2007**). Les *Urticaceae* constituent une famille de plantes à fleurs comprenant 53 genres répartis en 2625 espèces recensées, dont font partie l'ortie (**Rodolphe-Edouard Spichiger et al., 2002**).

*Origanum majorana*, communément appelé marjolaine, fait partie des plantes aromatiques reconnues depuis des siècles pour leur action apaisante. La composition de la marjolaine, ou *Origanum majorana*, inclut des composés bioactifs qui contribuent à ses nombreuses vertus médicinales. Parmi ces composants, on trouve des phénols simples et des acides phénols, connus pour leurs actions anti oxydantes et anti-inflammatoires (**Karine Jacquemard , 2019**) . Quant à l'Ortie (*Urtica dioica*) est utilisée depuis plus de 2000 ans

comme remède naturel en raison de ses propriétés thérapeutiques. Pour autant, il aura fallu attendre le début du XXI<sup>e</sup> siècle pour que sa valeur médicinale soit reconnue par les scientifiques. En raison de sa composition protéique équilibrée, de sa teneur élevée en minéraux et en vitamines, l'Ortie suscite un grand intérêt à la fois sur le plan thérapeutique et nutritionnel (**Rodolphe-Edouard Spichiger *et al.*, 2002**).

Les plantes constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives. Parmi celles-ci on est intéressé dans la présente étude aux plantes médicinales *Origanum majorana* L. et *Urtica dioica* L. qui possèdent plusieurs propriétés biologiques. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude dont l'objectif essentiel consiste à explorer la composition chimique en métabolites secondaires et la caractérisation quantitative et qualitative par chromatographie sur couche mince ainsi que l'évaluation *in vitro* de l'activité anti-oxydante et anti-inflammatoire des extraits hydro-éthanoliques issus de la partie aérienne des plantes ainsi que ses hydrolats obtenus par hydro distillation. Ce manuscrit s'articule autour de deux parties : Outre l'introduction et la conclusion générale, la première partie est une synthèse bibliographique dans laquelle, sont abordés des généralités sur les plantes sélectionnées et les activités biologiques étudiées. La deuxième partie est expérimentale divisée en deux chapitres ; le premier présente le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour l'extraction, le dosage quantitatif, l'identification par CCM et l'évaluation *in vitro* du pouvoir antioxydant et anti-inflammatoire de nos extraits, le deuxième chapitre expose les résultats obtenus et la discussion.

# *Synthèse bibliographique*

## **I. Les plantes médicinales et la phytothérapie**

### **1. La phytothérapie**

#### **1.1. Définition**

Le terme phytothérapie provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes ». La phytothérapie désigne la médecine basée sur les extraits des plantes et les principes actifs naturels (**Fetayah, 2015**). Phytothérapie a été défini par OMS comme la discipline médicale qui permet le bon usage à des fins préventives ou curatives, des plantes médicinales et de leurs dérivés, en relation avec les propriétés pharmacologique de leurs propriétés. Elle fait partie des médecines parallèles ou des médecines douces (**Strang.,2006**). La phytothérapie est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de partie de plantes ou de préparation à base de plantes (**Allegra et al., 2023**).

#### **1.2. Les différents types de la phytothérapie**

- **Aromathérapie** : consiste à utiliser les essences des plantes, ou les huiles essentielles, qui sont des substances aromatiques produites par de nombreuses familles de plantes. Ces huiles sont souvent utilisées à travers la peau.
- **Gemmothérapie** : se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules.
- **Herboristerie** : Cette méthode de phytothérapie est la plus traditionnelle et la plus ancienne. L'herboristerie utilise des plantes fraîches ou séchées, que ce soit au total ou en partie (écorce, fruits, fleurs).
- **Homéopathie** : utilise principalement les plantes, mais pas exclusivement ; les trois quarts des souches proviennent de plantes, tandis que le reste provient d'animaux et de minéraux (**Guemriche et ziyaya, 2021**).

### **2. Les plantes médicinales**

#### **2.1. Définition**

On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Ces plantes sont des plantes utilisées en phytothérapie pour leurs principes actifs (**Schauenberg et al., 2006**).

Une plante médicinale désigne une plante ou une partie d'une plante possédant des propriétés médicamenteuses par l'action synergique de ses composés actifs sans avoir des effets nocifs aux doses recommandées. Il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**EL-Rhaffari L., Zaid A. 2004**).

## **2.2. Composition chimique**

Les métabolites secondaires des végétaux peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (**Tirichine, 2010**).

- **Les saponosides (saponines)** La combinaison d'un triterpène hydrophobe et d'un glucide hydrophile confère aux saponosides qui, lorsqu'ils sont agités avec de l'eau, produisent une mousse savonneuse. Le Terme de saponoside est dérivé de la saponaria (Saponaria) qui était jadis utilisée comme substitut du savon (**Hopkins et al., 2003**).
- **Les alcaloïdes** qui sont typiquement des métabolites secondaires des végétaux. Ils sont d'une très grande diversité chimique Ils renferment tous de l'azote dans leur molécule et présentent en général une réaction alcaline (d'où leur nom). Ils sont souvent toxiques, même pour la plante qui les produit, ils sont donc stockés dans des territoires cellulaires particuliers (vacuoles, laticifères) (**Heller et al., 2023**).
- **Les flavonoïdes** du latin flavus donc jaune désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Marfak, 2003**). Ils peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles, caroténoïdes et bétalaïnes (**Ladhem, 2016**). On trouve les flavonoïdes, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux (**Zerargui, 2015**).
- **Les tanins** sont des composés phénoliques complexes. Ces composés sont naturellement produits par les plantes et se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines. En général, ils sont divisés en deux groupes les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Formica et Regeson, 1995**).
- **Les coumarines** possèdent des propriétés physiologiques et antimicrobiennes. Les coumarines se trouvent dans nombreuse espèces végétales, et des substances naturelles organiques aromatiques (**Bouabibsa, 2020**).

- **Les composés réducteurs** constituent probablement la classe la plus vaste et la plus diversifiée de composés organiques végétaux.
- **Les terpènes** sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une entité simple à cinq atomes de carbone (**Hopkins et al., 2003**).

## **II. Généralités sur les plantes sélectionnées**

L'*Urtica dioica* L. et l'*Origanum majorana* L. sont deux plantes médicinales qui possèdent des propriétés bénéfiques pour la santé. Elles sont tous deux réputées pour leurs propriétés anti-inflammatoires, anti-oxydantes et antibactériennes.

### **1. La plante *Urtica dioica* L.**

#### **1.1. Présentation de la famille Urticacées**

La famille des *Urticacées* comprend une cinquantaine de genres et près de 1000 espèces réparties à travers le monde. On distingue les *Urticacées* avec poils urticants (genre *Urtica*) ou sans (genres *Parietaria* et *Boehmeria*). Les *Urticacées* sont des plantes herbacées élancées à feuilles stipulées opposées par deux dont, l'épiderme porte des poils (protecteurs, sécréteurs ou urticants). Il existe une reproduction végétative (c'est-à-dire asexuée). Les fleurs mâles possèdent quatre sépales et quatre étamines, les fleurs femelles sont formées de quatre sépales et d'un carpelle, et donnent naissance à un fruit sec : un akène. (**Draghi, 2005**)

#### **1.2. Présentation du genre *Urtica***

Le genre *Urtica* tire son nom du latin uro ou urere qui veut dire « je brûle » faisant allusion à ses poils urticants qui piquent la peau dont le contact est très irritant. Ce genre est le plus répandu dans le monde de la famille d'*Urticacée* (les orties vraies) qui regroupe environ 40 espèces, la plus commune de toutes est la Grande Ortie (*Urtica dioica* L.). Les principales espèces du genre *Urtica* sont : *Urtica dioica* L., *Urtica urens* L., (Ortie brûlante ou « petite Ortie »), *Urtica pilulifera* L., (Ortie romaine ou « ortie à pilules »), *Urtica nabina* L., *Urtica trovirens* Req., *Urtica membranosa* Poiret (**Draghi, 2005**).

#### **1.3. Classification du genre *Urtica***

**Règne :** *Plantae*.

**Sous règne :** *Tracheobionta*.

**Super division :** *Spermatophyta*.

**Division :** *Magnoliophyta*.

**Classe :** *Magnoliopsida*.

**Sous classe :** *Rosidaeae dialycarpellées*.

**Ordre :** *Urticales*.

**Famille :** *Urticaceae*.

**Genre :** *Urtica*.

**Espèce :** *Urtica dioica* L. (Afif Chaouche, 2015).

#### 1.4. L'espèce *Urtica dioica* L.

Le terme «*Urtica* » vient du verbe « urere » signifiant brûler se dit de toute espèce de démangeaisons similaires à celles provoquées par les piqûres d'orties. Le nom d'espèce « *dioica* », "dioïque" en français, concerne un végétal dont les fleurs, mâles et femelles sont portées par les pieds différents (Beloued, 2005). *Urtica dioica* L., a plusieurs noms (Beloued, 2005 ; Langlade, 2010).

- ✓ Nom latin : *Urtica dioica* L.
- ✓ Nom vernaculaire arabe : القراص, بوزقدوف, بنت النار, حريق
- ✓ Nom Kabyle : Rimezrit, Azekdouf, Harrous.
- ✓ Appellation anglaise : Nettle.
- ✓ Appellation française : Ortie.

#### 1.5. Description morphologique

La grande ortie est une plante herbacée pérenne. Elle est dioïque à rhizome et vivace poussant en colonie. Si leur taille varie habituellement de 60cm à 1m60, il n'est pas rare de trouver des individus dépassant les 2m (Figure 1). L'ortie est une plante urticante. Les tiges sont carrées, dressées et non ramifiées. Les feuilles sont vert foncé, opposées deux à deux, pétiolées et dentées. Les fleurs des plantes mâles se présentent sous forme de longs chatons pendants alors que les fleurs femelles sont réunies en grappes. Le fruit de l'ortie est un akène. Une autre ortie d'une taille plus modeste (environ 60cm) est annuelle. Elle est monoïque. L'ortie contient des tanins, des acides organiques, de la chlorophylle, de la vitamine C, de la provitamine A, des sels minéraux et des gluco-quinines (Larousse, 2001).



**Figure 1:** Différentes parties aériennes d'*Urtica dioica* L. (Site 01 consulté le 20/04/2023)

### 1.6. Composition chimique

Les principaux constituants de l'ortie dioïque sont d'un intérêt thérapeutique qui sont différents selon la partie de plante que l'on étudie, en tant que les extraits des racines et des feuilles sont largement utilisés en médecine traditionnelle dans de nombreuses régions du monde (**Draghi, 2005**). La partie chimique active de l'ortie dioïque comprend près de cinquante composés de la fraction lipophile et dont la structure chimique est connue, à savoir les feuilles de l'ortie sont riches en flavonoïdes, ainsi qu'en composés phénoliques, en acides organiques, en vitamines et en sels minéraux. La racine contient les lectines, les polysaccharides, les stérols et les lignanes. L'action urticante de l'ortie est due au liquide contenu dans ses poils. Ce liquide renferme au moins trois composés qui pourraient être à l'origine de ses réactions allergiques : l'acétylcholine, l'histamine et la sérotonine (5-hydroxy-tryptamine). L'ortie constitue également une importante source de protéines et de chlorophylle. Le fruit de l'*urtica dioica*, est composé de l'huile fixe contenant d'acides gras saturés et insaturés. Alors que les graines se composent de caroténoïdes :  $\beta$  carotène, lutéine, violaxantine et les polysaccharides (**Ait Haj said et al., 2016**).

### 1.7. Propriétés

Toutes les parties de la plante sont utilisées en médecine traditionnelle. La plante entière est employée pour ses vertus diurétiques, anti hypertensives, antidiabétiques, dépuratives, hémostatiques, antiasthéniques, antianémiques, antispasmodiques, antirhumatismales et comme remède dans les maux de tête et les coups de froid (**Hmamouchi, 1999 et Bnouham et al.,**

2002). L'ortie est également utilisée pour traiter les affections spléniques, rénales et dermatiques (Daoudi *et al.*, 2008). D'autres utilisations traditionnelles, contre la tuberculose et les lithiases biliaires et rénales, ont été aussi décrites dans la littérature (Hmamouchi, 1999). En usage externe, elle est utilisée dans le traitement des aphtes et des hémorroïdes. Ses graines sont administrées par voie orale pour leurs effets galactogènes et aphrodisiaques et par voie locale pour traiter la gale et le prurit (Bellakhdar, 1997).

## **2. La plante *Origanum majorana* L.**

### **2.1. Présentation de la famille des *Lamiacées***

La famille des *Lamiacées* ou des *Labiées* aussi nommés *Labiacées*, est une importante famille des plantes dicotylédones, elle est composée de 258 genres et 6970 espèces d'herbes, d'arbustes et d'arbres répartie en 8 sous familles ; *Ajugoideae*, *Chloanthoideae*, *Lamioideae*, *Nepetoideae*, *Scutellarioideae*, *Teucroideae*, *Viticoideae* et *Pogostemoideae*. La famille des *labiées* renferme la plupart des plantes aromatiques utilisées en parfumerie, en pharmacie et dans les préparations culinaires en condiment. Ces plantes doivent leurs propriétés aux essences localisées dans les poils sécréteurs (Bechlem, 2018).

### **2.2. Présentation du genre *Origanum***

Le terme origan provient du latin *origanum*, lui-même issu de grec origanon. Le terme français apparaît au XIII<sup>ème</sup> siècle. En le décomposant étymologiquement, on trouve oros, la montagne et ganos, éclat, aspect riant, d'où la signification « qui se plaît sur la montagne ». En effet, l'origan ornait les montagnes méditerranéennes en abondance et assurait leur beauté. (Bouhaddouda, 2016).

### **2.3. Classification du genre *Origanum***

**Embranchement :** *Spermaphytes*.

**Sous-embranchement :** *Angiospermes*.

**Classe :** *Dicotylédones*.

**Sous-classe :** *Gamopétales*.

**Série Superovariées :** *tétracycliques*.

**Super ordre :** *Tubiflorales*.

**Ordre :** *Lamiales*.

**Famille :** *Lamiaceae*.

**Sous-famille :** *Népétoïdées*

**Genre :** *Origanum*

**Espèce :** *Origanum Majorana* L. (Figueredo, 2007).

#### 2.4. L'espèce *Origanum majorana* L.

La Marjolaine ou Origan des jardins (*Origanum majorana* L.) est une plante annuelle de la famille des Lamiaceae, cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles aromatiques. C'est une espèce très proche de l'Origan commun (*Origanum vulgare*). Elle est parfois appelée Marjolaine des jardins. Autres noms communs : marjolaine officinale, marjolaine à coquilles (Dubois *et al.*, 2006).

La marjolaine reconnue par les noms suivants :

✓ Nom latin : *Origanum majorana*L.

Nom vernaculaire arabe : الزعتر الحلو, مرزنجوش, مردكوش, بردقوش

✓ Nom kabyle : (Taqqarat)

✓ Appellation anglaise : Marjoram, Sweet marjoram,

✓ Appellation Française : Marjolaine, Allemand- Majoran, italie – Maggiorana (Tripathy *et al.*, 2017).

#### 2.5. Description morphologique

*Origanum majorana* L. est une herbacée qui appartient à la famille des *Lamiacées* ne dépassant pas 80 cm de haut (Iratni, 2016), qui a des feuilles de 1 à 2 cm de long, opposées, vert grisâtre, ovales entières ; ses fleurs sont petites, blanches ou violettes, disposées en groupes axiaux serrés avec deux bractées en forme de cuillère (Figure 2)(Lakhrissi, 2015). Les fleurs de cette plante sont hermaphrodites dans la nature ayant les deux sexes sur la même plante. Les graines sont minuscules, ovales, foncées et brunes qui mûrissent d'août à septembre. L'*Origanum majorana* L. a des racines pivotantes. Elles ont un diamètre de 0,2 mm à 0,6 mm. Les racines de la plante sont de forme subcylindrique et plissées longitudinalement avec des fissures transversales. Elle a une odeur aromatique et un goût non persistant. Les fractures sont longues, irrégulières et fibreuses (Muqaddas, 2016).



**Figure 2:** Différentes parties aériennes d'*Origanum majorana* L. (site 02 consulté le 20/04/2023)

## 2.6. Composition chimique

La marjolaine comporte les composés suivants : les glycosides, flavonoïdes, alcaloïdes et stéroïdes (Tripathy, 2016), et il a été montré que *Origanum majorana* L. contient des terpénoïdes principalement représentés par le 4-ol terpènes et le  $\gamma$  terpinène (El-Akhal *et al.*, 2014).

## 2.7. Propriétés

La marjolaine possède des propriétés stimulantes et antispasmodiques (Larousse, 2001). Les feuilles d'*O. majorana* possèdent des activités pharmacologiques dont des Propriétés anti oxydantes (Prerna et Vasudeva, 2015; Duletic *et al.*, 2018) , Antimicrobiennes (Leeja et Thoppil, 2007; Amor *et al.*, 2019; DellaPepa *et al.*, 2019), anti-neuro dégénératives (Leeja et Thoppil, 2007) et anticancéreuses (AIDhaheria *et al.*, 2013; AIDhaherib *et al.*, 2013; Benhalilou *et al.*, 2019). L'extrait d'*O. majoran* a été signalé pour inhiber l'adhésion, l'agrégation et la sécrétion plaquettaires (Yazdanparast et Shahriyary, 2008), et d'extrait éthanolique de *O. majorana* a un effet significatif sur les cellules cancéreuses du sein (AIDhaheria *et al.*, 2013; AIDhaherib *et al.*, 2013). Elle induit aussi la mort des cellules cancéreuses du côlon in vitro et in vivo (Benhalilou *et al.*, 2019).

### **III. Activités biologiques étudiées**

#### **1. L'activité anti-oxydante**

Le stress oxydatif est le facteur déclenchant de nombreuses maladies liées à des complications. La plupart des maladies causées par le stress oxydatif apparaissent avec l'âge, car le vieillissement réduit la capacité de défense anti-oxydante, augmentant ainsi les radicaux libres de la reproduction des mitochondries (**Girodon *et al.*, 2010**).

Un antioxydant peut être défini comme étant toute substance qui, lorsqu'elle est présente à des faibles concentrations par rapport à ceux d'un substrat produit par les oxydants, les radicaux libres, les métabolites réactifs de l'oxygène, retard de considérablement ou empêche l'oxydation de ce substrat (**Ben Chibane. 2013**).

Parmi les activités biologiques des plantes médicinales, ces dernières années l'attention s'est portée sur l'activité anti-oxydante en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques telles que les pathologies du cœur, le cancer, le diabète, l'hypertension, et la maladie d'Alzheimer en combattant le stress-oxydant (**Meddour *et al.*, 2013**).

Les extraits des plantes médicinales ont un rôle neutralisant des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Leur activité anti-radicalaire, vis-à-vis de l'anion super-oxyde  $O_2^{\circ-}$ , du radical hydroxyle  $OH^{\circ}$  et du radical oxyde nitrique  $NO^{\circ}$  a été déterminée par spectrophotométrie. De nombreuses études ont montré que les extraits \*méthanolique et éthanolique des feuilles présentent un effet antioxydant remarquable vis-à-vis du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (**Kataki *et al.*, 2012 ; Khare *et al.*, 2012 et Pourmorad *et al.*, 2006**). La chélation du fer ferreux a été évaluée en utilisant la ferrozine qui forme un chromophore rouge avec le fer résiduel (Fe (II)-Ferrozine) ayant un maximum d'absorption à 562 nm.

#### **2. L'activité anti-inflammatoire**

L'inflammation est un processus de défense immunitaire de l'organisme en réponse à une agression d'origine exogène (brûlure, infection, allergie, traumatisme) ou endogène (cellules cancéreuses ou pathologies auto-immunes), dont le but d'éliminer l'agent pathogène, réparer les lésions tissulaires et favoriser le retour à l'homéostasie et à la cicatrisation du tissu lésé. (**Barton, 2008**). Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation. D'un autre côté, la surproduction des espèces réactives d'oxygènes au-delà des capacités anti-oxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'artériosclérose au cancer tout

en passant par les maladies inflammatoires, les ischémies et le processus du vieillissement. Cependant, l'utilisation de substances chimiques de synthèse anti-inflammatoires est accompagnée toujours d'effets secondaires indésirables, alors que l'utilisation de composés phytochimiques s'avère utile et sans effets secondaires (**Saso et al., 2001**).

Les plantes médicinales sont reconnues pour leurs propriétés anti-inflammatoires, offrant une alternative naturelle pour atténuer l'inflammation. Des composés bioactifs présents dans des plantes telles que la marjolaine, le curcuma, le gingembre, la menthe poivrée, la grande ortie et le romarin ont démontré des effets anti-inflammatoires significatifs. Ces composés agissent en modulant les voies inflammatoires, en réduisant la libération de médiateurs pro-inflammatoires, et en diminuant l'expression des gènes impliqués dans l'inflammation. L'inflammation, bien qu'essentielle pour la réponse immunitaire, peut devenir problématique en cas d'inflammation chronique, associée à diverses maladies dégénératives. Les plantes anti-inflammatoires offrent ainsi une approche naturelle pour soulager l'inflammation et ses effets néfastes sur la santé, ouvrant la voie à des traitements alternatifs efficaces et mieux tolérés (**La Farmacia di Dio, 2020**).

L'effet anti-inflammatoire *in vitro* en utilisant la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (Sérum Albumine Bovin) (**Rahman et al., 2012**) et la méthode anti hémolytique, qui teste la stabilité de la membrane des globules rouges humains (**Yang et al., 2005**).

# *Partie expérimentale*

## I. Matériel et méthodes

Le travail expérimental, vise à étudier la phytochimie et à évaluer *in vitro* les activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits éthanoliques des plantes médicinales *Urtica dioica* L. et *Origanum majorana* L. ainsi que leurs hydrolats. La partie pratique a été menée au laboratoire de biochimie de l'Université Abbes LAGHROUR-Khenchela, et au laboratoire central de l'hôpital Ahmed BEN BELLA-Khenchela-.

### 1. Matériel

#### 1.1. Matériel biologique

##### 1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne sèche des plantes *Origanum majorana* L. et *Urtica dioica* L., obtenue chez un herboriste spécialisé, puis broyée au broyeur pour obtenir une poudre fine. Jusqu'à son utilisation, elle est conservée dans un récipient en verre fermé hermétiquement.

##### 1.1.2. Echantillons du sang

Deux échantillons du sang ont été recueillis à partir des personnes saines non-fumeurs pour l'évaluation de l'activité anti-hémolytique des extraits.

#### 1.2. Médicaments

Deux médicaments ont été utilisés comme contrôle positif pour l'évaluation des activités anti-hémolytique et anti-inflammatoire.

- Le médicament anti-hémolytique « Dicynone » de concentration 250 mg pour l'activité anti-hémolytique.
- Le médicament anti-inflammatoire « Diclofinac », avec une concentration de 250 µg/ml.

#### 1.3. Réactifs chimiques et instrumentations

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi ces produits: FeCl<sub>3</sub>, HCl, acide acétique, NaOH, NH<sub>4</sub>OH, KI, I<sub>2</sub>, NaCl, AlCl<sub>3</sub>, diméthylsulfoxyde (DMSO), quercétine, chloroforme, toluène, acétone, éthanol, dichlorométhane, hexane, Folin-Ciocalteu, trichlorure de fer, Diphénylpicryl-hydrazyl (DPPH), carbonate de sodium, toluène, trichlorure d'aluminium, méthanol, n-butanol, éther de pétrole, acétate d'éthyle, chloroforme, acide sulfurique, ammoniac, tampon phosphate, acide ascorbique, acide gallique, acide acétique, acide chlorique, Wagner et des plaques CCM.; proviennent tous de Sigma-Aldrich.

Quant à l'appareillage utilisé : Rotavapeur (HAHNVAPOR), Spectrophotomètre (SPECTRUM SP-UV 2005), Chambre d'observation UV « 264/365 nm » (VILBER LOURMAT), Bain Marie (nüve bath, MEMMERT), Etuve universelle de 5 à 220°C avec ventilation (MEMMERT), Agitateur magnétique (SCIOLOGEX), Vortex (VELP), Balance analytique (OHAUS), Balance (KERN PCB), Centrifugeuse (EZ Swing 3K, Rotofix 32 A), Réfrigérateur (LIEBHERR), Plaque chauffante (LABTECH), Autoclave (RAYPA) et pH mètre (HANNA INSTRUMENTS).

## 2. Méthodes

### 2.1. Préparation de l'extrait éthanolique

La poudre de la partie aérienne des plantes médicinales : la marjolaine (*Origanum majorana* L.) et l'ortie (*Urtica dioica* L.) mises à macérer dans un mélange éthanol/eau (7;3) pendant 24 heures à température ambiante. Cette opération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant. L'extrait hydro-alcoolique est récupéré dans un premier temps après filtration du mélange dont l'éthanol a été éliminé par évaporation sous pression réduite via un rotavapeur à la température 65°C (**Figure 3**) permettant ainsi d'obtenir les extraits éthanoliques bruts (EE Org), (EE Ort) qui sont conservés à -4°C (**Tadeg et al., 2005**).



**Figure 3:** Rotavapeur utilisé pour sécher les extraits éthanoliques

## 2.2. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement des extraits éthanoliques est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la plante en poudre utilisée. Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

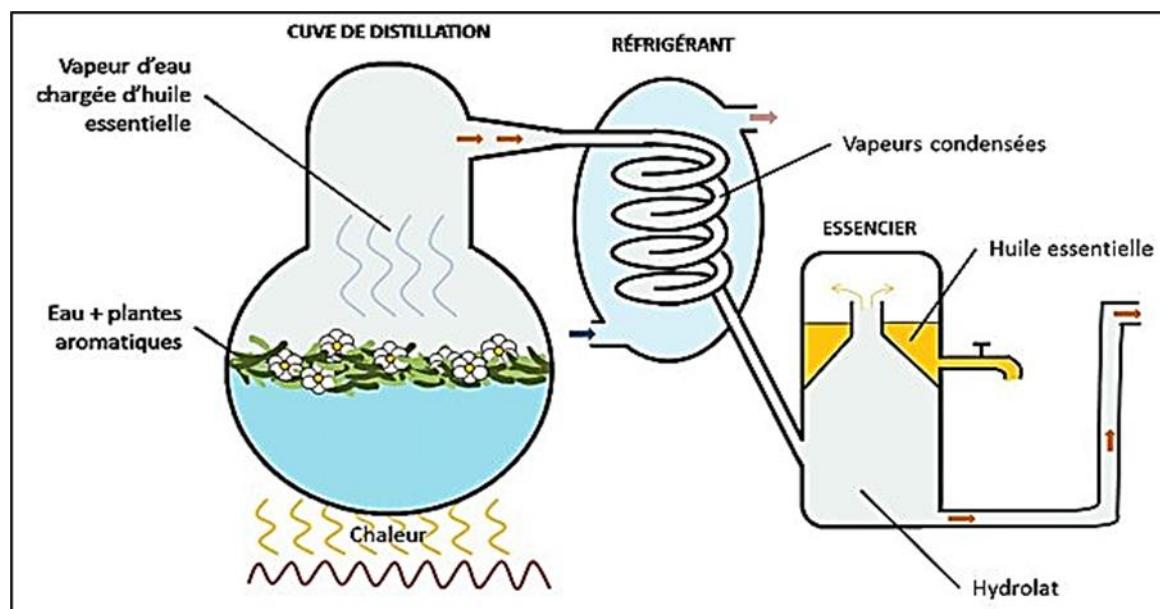
$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{Ps}{Pp} * 100$$

Où : Ps : Poids de l'extrait sec en gramme (g).

Pp : Poids de la poudre en gramme (g).

## 2.3. Préparation de l'hydrolat

L'eau florale, ou hydrolat, est obtenue lors de l'extraction par hydro distillation de l'huile essentielle en utilisant un appareil de type Clevenger. La matière végétale sèche choisie (la marjolaine et l'ortie) est placée dans un ballon en verre à fond rond, additionné d'une quantité d'eau distillée, puis chauffée, l'huile essentielle a été entraînée par la vapeur d'eau. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant, le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d'huile essentielle à la surface. Après repos du liquide, l'huile se sépare de l'eau par différence de densité (**Figure 4**). Les hydrolats obtenus (Hyd Org) et (Hyd Ort) ont été récupéré et mis dans des flacons opaques conservés dans le réfrigérateur jusqu'à son utilisation.



**Figure 4:** Schéma de l'extraction par hydro distillation (Huile essentielle/Hydrolat)(site 03 consulté le 06/05/2024)

## 2.4. Criblage phytochimique

Le screening chimique est une méthode qui implique l'exécution de réactions chimiques pour détecter et identifier les différentes catégories de substances chimiques naturelles présentes dans une plante. Ces substances sont souvent associées à des propriétés pharmacologiques spécifiques. Les tests phytochimiques sont réalisés sur les extraits éthanoliques d'*Origanum majorana* L. et *Urtica dioica* L. et leurs hydrolats, les résultats obtenus ont été évalués comme suit : (+) : Positif ; (-) : Négatif.

### ➤ Recherche des tanins

2 à 3 gouttes de la solution de  $\text{FeCl}_3$  à 2%, sont ajoutées à 2 ml des extraits. La solution obtenue est reposée pendant quelques minutes. Le test est considéré positif s'il y a l'apparition d'une coloration bleu-noire et un précipité.

### ➤ Recherche des saponosides

- ✓ Test 1 : 5 ml des extraits sont mélangés avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 min. La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides.
- ✓ Test 2 : 5 ml des extraits sont mélangés avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge-marronne de la couche d'interface indique la présence des triterpènes hétérosidiques.

### ➤ Recherche des flavonoïdes

5 ml des extraits sont traités avec quelques gouttes d' $\text{AlCl}_3$  (1%). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une coloration jaune.

### ➤ Recherche des coumarines

Les résidus secs sont dissous dans l'eau distillée par chauffage. Après refroidissement, la solution obtenue est répartie dans 2 tubes à essai. Le premier sert de témoin et on ajoute 05 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  10% dans le 2eme tube. L'apparition d'une fluorescence bleue ou verte sous UV à 365 nm indique la présence des coumarines.

### ➤ Recherche des composés réducteurs

Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani, 5 ml d'acide acétique contenant des traces de  $\text{FeCl}_3$  et 5 ml d'acide sulfurique contenant des traces de  $\text{FeCl}_3$  sont ajoutés à 1 ml de chaque extrait ; la présence des composés réducteurs est confirmée par la formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique)

### ➤ Recherche des alcaloïdes

Ce test est fait pour révéler la présence ou l'absence des alcaloïdes sels. 5 ml d'HCl (2N) sont ajoutés aux extraits puis chauffer dans un bain marie. Après la filtration, le filtrat est traité avec le réactif de Wagner (2g de KI et 1,27g d'I<sub>2</sub> solubilisé dans 100 ml d'eau distillée). La présence de turbidité ou de précipitation indique la présence des alcaloïdes sels.

## 2.5. Etude quantitative

### 2.5.1. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin Ciocalteu selon la méthode citée par (Wong,2006)

#### ❖ Principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant l'essai de Folin-Denis ou généralement Folin-Ciocalteu. Ces essais sont basés principalement sur la réduction du réactif acide phospho-tungstique phospho-molybdique (réactif Folin) dans une solution alcaline.

#### ❖ Méthode

Brièvement 200 µl de chaque extrait et de (dissous dans le méthanol) et de chaque hydrolat ont été ajoutés à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes.

Après l'incubation 800 µl de la solution de carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5g /l) a été ajoutée. Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 2 heures dans l'obscurité et température ambiante. L'absorbance des extraits a été mesurée par un Spectrophotomètre UV-Vis à double faisceau (JENWAY 6305 UV/VIS) à 765 nm.

#### ❖ Expression des résultats

La concentration des polyphénols est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec le standard étalon l'acide gallique (2 à 5 µg /ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG /mg).

### 2.5.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) cité par Djeridane (2007) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

### ❖ Méthode

1ml de chaque extrait et du standard (dissous dans le méthanol) et d'hydrolat, avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d'AlCl<sub>3</sub> (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

### ❖ Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes à été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y=ax+b$ ) réalisé par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations (1.75-40 µg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg).

## 2.6 Etude qualitative (Identification des flavonoïdes par CCM)

Cette méthode repose sur la séparation des composants d'un extrait en fonction de leur capacité à migrer dans une phase mobile, généralement un mélange de solvants adapté à la séparation recherchée, et leur affinité pour la phase stationnaire, qui peut être un gel de silice ou de polyamide. Bien que les techniques chromatographiques ne permettent pas d'identifier un produit de manière concluante, elles fournissent des indications telles que le rapport frontal (Rf) et la coloration, qui peuvent orienter vers des hypothèses sur les structures des composants.

### 2.6.1. Protocole de CCM sur gel de silice

Les analyses par CCM ont été effectuées avec des plaques de silice gel, sur support rigide en aluminium 20/20 Cm. L'extrait est déposé à l'aide d'une micropipette (2 µl) à des points repères à 1.5 cm du bord inférieur de la plaque. Les plaques sont placées dans les cuves de développement, à environ 0,5 cm de hauteur. Dans lesquelles se trouve plusieurs systèmes de migration testés appelés phase mobile et les meilleurs systèmes choisis, ceux qui ont donné une bonne séparation sont :

**Phase 1** : Butanol/ acide acétique/l'eau distillée (4/1/5).

**Phase 2** : Toluène/acétate d'éthyle / méthanol (5/3/1).

**Phase 3** : Acide acétique/ toluène/ méthanol (3/5/1).

**Phase 4** : Acétone/eau distillée (1/1).

### 2.6.2. Révélation

Après développement, les plaques ont été séchées, puis visualisées séparément sous une lampe UV à 254 et 365 nm dans une chambre noire. Les rapports frontaux (Rf) des spots issus de la séparation ont été calculés selon le rapport suivant :  $Rf = h / H$

h : Distance parcourue par la substance.

H : Distance parcourue par le solvant.

Ce facteur permet de mentionner une information préliminaire sur la structure de substances des flavonoïdes. La distance de migration des substances dépend essentiellement de leur polarité (Zeghad, 2009).

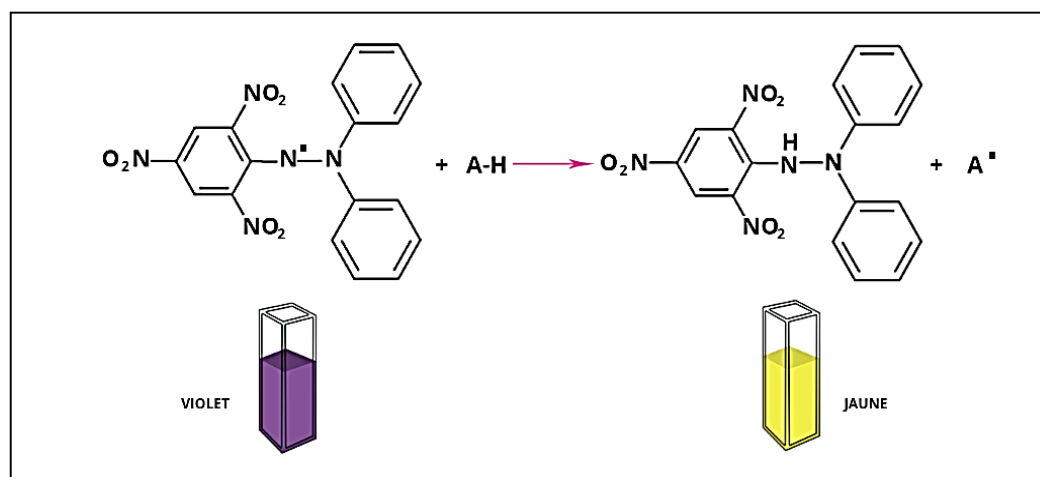
## 2.7. Étude *in vitro* des activités biologiques

### 2.7.1. Évaluation de l'activité anti-oxydante (Test de piégeage du radical libre DPPH)

Dans cette analyse la capacité anti-oxydante est déterminée par l'activité du balayage du radical libre stable DPPH (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>) qui est l'un des essais principaux employés pour explorer l'utilisation des extraits d'herbes comme antioxydants (Bastos *et al.*, 2007).

#### ❖ Principe

En présence des piègeurs des radicaux libres, le DPPH (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl) de couleur violette se réduit en (2,2-diphényl-1-picryl hydrazine) de couleur jaune (Figure 5) (Maataoui *et al.*, 2006).



**Figure 5:** Réduction du DPPH par un antioxydant (Molyneux, 2004)

Ce radical est un oxydant qui peut être réduit par l'antioxydant (AH) selon la réaction suivante :



(AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune). L'activité du balayage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par (Lopes-Lutz *et al.*, 2008).

#### ❖ Méthode

Le DPPH est solubilisé dans le méthanol pour avoir une solution de 0,3 Mm. Dans des tubes on introduit 2,5 ml de chaque hydrolat et de chaque extrait (1mg/ml) d'une solution méthanolique mère avec des dilutions convenables. A chaque volume de 1,5 ml de la solution méthanolique du DPPH, un volume de 15 µl de chaque concentration préparée de chaque extrait est ajouté. Après agitation et incubation à la température ambiante pendant 30 min, les densités optiques des mélanges réactionnels sont mesurées par le spectrophotomètre à 517nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions. Le contrôle négatif est composé de 1ml de la solution méthanolique au DPPH et de 2,5 ml de méthanol. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard qui est l'acide ascorbique.

#### ❖ L'expression des résultats

En présence d'un antioxydant la force d'absorption est diminuée et la décoloration résultante est stœchiométrique en ce qui concerne le nombre d'électrons captés (Bastos *et al.*, 2004).

Les résultats sont exprimés en tant que l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I%) en utilisant la formule suivante (Wang *et al.*, 2006).

$$I\% = \left( \frac{A_1 - A_0}{A_1} \right) * 100$$

Où :

- A0: Absorbance d'échantillon.
- A1: Absorbance du control négatif.

La valeur IC 50, a été déterminée pour chaque extrait est définie comme étant la concentration de substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur), les valeurs IC 50 moyennes ont été calculées par les régressions linéaires de trois essais séparés ou l'abscisse est représenté par la concentration des extrais et des hydrolats testés et l'ordonnée par l'activité anti-oxydante en pourcentage (Mensor *et al.*, 2001).

### 2.7.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire des extraits éthanoliques et des hydrolats d'*Origanum majorana* L. et d'*Urtica dioica* L. a été effectuée *in vitro* selon la méthode d'inhibition de la dénatura-tion thermique des protéines et l'activité anti-hémolytique.

### 2.7.2.1. Méthode de dénaturation du SAB (Sérum Albumine Bovin)

L'activité a été effectuée avec 3 types de concentrations pour chaque extrait (0.5mg/ml, 1mg/ml et 2 mg/ml). La méthode consiste à préparer quatre solutions (**Chinna et al., 2015**)

- La solution d'essai (0,5 ml) : composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de sérum albumine bovin (SAB) 5 % et 0,05 ml d'extrait.
- La solution control test (0,5 ml) : composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de SAB 5 % et 0,05 ml d'eau distillé.
- La solution contrôle produit (0,5 ml) : composé de 0,45 ml d'eau distillée et 0,05 ml d'extrait.
- La solution standard test (0,5 ml) compose de 0,45 ml de la solution aqueuse de SAB 5 % et 0,05 ml de la solution de standard diclofénac sodium avec une concentration de 250 µg/ml.

Les échantillons ont été incubées à 37 ° C pendant 20 min, ensuite la température était augmentée pour garder les échantillons à 57°C pendant 3 min, après refroidissement des tubes, 2,5 ml de la solution phosphate tampon saline (pH 6,3) a été ajouté aux solutions ci-dessus, l'absorbance a été lue par le spectrophotomètre UV-visible à 416 nm, et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculée comme suit (**Su et al., 2006**) :

$$P I = 100 - [(DO \text{ de la solution d'essai} - DO \text{ de la solution contrôle produit}) / DO \text{ de la solution d'essai}] * 100$$

- Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées ; et les résultats sont comparés avec Diclofinac sodium (250 µg/ml).

### 2.7.2.2. Evaluation de l'activité anti-hémolytique

L'effet anti-hémolytique des extraits et des hydrolats a été réalisé selon la méthode de **Yang** et ses collègues (**2005**) :

#### ❖ Préparation des globules rouges

- 5 ml de sang d'une personne saine ont été recueillis dans des tubes traités à l'EDTA, puis centrifugés pendant 5 min à 1000 tr/min.
- Le surnageant a été éliminé et le culot a été lavé trois fois avec du tampon phosphate saline (PBS) (0,2 M et pH 7,4) (**Annexe**) puis remis en suspension dans une solution saline (4 %).
- L'opération de lavage a consisté en une série de centrifugation à 1000 tr/min pendant 5 min de la suspension du culot dans le PBS.

- Après la dernière centrifugation, 0,4 ml du culot ont été additionné à 9,6 ml de tampon phosphate saline (0,2 M à un pH de 7,4) pour obtenir une solution érythrocytaire d'hématocrite à 4%.

#### ❖ Préparation de l'extrait et de l'hydrolat

Différentes concentrations des extraits et des hydrolats (1 mg/ml, 0,5mg/ml, 0,25 mg/ml) ont été préparés dans le PBS.

#### ❖ Protocole expérimentale

- Mettre dans des tubes 1 ml de la solution érythrocytaire préparée avec 0,5 ml des extraits (dilués avec le PBS) à différent concentration initiales ;
- Incuber les tubes à 37 °C pendant 20 min ;
- Ajouter 0,5 ml de la solution de NaCl (2 %) dilué avec le PBS au mélange réactionnel ;
- Centrifuger les tubes à 1000 tr/min pendant 10 min ;
- Récupérer le surnageant
- Lire l'absorbance du surnageant (la fuite d'hémoglobine) de chaque tube à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre ;
- L'hémolyse relative a été évalué en comparaison avec l'hémolyse induit par NaCl en absence des extraits (contrôle négatif).
- Un médicament anti-hémolytique (Dicynone 250 mg) dissout dans le tampon PBS et en absence des extraits a été utilisé comme contrôle positif.
- Chaque série d'expérience a été effectuée en triplicata et le % d'inhibition de l'hémolyse par les extraits a été calculé.

#### ❖ Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé selon la formule suivante (Miki *et al.*, 1987) :

$$PI = ((Ac - Aext) / Ac) * 100$$

- Ac: absorbance du control négatif.
- Aext: absorbance de l'extrait.

#### ❖ Etude statistique

Toutes les expériences ont été faites en triple. Les résultats ont été exprimés en moyenne ± Ecart-type

## II. Résultats et discussion

L'objectif de cette étude est d'analyser la composition phytochimique et d'évaluer *in vitro* les activités antioxydante et anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de la partie aérienne de deux plantes médicinales, à savoir « *Origanum majorana* L. » et « *Urtica dioica* L. » ainsi que de leurs hydrolats.

### 1. Rendement de l'extraction

Le rendement de l'extraction, la couleur et l'aspect des extraits éthanoliques issus de la marjolaine et l'ortie sont représentés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 1 :** Rendement et caractéristiques des extraits issus d'*Urtica dioica* L. et d'*Origanum majorana* L.

Plante	Extrait	Couleur	Poids du Matériel Végétal en (g)	Poids de l'extrait en (g)	Aspect	Rendement
<i>Urtica dioica</i> L.	<b>EE Ort</b>	Vert	204	52	Visqueux	17.10 %
<i>Origanum majorana</i> L.	<b>EE Org</b>	Marron	304	28		13.52 %


Dans notre recherche, nous avons effectué une extraction de composés phénoliques à partir d'*Urtica dioica* L. et d'*Origanum majorana* L. en utilisant l'éthanol comme solvant. Les résidus secs d'extrait brut obtenus étaient respectivement de 52g et 28g. Les calculs de rendement, basés sur la masse de matière végétale sèche de la partie aérienne des plantes, ont révélé un rendement de l'**EE Ort** d'environ 17.10 %, supérieur à celui d'**EE Org** égale à 13.52 %. Dans notre approche, nous avons opté pour une extraction à froid par simple macération, une méthode discontinue nécessitant le renouvellement progressif du solvant jusqu'à épuisement de la matière végétale. Cette méthodologie rend difficile la comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature, car les rendements varient en fonction de divers facteurs tels que l'espèce végétale, l'organe utilisé pour l'extraction, les conditions de séchage, la composition mé-




tabolique spécifique à chaque espèce, ainsi que les propriétés du solvant utilisé et sa polarité. (Mohammedi, 2006)




## 2. Criblage phytochimique

Les tests phytochimiques mettent en évidence les diverses familles de composés présentes dans les feuilles et les tiges d'*Urtica dioica* L. et d'*Origanum majorana* L. en utilisant des réactions de précipitation ou de coloration, spécifiques à chaque famille de composés, les résultats obtenus sont représentés dans les tableaux suivants :

**Tableau 2:** Screening phytochimique des extraits éthanoliques et des hydrolats d'*Urtica dioica* L. et *Origanum majorana* L.

Test phytochimique			Résultat et observation		
Saponosides	Test de la mousse	EE Ort	+	Formation d'une mousse persistante après 15 min	
		EE Org			
		Hyd Ort	-	Absence de la mousse persistante après 15 min	
		Hyd Org			
Flavonoïdes	AlCl <sub>3</sub>	EE Ort	+	Apparition d'une coloration jaune	
		EE Org			
		Hyd Ort			
		Hyd Org			

<b>Tanins</b>	FeCl <sub>3</sub>	EE Ort	+	Apparition d'une coloration bleue noirâtre et un précipité après 3 min	
		EE Org			
		Hyd Ort	-	Absence de coloration bleue noirâtre et un précipité après 3 min	
		Hyd Org			
<b>Composés réducteurs</b>	Acide sulfurique/ Acide acétique/FeCl <sub>3</sub>	EE Ort	+	Apparition de 2 phases : brune-rouge et bleu-verte	
		EE Org			
		Hyd Ort			
		Hyd Org			

<b>Coumarines</b>	NH <sub>4</sub> OH 10%	EE Ort	+	Présence d'une fluorescence bleue ou verte sous lampe UV	
		EE Org	-	Absence de fluorescence bleue ou verte sous lampe UV	
		Hyd Ort	+	Présence d'une fluorescence bleue verte sous lampe UV	
		Hyd org			
<b>Alcaloïdes</b>	Wagner	EE Ort	+	Précipitation et turbidité	
		EE Org	-	Pas de précipitation ni de turbidité	
<b>Terpénoides</b>	Chloroforme/ Acide Sulfurique concentré	EE Ort	+	Apparition d'une couleur rouge-marronne de la couche d'interface.	
		EE Org			
		Hyd Ort			
		Hyd Org			

Les résultats sont exprimés selon :

- Réaction positive (+)
- Réaction négative (-)
- Non déterminé (ND)

A la suite des tests phytochimiques effectuées sur les extraits issus *d'Ortie et d'Origan*, nous avons montré une diversité d'intensité et d'hétérogénéité pour les métabolites secondaires produits par ces plantes étudiées. En ce qui concerne les extraits éthanoliques, il y a une forte teneur de tanins, saponosides, flavonoïdes, composés réducteurs et terpénoïdes, dont la présence de ces métabolites permet de justifier l'attention attirée par les scientifiques vers ces plantes. Or, nous avons enregistré une absence des coumarines et alcaloïdes au niveau de l'EE Orig. Par contre, les hydrolats, elles sont dépourvues des tanins, saponosides et alcaloïdes pour les deux espèces, perdus probablement lors de l'hydrodistillation avec les huiles essentielles obtenues et séparées selon la densité. De façon générale, les familles chimiques détectées par les travaux de ces auteurs sur les feuilles sont en accord avec nos résultats vis-à-vis de la présence des tanins, les flavonoïdes, des alcaloïdes et des anthocyanes (**Afif chaouche, 2015**) et (**Toubal, 2018**). De nombreux facteurs affectent les différences des métabolites secondaires d'une plante à l'autre d'une même espèce, notamment les milieux biotiques et abiotiques, l'âge de la plante et surtout la période de récolte (**Toubal, 2018**).

### 3. Analyse quantitative

#### 3.1. Dosage des polyphénols totaux

La quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y=ax+b$ ) réalisée par une solution étalon (l'acide gallique) à différentes concentrations (**Figure 6**), dont la teneur en polyphénols totaux des extraits (**Figure 7**) est exprimée en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EAG /mg}$ ).

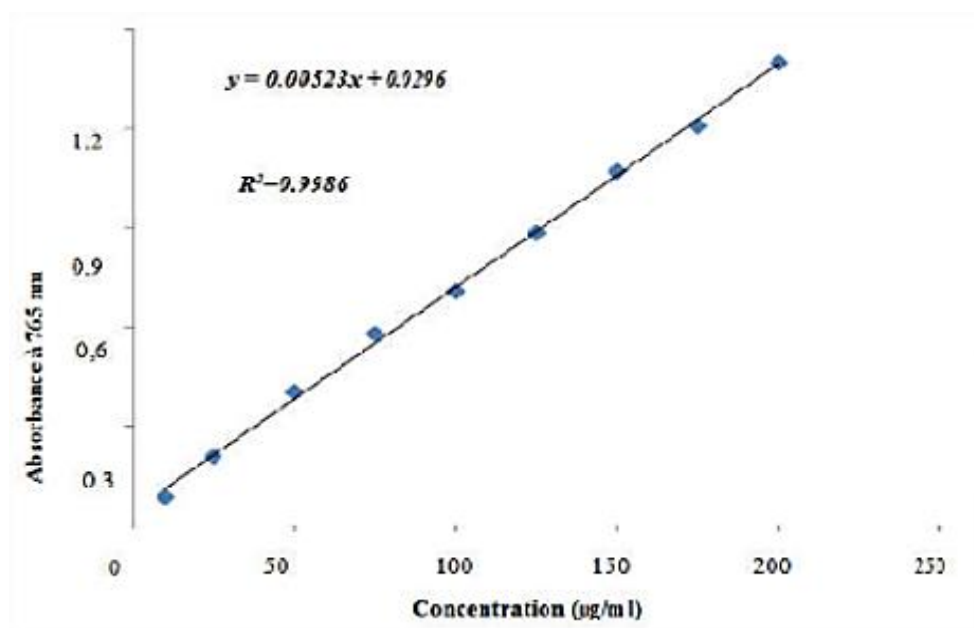


Figure 6: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne  $\pm$  SD de trois mesures).

Le dosage des polyphénols totaux des différents extraits a été effectué selon la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols des plantes médicinales et les nourritures (Douaouya *et al.*, 2022). L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans la méthode de Folin-Ciocalteu (Maisutthisakul *et al.*, 2008).

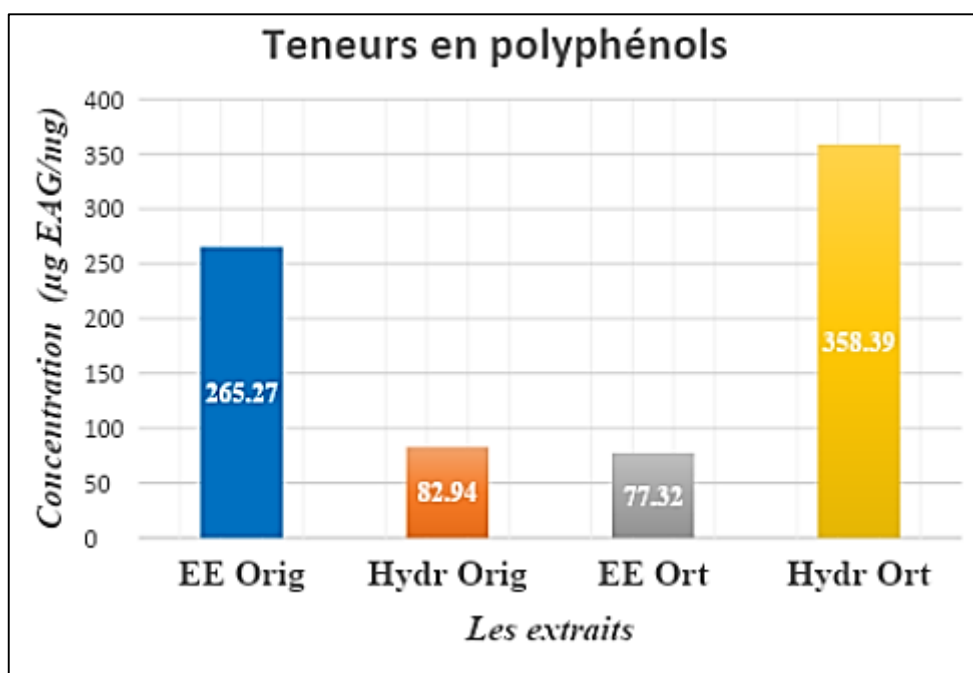


Figure 7: Histogramme représente la teneur en polyphénols totaux des plantes *Urtica dioica* L. et *Origanum majorana* L.

Une vue d'ensemble de la représentation graphique nous laisse remarquer que les teneurs en phénols totaux de la marjolaine ont comprises entre  $265,27 \pm 10,5$   $\mu\text{g}$  équivalent acide gallique/mg d'extrait (EE Orig) et  $82,94 \pm 6,69$   $\mu\text{g}$  équivalent acide gallique /mg d'extrait (Hyd Orig), Or la teneur élevée a été enregistré au niveau de l'hydrolat de l'Ortie ( $358,39 \pm 18,569$   $\mu\text{g}$  EAG /mg) par rapport à l'extrait éthanolique avec  $77,32$   $\mu\text{g}$  EAG /mg.

Une étude qui a été effectuée par **Timalsina**, et ses collègues (**2024**), ces derniers ont trouvé des valeurs très inférieures à nos résultats soient seulement de cette différence peut ainsi être expliquée par, la région de la récolte, la période de récolte et enfin la délipidation de l'extrait de manière à ne doser que les polyphénols, car le Folin-Ciocalteu n'est pas spécifique qu'aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec ce dernier et donner un taux apparent élevé en polyphénols (**Tawaha et al., 2007**).

En effet, le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs :

- Facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, agressions et maladies...etc (**Miliauskas et al., 2004**).
- Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante (**Lee et al., 2003**).
- La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (**Morais et al., 2011**).

### 3.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des composés flavoniques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = ax + b$ ) réalisée par une solution étalon (la quercétine) à différentes concentrations (**Figure 8**) dont la teneur en flavonoïdes est exprimée en microgramme d'équivalents quercétine par milligramme d'extrait/ d'hydrolat ( $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait).

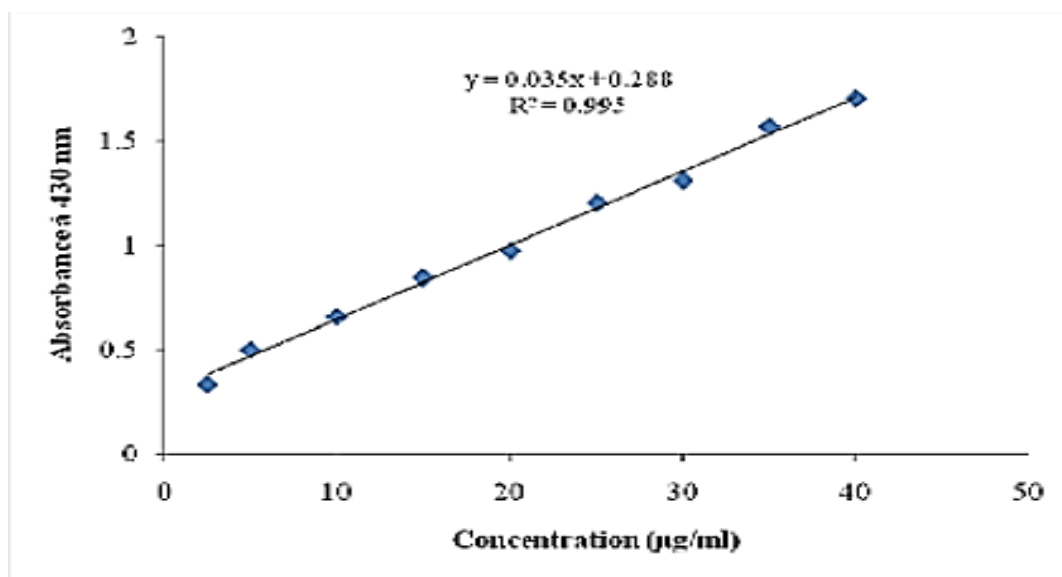


Figure 8: Courbe d'étalonnage de la quercétine (moyenne  $\pm$  SD de trois mesures).

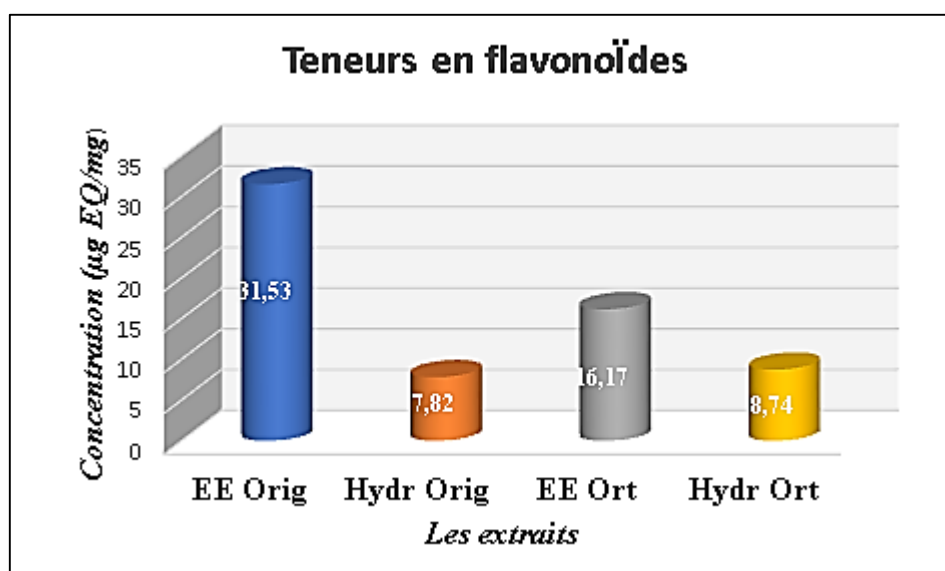


Figure 9: Histogramme représente la teneur en flavonoïdes des plantes *Urtica dioica* L. et *Origanum majorana* L.

La raison principale pour laquelle, on a choisi cette classe de polyphénols, réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006, Amagnouje *et al.*, 2024).

La détermination quantitative des flavonoïdes par la méthode du trichlorure révèle une richesse de l'extrait EE Org avec un taux de  $31,53 \pm 3,11 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait par rapport à l'EE Ort avec une teneur faible à raison de  $16,17 \pm 2,01 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait, suivis par les hydrolats avec des teneurs faibles comparables (Figure 9).

Les flavonoïdes sont des pigments naturels largement répandus chez les plantes. Ils protègent l'organisme contre les dommages oxydatifs tels que les rayons ultraviolets, la pollution de l'environnement, les produits chimiques, etc (Martínez-Flórez *et al.*, 2002). Ce groupe est l'un des groupes ubiquitaires le plus large ment distribués chez les végétaux et les antioxydants extraits des plantes sont en majeure partie des composés phénoliques dont les flavonoïdes, les tannins et les acides phénoliques (Poblocka-Olech *et al.*, 2016).

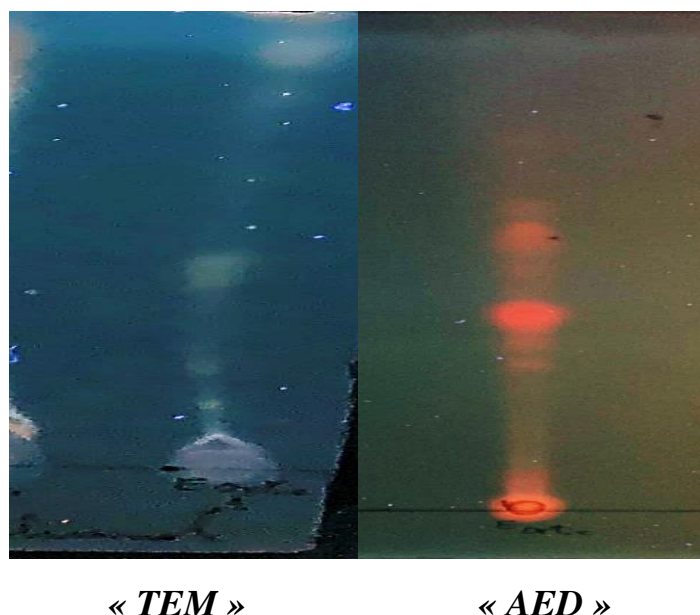
L'étude réalisée par Djeridane *et al.*, 2007 a montré que 98% des polyphénols totaux de la partie aérienne sont des flavonoïdes, ceci se rait évident étant donné que c'est la partie aérienne qui joue un rôle important dans la protection contre les rayonnements solaires (Ryan *et al.*, 2002) et que ce groupe de composés phénoliques intervient dans la coloration des feuilles et des pétales des fleurs (Havsteen, 2002 ; Gervaise, 2004).

#### 4. Analyse qualitative

##### 4.1. Résultats de l'étude qualitative par CCM

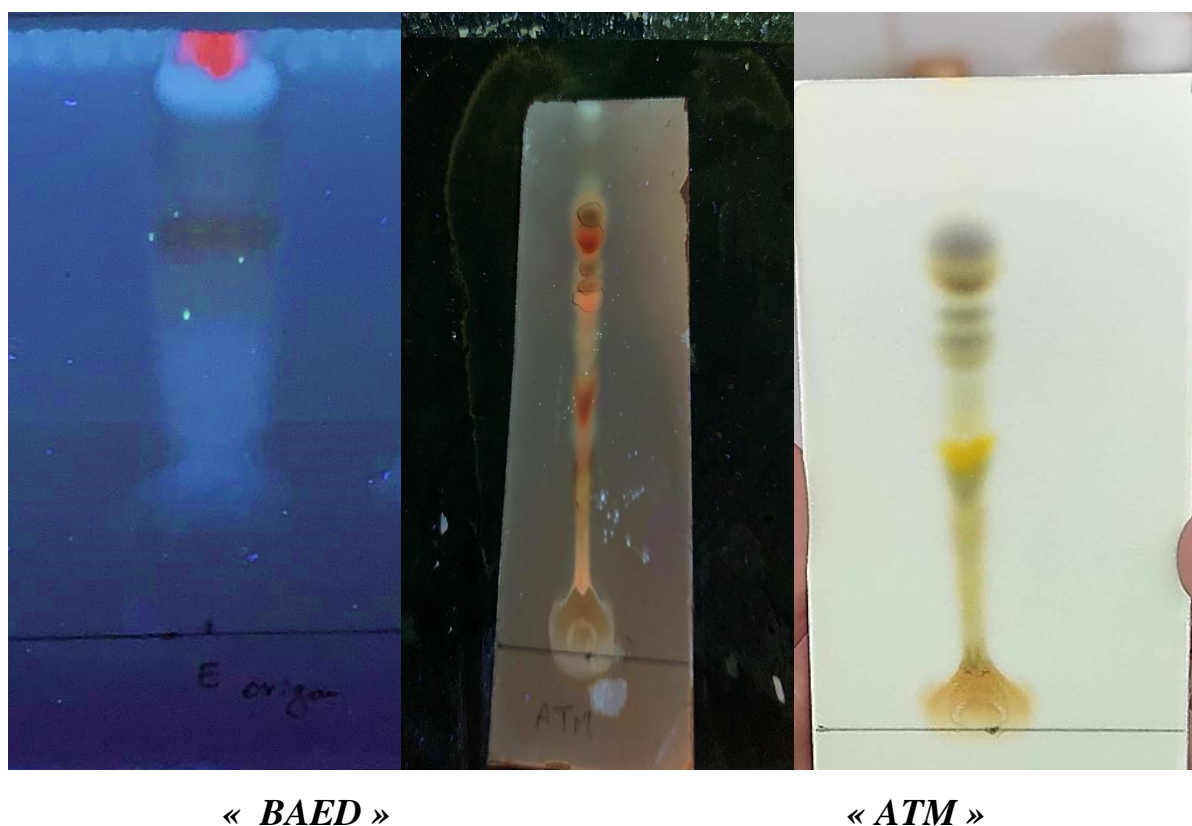
L'analyse qualitative de contenu phénolique par l'utilisation de CCM nous a permis d'avoir les empreintes flavonoïques composant nos extraits. L'identification des composés a été basée sur la comparaison des R<sub>f</sub>s et les couleurs observées sous lampe UV. Les résultats obtenus sont représentés dans les figures 10 et 11 et le tableau 3

##### 4.1.1. Ext ort



**Figure 10 :** Photo du chromatogramme résultant de l'analyse de l'EE Ort par CCM sur gel de silice par les systèmes 2 : (TEM) et 4: (AED) à 365 nm

## 4.1.2. Ext org



**Figure 11:** Photo du chromatogramme résultant de l'analyse de l'EE Orig par CCM sur gel de silice par les systèmes de solvants 1: (BAED) , 3 : ( ATM) et à 365 nm

**Tableau 3:** Résultats de la CCM des extraits EE Ort et EE Orig

Système	Extrait	Couleur sous UV	Rf (cm)	Constituants possibles	Figure
Système 1	EE Org	Bleu blanc	0,301	Acide phenol	Figure 11 : BAED
		Noir	0,603		
		Bleu	0,650	Anthocyanidine 3-glycosides	
		Rouge	0,888		
		Bleu Fluorescent	0,825	Flavonols, flavonones,	
		Jaune	0,117	Acidephénol Flavanols	

Système 2	EE Ort	Violet	0,2	Flavonols, flavonones, isoflavone, flavanones, acide phénol	Figure 10 : <b>TEM</b>
		Jaune blanc	0,4	Anthocyanidine 3-glycosides	
		Vert blanc	0,870		
Système 3	EE Org	Jaune	0,310	Anthocyanidine 3 glycosides	Figure 11: <b>ATM</b>
		Orange	0,402	Anthocyanidine 3 glycosides	
		Marron	0,436		
		Jaune blanc	0,482		
		Rose	0,574		
		Vert	0,609		
		Vert blanc	0,655		
		Blanc	0,689		
		Rouge	0,724		
Blue violacé	0,781				
Système 4	EE Ort	Rose blanc	0,281	Flavonols, flavonones, isoflavone, flavanones, acide phénol	Figure 10 : <b>AED</b>
		Rose	0,330	Acidephénol	
		Rouge	0,373		
		Rouge blanc	0,471	Anthocyanidine 3-glycosides	
		Orange	0,535		
		Orange blanc	0,570		
		Bleu	0,718	Flavonols, Acide phénol	

Ces tableaux illustrent les rapports frontaux des différents composés flavonoïques apparus en fonction des différentes phases mobiles utilisées, ainsi que la couleur révélée sous lampe UV pour les deux extraits éthanoliques testés. Un ensemble des spots a été obtenu par les différents systèmes solvants utilisés avec plus de composés pour l'EE Orig par rapport à celui d'Ortie.

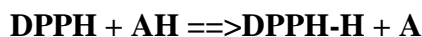
La CCM nous a permis de contrôler la qualité de nos extraits, même si elle n'est pas suffisante pour identifier un constituant précis. Elle nous a permis d'obtenir des renseignements utiles sur les éléments constitutifs de nos extraits (fluorescence, coloration et facteurs de rétention). D'après la littérature (mentionnée dans le tableau), les couleurs des spots et leurs Rf nous ont permis de déduire que nos extraits éthanoliques sont majoritairement composés d'anthocyanidines, de flavonols, d'acides phénoliques et de flavones.

## 5. Résultats des effets biologiques *in vitro*

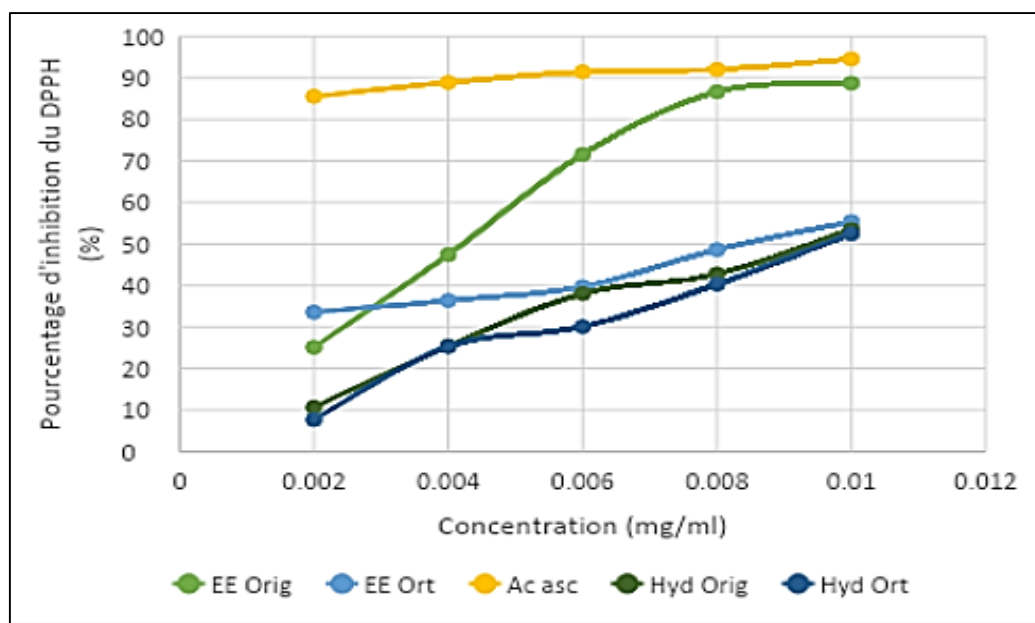
### 5.1. L'activité antioxydante (Test scavenger du radical libre DPPH)

Plusieurs méthodes sont utilisées expérimentalement pour la détermination *in vitro* de l'activité antioxydante, nommées d'après le nom de la substance utilisée comme source de radicaux libres, par exemple : FRAP (Ferric reducing antioxidant power), ORAC (oxygen radical absorbance capacity), TEAC (Trolox équivalent antioxidant capacity) ou ABTS (2,2-azino-bis(3-éthyl-benzothiazoline-6-sulphonate) et DPPH<sup>+</sup> (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) etc. Il est à indiquer que différentes méthodes donnent des résultats assez différents et devraient être appliquées préférentiellement pour la comparaison de produits similaires (Georgieva *et al.*, 2010).

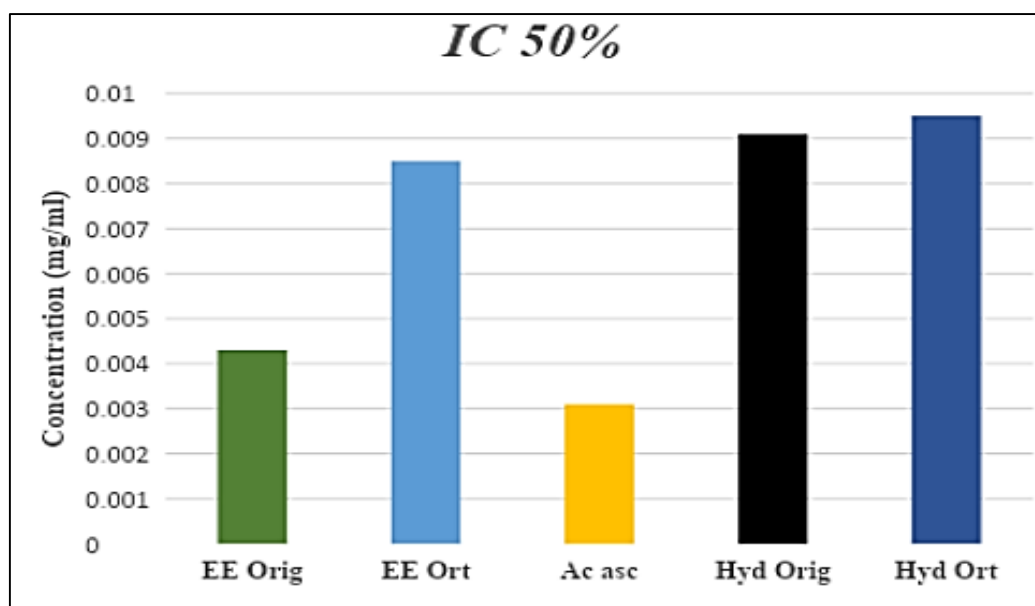
L'activité antioxydante des extraits EE et des hydrolats d'*Urtica dioica* L. et d'*Origanum majorana* L. vis-à-vis le radical stable DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm selon la réaction suivante :



La valeur d'IC<sub>50</sub> (concentration inhibitrice à 50%) est déterminée graphiquement à partir de la courbe [% inhibition = f(Concentration)] dont une valeur faible d'IC<sub>50</sub> indique une activité anti-radicalaire puissante (figures 12 et 13).



**Figure 12** : Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration des extraits éthanoliques et des hydrolats



**Figure 13** : Concentrations des extraits, des hydrolats et de l'acide ascorbique qui inhibent 50% du radical DPPH

Le profil de l'activité antioxydante obtenu révèle une augmentation des pourcentages d'inhibition (PI) en fonction des concentrations des différents extraits c-à-d une activité anti-radicalaire dose dépendante. Ceci montre que l'espèce Marjolaine possède un grand potentiel anti-oxidant; d'après les résultats illustrés dans la figure 13, nous avons remarqué que l'EE Orig montre un grand pouvoir réducteur suivis par l'EE Ort, suivis par les hydrolats des

deux plantes médicinales.

A partir des courbes, nous pouvons calculer la concentration IC50 pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant. Nous constatons une concentration d'IC50 égale à 0,0042mg/ml pour l'EE Org, très inférieure à celle enregistrée par **Neghmouche** et ses collaborateurs (**2023**) pour le même extrait éthanolique d'une espèce récoltée du Sahara (Eloued) à savoir 18.02mg/ml.

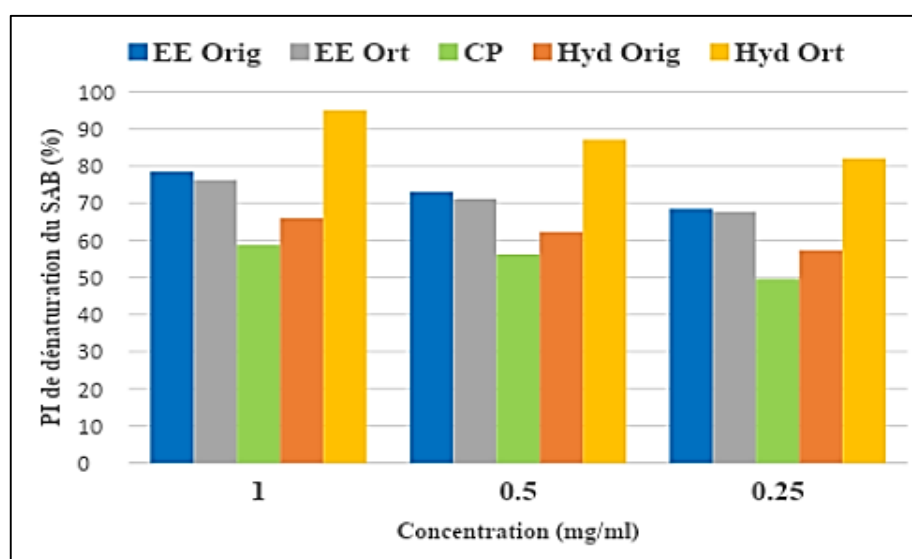
L'activité antioxydante ne peut être attribuée seulement aux polyphénols, en plus des flavanols et l'acide hydroxy cinnamique (**Lam et Ng, 2009**), les parties étudiées de nos plantes contiennent d'autres composés ayant un effet antioxydant tels que les tocophérols, les caroténoïdes, les flavonoïdes et les glucosinolates (**Timalsina et al., 2024**).

## 5.2. L'activité anti-inflammatoire

L'effet anti-inflammatoire des extraits issus de la marjolaine et l'ortie a été démontré *in vitro* à l'aide de la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines : sérum albumine bovin (SAB) et l'activité anti-hémolytique, qui teste la stabilité de la membrane des hématies humaines.

### 5.2.1. Inhibition de la dénaturation du SAB

Le test de l'activité anti-inflammatoire par la méthode d'inhibition de la dénaturation de la protéine sérum albumine bovin (SAB) à différentes concentrations dont les absorbances sont mesurées à 416 nm (**figure 14**).

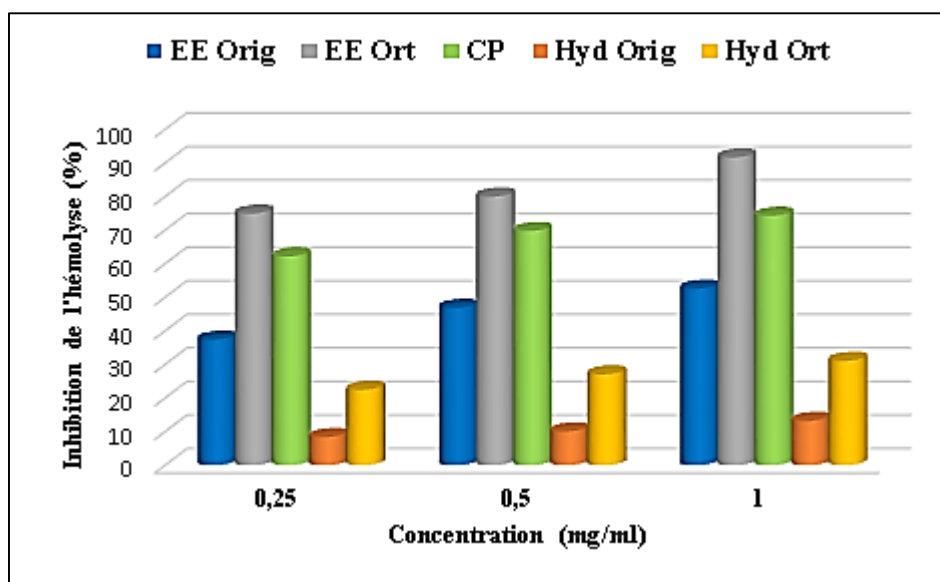


**Figure 14** : Effet des extraits, des hydrolats et du diclofénac sur la dénaturation de SAB

La figure 14 montre que l'Hyd Ort à différentes doses (1, 0.5 et 0.25mg/ml) a donné une excellente protection contre la dénaturation thermique des protéines, qui est meilleure à celle du diclofénac sodique (médicament anti-inflammatoire de référence) à la même concentration, ceci peut être expliquée par sa richesse illustrée en polyphénols totaux par rapport aux extraits restants (Douaouya *et al.*, 2022).

### 5.2.2. L'activité anti-hémolytique

Le choix d'étudier l'activité anti-hémolytique des extraits et des hydrolats des deux plantes *Urtica dioica* L. et *Origanum majorana* L. est motivé en raison de son utilisation déclarée en médecine traditionnelle. Les résultats relatifs de l'effet anti-hémolytique en fonction de concentration, dans un milieu tampon phosphate-saline PBS (0,2 M et Ph 7,4) contenant une suspension érythrocytaire, incubé à 37 °C et en présence des différentes concentrations des différents extraits (0,25 mg/ml ; 0,5 mg/ml et 1 mg/ml), sont représentés dans la figure (15).



**Figure 15 :** Evolution de l'effet anti-hémolytique des extraits, des hydrolats en fonction de leur concentration en comparaison avec le contrôle positif

A des doses allant de 0.25mg/ml à 1mg/ml, tous les extraits testés issus des deux plantes médicinales protègent les membranes des érythrocytes humains contre la lyse induite par une solution hypotonique.

Selon les résultats enregistrés, l'EE Ort a pu stopper l'hémolyse des HRBC de manière dose-dépendante, avec une importance très élevée allant jusqu'à 92,97% pour la concentration 1mg/ml, qui est supérieure à celle du médicament référentiel anti-hémolytique (Dicynone) avec un pourcentage d'inhibition égal à 75,3%. Zhang *et al.*, (1997) ont trouvé que l'activité

anti-hémolytique pourrait être attribuée aux flavonoïdes qui possèdent une activité antioxydante importante. Selon une étude menée par **Asgary et al., (2005)** ; la rutine a entraîné une inhibition de l'hémolyse de 42,5% à une concentration de 10 µg/ml uniquement. De même, ils ont démontré que la quercétine a inhibé l'hémolyse de 35,5% et le kaempférol a inhibé l'hémolyse de 26,9 % à la concentration maximale (10µg/ml) (**Douaouya et al., 2022**).

## ***Conclusion et perspectives***

## Conclusion et perspectives

L'usage des plantes médicinales constitue un vrai patrimoine de l'être humain. La recherche biomédicale a accordé une grande importance à l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie, car cette approche permet de prévenir les effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique. La source fiable des principes actifs connus pour leurs propriétés thérapeutiques est toujours les plantes médicinales, ce qui contribue à préserver la biodiversité végétale locale.

*Urtica dioica* L. et *Origanum majorana* L. sont parmi les plantes utilisées depuis longtemps à des fins thérapeutiques. Le présent travail, avait pour but d'explorer la composition chimique en métabolites secondaires et la caractérisation qualitative par CCM ainsi que l'évaluation *in vitro* de l'activité anti-oxydante et anti-inflammatoire des extraits éthanoliques bruts issus par extraction solide-liquide de la partie aérienne des plantes étudiées, ainsi que ses hydrolats obtenus par hydro-distillation, nous a conduit à la conclusion suivante :

- Les extraits éthanoliques sont plus riches en métabolites secondaires (tanins, saponosides, flavonoïdes, composés réducteurs et terpénoïdes) que les hydrolats, selon le criblage phytochimique.
- L'analyse qualitative par CCM a révélé une grande diversité d'empreintes flavonoïques susceptibles d'exprimer les activités recherchées, telles que les anthocyanidines, les flavonols, les acides phénoliques et les flavones, principalement dans l'EE Org.
- Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adaptant la méthode de Folin Ciocalteu révèle que les teneurs les plus élevées ont été enregistré au niveau de l'hydrolat de l'*Urtica dioica* L., suivie par l'EE Org. Ce dernier étant le plus riche en flavonoïdes selon la méthode du trichlorure d'aluminium exploitée.
- Quant à l'activité anti-oxydante, évaluée à l'aide de l'effet scavenger du radical libre DPPH; les résultats ont montré que l'oxydation du DPPH est efficacement inhibée par tous les extraits testés d'*Urtica dioica* L. et d'*Origanum majorana* L. et que l'EE d'Org a eu l'activité anti-radicalaire la plus élevée, ce qui se traduit par une faible concentration IC50, cela a été en bonne corrélation avec la teneur en flavonoïdes qui constituent des puissants agents antioxydants.
- On a également étudié l'effet anti-inflammatoire des extraits en utilisant la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines et l'activité anti-hémolytique, qui évalue la stabilité de la membrane des hématies humaines. Les résultats indiquent que l'Hyd Ort à différentes doses a démontré une efficacité supérieure à celle du diclofénac sodique (médicament

anti-inflammatoire de référence) pour prévenir la dénaturation thermique des protéines sur le plan de protection. Cependant, l'EE Ort a démontré sa capacité à inhiber l'hémolyse des érythrocytes en fonction de la dose, avec une inhibition supérieure à celle du médicament référentiel anti-hémolytique (Dicynone).

Enfin, à travers cette étude, notre objectif est de contribuer de manière modeste à la promotion des plantes médicinales algériennes. L'extension des tests antioxydants, l'isolement, et la caractérisation des composés actifs par l'HPLC/MS, GC/MS, et la RMN seraient donc intéressantes pour déterminer les principes actifs responsables des différentes activités biologiques de ces plantes. Tous ces résultats obtenus *in vitro* ne constituent qu'un premier pas dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives et il est recommandé d'effectuer une étude *in vivo* afin d'obtenir une vision plus précise et approfondie des activités recherchées.

## *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

### A

**Afif Chaouche, T. (2015).** Etude ethno-pharmacologique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de quelques plantes médicinales de la région de Tizi Ouzou - Algérie. Thèse de Doctorat en Microbiologie appliquée, Université Abou BekerBelkaid, Tlemcen, 141p.

**Ait Haj said, S. A., Sbai El Otmani, I., Derfoufi, S., et Benmoussa, A. (2016).** Mise en valeur du potentiel nutritionnel et thérapeutique de l'ortie dioïque (*Urtica dioica* L.). *HEGEL*, 6(3) : 280-292.

**Al Dhaheri, Y., Eid, A., AbuQamar, S., Attoub, S., Khasawneh, M., Aiche, G., ... &Iratni, R. (2013).** Mitotic arrest and apoptosis in breast cancer cells induced by *Origanum majorana* extract : up regulation of TNF- $\alpha$  and down regulation of surviving and mutant 53 p. *Plos one*, 8(2), e56649.

**Allegra, S., De Francia, S., Turco, F., Bertaggia, I., Chiara, F., Armando, T., Storto, S., & Mussa, M. V. (2023).** Phytotherapy and Drugs: Can Their Interactions Increase Side Effects in Cancer Patients. *Journal of Xenobiotics*, 13(1): 75-89.

**Amagnouje, A., Chebaibi, M., Aldossari, S., Ghneim, H., Amrati, F. E.-Z., Es-Safi, I., Cristo, F., Calarco, A., Achour, S., Carta, F., Al-Sheikh, Y., Aboul-Soud, M., & Bousta, D. (2024).** *Origanum majorana* L. polyphenols: in vivo antiepileptic effect, in silico evaluation of their bioavailability, and interaction with the NMDA receptor. *Frontiers in Chemistry*, 11.

### B

**Bastos, D. H., Saldanha, L. A., Catharino, R. R., Sawaya, A., Cunha, I. B., Carvalho, P. O., and Eberlin, M. N. (2007).** Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from yerba maté (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. *Molecules*. 12(3): 423

**Bechlem H. 2018.** Etude phytochimique et biologique de deux plantes médicinales algériennes. Thèse de doctorat, Université des Frères Mentouri, Constantine, 242 p

**Bellakhdar, J. (1997).** La pharmacopée marocaine traditionnelle: Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. France: Ibis Press.

**Beloued, A. (2005).** Plantes médicinales d'Algérie. 6ème édition, N°: 4276. Office des Publications Universitaires.

**Benhalilou, N., Alsamri, H., Alneyadi, A., Athamneh, K., Alrashedi, A., Altamimi, N., ... &Iratni, R. (2019).** *Origanum majorana* ethanolic extract promotes colorectal cancer cell death by triggering abortive autophagy and activation of the extrinsic apoptotic path way. *Frontiers in oncology*, 9 : 795 p

**Bnouham, M., Mekhfi, H., Legssyer, A., & Ziyat, A. (2002).** Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *International Journal of Diabetes and Metabolism*, 10(1) : 33-50.

**Blasa, M., Candiracci, M., Accorsi, A., Piacentini, M. P., & Piatti, E. (2007).** Honey flavonoids as protection agents against oxidative damage to human red blood cells. *Food Chemistry*, 104(4) :1635-1196.

**Bouabibsa, I. (2020).** Extraction, Analyse et Evaluation de l'Activité Antibactérienne d'Extraits de Galactites Tomentosa. Mémoire pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'État en Génie de l'Environnement. *École Nationale Polytechnique*, 65 p.

**Bouhaddouda N. 2016.** Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local :*Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de doctorat, Université d' Annaba, Algérie, 167p.

## C

**Chinna, M., &Eswaraiah, A. D. (2015).** DuttalAnurag Pharmacy College, Kodad, Telengana State, India 2Assam Down Town University, Guwahti, India.Am-Euras. J. Agric. & Environ. Sci., 15(1) : 115-121.

## D

**Daoudi, A., Benboubker, H., Boust, D., & Aarab, L. (2008).** Screening of fourteen Moroccan medicinal plants for immune modulating activities. *Moroccan Journal of Biology*, 4-5, 24-30.

**Della Pepa, T., Elshafie, H. S., Capasso, R., De Feo, V., Camele, I., Nazzaro, F., ... &Caputo, L. (2019).** Antimicrobial and phytotoxic activity of *Origanum heracleoticum* and *O. majorana* essential oils growing in Cilento (Southern Italy). *Molecules*, 24(14) : 2576 p.

**Draghi, F. (2005).** L'Ortie dioïque (*Urtica dioica* L.) : étude bibliographique. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Henri Poincaré Nancy, 89 p.

**Dubois, J., Mitterrand, H., Dauzat, A. (2006).** Dictionnaire étymologique et historique du français. Larousse.

**Duletić-Laušević, S., Aradski, A. A., Kolarević, S., Vuković-Gačić, B., Oalđe, M., Živković, J., ... & Marin, P. D. (2018).** Anti neurodegenerative, antioxidant and anti bacterial activities and phenolic components of *Origanum majorana* L. (*Lamiaceae*) extracts. *J. Applied Botany and Food Quality*, 91 : 126-134.

## E

**El-Akhal F., Lalami A.E., ZoubiY.E., Greche H., Guemmouh R. 2014.** Chemical composition and larvicidal activity of essential oil of *Origanum majorana* (*Lamiaceae*) cultivated in Morocco against *Culex pipiens* (Diptera:Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 4(9) : 746-750

**EL-Rhaffari L., Zaid A. (2004).** Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafialet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Origine des pharmacopées

## F

**Fetayah, H. (2015).** Étude ethnobotanique des plantes médicinales à effets cardiovasculaires de la daïra de M'sila. Mémoire de master académique en Gestion d'environnement, Université de M'sila.

**Figuérédo, G. (2007).** Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (*Lamiaceae*) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne (Thèse de doctorat). Université Blaise Pascal.

**Formica, J. V., & Regelson, W. (1995).** Review of the Biology of quercetin and related Bioflavonoids. *Food Chemistry and Toxicology*, 33 : 1061-1080.

## G

**Georgieva, S., Godjevargova, T., Mita, D. G., et al. (2010).** Non-isothermal bioremediation of waters polluted by phenol and some of its derivatives by laccase covalently immobilized on polypropylene membranes. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 66(1) : 210-218.

**Guemriche, M.-A., & Ziaya, R. (2021).** Évaluation de la conformité des tisanes industrielles locales. Mémoire de master Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire, Université 8 Mai 1945 Guelma.

**Guessoum D et Lecheheb H. (2015).** Contribution à l'étude phytochimique des polyphénols :Mémoire du Master. Option métabolisme secondaire et molécule bioactive.Université des Frères Mentouri-Constantine-Algérie. 46 p.

**Gulcin, I., Kufrevioglu, O. I., Oktay, M., & Buyukokuroglu, M. E. (2004).** Antioxidant, antimicrobial, antiulcer, and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, 90 : 205-215.

## H

**Hamza, K., & Meziani, A. (2015).** Étude de l'activité biologique de l'extrait aqueux des feuilles de *Zizyphus lotus* L. Mémoire de master en biochimie moléculaire et santé, Université des Frères Mentouri-Constantine, 13-18 p.

**Hmamouchi, M. (1999).** Les plantes médicinales et aromatiques marocaines. Maroc: Imprimerie de Fédala.

**Hopkins, W. G., Rambour, S., & Evrard, C. M. (2003).** Physiologie végétale (2ème éd.). Bruxelles: Boeck Université. 514 p.

## J

**Jacquemard, K. (2019).** *Le guide de la phytothérapie au quotidien*. Rusticas Éditions.

## K

**Kanter, M., Coskun, O., & Budancamanak, M. (2005).** Heap to protective effects of *Nigella sativa* L and *Urticadioica* L on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems, and liver enzymes in carbon tetrachloride treated rats. *World Journal of Gastroenterology*, 11: 6684-6688

**Kataki, M. S., Murugamani, V., Rajkumari, A., Mehra, P. S., Awasthi, D., & Yadav, R. S. (2012).**Antioxidant, heap to protective, and anthelmintic activities of methanol extract of *Urticadioica* L. leaves. *PharmacognosyCrops*, 3: 38-46.

**Khare, V., Kushwaha, P., Verma, S., Gupta, A., Srivastava, S., & Rawat, A. K. S. (2012).** Pharmacognostic evaluation and antioxidant activity of *Urtica dioica* L. Chinese Medicine, 3 : 128-135. <https://doi.org/10.4236/cm.2012.33021>

**Krystofova, O., Adam, V., Babula, P., Zehnalek, J., Beklova, M., Havel, L., et Kizek, R. (2010).** Effects of various doses of selenite on stinging nettle (*Urtica dioica* L.). *International journal of environmental research and public health*, 7(10): 38043815.

**Kyeong, W.(2007).** Effects of the Aqueous Extract from *Artemisia campestris* ssp. caudata on My corrhizal Fungi Colonization and Growth of Sand Dune Grasses. *J. Plant. Biology*. 50 (3) : 358-361

## Ł

**Labiod R. (2016).** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar - Annaba.

**Leeja, L. &Thoppil, J.E. (2007).** Antimicrobial activity of methanol extract of *Origanum majorana* L. (Sweet marjoram). *Journal of Environmental Biology*, 28 (1) :145 p. 69(8) :1732

**La Farmacia di Dio. (2020).** Milan: Edizioni Terra Santa

**Lakhrissi B., Barrahi M., Boukhraz M., El Hartiti H., El Mostaphi A., Ouhssine M. (2015).** Effet antibactérien de la synergie de deux huiles essentielles extraites de la marjolaine (*Origanum majorana*) dans la région de Salé et de l'origan (*Origanum vulgare*) dans la région de Ouazzane, Maroc. *10(9) : 0974-7532.*

**Langlade, V. 2010.** L'ortie dioïque, *Urtica dioica* L. : étude bibliographique [Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Nantes].

**Larousse. (2001).** ENCYCLOPÉDIE DES PLANTES MÉDICINALES. IDENTIFICATION, PRÉPARATION, SOINS. Imprimer à Hong Kong Co, 1 Id. 241 p.

**Lopes-Lutz, D., Alviano, D. S., Alviano, C. S., and Kolodziejczyk, P. P. (2008).** Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*.

## M

**Maataoui, B.S., Hmyene, A., Hilali, S. 2006.**Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*, 7(1) : 3-8.

**Maisuthisakul, P., Pasuk, S., & Ritthiruangdej, P. (2008).** Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(3) : 229-240.

**Manon, D. (2005).** L'Ortie dioïque, Guide de production sous régie biologique. Bibliothèque nationale du Québec.

**Marfak, A. (2003).** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Étude de leur réactivité.

**Mellouk K. (2013).** Étude des activités antioxydante et antimicrobienne des flavonoïdes et des fractions flavoniques de la partie aérienne de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Mémoire de Magister. Option biochimie

**MENSOR, L.I., MENEZES, F.S., LEITAO, G.G., REIS, A.S., DOS SANTOS, T., COUBE, C.S., LEITAO, S.G., (2001).** Screening of Brazilian plants: extracts for antioxidants activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother. Res.*, 15: 127-130

**Miki, M., Tamai, H., Mino, M., Yamamoto, Y., Niki, E. (1987).** Free-radical chain oxidation of rat red blood cells by molecular oxygen and its inhibition by alpha-tocopherol. *Arch. Biochem. Biophys.* 258 : 373–380,

**Mohammedi, Z. (2006).** Étude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen (Mémoire de magister). Université de Tlemcen.

**Moses, A. G., & Robert, M. N. (2013).** Fourier transformer infrared spectrophotometer analysis of *Urtica dioica* medicinal herb used for the treatment of diabetes, malaria, and pneumonia in Kisii region, Southwest Kenya. *World Applied Sciences Journal*, 21 : 1128-1135 .

**Muqaddas, Khera R. A., Nadeem F., Jilani M.I. (2016).** Essential Chemical Constituents and Medicinal Uses of Marjoram (*Origanum majorana* L.). *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences* 9 : 56-62.

## P

**Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., & Shahabimajd, N. (2006).** Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5: 1142-1145.

**Prerna, A. & Vasudeva, N. (2015).** *Origanum majorana* L. -Phyto-pharmacological review. *Indian Journal of natural Products and Ressources.* 6 (4) : 261-267

## S

**Salah, Neghmouche & Moussaoui, Younes & Nedjimi, Mohammed Said & Louafi, Fadila & Amor, Mohammed. (2023).** The Influence of Temperature on the Kinetics of Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Extracts of *Origanum Majorana*. *Tobacco Regulatory Science.* 9 : 1674-1687.

**Spichiger, R. E., Savolainen, V. V., Figeat, M., & Jeanmonod, D. (2002).** Botanique systématique des plantes à fleurs. PPUR Presses polytechniques.

**Su, Y., Ho, C., & Wang, E. (2006).** Analysis of leaf essential oils from the indigenous five conifers of Taiwan. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(3) : 447-452.

## T

**Tabuti, J. R. S., Lye, K. A., & Dhillon, S. S. (2003).** Traditional herbal drugs of Bulamogi.

**Tadeg, H., Mohammed, E., Asres, K., & Gebre-Mariam, T. (2005).** Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1) : 168-...

**Timalsina, J., Dhukuchhu, S., Dhukuchhu, J., Bhattarai, A., Shrestha, R., & Gyawali, R. (2024).** Formulation and Evaluation of Herbal Antioxidant Tablets of *Urtica Dioica* Extract. *Journal of Nepal Chemical Society*, 44 : 122-134.

**Toubal, S. (2018).** Caractérisation de la relation chémotypes de l'ortie-bactéries vectorisées associées et évaluation de leurs activité sur culex sp. Thèse de Doctorat en Ecologie des Systèmes Vectoriels, Université M'hamed Bougara, Boumerdes, 166 p.

**Tripathy, B., Satyanarayana, S., Abedulla Khan, K., & Raja, K. (2017).** An Updated Review on Traditional Uses, Taxonomy, Phytochemistry, Pharmacology and Toxicology of *Origanum majorana*. *International Journal of Pharma Research & Health Sciences*, 5(4) : 1717-1723.

## W

**Wong C.C., LI H.B., CHENG K.W. et CHEN F., 2006-**A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem.* 97 : 705-711

## Y

**Yazdanparast, R., & Shahriyary, L. (2008).** Comparative effects of *Artemisia dracuncululus*, *Satureja hortensis* and *Origanum majorana* on inhibition of blood platelet adhesion, aggregation and secretion. *Vascular Pharmacology*, 48(1) : 32-37.

## Z

**Zarrouki, N. (2009).** Contribution à l'étude phytochimique de la plante *Tetraclinis articulata*, activité biologique et biochimique de la plante. Mémoire de magister en chimie organique. Université d'Oran, 46 p.

**Zeghad, N. (2009).** Étude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister en biotechnologie végétale. Université Mentouri Constantine, 84 p.

**Zerargui, F. (2015).** Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis* L. et caractérisation des substances bioactives. Thèse de Doctorat en Biochimie. Université Farhet Abbes-Sétif 1-Algérie, 126 p.

## Sites web

Site 1 : <https://catoire-fantasque.be/ortie-dioique/>

Site 2 : [Urticadioica L. | Plants of the World Online | Kew Science](#)

Site 03 : [https://www.researchgate.net/figure/Schema-du-procede-dhydrodistillation\\_fig1\\_317704250](https://www.researchgate.net/figure/Schema-du-procede-dhydrodistillation_fig1_317704250)

# ***ANNEXE***

## *Annexe*

Phosphate buffer saline (PBS) est une solution isotonique et non toxique utilisée couramment en biochimie. Il s'agit d'un soluté physiologique contenant du chlorure de sodium, du phosphate disodique, du phosphate dipotassique et de chlorure de potassium. Il est utilisé pour lavage ou dilution des cellules.

Pour la préparation de PBS à pH égale à 7.2 on a besoin de :

- 13.21g/l de la base  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .
- 20.29g/l de l'acide  $\text{K}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ .
- 80g/l de  $\text{NaCl}$ .
- 2g/l de  $\text{KCl}$ .

Dissoudre les composants dans 500ml de l'eau distillé, en agitant jusqu'il s'homogénéise à l'aide d'un agitateur et conservé à 4°C dans des fioles propre au réfrigérateur, jusqu'au moment de l'utilisation. Il ne faut pas congeler, surchauffés, conditionner dans des fioles présentant une fissure ...etc.

Pour faciliter la préparation, il y a des comprimés commerciaux de tampon PBS qui donne une solution PBS prête à l'emploi après leur dissolution dans une certaine quantité de l'eau.