

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département de Biologie



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en Science Biologique
Domaine : Science de la nature et de la vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie

Thème

Etude de l'impact des extraits de la plante médicinale *Urtica urens* sur les bactéries : évaluation de leur potentiel inhibiteur et comparaison des effets sur différentes souches microbiennes

Présenté Par :

- 1) **Melle Fetitah** Maroua
- 2) **Melle Gherrab** Imane Fatima Zohra
- 3) **Melle Sidi Ali Cherif** Filalia

Devant le jury composé de :

M. Cherif Nadjib	M C A	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Président
Mme. Brixi Gormat Nassima	M C A	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examinatrice
M. Bennabi Farid	M C A	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2023/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ ﴾

(سورة البقرة، الآية 32)

Au nom d'Allah, Le Clément, Le Miséricordieux « Gloire à Toi ! Nous n'avons de savoir que ce que tu nous as appris. Certes c'est Toi L'Omniscient, le Sage »

(Al-Baqarah, verset 32)

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات

Remerciement

*On remercie **Dieu** le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terre notre formation de master et pouvoir réaliser ce travail de recherche.*

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Monsieur **Bennabi F**, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Qu'il nous soit ainsi permis de remercier très sincèrement Monsieur **Cherif Nadjib**, Maître de conférences classe A, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le Jury de ce mémoire.*

*Nos vifs remerciements vont aussi à Mme. **Brixi Gormat Nassima**, Maître de conférences classe A à l'université d'Ain Témouchent qui nous fait l'honneur d'examiner ce travail. Son engagement à participer dans ce jury est une valeur positive ajoutée à notre travail.*

*Nous tenons à exprimer nos très grande considération, et nos profond respect au Monsieur **Mehammadi Walid** de nous avoir consacré tous son temps en nous transmettant tout son savoir dans tous les domaines malgré toutes ses responsabilités et ses nombreuse occupations.*

*Nous voudrions exprimer nos grand remerciement à Monsieur **Si Bouazza Miloud** qui n'a pas hésité de nous offrir le récolte de sa expérience ainsi pour leur soutien permanant durant la réalisation de ce travail.*

Nous ne saurions oublier de remercier les ingénieurs du laboratoire de Biochimie de la faculté de la science de la nature et de la vie, pour leurs gentilleses et leurs aides dans la réalisation de ce modeste travail.

Enfin nous remercions nos parents, nos familles et nos amis, ainsi que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'achèvement de ce travail.

A vous tous, un grand Merci

Imane, Maroua, Filalia



Dédicace

A ma très chère mère

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter le différent obstacle

A mon très cher père

Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

*A mes très chers frères **Nouali** et **Rayan** et ma chère et unique seour **Nafissa**, je souhaite réussite et bonheur.*

***Maroua, Imane...** mes plus merveilleuses amies avec qui j'ai partagé ce moment précieux. Vous êtes mes sœurs et amies proches, et je n'oublierai jamais les beaux souvenirs que crée notre amitié. Je ne vous souhaite que du bien et du bonheur dans votre vie.*

Filalia





Dédicace

*Avec l'aide d'**Allah**, le tout puissant, ce travail est achevé*

Je dédie ce travail avec une profonde reconnaissance et gratitude à plusieurs personnes spéciales dans ma vie

*A la mémoire de mon **oncle** « **karim** » défunt, la personne la plus spéciale de ce monde, dont la présence reste toujours vivante en nous.*

*A mes **chers parents**, C'est grâce à vous que je suis qui je suis Aujourd'hui... Je saisie cette occasion pour vous remercier pour la protection que vous m'offrez depuis ma naissance et de m'avoir appris ce que signifie vraiment le mot "famille".*

*À mes frères bien aimés « **Miloud et Walid** », je lui souhaite réussite et bonheur.*

*A ma famille « **Gherrab** » et « **Nattar** » pour leur soutien et amour inconditionnel.*

*A mes chers amies « **Sarah, Nour el Houda, Zineb** » qui font partie de ma vie et de mon bonheur.*

*A mon trinôme « **Maroua et Filalia** » qui ont cru en moi et qui ont toujours encouragé, avec qui j'ai passé des années inoubliables, merci pour les bons moments qu'on a passé ensemble et les beaux souvenirs qui je n'oublierai jamais.*

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet.

Imane





Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,

A MA CHERE MERE

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A LA MEMOIRE DE MON PERE

Ce travail est dédié à mon père, décédé trop tôt, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études. J'espère que, du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours prié pour le salut de son âme.

*Une mention spéciale à toute ma famille **Fetitah** et **Halhali** pour leur aide et soutien moral et leurs encouragements même de loin.*

*À mes chère trinôme **Imane et Filalia** en témoignage d'amitié sincère qui nous a liées et tous ces merveilleux souvenirs à leur côté, qui a tout partagée avec moi.*

À tous mes amis (es) sans exception qui ont toujours été présents dans les moments importants de ma vie. Je vous souhaite à tous bonne continuation et beaucoup de réussite.

Maroua



Liste des figures

Figure 1: les quatre voies principales de biosynthèse des métabolites secondaire	4
Figure 2: Structure de l'acide phenolique	7
Figure 3: Structure chimique de flavonoïdes	8
Figure 4: Structures chimiques des sous-classes de flavonoïdes	8
Figure 5: Structure Chimique (a) d'un Tanin Condense et (b) d'un Gallotanin (1,2, 3-Tri-O-Galloyl-B-D-Glucose)	9
Figure 6: une structure de lignine composée de monolignols: alcool p-coumarylique, alcool coniférylique et alcool synapylique.	10
Figure 7: structure de coumarine	10
Figure 8: Structure chimique du trans-stilbène et du cis-stilbène	11
Figure 9: Exemples de quelque monotropenes.	13
Figure 10: Carte de répartition géographique mondiale de la famille des Urticacées	18
Figure 11: <i>Urtica urens</i>	20
Figure 12: (A) la feuille, (B) la tige	20
Figure 13: <i>Urtica urens</i> (photo original).	22
Figure 14: Région de la récolte.....	23
Figure 15: Partie aériennes sèche d' <i>Urtica urens</i>	23
Figure 16: Broyage de la plante « <i>Urtica urens</i> » sèche.....	24
Figure 17: Les étapes d'extraction du solvant organique	24
Figure 18: Extraction aqueuse	25
Figure 19: Extraction d'huile Total.....	26
Figure 20: Les cinq extraits d' <i>Urtica urens</i>	26
Figure 21: Préparation des concentrations des extraits.....	29
Figure 22: Méthode de diffusion en puits.	30
Figure 23: Test de la sensibilité à l'antibiotique	31
Figure 24: Méthode de micro-dilutions	32
Figure 25: Effet d'extrait Ether de pétrole sur les souches étudiées.	34
Figure 26: Effet d'extrait d'Ethanol sur les souches étudiées.....	35
Figure 27: Effet d'extrait de dichlorométhane sur les souches étudiées.....	36
Figure 28: Effet d'extrait de l'eau distillé sur les souches étudiées.....	37
Figure 29: Effet d'extrait d'huile totale sur les souches étudiées.	38
Figure 30: Effet de la combinaison entre l'extrait d'éther de pétrole + la gentamicine	39
Figure 31: Effet de la combinaison entre l'extrait de dichloromethane + la gentamicine	40
Figure 32: Effet de la combinaison entre l'extrait ethanolique + la gentamicine	41
Figure 33: Effet de la combinaison entre l'extrait aqueux + la gentamicine	42
Figure 34: Effet de la combinaison entre l'extrait d'Huile totale + la gentamicine	43
Figure 35: Résultat de la concentration minimal inhibitrice (CMI)	44

Liste des tableaux

Tableau I : les classe des composant phénolique	6
Tableau II : Souches bactériennes	28
Tableau III : Concentration minimal inhibitrices des extraits d' <i>Urtica urens</i> pour <i>E. coli</i> ...	44
Tableau IV : Concentration minimal inhibitrices des extraits d' <i>Urtica urens</i> pour <i>S. a</i> ATCC 43300	45
Tableau V : Concentration minimal inhibitrices des extraits d' <i>Urtica urens</i> pour <i>S. a</i> ATCC 25922	45
Tableau VI : Concentration minimal inhibitrices des extraits d' <i>Urtica urens</i> pour <i>P. acip</i> A22	45
Tableau VII : Concentration minimale bactéricide (CMB) des extraits d' <i>Urtica urens</i> sur la croissance des souches bactériennes.....	46
Tableau VIII : rapport CMB/CMI relative aux quatre souches bactériennes.	46

Liste des abréviations

ATCC: American type culture collection

BMH : Bouillon Muller-Hinton

C : Carbone

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

DMSO : Diméthyle Sulfoxyde

E. coli: *Escherichia coli*

EAQ : Extrait aqueux

EDCM : Extrait de dichlorométhane

EEP : Extrait d'éther de pétrole

EEtOH : Extrait d'éthanol

GEN : Gentamicine

GGPP: Pyrophosphate de géranylgeranyle

HT : Huile totale

M.H : Gélose Mueller Hinton

N.T : Non Teste

P.acip: *Pseudomonas aeruginosa* A22

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

TABLE DES MATIERES

Remerciement

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction	1
Chapitre 1 Métabolites secondaires chez les plantes	4
1 Définition.....	4
2 Biosynthèse.....	4
3 Classification	5
3.1 Polyphénols	5
3.1.1 Définition.....	5
3.1.2 Classification	5
3.1.2.1 Polyphénols monomériques	7
a) Acide phénolique	7
b) Flavonoïdes	7
3.1.2.2 Polyphénols sous forme de polymères	8
a) Tanins.....	8
b) Lignines.....	9
c) Coumarines, Stilbénes.....	10
3.2 Les alcaloïdes	11
3.2.1 Définition.....	11
3.2.2 Classification	11
3.2.3 Propriétés physicochimiques	12
3.3 Terpénoïdes	12
3.3.1 Définition.....	12
3.3.2 Classification	13
a) Les monoterpènes	13
b) Sesquiterpènes	14
c) Diterpènes	14
d) Triterpénoïdes et stéroïdes.....	14
e) Tétraterpènes	15
4 Fonctions et propriétés des métabolites secondaires	15
Chapitre 2 Présentation de la plante étudiée.....	17

1	Famille urticacée.....	17
1.1	Définition.....	17
1.2	Description	17
1.3	Répartition	18
1.4	Sous-familles	18
2	Présentation de la plante <i>Urtica urens</i>	18
2.1	Position systématique	18
2.2	Répartition géographique	19
2.3	Description botanique.....	19
	Chapitre 3 Matériels et méthodes.....	22
	PARTIE 1 : Préparation des extraits.....	22
1	Matériel végétale	22
2	Séchage de la plante	23
3	Préparation des extraits.....	23
3.1	Extraction par les solvants organiques à polarité croissante	24
3.2	Extraction aqueuse	25
3.3	Extraction d'huile totale	25
	PARTIE 2 : Etude de l'activité antimicrobienne	26
1	Matériel.....	26
1.1	Souches microbiennes pathogènes	26
1.2	Milieu de culture	27
1.3	Réactifs chimiques et autres matériel.....	27
2	Méthodes	27
2.1	Conservation des souches étudiées.....	27
2.2	Préparation des suspensions bactériennes	27
2.3	Ensemencement des souches conservées	27
2.4	Méthodes d'étude de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux.....	28
2.4.1	Souches microbiennes	28
2.4.2	Préparation des concentrations des extraits	29
2.4.3	Méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits).....	29
2.5	Test de la sensibilité à l'antibiotique.....	30
2.5.1	Essais de sensibilité à la dilution	31
a)	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	31
b)	Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	32
	Chapitre 4 Résultats et discussion	34

Etude de l'activité antimicrobienne	34
1 Méthode de diffusion sur puits (aromatogramme)	34
a) Extrait d'éther de pétrole.....	34
b) Extrait d'éthanol.....	35
c) Extrait de dichlorométhane	36
d) Extrait aqueux	37
e) Extrait d'huile totale.....	38
2 Effet de l'association des extraits de Urtica urens avec l'antibiotique Gentamicine	39
a) Combinaison entre l'extrait d'Ether de pétrole (EP) + la gentamicine	39
b) Combinaison entre l'extrait de Dichlorométhane (DCM) + la gentamicine	40
c) Combinaison entre l'extrait Ethanolique + la gentamicine	41
d) Combinaison entre l'extrait Aqueux + la gentamicine	42
e) Combinaison entre l'extrait de Huile totale (HT) + la gentamicine	43
3 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).....	44
a) Concentration minimale inhibitrice (CMI) des souches bactériennes	44
b) Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	46
CONCLUSION	49

Références bibliographique

Annexs

Résumé

Le monde végétal regorge de principes actifs aux propriétés antibactériennes, recherchées à la fois dans la médecine alternative et l'industrie agroalimentaire.

L'ortie brûlante, également connue sous le nom scientifique *Urtica urens*, est une plante qui pousse naturellement dans tout le bassin méditerranéen, et connu comme plante médicinale par son effet thérapeutique.

Notre étude porte sur évaluation de l'activité antibactérienne des extraits d'*Urtica urens* et de déterminer leur efficacité optimale contre différents types de bactéries. Cinq extraits d'*Urtica urens* ont été obtenus par macération dans différents solvants : éther de pétrole, éthanol, dichlorométhane, eau distillée et hexane. L'activité antibactérienne des extraits a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose contre quatre souches bactériennes : (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* A22, *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300), suivie par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) par la méthode de dilution.

Les résultats obtenus montrent que les différents extraits possèdent une activité antibactérienne, alors que l'extrait aqueux ne montre aucun effet inhibiteur.

L'association des extraits avec l'antibiotique Gentamicine montre une efficacité variable (synergie, antagonisme) selon les souches testées.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) obtenues à partir des souches bactériennes allaient de 18,75 mg/ml à 75 mg/ml et la valeur de la concentration minimale bactéricide (CMB) des extraits a été estimée de 37,5 mg/ml à 75 mg/ml.

Mots clés : plante médicinale, *Urtica urens*, macération, extraits, activité antibactérienne.

Abstract

The plant world is full of active ingredients with antibacterial properties, sought after in both alternative medicine and the agri-food industry.

Burning Urtica, also known scientifically as *Urtica urens*, is a plant that grows naturally throughout the Mediterranean basin, and is known as a medicinal plant for its therapeutic effect.

Our study focuses on evaluating the antibacterial activity of *Urtica urens* extracts and determining their optimal effectiveness against different types of bacteria. Five extracts of *Urtica urens* were obtained by maceration in different solvents: oil ether, ethanol, dichloromethane, distilled water and hexane. The antibacterial activity of the extracts was evaluated by the Gélose diffusion method against four strains of bacteria: (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* A22, *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* 43300), followed by the determination of the minimum inhibiting concentration (CMI) and the minimum bactericidal concentration (CMB) by the dilution method. The results obtained show that the different extracts have antibacterial activity, while the aquatic extract shows no inhibitory effect.

The association of extracts with the antibiotic Gentamicin shows a variable effectiveness (synergy and antagonism) according to the strains tested.

The minimum inhibitory concentrations (MIC) obtained from the bacterial strains ranged from 18,75 mg/ml to 75 mg/ml and the minimum bactericidal concentration (MBC) value of the extracts was estimated from 37,5 mg/ml to 75 mg/ml.

Keywords: medicinal plant, *Urtica urens*, maceration, extracts antibacterial activity

ملخص

عالم النبات مليء بالمكونات النشطة ذات الخصائص المضادة للبكتيريا، والمطلوب في كل من الطب البديل وصناعة ، هو نبات ينمو بشكل طبيعي في جميع أنحاء *Urtica urens* الأغذية.. نبات القراص المحترق، المعروف أيضًا باسم قيم دراستنا النشاط المضاد للبكتيريا .حوض البحر الأبيض المتوسط، ويعرف باسم النبات الطبي بتأثيره العلاجي وتحدد فعاليتها المثلى ضد أنواع مختلفة من البكتيريا. تم الحصول على خمسة مستخلصات *Urtica urens* لمستخلصات عن طريق النقع في مذيبات مختلفة: إيثر البترول والإيثانول وثنائي كلورو الميثان والماء المقطر *Urtica urens* من مقابل أربع سلالات بكتيرية: agar والهكسان. تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات من خلال طريقة انتشار *ATCC 25922 Staphylococcus*، المكورات العنقودية الذهبية A22 (الإشريكية القولونية، الزانفة الزنجارية أي تأثير مثبت ، أظهرت النتائج أن المستخلصات المختلفة لها نشاط مضاد بينما لم يظهر (*aureus* d ATCC 43300) المستخلص المائي أي تأثير مثبت.

السلالات التي يظهر مزيج المستخلصات مع المضاد الحيوي جنتاميسين فعالية متفاوتة (التأزر والعداء) اعتمادًا على تم اختبارها

تراوحت التركيزات المثبطة التي تم الحصول عليها من السلالات البكتيرية من 18,75 ملغم / مل الى 75ملغ/ مل وتم تقدير قيمة الحد الأدنى للتركيز المبيد للجراثيم للمستخلصات ب 37,5 ملغم /مل الى 75 ملغم/ مل

الكلمات الرئيسية: النبات الطبي، ، النقع، المستخلصات، النشاط المضاد للبكتيريا



Introduction

La phytothérapie existe depuis l'Antiquité, certainement à l'époque, Les plantes sont devenues des médicaments naturels pour les humains (**Schauenberg et Paris, 2010**). Au cours des deux dernières décennies, la recherche en phytothérapie est devenue l'une des questions scientifiques les plus préoccupantes (**Nyah et al., 2005**).

La phytothérapie est un type de médecine qui utilise les plantes pour traiter des maladies humaines et animales (**Falzon, 2017**). Ces plantes sont appelées « plantes médicinales ».

Les plantes médicinales représentent la forme la plus ancienne de médication, utilisées depuis des milliers d'années dans la médecine traditionnelle de nombreux pays à travers le monde. Les connaissances empiriques sur leurs effets bénéfiques ont été transmises au fil des siècles au sein des communautés humaines (**Khan.H, 2014**).

Aujourd'hui, l'intégration des plantes médicinales dans le traitement des affections est devenue l'une des principales voies d'accès aux soins de santé (**Nasri, 2016**). Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. (**Krief, 2003**).

Les métabolites secondaires constituent les molécules les plus couramment utilisées dans les traitements, car ils jouent un rôle clé dans le maintien de la condition physique des plantes, effectivement ils assurent la protection des plantes contre les infections microbiennes (champignons et bactéries) et virales, les rayons UV, des oxydations (**Aharoni et Galili, 2011**).

Les substances élaborées par les plantes sont divisées en deux catégories, les métabolites primaires qui sont essentiels à la vie végétale et les métabolites secondaires ou spécialisés, de composition plus complexe et souvent répartis en grandes familles chimiques telles que les polyphénols, les terpénoïdes et alcaloïdes (**Ouedraogo et al., 2021**).

En médecine traditionnelle, *U. urens* est utilisé en interne comme remède hématogène et diurétique. Traditionnellement, cette plante est utilisée pour traiter l'arthrite, rhumatismes des articulations et des muscles, et comme composant de thés antidiabétiques. (**Bulut.G, 2009 ; bnouham.M, 2002**).

Dans le cadre de la valorisation des espèces végétales algériennes, nous sommes intéressés à l'extraction des extraits *Urtica urnes* provenant de la région de Ain Témouchent exactement dans Aoubelil. la plante *Urtica urens* est classée dans la sous-famille des Rosales,

appartenant à la famille des Urticacées. Leurs propriétés bénéfiques bien établies pour la santé humaine étaient principalement liées à leur teneur en phénols.

Ce projet de recherche en laboratoire se concentre sur l'étude des métabolites secondaires des plantes, avec un intérêt particulier pour leur utilisation potentielle dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire. L'objectif principal est d'extraire ces principes actifs afin d'évaluer leur activité antimicrobienne. Dans le cadre de ce travail, nous visons à identifier l'activité antibactérienne des extraits de la plante médicinale *Urtica urens* et à déterminer son efficacité optimale dans divers context.



Synthèse Bibliographique

1 Définition

Les métabolites secondaires sont des molécules de faible poids moléculaire avec diverses structures chimiques et activités biologiques. Le nom de métabolites secondaires dérive de l'observation originale selon laquelle leur production n'est pas essentielle à la croissance et à la reproduction des organismes, contrairement aux métabolites primaires comprenant les lipides, les acides aminés, les glucides et les acides nucléiques. (Mosunova *et al.*, 2021).

Les métabolites secondaires ont des rôles multifonctionnels, principalement impliqués dans la défense et les interactions avec l'environnement. De plus, ils contribuent à la couleur des plantes, à leurs parfums spécifiques, à leurs saveurs et à leurs réponses à divers stress. (Reshi *et al.*, 2023).

2 Biosynthèse

Les métabolites secondaires sont biosynthétisés par quatre voies principales : voie isoprène, voie des polycétides, voie shikimate celle avec des acides aminés comme précurseurs (Bentley, 1999). Il s'agit d'une biosynthèse complexe qui relie les métabolismes primaire et secondaire. Ces substances ont une importance capitale dans l'adaptation au stress et dans différentes fonctions physiologiques, ce qui les rend indispensables pour la survie et la protection des plantes (Reshi *et al.*, 2023).

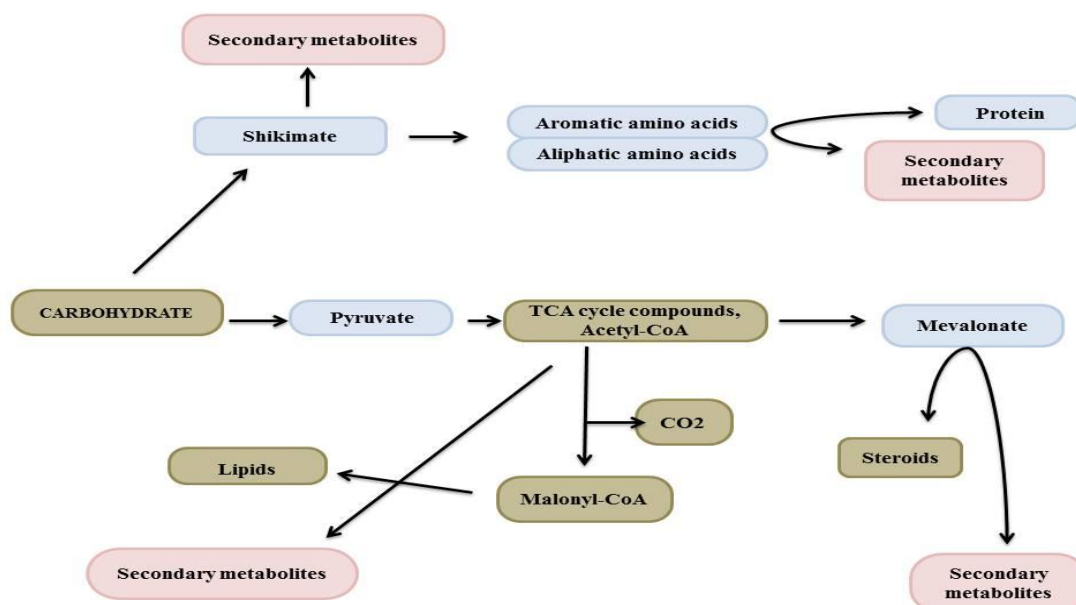


Figure 1: les quatre voies principales de biosynthèse des métabolites secondaire (Bentley, 1999)

3 Classification

Les métabolites secondaires des plantes sont classés en groupes chimiques distincts en fonction de leurs voies de biosynthèse : composés phénoliques, terpènes et stéroïdes, et les alcaloïdes (ou composés azotés). Ces structures chimiques déterminent la fonction et l'adaptation au stress des métabolites secondaires (**Reshi et al., 2023**).

3.1 Polyphénols

3.1.1 Définition

Les polyphénols, également appelés composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal. Ils forment un vaste ensemble de substances aux structures variées (**bruneton, 1993**), regroupant plus de 8000 molécules identifiées (**mompon, 1998**).

Structurés autour d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones portant des fonctions hydroxyles, ils se répartissent en classes chimiques telles que les anthocyanes, coumarines, lignanes, flavonoïdes, tannins, quinones, acides phénols, xanthones et autres phloroglucinols (**bruneton, 1993**). Présents dans toutes les parties des végétaux, ils jouent un rôle crucial dans l'adaptation des plantes à leur environnement, agissant comme signaux de reconnaissance, agents de défense contre les pathogènes, et contribuent à la tolérance aux stress (**macheix, 2005**).

3.1.2 Classification


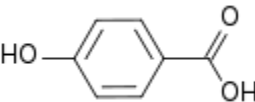
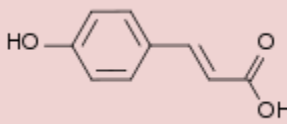
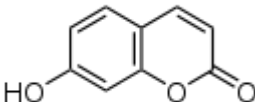
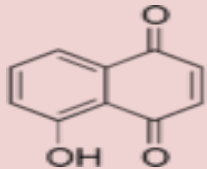
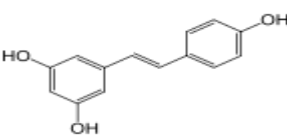
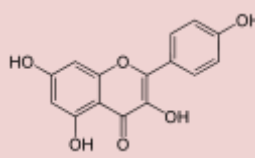
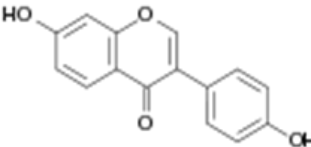
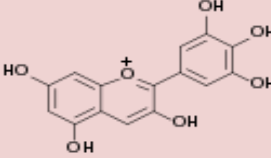
Selon (**Harborne, 1989**), les polyphénols peuvent être divisés en au moins 10 classes différentes selon leur structure chimique de base et la complexité, le degré et les liaisons possibles du Squelette de base avec d'autres molécules.

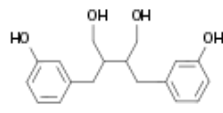
On peut distinguer deux catégories :

- Les composés phénoliques simples (Acides phénoliques, flavonoïdes, coumarines, Lignanes ...)
- Les composés phénoliques complexes (Tannins, lignines...).

Synthèse Bibliographique

Tableau I : les classe des composant phénolique (Macheix *et al.*, 2005).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule
C6	Phénols simples	Hydroquinone	
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	Acide p-hydroxybenzoïque	
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	Acide p-coumarique	
	Coumarines	Ombelliférone	
C6-C4	Juglone	Noix	
	Stilbénoides	trans-resvératrol	
C6-C2-C6	Flavonoïdes	Kæmpférol	
C6-C2-C6	Daidzéine	Grains de soja	
	Anthocyanes	Delphinidol	

$(C_6-C_3)_2$	Lignanes	Entérodiol	
$(C_6-C_3)_n$	Lignines		
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Tanins condensés	Procyanidol	

3.1.2.1 Polyphénols monomériques

a) Acide phénolique

Les acides phénoliques (acides phénols) sont des composés végétaux secondaires de la famille des polyphénols et sont largement présents dans toutes les plantes (**Bialecka, E et al., 2018**). Elles possèdent une activité acide et plusieurs activités phénoliques (**Haslam, 1994**).

Les acides phénoliques sont présents en abondance dans les aliments et divisés en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. Les acides hydroxycinnamiques sont plus fréquents que les acides hydroxybenzoïques et comprennent essentiellement l'acide p-coumarique, caféique, férulique et sinapique (**Shahidi et al., 1995**).

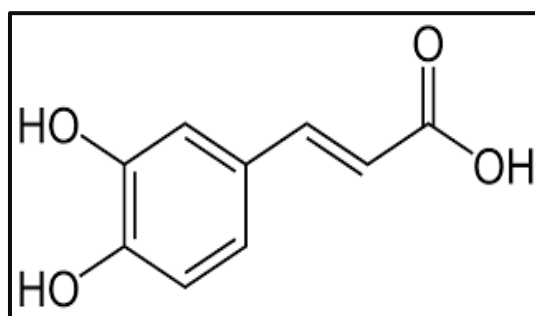


Figure 2: Structure de l'acide phénolique (**Pandey et Rizvi, 2009**).

b) Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un vaste ensemble de métabolismes secondaires des plantes, produits travers tous les éléments de la plante, et largement présents dans les aliments et les boissons de la plante. (**Crozier et al., 2006**).

Synthèse Bibliographique

Leur structure comprend de deux cycles aromatiques (A et B) reliées par une trois chaîne carbonée, généralement organisé comme une hétérocyclique oxygéné (C).

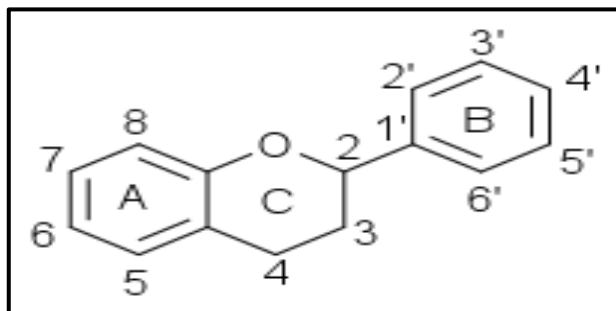


Figure 3: Structure chimique de flavonoïdes (Collin et Crouzet, 2011).

On a identifié plus de 4 000 espèces de flavonoïdes, dont beaucoup contribuent aux couleurs attrayantes des fleurs, des fruits et des feuilles. Les flavonoïdes se divisent en six sous-classes en fonction du type d'hétérocycle présent : flavonols, flavones, flavanones, flavanols, anthocyanes et isoflavones. (Groot H, 1998) (Figure 4).

Chaque groupe se distingue par le nombre et la disposition des groupes hydroxyles, ainsi que par leur degré d'alkylation et/ou de glycosylation. (Spencer *et al.*, 2008) Les flavonoïdes les plus courants incluent la quercétine, la myricétine, les catéchines, et d'autres encore. (Pandey *et al.*, 2009).

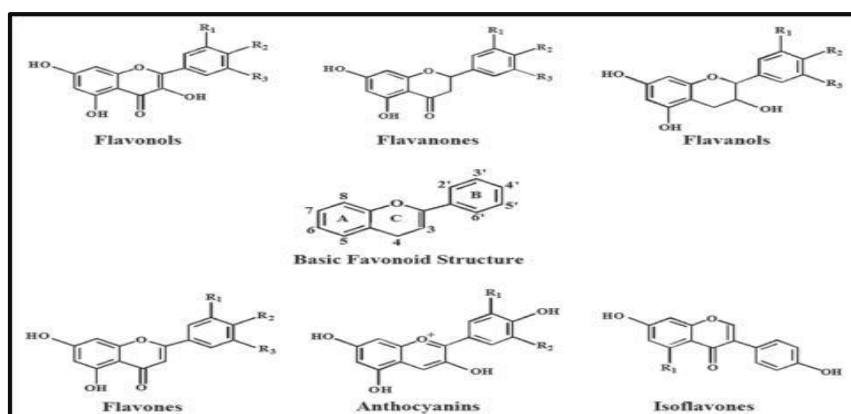


Figure 4: Structures chimiques des sous-classes de flavonoïdes (Pandey *et al.*, 2009)

3.1.2.2 Polyphénols sous forme de polymères

a) Tanins

Les tanins sont des métabolites secondaires des polyphénols présents dans les plantes (Khan babae et Ree, 2001). Ils sont solubles dans l'eau et largement présents dans les plantes herbacées et ligneuses supérieures du règne végétal (Akiyama *et al.*, 2001).

Le terme « tanin » provient de l'utilisation de cette classe de composés dans le processus de tannage des peaux d'animaux en cuire (**Khanbabaee et Ree, 2001**).

Ils sont généralement subdivisés en deux groupes :

- **Tanins hydrolysables:** Les tanins hydrolysables sont classiquement divisés en deux sous-types, les ellagitannins et les gallotannins, dont l'hydrolyse donne respectivement l'acide ellagique et l'acide gallique (**Govoni et Danesi, 2022**). Ils sont facilement hydrolysables par les enzymes et plus soluble dans l'eau (**Reed, 1995**) (Figure 5).
- **Tanins condensés :** Les tanins condensés également appelés proanthocyanidines sont des composés non hydrolysables, issus de la polymérisation de flavan-3-ol lié par une liaison carbone interflavane (**Reed, 1995**) (Figure 5).

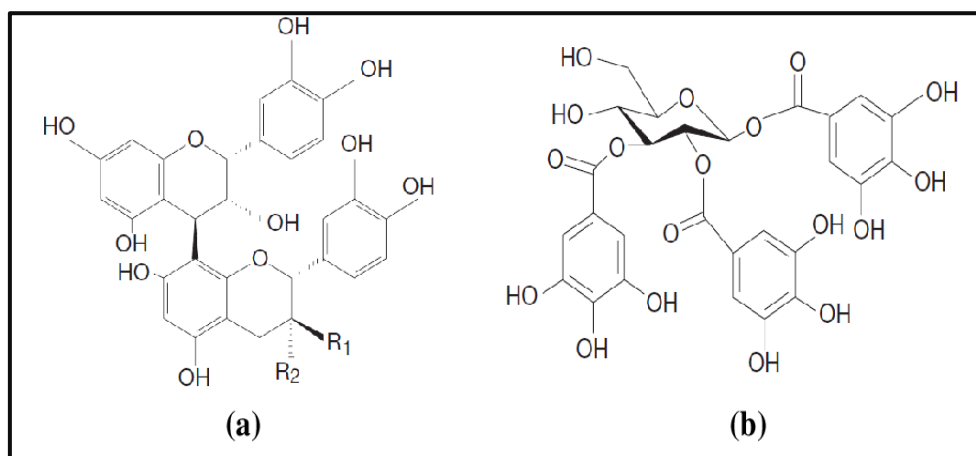


Figure 5: Structure Chimique (a) d'un Tanin Condense et (b) d'un Gallotanin (1,2, 3-Tri-O-Galloyl-B-D-Glucose) (**Derbel et Ghedira, 2005**)

b) Lignines

Les lignines sont les composants principal de la paroi cellulaire et sont formées par un processus de couplage oxydatif phénolique (**Davin et al., 1997**).les macromolécules de lignine se forment en polymérisant déshydrogénativement trois monolignols : alcools E-p-coumaryl, E-p-coniférylique et E-sinapylique (**Lewis et Yamamoto,1990**) (Figure 6).

Les lignines jouent un rôle essentiel dans la paroi cellulaire en fournissant un soutien mécanique et une protection contre les agents pathogènes et les herbivores (**Sakagami et al. , 2005**).

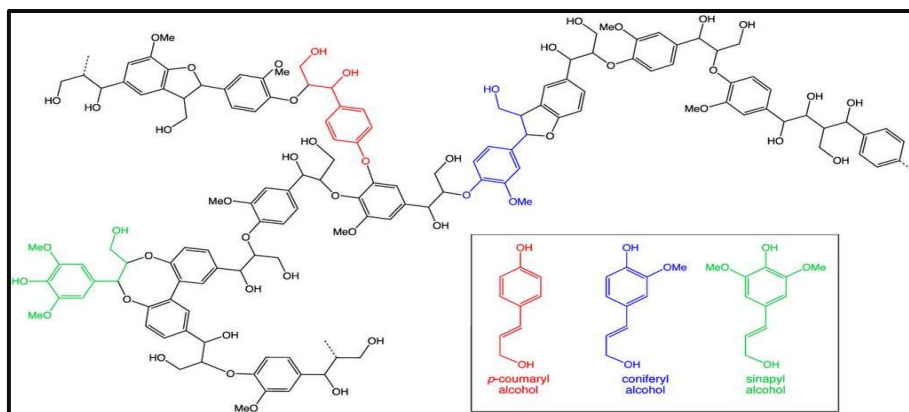


Figure 6: une structure de lignine composée de monolignols: alcool p-coumarylique, alcool coniférylique et alcool synapylique [1]

c) Coumarines, Stilbènes

Les coumarines

La coumarine tire son nom de la plante *Coumarouna odorata* (aujourd'hui *Dipteryx odorata*), isolé par Vogel en 1820. Les coumarines sont des 1,2-benzopyrones constituées d'un cycle benzénique lié à un cycle pyrone et sont produites via la voie générale des phénylpropanoïdes (Harborne 1999 ; Bourgaud *et al.*, 2006). La 2H-1-benzopyran-2-one, également appelée «coumarine basique», est le noyau structurel des coumarines (Figure 7).

On peut distinguer les coumarines en coumarines complexes et simples. Les composés hétérocycliques ajoutés au noyau coumarinique de base produisent des coumarines complexes, qui sont ensuite divisées en furanocoumarines, pyranocoumarines, phénylcoumarines, dihydrofurocoumarines et biscoumarines (Medina *et al.*, 2015).

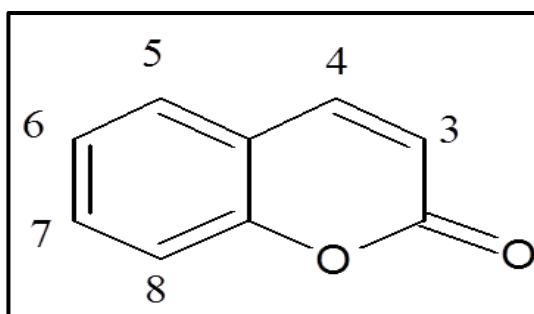


Figure 7: structure de coumarine (Matos *et al.*, 2015)

Les stilbènes

Les stilbènes sont des composés non flavonoïdes, ont une structure carbonée spécifique en C6-C2-C6. Le nombre et les positions des fonctions hydroxyles sur les cycles phénoliques, ainsi que la conjugaison avec des sucres et des groupements fonctionnels variés (méthyles, méthoxyles, etc.) vont varier selon cette structure de base relativement simple (**Richard *et al.*, 2014**).

Ces composés se présentent sous deux formes isomères : E-Stilbènes et Z-Stilbènes. La forme Z également connue sous le nom de forme cis, est obtenue par chaleur ou photoisomérisation, tandis que la forme E ou trans est la forme stable et bioactive (**Mérillon *et al.*, 1997**).

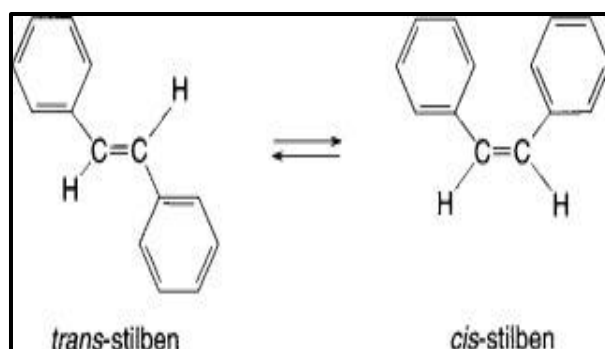


Figure 8: Structure chimique du trans-stilbène et du cis-stilbène (**Abramczyk, 2005**)

3.2 Les alcaloïdes

3.2.1 Définition

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale, caractérisée par une structure moléculaire hétérocyclique complexe. On les trouve dans les parties florales, les fruits ou les graines des plantes, à l'emplacement des hétéroatomes. (**Krief, 2003**).

Les alcaloïdes sont présents sous forme de métabolites secondaires dans les plantes, les champignons et certains groupes d'animaux rares. Généralement, ces composés sont des dérivés d'acides aminés. (**Bruneton, 1999 ; Paris, 1976**).

3.2.2 Classification

La classification la plus adaptée est basée sur l'origine biogénétique, c'est-à-dire de les classer en trois groupes selon leur précurseur biosynthétique :

- Les alcaloïdes vrais.
- Les pseudoalcaloïdes.
- Les proto–alcaloïdes

Les alcaloïdes vrais : Les alcaloïdes, dérivés d'acides aminés, possèdent des hétérocycles hautement réactifs et une activité biologique importante. Ils sont cristallins et souvent combinés avec des acides pour former des sels, la plupart ayant un goût amer. (**Anisze wski, 2007**)

Protoalkaloids : Les alcaloïdes sont des azotes dérivés d'acides aminés, synthétisés à partir de L-tryptophane et de L-tyrosine, avec des composants clés comme la yohimbine, la mescaline et l'hordénine, utilisés pour traiter diverses conditions médicales telles que les troubles mentaux, la douleur et les névralgies. (**Chini et al., 1992**).

Pseudoalkaloids : Les pseudoalcaloïdes sont différents types de véritables alcaloïdes dont les structures de base sont synthétisées à partir de précurseurs ou de produits dérivés du métabolisme des acides aminés via des réactions d'amination ou de transamination. (**Dewick, 2002**).

Ces composés peuvent également dériver de précurseurs non aminés, tels que la phénylalanine ou l'acétate. Parmi les pseudoalcaloïdes, on trouve la capsaïcine, la caféine et l'éphédrine. (**Jakubke et al., 1994**).

3.2.3 Propriétés physicochimiques

Selon (**Facchini et Pierre 2005**), les alcaloïdes sont des composés de faible masse moléculaire, généralement inférieure à 1 000 Da, qui possèdent des fonctions essentielles. La plupart de ces substances sont des solides cristallins, bien que certaines, comme la nicotine et la mescaline, soient liquides à température ambiante (**Jaber Ali, 2017**)

ils réagissent avec les acides pour former des sels souvent solubles dans l'eau. (**Badiaga M, 2012**) , solubles dans les solvants organiques apolaires et les alcools. La basicité de ces substances permet de former des sels avec des acides minéraux ou organiques (**Bruneton, 1999**).

3.3 Terpénoïdes

3.3.1 Définition

Les terpénoïdes est un ensemble essentiel de métabolites secondaires, regroupent environ 15000 structures moléculaires diverses, principalement lipophiles (**Wichtl et al., 2009**). sont

des molécules organiques constituées par un multiple de 5 atomes de carbone de formule générale $(C_5H_8)_n$ (Bouaine, 2017).

Ces composés forment une classe significative de produits secondaires, souvent hydrophobes et parfois volatils, partageant une origine commune (Seaman, 1982).

3.3.2 Classification

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires (avec les flavonoïdes et les alcaloïdes). Leur classification est basée sur le nombre de répétition de l'unité de base isoprène.

Les terpènes on distingue :

- Monoterpènes : association de deux isoprènes (10C).
- Sesquiterpènes : association de trois unités isoprénique (15C).
- Diterpènes : association de quatre isoprènes (20C).
- Triterpènes, tetraterpènes, pentaterpènes.

a) Les monoterpènes

Les monoterpènes, présents majoritairement dans les huiles essentielles (90%), sont les constituants les plus simples des terpènes. Ils se composent de deux unités isoprène (C_5H_8) assemblées selon une liaison tête-queue. Ils peuvent

Adopter une structure acyclique, monocyclique ou bicyclique. Ces composés terpéniques sont associés à divers produits naturels possédant des fonctions chimiques particulières (LSpadua *et al.*, 1999).

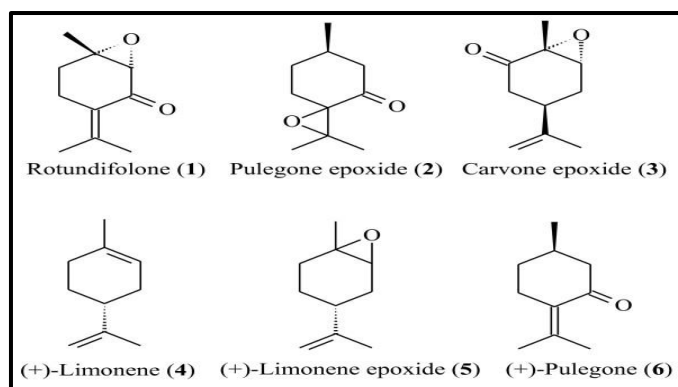


Figure 9: Exemples de quelque monotropenes (Cordos *et al.*, 2012)

b) Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont des terpénoïdes C₁₅ composés de trois unités isoprène. Les plantes supérieures et de nombreux autres systèmes vivants, comme les organismes marins et les champignons, sont particulièrement riches en eux. Dans la nature, ils sont présents sous forme d'hydrocarbures ou sous forme oxygénée, tels que les lactones, les alcools, les acides, les aldéhydes et les cétones. Les sesquiterpènes sont aussi constitués d'huiles essentielles et de composants aromatiques issus de plantes et possèdent de nombreux squelettes de base dont la nomenclature varie (**Awouafack et al., 2013**).

c) Diterpènes

Les Diterpènes sont composés de quatre unités d'isoprène (2-méthylbutane) C₅H₈, ce qui leur donne une formule générale C₂₀H₃₂ et peuvent être trouvés dans les plantes, les champignons, les bactéries et les animaux dans les environnements terrestres et marins (**Sousa et al., 2018**).

Les Diterpènes sont obtenus par l'addition de diphosphate d'isopentényle au diphosphate de farnésyle, ce qui donne naissance au diphosphate de géranylgeranyle (GGPP) (**Dewinck et al., 2001**). Le GGPP est cyclisé en diterpènes selon quatre parcours stéréochimiques distincts, à partir de quatre plis conformationnels distincts (**Peters et al., 2010**).

d) Triterpénoïdes et stéroïdes

Les triterpènes et les stéroïdes sont des composés lipidiques essentiels présents à la fois dans les plantes et les animaux. Les triterpènes servent de précurseurs aux stéroïdes et représentent une partie importante des lipides végétaux (**David.S, 1998**). Avec plus de 4000 triterpénoïdes identifiés, ils peuvent exister indépendamment, sous forme de glycosides ou dans d'autres formes combinées (**Boar et al., 1973**). En revanche, les stéroïdes sont des constituants intégraux des membranes végétales et jouent des rôles cruciaux dans divers processus biologiques.

Ces composés sont cruciaux pour le bon fonctionnement des organismes vivants et ont été largement étudiés pour leurs activités biologiques et leurs rôles dans le métabolisme (**Connolly et al., 1972**).

e) Tétraterpènes

Les seuls membres de cette catégorie sont les caroténoïdes, Les caroténoïdes sont les seuls représentant de ce groupe, ce sont des substances colorée en jaune, orange ou rouge, responsables de la coloration de nombreux fruits et fleurs ; ils se constituent dans les plastes et se présentent souvent sous forme cristalline. Les caroténoïdes des pigments assimilateurs sont synthétisés par les chloroplastes, ceux des fleurs et fruits sont synthétisés par les chromoplastes (**Guignard, 2000**).

Ils sont majoritairement dans les plantes, les algues, et différents microorganismes (**Ayad, 2008**).

4 Fonctions et propriétés des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des composés produits par divers organismes tels que les plantes, les bactéries, les champignons et certains animaux. Contrairement aux métabolites primaires, ces substances ne sont pas essentielles aux processus vitaux fondamentaux comme la croissance ou la respiration, mais elles remplissent des fonctions écologiques cruciales. Leur utilité varie grandement, allant de la défense contre les prédateurs à l'attraction d'espèces utiles telles que les pollinisateurs. Ils peuvent aussi faciliter la communication entre les plantes, par exemple en transmettant des signaux d'alerte. Leur production est influencée par l'environnement et peut renforcer les mécanismes de défense naturelle ou améliorer la qualité des plantes. Certains métabolites secondaires sont spécifiquement impliqués dans la protection contre les rayons ultraviolets et les ravageurs [2].

Chapitre II

Présentation de la plante étudiée

1 Famille urticacée

1.1 Définition

La famille des *Urticacées* regroupe environ 1000 espèces appartenant à une Cinquante genres, dont « *Urtica* ». Cette dernière regroupe plus de 80 espèces Différent (**Bertrand, 2010**).

Les espèces les plus couramment utilisées sont *Urtica dioica* L. (la grande ortie) et *Urtica urens* L. (la petite ortie), qui sont connues pour leurs nombreuses propriétés médicinales (**Lefief et Alex, 2012**).

1.2 Description

Les Urticaceae , ordre des Rosaceae, sont une plante à fleurs dicotylédones de la famille des Urticaceae. Il existe environ 53 genres et environ 2625 espèces. Elles sont largement réparties dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées du monde. Les plantes sont généralement des herbes, des sous-arbrisseaux ou des arbustes, rarement des arbres, généralement poilus, parfois succulents.

Les feuilles sont alternes ou opposées aux cellules épidermiques avec des spores évidentes.

Les fleurs sont unisexuées. Les plantes sont monoïques ou dioïques, ayant rarement les deux sexes. Les fleurs mâles sont des périanthes de 2 à 5 lobes, imbriqués ou en forme de pétales, les étamines sont hétérogènes et opposées aux tépales, les filaments sont recourbés vers le bas dans le bourgeon et ont généralement un ovaire abandonné. Les fleurs femelles sont des périanthes à 3-5 lobes, le fruit est hypertrophié, généralement persistant, les staminodes sont écailleux ou absents, l'ovaire et le périanthe sont séparés ou joints, 1-loculés, avec 1 ovule.

Le fruit est généralement un akène, généralement entouré de périanthe à feuilles persistantes. Les graines sont solitaires. L'embryon est dressé, l'endosperme est huileux et les cotylédons sont charnus, ovales ou presque ronds. (**Friis I et al., 1993**)

1.3 Répartition

Les orties poussent dans le monde entier dans des climats doux à tempérés. Ils préfèrent les habitats ouverts ou partiellement ombragés avec beaucoup d'humidité et se trouvent souvent dans les forêts, près des rivières ou des ruisseaux et au bord des routes. sont répandus en Europe et en Amérique du Nord, en Afrique du Nord et dans certaines parties de l'Asie, mais ont une présence limitée en Australie. (Kregiel *et al.*, 2018).

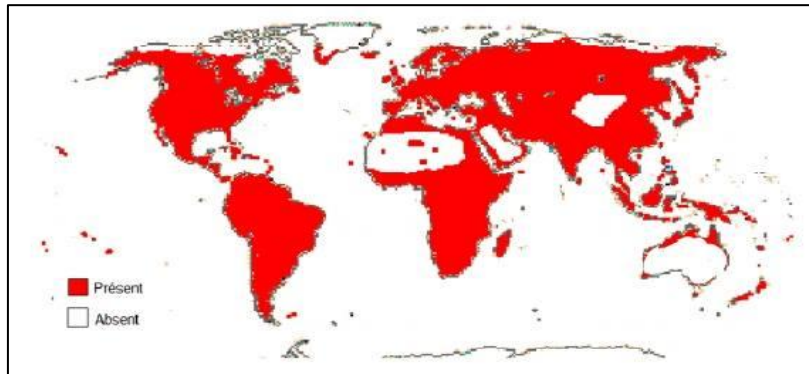


Figure 10: Carte de répartition géographique mondiale de la famille des Urticacées

1.4 Sous-familles

- *Urtica urens*
- *Urtica pilulifera*
- *Urtica morifolia*
- *Urtica membranacea*
- *Urtica dioica*
- *Urtica atrovirens*
- *Soleirolia soleirolii*
- *Parietarieae*
- *Forsskaolea angustifolia*

2 Présentation de la plante *Urtica urens*

2.1 Position systématique

Le nom d'ortie est issu du latin *Urtica* signifie « brûler » faisant référence aux piqûres brûlantes provoquées par ces poils (Kregiel *et al.*, 2018).

La classification botanique de l'espèce *Urtica urens* L. selon Angiosperme Phylogeny group III (APG III, 2009) est :

Règne:	Plantae
Embranchement:	Angiosperme
Classe:	Rosidaeae
Ordre:	Rosales
Familles:	<i>Urticaceae</i>
Genre:	<i>Urtica</i>
Espèce	<i>Urens L</i>

- **Noms vernaculaires**

L'espèce *Urtica urens L*, est connue par d'autres noms vernaculaires (**Mostade, 2015**), qui sont :

Français : petite ortie, ortie brûlant, grièche, grec, sauvage, barbare et folle

Anglais: Small Nettle

Arabe: حرايق قراص

2.2 Répartition géographique

Urtica urens L. préfère pousser dans un sol riche en azote et se rencontre assez souvent dans des sols riches en nitrates inorganiques et en minerais de fer (**Kregiel et al., 2018**). Elle se trouve principalement en Europe, Afrique, en Asie et est largement répandue en Amérique du Sude (**Marassini et al., 2010**).

En Algérie, la petite ortie est commune dans tout le Tel Algérien et dans les ravins des montagnes (exemples : Djurdjura, Atlas de Blida, Ain Témouchent, Boumerdès) (**Beloued, 1998**).

2.3 Description botanique

Urtica urens L. est une plante annuelle de 10 cm à 50 cm de haut (**Burkart, 1987**) (figure 11).

Les feuilles de l'ortie brûlante sont petites, opposé, ovale, arrondi ou atténué à la base, dentées, à peine plus longues que larges, avec des poils urticants dispersés sur la face supérieure, la face inférieure avec des poils urticants sur les nerfs; pétioles généralement plus courts que la feuille, également avec des poils urticants (**Burkart, 1987**). Figure (12-a).

Synthèse Bibliographique

La tige est dressée, anguleuse, ramifiée dès le bas. Il a d'épaisses tiges vert clair, Couvert de poils urticants jusqu'à 2 mm de long (Couplan, 2008 ; Burkart, 1987). Figure (12-b).

Fleur monoïque, pistillée au périgone piquant, jusqu'à 2 mm de long. Les fleurs femelles sont beaucoup plus nombreuses que les fleurs mâles. Le fruit de l'ortie est Akène de 2 mm long, ovoïde, semi-aplati, finement rugueux, sessile, pénicillé (Burkart, 1987).



Figure 11: *Urtica urens* (photo original)

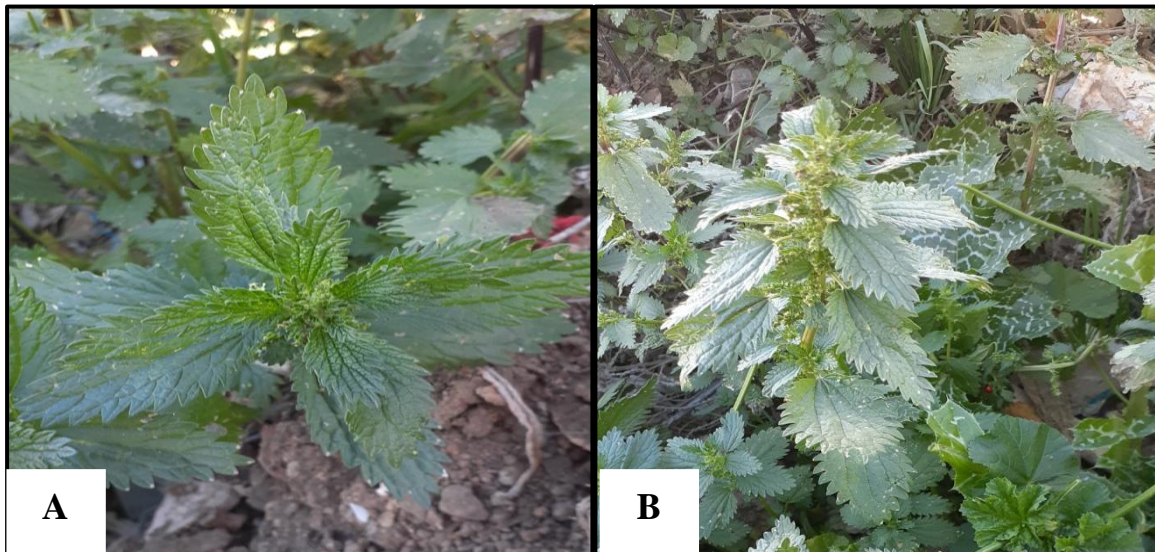
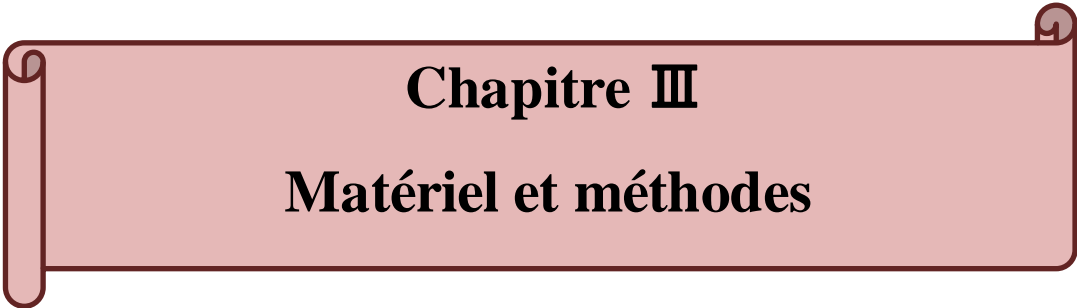


Figure 12: (A) la feuille, (B) la tige (photo original).



Chapitre III
Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

La présente étude a été réalisée au laboratoire de Biochimie et au laboratoire de Microbiologie du Département de Biologie de l'Université Belhadj Bouchaib – Ain Témouchent pendant une durée de 3 mois (08 février à 08 mai 2024).

Ce travail expérimental consiste à étudier les effets des extraits de l'*Urtica urens* sur la croissance bactérienne.

Pour cela, les expériences sont réalisées comme suite :

1. Préparation des extraits à partir de la partie aérienne de la plante
2. Etude in vitro de l'effet antimicrobien des extraits préparés sur des souches microbiennes.

PARTIE 1 : Préparation des extraits

1 Matériel végétale

Notre étude a été réalisée sur les feuilles de plante de la famille des Urticacées de l'Ouest algérien qui est *Urtica urens*. Dont la cueillette a eu lieu en moins de février 2024 dans la région d'Aoubelil wilaya d'Ain Témouchent.



Figure 13: *Urtica urens* (photo original).



Figure 14: Région de la récolte

2 Séchage de la plante

Le matériel végétal *Urtica urens* a subi un processus de séchage à température ambiante, en étant protégé de la lumière solaire pendant 15 jours, dans le but de préserver l'intégrité maximale des molécules. Après cette phase de séchage, les échantillons sont placés dans des sacs en plastique.



Figure 15: Partie aériennes sèche d'*Urtica urens*

3 Préparation des extraits

La préparation des extraits pour notre étude s'effectue selon la méthode d'extraction par macération. Les échantillons séchés d'*Urtica urens* sont d'abord réduits en poudre à l'aide d'un moulin à café électrique. Ensuite, les extraits sont préparés, comprenant l'extrait

organique (utilisant de l'éther de pétrole, de l'éthanol et du dichlorométhane), l'extrait aqueux et l'extrait d'huile totale.



Figure 16: Broyage de la plante « *Urtica urens* » sèche

3.1 Extraction par les solvants organiques à polarité croissante

Conformément au protocole d'extraction décrit par (Biallo *et al.*, 2004 ; Falleh *et al.*, 2008), une quantité de 40g de poudre de matériel végétal a été macérée dans 200 ml de solvant absolu, sous agitation mécanique, à température ambiante et à l'abri de la lumière solaire pendant 24 heures. Les solvants utilisés dans l'extraction, avec une polarité croissante, comprennent l'éther de pétrole (EP), l'éthanol (EtOH) et le dichlorométhane (DCM). Les macérats ont ensuite été filtrés, puis évaporés à sec sous pression au rotavapor et séchés jusqu'à obtention d'un poids constant.

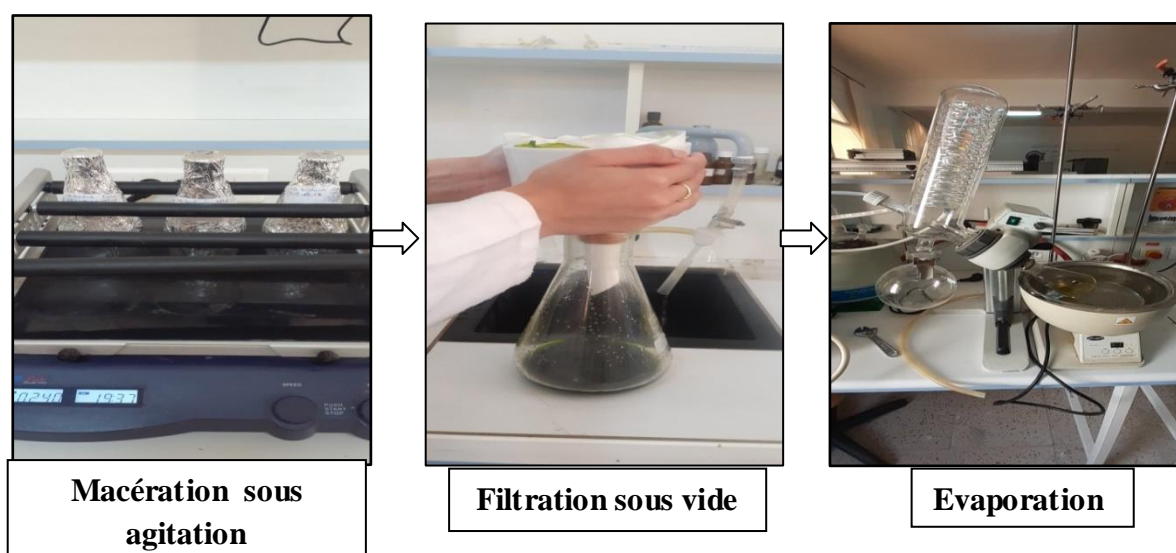


Figure 17: Les étapes d'extraction du solvant organique

3.2 Extraction aqueuse

Une quantité de 50 g de poudre du matériau végétal a été soumise à un reflux dans 500 ml d'eau distillée, puis macérée à température ambiante et à l'abri de la lumière solaire pendant 24 heures sous agitation magnétique. Ensuite, le mélange a été filtré. Le filtrat obtenu a ensuite été séché à 50 °C jusqu'à atteindre un poids constant (**Falleh et al., 2008 ; Moroh et al., 2008**).

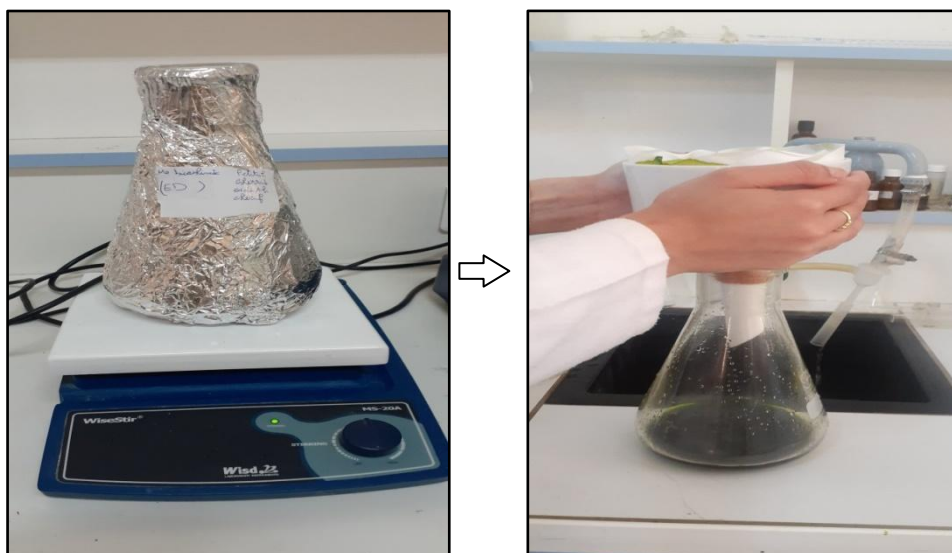


Figure 18: Extraction aqueuse

3.3 Extraction d'huile totale

Le méthanol a été utilisé pour extraire les composés, suivi d'une filtration après une période de macération de 24 heures sous agitation. Le liquide filtré a été combiné dans une ampoule à décanter avec 50 ml d'hexane. Après agitation, deux phases distinctes se sont formées : une phase aqueuse plus dense située en bas, et une phase organique contenant les lipides.

La phase organique supérieure a été récupérée, cette étape a été répétée trois fois en changeant le solvant à chaque fois. L'hexane a ensuite été évaporé. L'extrait obtenu est considéré comme l'huile totale (HT) d'*Urtica urens*.

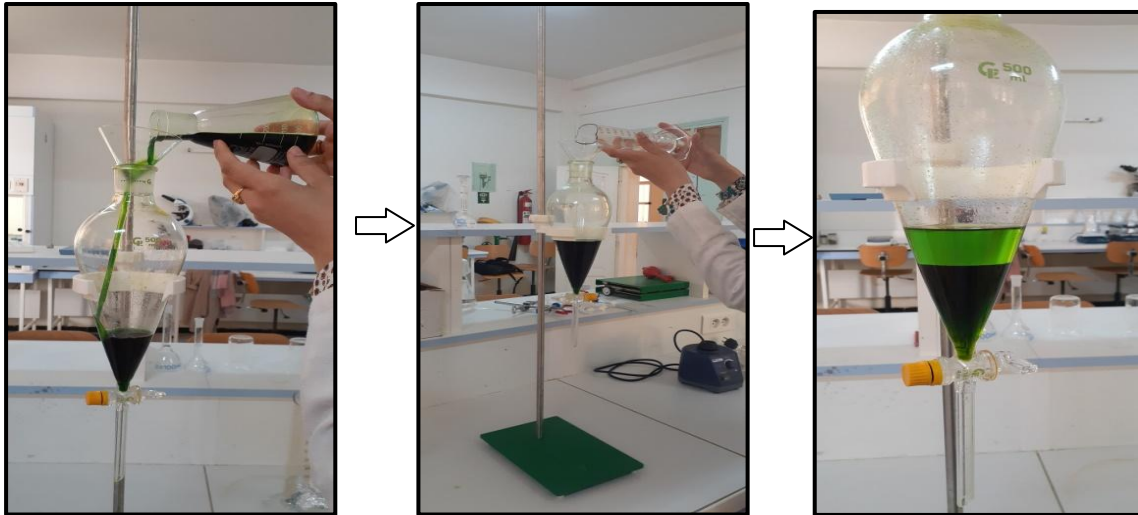


Figure 19: Extraction d'huile Total

La série d'extractions permet d'obtenir cinq extraits : un extrait aqueux (ED), trois extraits organiques : extrait éther de pétrole (EP), extrait dichlorométhane (DCM), extrait éthanolique (ET) et l'huile totale (HT). Les extraits secs sont conservés à l'obscurité jusqu'à utilisation.



Figure 20: Les cinq extraits d'*Urtica urens*.

PARTIE 2 : Etude de l'activité antimicrobienne

1 Matériel

1.1 Souches microbiennes pathogènes

L'activité antimicrobienne des extraits de l'*Urtica urens* sera testée sur des souches de collection internationale ATCC qui ont toutes été fournis par le laboratoire de microbiologie du l'université d'Ain Témouchent.

Les germes qui ont été testés sont les suivants :

- *Pseudomonas aeruginosa* A22.

- *Escherichia coli*.
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25922.
- *Staphylococcus aureus* ATCC 43300.

a) Les extraits

Les extraits testés sont les suivants : Ether de pétrole (EP), Ethanol (EtOH), Dichlorométhane (DCM), Extrait aqueux (EAQ) et Huile totale (HT).

1.2 Milieu de culture

- Milieu de culture liquide : Bouillon Muller-Hinton (BMH).
- Milieu de culture solide : Gélose Mueller Hinton (MH).

1.3 Réactifs chimiques et autres matériel

Antibiotique : Gentamicine « GEN »

2 Méthodes

2.1 Conservation des souches étudiées

Les souches référentielles sont conservées à 4 °C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné gélose de M-H pour les bactéries.

2.2 Préparation des suspensions bactériennes

Des colonies soigneusement isolées issues de cultures pures ont été inoculées dans du BMH (Bouillon Muller-Hinton) puis incubées à 37 °C pendant 18 heures afin de maintenir la culture et de favoriser la croissance bactérienne.

2.3 Ensemencement des souches conservées

Des colonies isolées ont été transférées dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile (0,9 %) pour créer des suspensions microbiennes ayant une turbidité similaire à celle de McFarland 0,5 (106 UFC/ml). Ensuite, 20 boîtes de Pétri ont été préparées avec du milieu MH (correspondant au nombre de souches et aux concentrations des extraits utilisés), avec une épaisseur de 4 mm, près du bec benzène, puis laissées à solidifier. Les souches testées ont étéensemencées en passant un écouvillon sur toute la surface du milieu de haut en bas, en effectuant des stries serrées. Puis les boîtes ont été incubés dans l'étuve à 37°C pendant 24 h.

2.4 Méthodes d'étude de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux

Pour évaluer l'activité antimicrobienne de la plante *Urtica urens*, nous avons testées par deux méthodes différentes :

- ✓ testées l'effet des extraits sur différentes souches bactériennes, elle a été réalisée selon la méthode de diffusion en puits sur milieu gélose (**Berghe et al., 1991**).
- ✓ Essais de sensibilité à la dilution par les micro-dilutions (**Billerbeck et al., 2002**)
Cette approche visait à déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits de plantes étudiés, conjointement avec des tests d'étalement sur milieu solide pour déterminer les concentrations minimales bactéricides (CMB).

2.4.1 Souches microbiennes

On va évaluer l'action antimicrobienne des extraits d'*Urtica urens* sur des souches provenant de la collection internationale ATCC. Ces souches nous ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de l'Universitaire d'Ain Témouchent.

Les souches bactériennes suivantes ont été soumises aux tests :

Tableau II : Souches bactériennes

Famille	Espèce	Code de la Souche	Caractéristique
Pseudomonadacées	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	A22	Est une bactérie Gram négative, aérobie et non sporulée, qui peut causer différentes infections chez les hôtes qui ont une immunité aiguë et déprimée. (Kerr.KG, 2009).
Enterobacteriacées	<i>Escherichia coli</i>		Il s'agit d'un bacille gram négatif assez caractéristique, il s'agit d'un aérobie facultatif, souvent présent dans l'intestin inférieur des mammifères, pouvant causer des maladies graves. (Zachary, 2015).
Staphylococcacées	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300	Est une bactérie Gram positive, Elle est immobile, ne forme pas de spores, peut être aéroanaérobie et est

Matériel et méthodes

	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25922	coagulase-positif. C'est un agent pathogène important qui provoque diverses infections tant dans la communauté qu'à l'hôpital, telles que les infections osseuses, les pneumonies, les bactériémies, les endocardites et les infections articulaires. (Anses, 2011 ; Robert, 2013)
--	------------------------------	------------	--

2.4.2 Préparation des concentrations des extraits

Une série des concentrations (50mg/ml, 75 mg/ml, 100 mg/ml et 150 mg/ml) a été préparée pour chaque extrait en utilisant le diluant DMSO.

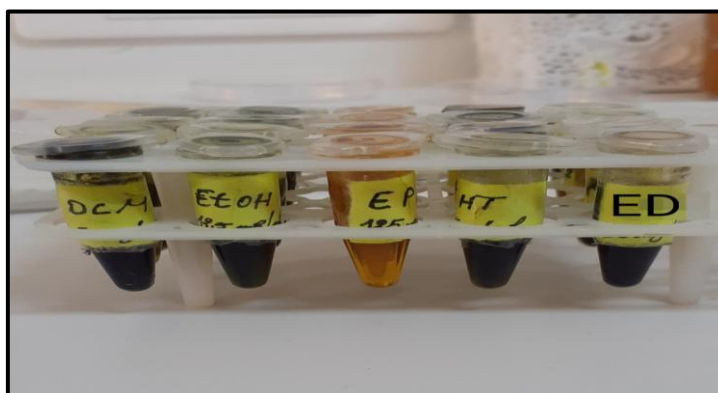


Figure 21: Préparation des concentrations des extraits.

2.4.3 Méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits)

C'est la technique de base utilisée pour déterminer l'activité antimicrobienne des extraits de la plante. Cette méthode est décrite par (Berghe *et al.*, 1991).

Des boîtes de pétri stériles contenant du milieu Muller Hinton agar sontensemencées par écouvillonnage d'une dilution du microorganisme à tester. Après le séchage des boîtes, la gélose est perforée à l'aide d'un embout stérile (4 puits dans chaque boîte) et un volume de chaque extrait à la concentration souhaitée est introduit dans les puits. Ensuite, les boîtes sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 h.

Matériel et méthodes

La lecture des résultats s'est faite 24 heures après l'incubation, par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour de chaque puits à l'aide d'une règle en (mm). Le diamètre détermine l'efficacité de la matière active.

Les résultats sont exprimés selon quatre niveaux d'activité (**Ponce *et al.*, 2003**)

- souche résistante ($D < 8$ mm)
- souche sensible ($9\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm}$)
- souche très sensible ($15\text{mm} \leq D \leq 19$ mm)
- extrêmement sensible ($D > 20$ mm)

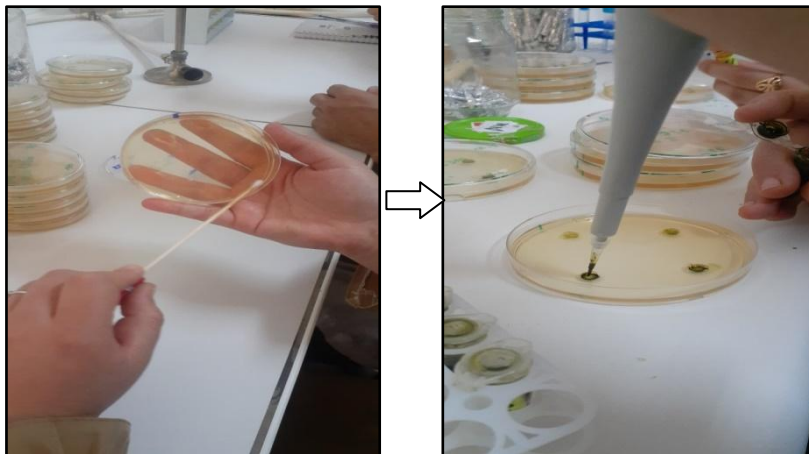


Figure 22: Méthode de diffusion en puits.

2.5 Test de la sensibilité à l'antibiotique

L'étude de l'antibiogramme s'est limitée à tester l'un des plus utilisés en antibiothérapie la Gentamicine « GEN »

Des disques d'antibiotique sont déposés à la surface de géloseensemencée et à l'aide d'une micropipette imprégner les disques par une quantité d'extraits à tester. Puis les biotes ont été incubés dans l'étuve à 37° pendant 24h. le diamètre de la zone indemne de colonie bactérienne est mesuré en mm.

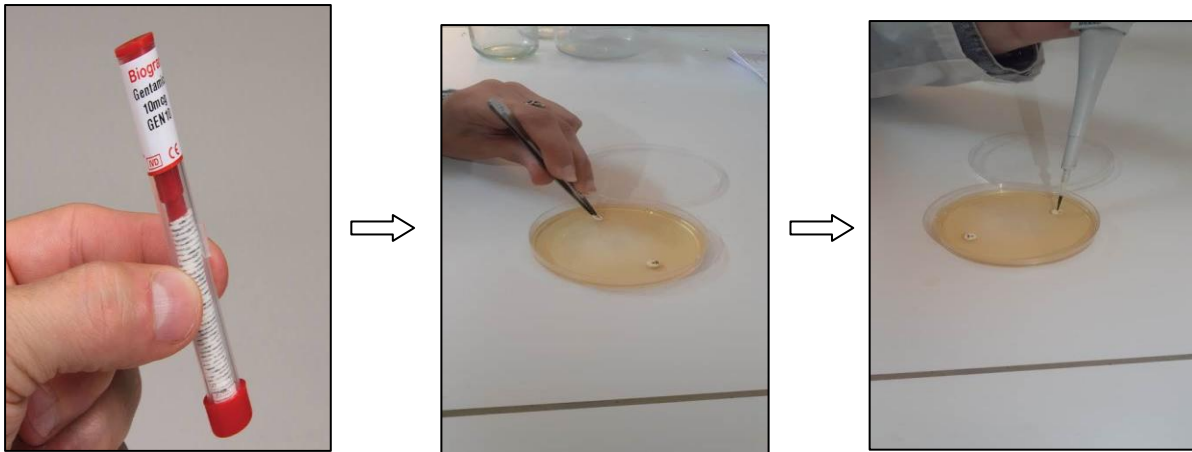


Figure 23: Test de la sensibilité à l'antibiotique

2.5.1 Essais de sensibilité à la dilution

a) Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme la plus petite dilution à laquelle aucune croissance visible n'est observée (**Kuete *et al.*, 2004**).

Des microplaques à fond en U sont utilisables pour la détermination des CMI. Une plaque de 96 puits permet la détermination de la CMI des souches vis-à-vis d'un extrait.

Dans les cupules d'une même ligne, 100 μ l de Bouillon « BMH pour les bactéries » a été déposé, puis 100 μ l de l'extrait à tester, est ajoutés à le puits 1. Une série de dilution au facteur $\frac{1}{2}$ a été réalisée extemporanément dans le bouillon Mueller Hinton à partir de la solution mère du puits1, par le transfert de 100 μ l de puits en puits jusqu'au puits 10 (le 100 μ l du dernier puits à jeter). Il faut bien mélanger le contenu du puits.

Chaque puits est ensuiteensemencé par 10 μ l d'une suspension microbienne à 10⁶ cellules/ml. (**Eloff, 1998**).

La 11ème colonne de la plaque qui contient uniquement le milieu Mueller Hinton sert de témoin négatif.

La 12ème colonne qui contient 10 μ l de l'inoculum et 100 μ l BMH sert de témoin positif.

La microplaque est couverte et incubée à 37 °C pendant 20h.

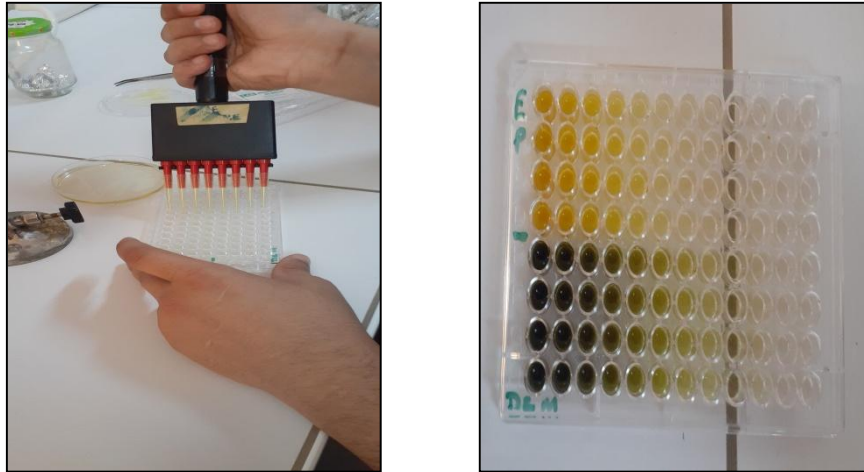
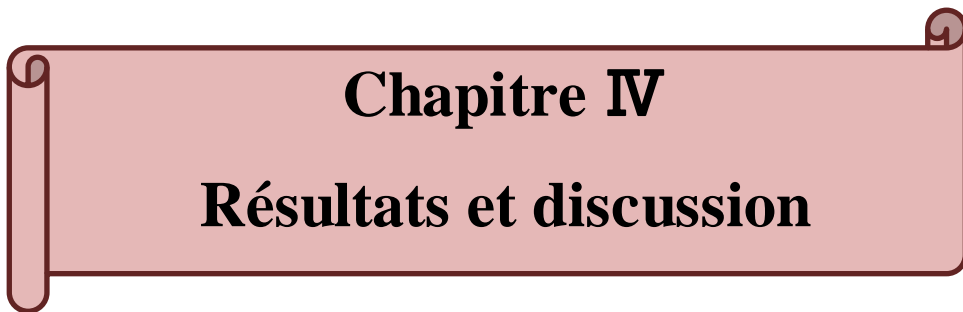


Figure 24: Méthode de micro-dilutions

b) Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La détermination du CMB nécessite des stries du contenu des puits à des concentrations supérieures ou égales à la CMI dans une série de dilutions préalablement établies sur gélose M-H. Par conséquent, le CMB a été déterminée après incubation des bactéries à 37°C pendant 24 h. C'est la concentration minimale qui inhibe complètement la croissance (Ennadir, 2014).



Chapitre IV
Résultats et discussion

Etude de l'activité antimicrobienne

1 Méthode de diffusion sur puits (aromatogramme)

L'effet antimicrobien des extraits se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du puits saturé avec un extrait brut (**Annex 1**), les résultats obtenus étant exprimés dans les figures suivantes.

a) Extrait d'éther de pétrole

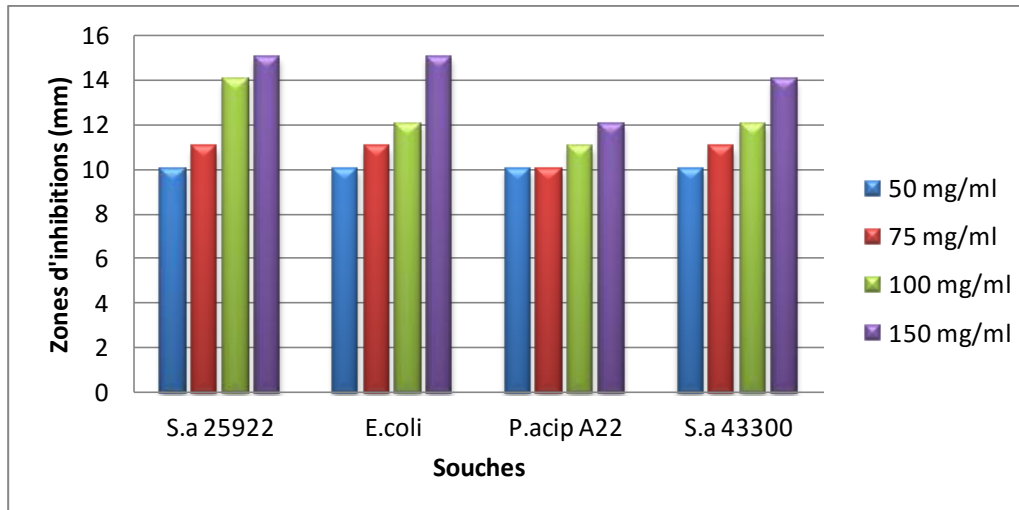


Figure 25: Effet d'extrait Ether de pétrole sur les souches étudiées.

Cette représentation met en évidence l'activité antibactérienne de l'éther de pétrole. On remarque une augmentation de la zone d'inhibition aux concentrations de 150 mg /ml et 100 mg/ml pour les souches *Escherichia coli* et de *S.aureus*25922, ces deux souches présentant une activité bactérienne plus remarquable.

Puis la souche *S. aureus* 43300 montre une zone d'inhibition de 14 mm. En revanche, *Pseudomonas aeruginosa* A22, présente une zone d'inhibition maximale de 12 mm, ce qui indique une moindre sensibilité.

Nos résultats concordent avec ceux présentés par (**Abirami, 2017**), qui ont étudié l'activité antimicrobienne de l'extrait *eucalyptus globulus* sur une large gamme de bactéries gram positives et gram négatives. Ils ont observé que la souche *E. coli* était la plus sensible, avec un diamètre de zone d'inhibition de 20 mm, tandis que la sensibilité minimale a été enregistrée chez *S. aureus*, avec une zone d'inhibition de 13 mm.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par (**Mogode, 2005**) qui a obtenu de meilleurs résultats avec les souches *Escherichia coli*. En effet elle a obtenu des diamètres de 14 mm tandis que lors de notre étude nous avons obtenu des diamètres d'inhibition de 15 mm pour cette bactérie.

Résultats et discussion

La présence de stéroïdes et de terpènes dans l'extrait étheré de *urtica urens* a également été notée, ce qui correspond aux propriétés polaires du solvant et du soluté (Elsherif *et al.*, 2023). Cela suggère que ces composé pourraient être en partie responsables de l'activité antibactérienne obtenue.

Selon Schwarz (1999), les stéroïdes et les triterpénoïdes peuvent avoir des activités contre la croissance des espèces bactériennes.

b) Extrait d'éthanol

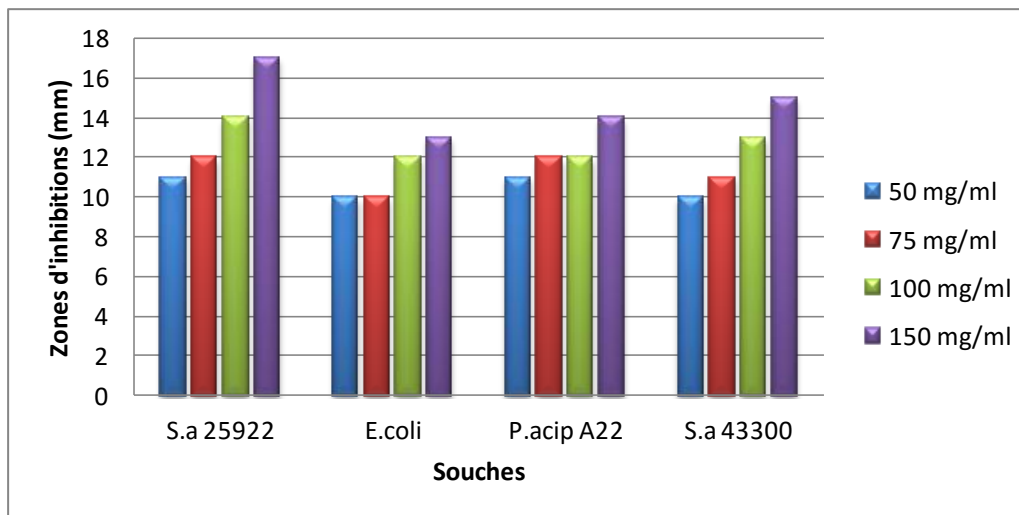


Figure 26: Effet d'extrait d'Ethanol sur les souches étudiées.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanolique d'*Urtica urens* L. a eu un effet inhibiteur sur la croissance de toutes les souches testées, avec des proportions variées, avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 10 à 17 mm.

Il est néanmoins important de souligner que *S.aureus* 25922 présente la plus grande sensibilité avec une zone d'inhibition de 17 mm, tandis que *E.coli* a le halo d'inhibition le plus faible (13 mm), ce qui en fait la moins sensible.

Nos résultats concordent avec ceux présentés par (Bobis *et al.*, 2015), qui ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de feuilles de l'*Urtica dioïca* L. sur les souches *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*. Ils ont montré que l'extrait éthanoliques de feuilles d'*Urtica dioïca* possède un effet inhibiteur sur toutes les souches testées et ils ont observé que la bactérie gram positif (*S. aureus*) est la plus sensible avec zone d'inhibition de 18 mm.

Selon un autre étude menée par (Salem *et al.*, 2021), les extraits éthanoliques de feuilles de l'*Urtica urens* exercent une activité antibactérienne contre les souches *E. coli*, *S. aureus* avec un effet majeur sur bactéries gram positif.

Résultats et discussion

Les bactéries Gram-positives et Gram-négatives présentent une réaction différente, probablement en raison de la structure morphologique de la paroi cellulaire. Les bactéries Gram-positives sont plus sensibles, car elles ne possèdent qu'un peptidoglycane externe. Couche qui ne constitue pas une barrière de perméabilité efficace (Kaushik *et al.*, 2015). Toutefois, les bactéries à Gram négatif sont entourées d'une double membrane caractérisée par la présence de lipopolysaccharide (LPS) et de lipide A (Caroff et Karibian, 2003), ce qui leur confère une plus grande résistance et une moins grande perméabilité.

Selon (Elsherif *et al.*, 2023), l'extraits éthanolique obtenus à partir d'*Urtica urens* possède de grandes quantités de composés biologiquement actifs de la classe des polyphénols. Cela suggère que l'activité antibactérienne d'*U. urens* pourrait être attribuée aux polyphénols, comme l'ont démontré (Mavric *et al.*, 2008) qui ont mentionné que les composants phénoliques pouvaient entraver le développement des bactéries.

c) Extrait de dichlorométhane

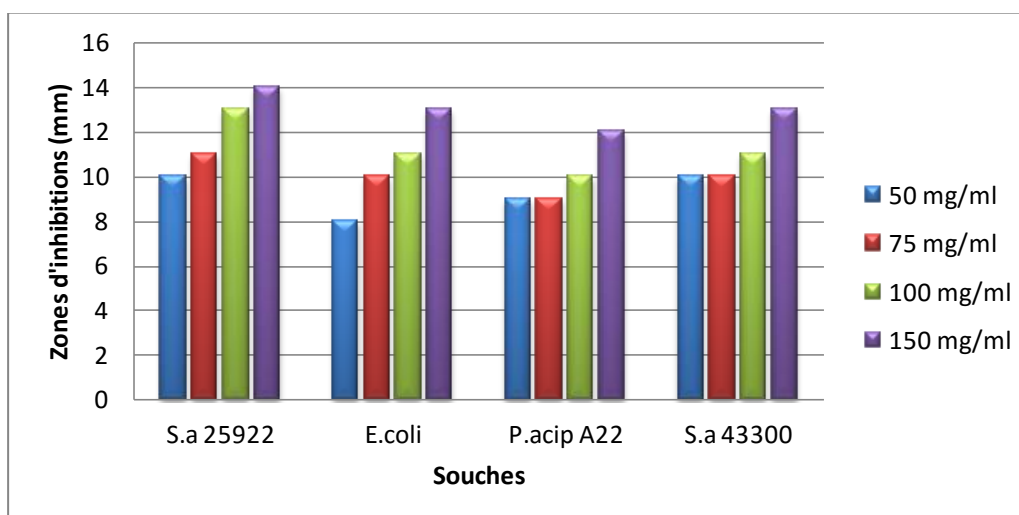


Figure 27: Effet d'extrait de dichlorométhane sur les souches étudiées.

Les résultat de l'activité antibactérienne montre qu'il existe une relation entre les souches et la concentration, car la zone d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration en DCM.

La figure montre que la souche *Staphylococcus aureus* 25922 est la plus sensible aux différentes concentrations de DCM. La grande zone d'inhibition est marquée par la souche *Staphylococcus aureus* 25922 (14mm) à 150mg/ml suivie par (13mm) à 100mg/ml et (11mm) à 75 mg/ml cette souche était extrêmement sensible au DCM, suivie de *S. aureus* 43300 et d'*E. coli* (13 mm), ensuite de *P. aeruginosa* avec un diamètre de (12mm)

Des études menées sur d'autres espèces du genre *Mentha* ont montré que les extraits de dichlorométhane possèdent des capacités antimicrobiennes contre les souches Gram positives (Barchan *et al.*, 2015).

Le diamètre maximum de l'extrait dichlorométhane d'*urtica urnes* contre *Staphylococcus aureus* est de 14 mm. Ces résultats concordant avec ceux obtenus par (Mogode, 2005), qui a obtenu un diamètre de 24 mm en utilisant un extrait dichlorométhane de *Cassia nigricans* contre *S. aureus*.

Nos résultats sont concorde à ceux trouvé par (Bakht *et al.*, 2014) qui ont montré que l'extrait de dichlorométhane de *Mentha longifolia* a une activité antibactérienne sur *S. aureus* et *P.aeruginosa*, mais aucune activité enregistré pour *Ecoli* contrairement à nos résultats.

Selon (Sayed *et al* , 2014a) l'extrait de dichlorométhane d'*Urtica dioica* contient les composés phénoliques et les terpénoïdes, cela indique que ces composés pourraient contribuer partiellement à l'activité antibactérienne observée.

d) Extrait aqueux

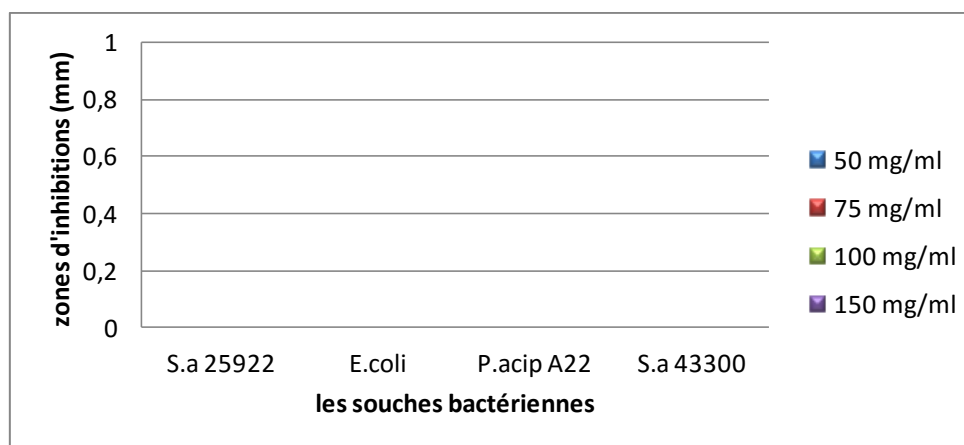


Figure 28: Effet d'extrait de l'eau distillé sur les souches étudiées.

Selon la Figure (28), l'extrait aqueux n'a présenté aucune zone d'inhibition contre toutes les souches testées, ce qui indique qu'il n'exerce aucun effet antibactérien.

Nos résultats concordent avec ceux de (Salem *et al.*, 2021), qui ont examiné l'activité antibactérienne des extraits aqueux d'*Urtica urens* sur les bactéries gram+ (*Staphylococcus aureus*) et gram- (*Escherichia coli*) et ont noté l'absence d'effet inhibiteur de l'extrait aqueux sur les deux souches.

Nos résultats vont dans le même sens que ceux trouvés par (Mzid *et al.*, 2017) qui ont montré que l'extrait aqueux n'a montré aucune zone d'inhibition contre *E. coli*, *S. aureus* et *P.*

aeruginosa. Dans un autre rapport, l'extrait aqueux d'*U. urens* collecté en Érythrée, n'avait aucune activité antimicrobienne contre Gram négatif (*E. coli*) et Gram positif (*S. aureus*) (Kaushik *et al.*, 2015).

Les travaux de (candan *et al.*, 2003) ont trouvé que les composés hydrosolubles présentent une activité antibactérienne moindre par rapport aux composés non hydrosolubles ce qui peut être dû à la capacité des molécules liposolubles à s'insérer dans les membranes cellulaires bactériennes et à les perturber. Cette observation pourrait expliquer l'absence d'effet antibactérien dans le test de l'extrait aqueux.

e) Extrait d'huile totale

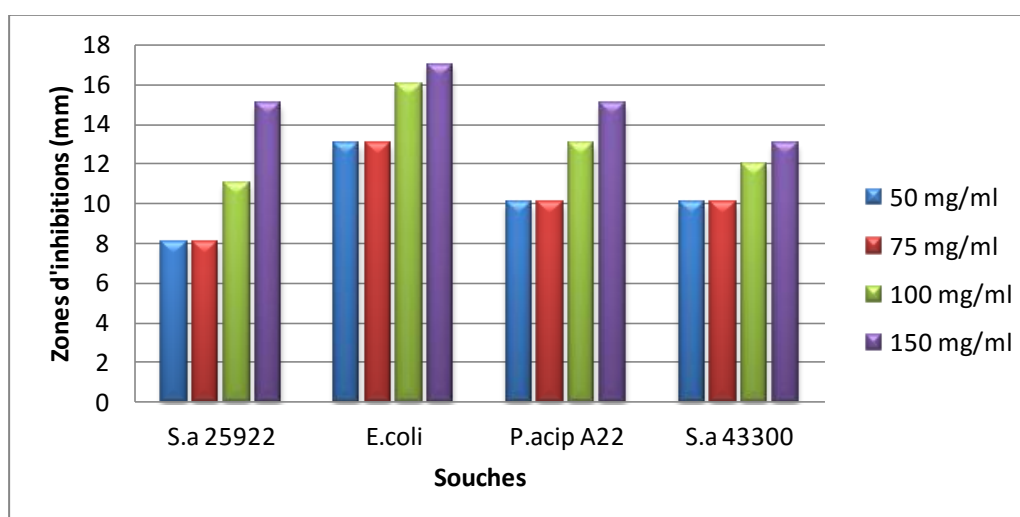


Figure 29: Effet d'extrait d'huile totale sur les souches étudiées.

D'après la figure (29) l'extrait HT de *Urtica urens* a montré une activité étendue pour toutes les souches microbiennes *Ecoli*, s'est avéré être le diamètre le plus sensible de (17 mm), suivi de (15 mm) pour *P. aeruginosa* et *S.aureus* ATCC 25922, tandis que la souche *S.aureus* ATCC 43300 était moins sensible à HT de (13 mm).

Nos résultats concordent avec ceux présentés par (Lazreg-Aref, 2011) qui ont étudié l'activité antimicrobienne de l'extrait hexane de plante *Ficus carica* sur une large gamme de bactéries gram positives et gram négatives. Ils ont observé que la souche *E. coli* était la plus sensible, avec un diamètre de zone d'inhibition de 20 mm, ainsi un effet inhibiteur sur les souches *S. aureus* et *P. aeruginosa* avec un diamètre de zone d'inhibition 18mm et 14mm respectivement .

Nos résultats sont similaires a ceux indiqués par (Pillai *et al.*, 2020), l'extrait d'hexane de la plante *Urtica urens* a eu une bonne activité antibactérienne vis-à-vis des trois souches (*E.coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*).

L'extrait d'hexane qui est principalement composé d'acides gras et de composés phénoliques (Sayed *et al.*,2014b).

Il est essentiel de noter que *urtica urens* est abondante en métabolites secondaires tels que les tanins, les flavonoïdes, les stérols, les triterpènes et les saponosides. Selon (Daoudi 2015), ces composés sont largement reconnus pour leurs propriétés antibactériennes, ce qui pourrait expliquer leur contribution aux propriétés antimicrobiennes observées.

2 Effet de l'association des extraits de *Urtica urens* avec l'antibiotique Gentamicine

Dernièrement, l'association des extraits de plantes avec les antibiotiques a émergé comme une nouvelle approche pour résoudre le problème de la résistance bactérienne aux antibiotiques, permettant ainsi d'améliorer leur efficacité.

a) Combinaison entre l'extrait d'Ether de pétrole (EP) + la gentamicine

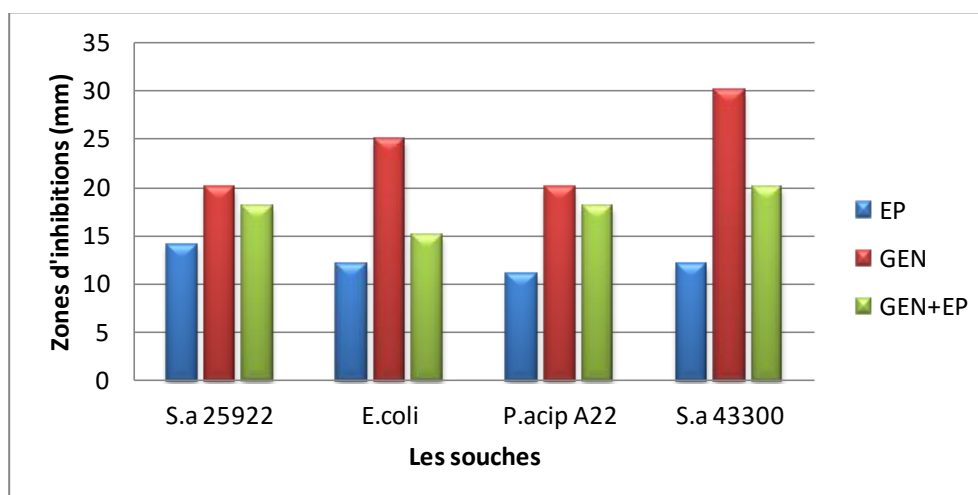


Figure 30: Effet de la combinaison entre l'extrait d'éther de pétrole + la gentamicine

La figure (30) présente les zones d'inhibition (en mm) pour quatre souches bactériennes pathogènes : deux Gram positives (*S.a* 25922 et *S.a* 43300) et deux Gram négatives (*E. coli* et *P. acip* A22). Les histogrammes illustrent l'effet de l'extrait d'éther de pétrole (EP), de la gentamicine (GEN), ainsi que de la combinaison des deux (GEN+EP) sur ces bactéries.

Pour les souches Gram positives, *S.a* 25922 montre une zone d'inhibition d'environ (14 mm) avec l'extrait d'éther de pétrole seul, environ 20 mm avec la gentamicine seule, et environ (18 mm) avec la combinaison des deux. Pour *S.a* 43300, les zones d'inhibition sont d'environ (12 mm) avec EP, (30 mm) avec GEN, et (20 mm) avec GEN+EP.

Résultats et discussion

En ce qui concerne les souches Gram négatives, *E. coli* montre une zone d'inhibition d'environ (13 mm) avec EP, environ (25 mm) avec GEN, et environ (15 mm) avec GEN+EP. Pour *P. acip* A22, les zones d'inhibition sont d'environ (12 mm) avec EP, environ (20 mm) avec GEN, et environ (18 mm) avec GEN+EP.

Ces résultats indiquent que la gentamicine seule est généralement plus efficace que l'extrait d'éther de pétrole seul pour inhiber la croissance bactérienne, surtout pour les souches Gram positives. La combinaison de la gentamicine et de l'extrait d'éther de pétrole montre une efficacité variable selon les souches, suggérant un effet synergique potentiel dans certains cas, mais pas de manière systématique. Il est à noter que l'effet combiné (GEN+EP) est parfois inférieur à celui de la gentamicine seule, ce qui pourrait indiquer des interactions complexes entre les deux agents.

b) Combinaison entre l'extrait de Dichlorométhane (DCM) + la gentamicine

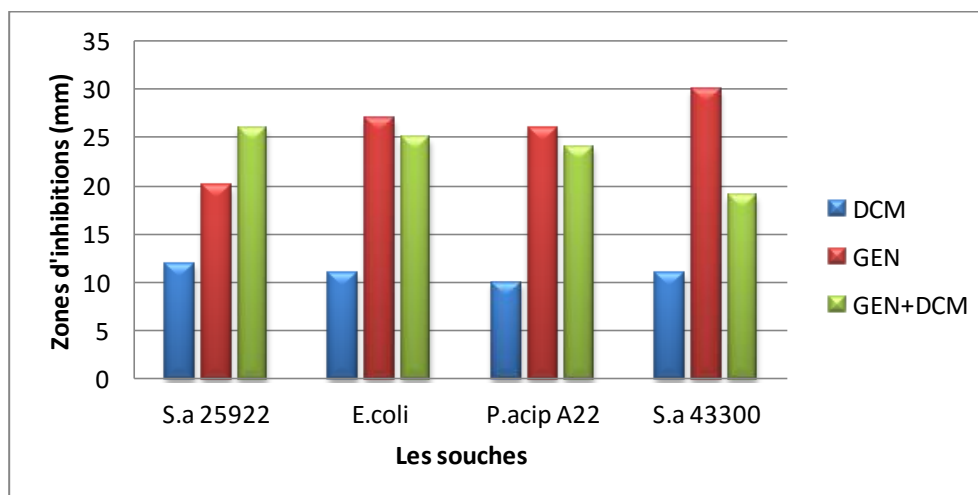


Figure 31: Effet de la combinaison entre l'extrait de dichlorométhane + la gentamicine

Les histogrammes bleus représentent l'effet du DCM seul. On observe que son effet est relativement faible sur les quatre souches bactériennes testées. Les histogrammes rouges illustrent l'effet de la gentamicine seule, qui est plus significatif, avec des valeurs plus élevées pour chaque bactérie, en particulier pour *S.a* 43300. Enfin, les histogrammes verts montrent l'effet combiné de DCM et de la gentamicine.

Pour chaque bactérie, l'effet de la combinaison (GEN+DCM) est plus prononcé que l'effet de DCM seul et généralement comparable ou supérieur à celui de la gentamicine seule. Cela suggère un effet synergique potentiel entre l'extrait de dichlorométhane et la gentamicine, renforçant l'activité antibactérienne contre les bactéries testées.

cette figure indique que bien que l'extrait de dichlorométhane ait une certaine activité antibactérienne, son efficacité est significativement augmentée lorsqu'il est utilisé en combinaison avec la gentamicine, démontrant ainsi un effet synergique potentiel contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives testées.

c) Combinaison entre l'extrait Ethanolique + la gentamicine

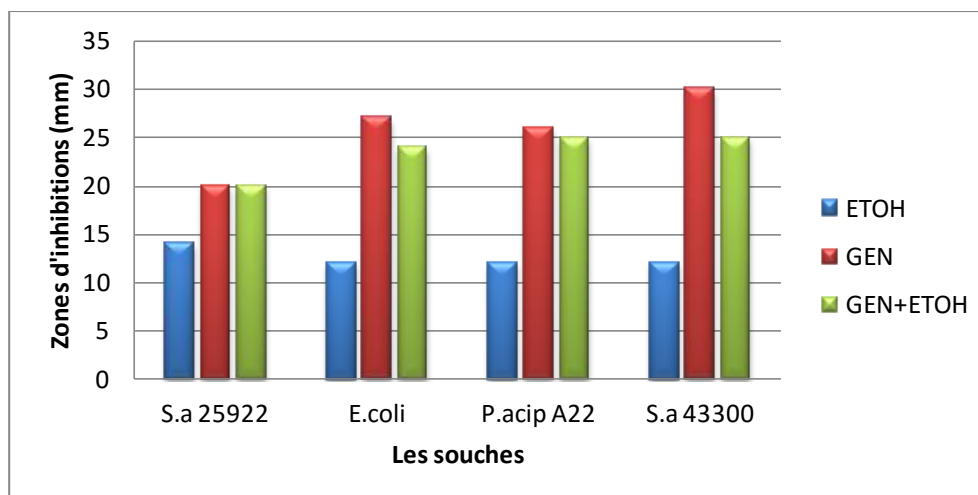


Figure 32: Effet de la combinaison entre l'extrait ethanolique + la gentamicine

La figure (32) présente les résultats des tests sur l'effet de l'extrait d'éthanol (EtOH) sur quatre bactéries pathogènes, dont deux Gram-positives (*S.a* 25922 et *S.a* 43300) et deux Gram-négatives (*E. coli* et *P. acip* A22). Il montre également l'effet de l'antibiotique gentamicine (GEN) et de la combinaison de l'extrait d'éthanol avec la gentamicine (GEN+EtOH) pour évaluer l'effet synergique.

Les histogrammes bleues représentent l'effet de l'éthanol seul. On observe que son effet est moyen sur les quatre souches bactériennes testées, avec des zones d'inhibition variant entre environ (12 et 14 mm). Les histogrammes rouges illustrent l'effet de la gentamicine seule, qui est plus significatif, avec des valeurs plus élevées pour chaque bactérie, atteignant jusqu'à 30 mm pour *S.a* 43300. Enfin, les barres vertes montrent l'effet combiné de l'éthanol et de la gentamicine.

Pour chaque bactérie, l'effet de la combinaison (GEN+EtOH) est plus prononcé que l'effet de l'éthanol seul et généralement comparable ou supérieur à celui de la gentamicine seule. Cela suggère un effet synergique potentiel entre l'extrait d'éthanol et la gentamicine, renforçant l'activité antibactérienne contre les bactéries testées.

En résumé, ce graphe indique que bien que l'extrait d'éthanol ait une certaine activité antibactérienne, son efficacité est significativement augmentée lorsqu'il est utilisé en

combinaison avec la gentamicine, démontrant ainsi un effet synergique potentiel contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives testées.

d) Combinaison entre l'extrait Aqueux + la gentamicine

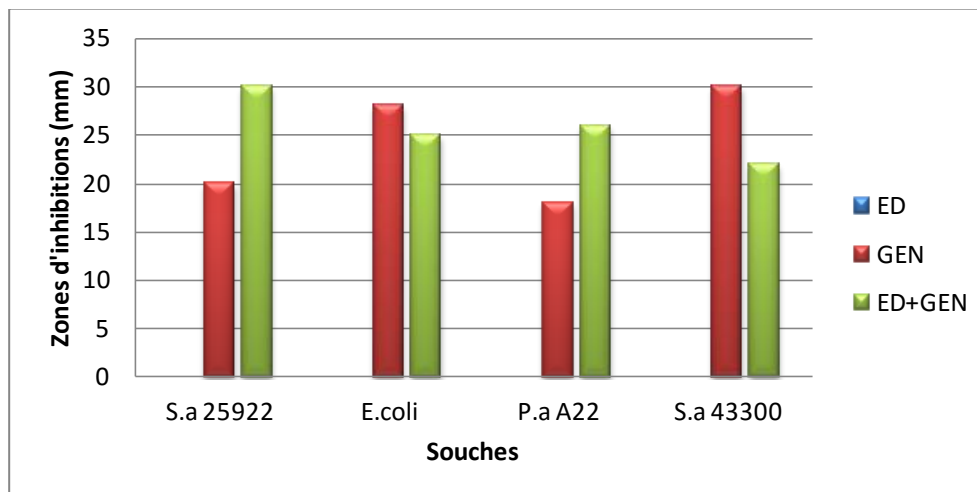


Figure 33: Effet de la combinaison entre l'extrait aqueux + la gentamicine

Le graphique présente les résultats des tests sur l'effet de l'extrait aqueux (ED) sur quatre bactéries pathogènes, dont deux Gram-positives (*S.a* 25922 et *S.a* 43300) et deux Gram-négatives (*E. coli* et *P. acip* A22). Il montre également l'effet de l'antibiotique gentamicine (GEN) et de la combinaison de l'extrait aqueux avec la gentamicine (GEN+ED) pour évaluer l'effet synergique.

Les histogrammes bleues représentent l'effet de l'extrait aqueux seul. On observe que son effet est relativement nul sur les quatre souches bactériennes testées, avec des zones d'inhibition nulles à celles observées avec la gentamicine ou la combinaison. Les histogrammes rouges illustrent l'effet de la gentamicine seule, qui est plus significatif, avec des zones d'inhibition d'environ (20 mm) pour *S.a* 25922 et *P. acip* A22, et allant jusqu'à 30 mm pour *E. coli* et *S.a* 43300. Enfin, les histogrammes verts montrent l'effet combiné de l'extrait aqueux et de la gentamicine.

Pour chaque bactérie, l'effet de la combinaison (GEN+ED) est plus marqué que l'effet de l'extrait aqueux seul et généralement supérieur ou comparable à celui de la gentamicine seule. Cela suggère un effet synergique potentiel entre l'extrait aqueux et la gentamicine, renforçant l'activité antibactérienne contre les bactéries testées.

Ce graphique indique que bien que l'extrait aqueux ait une certaine activité antibactérienne, son efficacité est significativement augmentée lorsqu'il est utilisé en combinaison avec la

gentamicine, démontrant ainsi un effet synergique potentiel contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives testées.

e) Combinaison entre l'extrait de Huile totale (HT) + la gentamicine

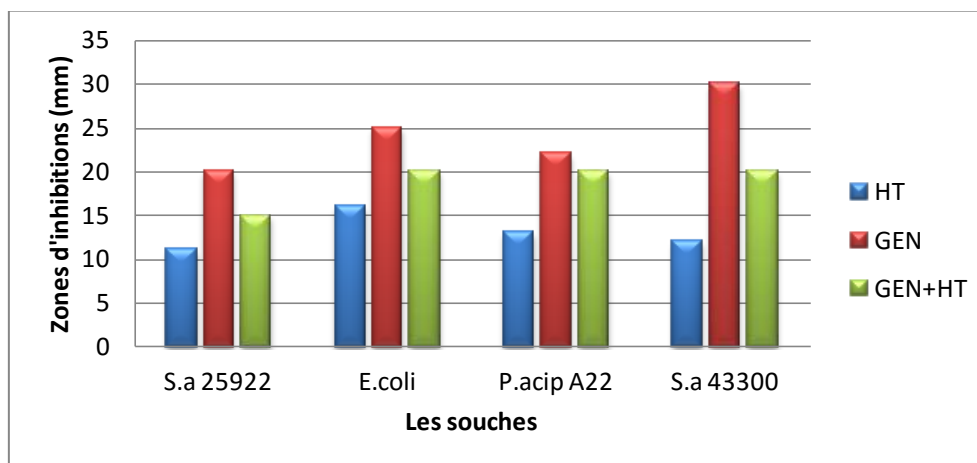


Figure 34: Effet de la combinaison entre l'extrait d'Huile totale + la gentamicine

Cette figure (34) montre les zones d'inhibition (en mm) pour quatre souches bactériennes pathogènes : deux Gram positives (*S.a* 25922 et *S.a* 43300) et deux Gram négatives (*E. coli* et *P. acip* A22). Les histogrammes illustrent l'effet de l'extrait d'huile totale (HT), de la gentamicine (GEN), ainsi que de la combinaison des deux (GEN+HT) sur ces bactéries.

Pour les souches Gram positives, *S.a* 25922 présente une zone d'inhibition d'environ (11 mm) avec l'extrait d'huile totale seul, environ (20 mm) avec la gentamicine seule, et environ (15 mm) avec la combinaison des deux. Pour *S.a* 43300, les zones d'inhibition sont d'environ 12 mm avec HT, (30 mm) avec GEN, et (20 mm) avec GEN+HT.

Concernant les souches Gram négatives, *E. coli* montre une zone d'inhibition d'environ (16 mm) avec HT, environ (25 mm) avec GEN, et environ (20 mm) avec GEN+HT. Pour *P. acip* A22, les zones d'inhibition sont d'environ (13 mm) avec HT, environ (22 mm) avec GEN, et environ (20 mm) avec GEN+HT.

Ces résultats montrent que la gentamicine seule est plus efficace que l'extrait d'huile totale seul pour inhiber la croissance des bactéries, surtout pour les souches Gram positives. La combinaison de la gentamicine et de l'extrait d'huile totale montre un effet variable selon les souches, suggérant un effet synergique potentiel dans certains cas. Cependant, l'effet combiné (GEN+HT) n'est pas toujours supérieur à celui de la gentamicine seule, indiquant que l'interaction entre ces deux agents peut varier en fonction des souches bactériennes.

3 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de façon générale est la plus faible concentration d'antimicrobien capable d'inhiber toute croissance visible après un temps d'incubation de 18 à 24 heures à 37 °C (Deba *et al.*, 2008).

a) Concentration minimale inhibitrice (CMI) des souches bactériennes

L'analyse des données expérimentales a révélé que, par rapport au témoin de croissance, le trouble causé par la croissance des germes diminue dans les tubes expérimentaux à mesure que la concentration en extrait augmente. Nos résultats montrent que les extraits organiques et l'extrait d'huile totale ont démontré une activité antibactérienne en inhibant la prolifération des bactéries de manière dose-dépendante. Cela nous a permis d'identifier divers paramètres antibactériens, tels que la CMI et la CMB et le rapport CMI/CMB

Les données des tableaux (III , IV, V, VI) démontrent que les extraits d'*Urtica urens* présentent une activité antibactérienne satisfaisante. Pour chacune des quatre souches examinées, les concentrations minimales inhibitrices (CMI) dans nos extraits varient entre 18,75 mg/ml et 75mg/ml.

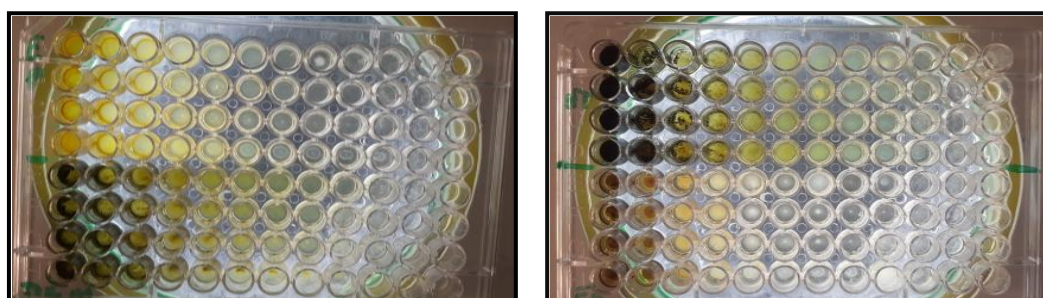


Figure 35: Résultat de la concentration minimal inhibitrice (CMI)

Ainsi, les bactéries n'ont montré aucune croissance en présence de solutions mères d'extraits. Cette concentration est donc inhibitrice pour toutes les souches

Tableau VII : Concentration minimal inhibitrices des extraits d'*Urtica urens* pour *E. coli*

	75 (mg/ml)	37,5 (mg/ml)	18,75 (mg/ml)	9,37 (mg/ml)	4,68 (mg/ml)	2,34 (mg/ml)
EP	-	-	+	+	+	+
DCM	-	-	+	+	+	+
EtOH	-	+	+	+	+	+
HT	-	+	+	+	+	+

Résultats et discussion

D'après le tableau III, on observe que les extraits EEP et EDCM de la partie aérienne d'*Urtica Urens* a une très bonne activité sur *E. coli* qui semblait être la plus sensible (37,5 mg/ ml), suivie d'une faible activité pour EEtOH et HT avec une CMI égal à 75 mg/ ml.

Tableau VIII : Concentration minimal inhibitrices des extraits d'*Urtica urens* pour *S. a* ATCC 43300

	75 (mg/ml)	37,5 (mg/ml)	18,75 (mg/ml)	9,37 (mg/ml)	4,68 (mg/ml)	2,34 (mg/ml)
EP	-	-	-	+	+	+
DCM	-	-	+	+	+	+
EtOH	-	+	+	+	+	+
HT	-	+	+	+	+	+

D'après le tableau IV, on observe que l'extrait EP de la partie aérienne d'*Urtica Urens* présent une activité élevée sur *S. a* ATCC 43300 qui semblait être la plus sensible (CMI = 18,75 mg / ml), suivie de EDCM avec une CMI de 37,5 mg / ml, et la plus faible l'activité pour EEtOH et HT avec une CMI égal à 75 mg / ml

Tableau IX : Concentration minimal inhibitrices des extraits d'*Urtica urens* pour *S. a* ATCC 25922

	75 (mg/ml)	37,5 (mg/ml)	18,75 (mg/ml)	9,37 (mg/ml)	4,68 (mg/ml)	2,34 (mg/ml)
EP	-	-	-	+	+	+
EtOH	-	+	+	+	+	+
HT	-	+	+	+	+	+

D'après le tableau V, on observe que l'extrait EP de la partie aérienne d'*Urtica Urens* présent une activité élevée sur *S. a* ATCC 25922 qui semblait être la plus sensible (CMI = 18,75 mg / ml), suivie de la plus faible l'activité pour EEtOH et HT avec une CMI égal à 75 mg / ml.

Tableau X : Concentration minimal inhibitrices des extraits d'*Urtica urens* pour *P. acip* A22

	75 (mg/ml)	37,5 (mg/ml)	18,75 (mg/ml)	9,37 (mg/ml)	4,68 (mg/ml)	2,34 (mg/ml)
EP	-	-	-	+	+	+
HT	-	+	+	+	+	+

Résultats et discussion

D'après le tableau VI, on observe que l'extrait EP de la partie aérienne d'*Urtica Urens* présente une activité élevée sur *P. acip* A22 qui semblait être la plus sensible (CMI = 18,75 mg / ml), suivie de la plus faible l'activité pour HT avec une CMI égale à 75 mg / ml

b) Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

Tableau XI : Concentration minimale bactéricide (CMB) des extraits d'*Urtica urens* sur la croissance des souches bactériennes.

Extraits \ Souches	EEP (mg/ml)	EEtOH (mg/ml)	EDCM (mg/ml)	EHT (mg/ml)	EAQ (mg/ml)
<i>P. aeruginosa</i> A22	75	NT	NT	>75	NT
<i>S. aureus</i> ATCC 25922	75	75	NT	75	NT
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	37,5	75	37,5	75	NT
<i>E.coli</i>	75	75	37,5	75	NT

NT: non tester

Tableau XII : rapport CMB/CMI relative aux quatre souches bactériennes.

Extraits \ Souches	EEP	EEtOH	EDCM	EHT
<i>P. aeruginosa</i> A22	4	NT	NT	/
<i>S.aureus</i> ATCC 25922	4	1	NT	1
<i>S.aureus</i> ATCC 43300	2	1	1	1
<i>E.coli</i>	2	1	1	1

La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour l'extrait de dichlorométhane, éthanol et d'huile totale, contre les deux souches *S. a* 43300 et *E. coli* ainsi que pour l'extrait éthanolique et huile totale la souche *S. a* 25922. Tandis que l'extrait d'éther de pétrole présente une concentration minimale bactéricide (CMB) plus élevée que la concentration minimale inhibitrice (CMI) concernant toutes les souches.

Résultats et discussion

Il convient de souligner que la concentration minimale bactéricide (CMB) d'extrait d'huile totale contre la souche *P. acip* n'a pas pu être établie à la concentration maximale de 75mg/ml, ce qui suggère qu'elle pourrait être supérieure à cette valeur.

En examinant les résultats présentés dans les tableaux, il est évident que les rapports CMB/CMI pour les extraits organique et huile totale étaient inférieurs ou égaux quatre, ce qui suggère que les extraits d'*Urtica urens* sont de nature bactéricide (**Marmonier 1990**)

Nous avons obtenu des résultats similaires à ceux de (**Pillai et al., 2020**), qui ont étudié l'activité antibactérienne de l'extrait d'hexane de feuille d'*Urtica urens* et ont constaté que l'extrait d'hexane présente la même concentration minimale inhibitrice (CMI) contre les souches *P. aeruginosa*, *E.coli* et *S.aureus*.

Nos résultats concordent à ceux trouvé par (**Mzid et al., 2017**) qui ont testé l'activité antimicrobienne d'extrait éthanolique d'*Urtica urens* sur une vaste gamme de bactéries a gram+ et gram-, et ils ont remarqué que le rapport CMB/CMI de cette extrait est inferieur a 4 et cela indique que l'extrait éthanolique d'*Urtica urens* peut être utilisée comme agent bactéricide.



Conclusion

CONCLUSION

Les plantes médicinales continuent d'être une source importante de composés bioactifs naturels d'intérêt thérapeutique. Dans cette optique, l'objectif de cette étude est d'extraire les principes actifs de la plante médicinale *Urtica urens* afin d'évaluer leur activité antimicrobienne.

Dans un premier temps, nous avons préparé les extraits de notre matériel végétal en suivant le protocole d'extraction par macération, en utilisant des solvants de polarités croissantes (aqueux, éthanol, dichlorométhane, éther de pétrole, huile totale). Cette procédure constitue la meilleure technique pour identifier et caractériser les métabolites secondaires (**EL-Haoud et al., 2018**).

L'étude de l'activité antibactérienne de ses substances bioactives contre diverses souches bactériennes (Gram-positives et négatives) a montré que toutes les souches étaient sensibles à tous les extraits de différents diamètres, mais que l'extrait aqueux ne présentait aucun effet inhibiteur. De plus, la méthode des puits de micro-dilution en milieu liquide a démontré que chaque extrait caractérise par une concentration inhibitrice minimale (CMI) et une concentration bactéricide. En outre, après avoir calculé le rapport CMB/CMI, il a été conclu que les extraits d'*Urtica urnes* à une action bactéricide contre toutes les souches bactériennes.

Cette étude est clairement au stade préliminaire, ce qui implique que ses résultats doivent être confirmés par des études supplémentaires utilisant des techniques de caractérisation biochimique telles que la chromatographie liquide haute performance (HPLC). Ces études permettront de mieux comprendre les composants chimiques de l'*Urtica urens* qui participent à ces effets, ainsi que les mécanismes précis par lesquels ces substances agissent.

En perspective, pour une meilleure poursuite de ce travail, il est souhaitable de :

- Identification de la composition chimique des différents organes de la plante étudiée par des méthodes plus performantes
- Elargir la gamme des microorganismes testés afin de généraliser l'effet antibactérienne d'*Urtica urens*
- Etudier d'autres activités de ce genre (anti-inflammatoire, anticancéreuse, antifongiques et antioxydants) afin de confirmer ou d'infirmer l'activité biologique attribuée à cette espèce.



Références Bibliographiques

Références bibliographiques

1. **ABABSA Zine el abidine (2009).**Caracterisation pharmacotoxicologique et etude phytochimique de Centaureadimorpha. Memoire pour obtenir le diplome de magister.Constantine : Université mentouriconstantine, ,11 p
2. **Abirami, S. (2017).** Antimicrobial Activity And Phytochemical Screening Of The Leaf Extracts Of Eucalyptus Globulus
3. **Abramczyk, H. (2005).** Ultrafast Chemical and Physical Processes. Dans Elsevier eBooks (p.219-270).
4. **Aharoni et Galili, (2011).** Metabolic engineering of the plant primary-secondary metabolism
5. **Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, O. & Iwatsuki, K. (2001).** Antibacterial action of several tannins against Staphylococcus aureus. Journal of Antimicrobial Chemotherapyjac. 48(4),487-91
6. **Aneses, (2011)** Agence national de sécurité sanitaire alimentation, environnement, travail (anses).Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments/ Staphylococcus aureus et entérotoxines staphylococcique.
7. **Aniszewski T. Elsevier; (2007).** Alkaloids—Secrets of Life. Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role.
8. **APG III., (2009).** «An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III». Botanical Journal of the Linnean Society.61:p105-121
9. **Awouafack, M. D., Tane, P., Kuete, V., & Eloff, J. N. (2013).** Sesquiterpenes from the Medicinal Plants of Africa. Dans Elsevier eBooks (p. 33-103).
10. **Ayad, R. (2008).** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce zygophyllum cornutum, Mémoire magister En Chimie Organique. p 35-39,40, 47.
11. **Badiaga M (2012).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea latifolia Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de docteur d'université, Mali..
12. **Bakht, J; Shaheen, S; Shafi, M. (2014).**Potentiels antimicrobiens de Mentha longifolia par diffusion sur disque.Pak J Pharm Sci. 27 (4): 939-45.
13. **Barchan, A; Bakkali, M; Arakrak, A; Laglaoui, A. (2015).** Effet antibactérien et anti- biofilm de trois espèces de Mentha : Mentha spicata, Mentha pulegium et Mentha piperita. Lavoisier. Phytothérapie 14: 88. doi.org/10.1007/s10298-015-0970-y.
14. **Beloued, A. (1998).** Plantes médicinales d'Algérie. Ed: Office des Publications Universitaires., Algérie.

Références bibliographiques

15. **Bentley, R. (1999)**. Secondary Metabolite Biosynthesis : the First century. *Critical Reviews In Biotechnology*, 19(1), 1-40.
16. **Berghe, V.A. and Vlietinck, A.J. (1991)** Screening Methods for Antibacterial and Antiviral Agents from Higher Plants. *Methods for Biochemistry*, 6, 47-68.
17. **Bertrand, B. (2010)**. « Les secrets de l'ortie » . *De Terran*, (1), 181.
18. **Bialecka-Florjańczyk E, Fabiszewska A, Zieniuk B. (2018)**. Phenolic Acids Derivatives - Biotechnological Methods of Synthesis and Bioactivity. *Curr Pharm Biotechnol*. 19(14):1098-1113.
19. **Biallo D., Sanogo R., Yasambou H. et autre (2004)**. Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae). *C. R. Chimie*. (7) : 1073-1080. doi: 10.1016/j.crci.2003.12.035
20. **Billerbeck G, (2002)**. Les contaminations biologiques des biens culturels : Essai d'utilisation d'huile essentielle en traitement de l'aire. Ed : Elsevier.357-365
21. **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: 33-50.
22. **Boar, RB et J. Allen (1973)**, Triterpénoïdes β -Amyrine, *Phytochemistry*, 12, 2571-2578 .
23. **Bobis, O., Dezmirean, D. S., Tomos, L., Chirila, F., & Marghitas, L. A. (2014)**. Influence of phytochemical profile on antibacterial activity of different medicinal plants against gram-positive and gram-negative bacteria. *Applied Biochemistry And Microbiology*,51(1), 113-118.
24. **Botineau, M. (2010)**. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. TEC and DOC Lavoisier, Paris.
25. **Bouaine, A. (2017)**. Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles extraites des deux plantes aromatiques et médicinales:Lentisque et Myrte. Master, Faculté des sciences et techniques, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Fès : 44 p
26. **Bourgaud F., Hehn A., Lariat R., Doerper S., Gontier E., Kellner S. (2006)** Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochem. Rev.* 5: 293–308
27. **Brisse, H., Grandjouan, G., Hoff, M., De Ruffray, P., et Garbolino, E. (2003)**. « Répartition d'*Urtica Dioica* ». *Sophy-banque de données phytosociologiques*.
28. **Bruneton, J. (1999)**.Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3èmeEdition. Tec & Doc (Ed). Paris.
29. **Bruneton, J., (1993)**. Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales., s.l.: 2ème édition, Lavoisier Techniques et Documentation, Paris
30. **Bulut G, Tuzsaci E (2009)** Folk medicinal plants of Bayramic (Çanakkale-Turkey). *Journal of Faculty of Pharmacy, Istanbul University* 40: 88-99.

Références bibliographiques

31. **Burkart A. (1987)**. Flora Ilustrada de Entre Ríos, 3rd edn. Sudamericana: Buenos Aires Argentina
32. **Candan F., Unlu M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sökmen A. et Akpulat H A.. (2003)**. Activité antioxydante et antimicrobienne des extraits d'huile essentielle et de méthanol d'*Achillea millefolium* subsp. millefeuille Afan. (Astéracées). Journal d'Ethnopharmacologie, 87, 215-220
33. **Cardoso, Tamires & Mota, Marcelo & Barbosa Filho, Jose & Santos, Márcio & Sousa, Damião. (2012)**. Structural Relationships and Vasorelaxant Activity of Monoterpenes. Daru : journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences. 20. 23. 10.1186/2008-2231-20-23.
34. **Caroff M. Karibian D (2003)**. Structure des lipopolysaccharides bactériens. Recherche sur les glucides 338 : 2431-2447
35. **Chini C., Bilia A.R., Keita A., Morelli I (1992)**. Protoalkaloids from *Boscia angustifolia*. Planta Med. ;58:476
36. **Collin, S. et Crouzet, J. (2011)**. Polyphénols et procédés. En France par EMP. S.S.A. Paris. p 5
37. **Connolly, JD et KH Overton (1972)**, The triterpenoids, in Chemistry of Terpenes and Terpenoids (AA Newman, éd.), 207-287, Academic Press, Londres, .
38. **CouplanF., (2008)**. «Remèdes et recettes à l'ortie: Les bonnes plantes de nos grands-mères . Editeur: Rustica P 5-10.
39. **Crozier A., Jaganath IB., Clifford MN., (2006)**. Phenols, polyphenols and tannins: An overview. In: Crozier A, Clifford MN, Ashihara H, editors. Plant secondary metabolites: Occurrence, Structure and Role in the human diet. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. p. 1–24
40. **Daoudi, A., Sabiri, M., Bammou, M., Zair, T., Ibijbijen, J., & Nassiri, L. (2015)**. Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica* : *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L. Journal Of Applied Biosciences, 87(1), 8094.
41. **David S. Seigler (1998)** Métabolisme secondaire des plantes chapitre Triterpènes et stéroïdes pages 427 à 455.
42. **Davin, L.B., Wang, H.B., Crowell, A.L., Bedgar, D.L., Martin, D.M., Sarkanen, S., Lewis, N.G., (1997)**. Stereoselective bimolecular phenoxy radical coupling by an auxiliary (dirigent) protein without an active center. Science 275, 362–366.
43. **Deba, Farah, Tran Dang Xuan, Masaaki Yasuda, et Shinkichi Tawata. (2008)**. « Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata* ». Food control 19 (4): 34
44. **Derbel S., Ghedira K. (2005)**. Phytothérapie et nutrition : Les phytonutriments et leur impact sur la santé. Phytothérapie. 1: 28-34.

Références bibliographiques

45. **Dewick, P.M.**,(2002). Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. John Wiley & Sons.
46. **Dewinck P.M** (2001). Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. 2nd ed. John Wiley & Sons; Nottingham, UK: . 425p.
47. **EL-Haoud, H., Boufellous, M., Berrani, A., Tazougart, H et Bengueddour, R.** (2018).Screening phytochimique d'une plante medicinale: Mentha Spicata L. American Journal of Innovative Research and Applied Sciences, pp : 226-233.
48. **Eloff, J. N.** (1998). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta medica*, 64(08), 711-713
49. **Elsherif, K, M., Sulaiman, A, M., & Mlitan, A.**(2023). Phytochemical Analysis and Antioxidant Activity of *Urtica urens* Leaves from Msallata, Libya. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 13(3), 299-312.
50. **Ennadir.J ; Hassikou. R; Bouazza. F; Arahou. M; Al Askari. G; Khedid. K.** (2014). Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques des graines de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill. *Phytothérapie* 12:302-308 . Lavoisier SAS 2014. DOI 10.1007/s10298-014-0885-z.
51. **Facchini P.J., St-Pierre B.** (2005). Synthesis and trafficking of alkaloid biosynthetic enzymes. *Current Opinion in Plant Biology*, 8:657–666
52. **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M.,Abdelly, C.** (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*, 331: 372-379. doi:10.1016 / j.crv.2008.02.008.
53. **Falzon CC, Balabanova A** (2017): Phytotherapy: An Introduction to Herbal Medicine. *Prim Care Clin Off Pract* , 44:217–227.
54. **Friis I. Urticaceae. In: Kubitzki K., Rohwer J. G., Bittrich V** (1993)., editors. Flowering Plants Dicotyledons . Berlin, Germany: Springer; . pp. 612–630. [CrossRef] [Google Scholar] [Ref list]
55. **Govoni, M., & Danesi, F.** (2022). Do Pomegranate Hydrolyzable Tannins and Their Derived Metabolites Provide Relief in Osteoarthritis ? Findings from a Scoping Review. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(3), 1033.
56. **Groot H, Rauen U**(1998). Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundam Clin Pharmacol* ; 12: 249-55.
57. **Guignard J. L.**(2000). Biochimie végétale. 2ème édition. Edition Dunod, Paris, pp 198-207.
58. **Harborne J.B.** (1999). Classes and functions of secondary products from plants In *Chemicals from Plants: Perspectives on Plant Secondary Products*. Edited by Walton, N.J. and Brown, D.E. pp. 1–25. Imperial College Press, London

Références bibliographiques

59. **Haslam, E. (1994).** Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod.* (11): 41-66.
60. **Haslam, E. (1994).** Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod.* (11): 41-66.
61. **Hijazi, A, Sayed-Ahmad B, Rammal, H, Damaj, Z, Salam, N, Saad, Z, Badran, B (2014)** Determination of bioactive compounds including gc-ms investigation of hexane and dichloromethane extracts of urtica dioica Plateforme de Recherche en Sciences de l'Environnement (PRASE), Université Libanaise, Liban .
62. **JABER, A.; Seraphin, D.; Richomme, P.; Schinkovitz, A.; Guilet, D.; Dias, M.; Levillain, (2017)** E.Matrice pour la détection spécifiques des alcaloïdes par spectométrie de masse MALDITOF. BTN222343FR00,
63. **Jakubke, H.-D. Jeschkeit. H. (1994).** Encyclopédie concise Chimie. Trans. Tour. Mary Eagleson.. Berlin. New York. Walter de Gruyete
64. **Kaushik A, Aron A, Mihreteab S, Mohamedkassm N, Kidane E.M (2015)** Phytochemical screening And antimicrobial activity of medicinal plants used by Eritrean traditional healers. *World Journal of Pharmaceutical Research* 4: 501-509.
65. **Kerr KG, Snelling AM (2009).** *Pseudomonas aeruginosa* : un adversaire redoutable et omniprésent. *J Hosp Infect.* décembre ; 73 (4):338-44.
66. **Khaled Muftah Elsherif, Marwa A. Sulaimun et Adel Mlitan (2023)** Analyse phytochimique et activité antioxydant of *Urtica urens* Départ de Msallata, Libye Autorité libyenne pour la recherche scientifique, Tripoli, Libye 13(3), 299-312
67. **Khan, H (2014).** Medicinal plants in light of history: Recognized therapeutic modality. *J. Evid. Based Integr. Med.* , 19, 216–219.
68. **Khanbabae, K. & Ree, T.R. (2001).**Tannins Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*
69. **Krief, S. (2003)**-Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle.
70. **Kuete, V., Penlap Beng, V., Etoa, f-X., Modjo, S.L., Bogne, P., Assob, J.C., et Lontsi ,D (2004).** Activité antimicrobienne de l'extrait total et des fractions de jus de fruits de *Citrus medical* in (*Rutaceaa*). *Pharm. Méd. Trad. Afr.* Vol. 13, 91-101,
71. **L.S. Padua, N. Bunyapraphatsara, R.H.M.J. Lemmens,(1999)** *Plant Resources of South-EastAsia*, 3.3.2 Classification :
72. **Lewis, N.G., Yamamoto, E.,(1990).** Lignin. occurrence, biogenesis and biodegradation. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41, 455– 496

Références bibliographiques

73. **Macheix, J., Fleuriet, A. et Jay-Allemand, C., (2005).** Les composés phénoliques des végétaux (Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique), s.l.: Edition technique et documentation, Lavoisier
74. **MARMONIER A. A. (1990).** Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques. Bactériologie Médicale, technique usuelles, 227-236
75. **Marrassini, C, Acevedo C, Mino J, Ferraro G, & Gorzalczy S (2010).** Evaluation of antinociceptive, anti-inflammatory activities and phytochemical analysis of aerial parts of *Urtica urens* L. *Phytotherapy Research* 24(12), 1807-1812.
76. **Marrassini, C, Acevedo C, Mino J, Ferraro G, Gorzalczy S (2010).** Evaluation of antinociceptive, anti-inflammatory activities and phytochemical analysis of aerial parts of *Urtica urens* L. *Phytotherapy Research* 24: 1807-1812.
77. **Matos, M. J., Santana, L., Uriarte, E., Abreu, O. A., Molina, E., & Yordi, E. G. (2015).** Coumarins — An Important Class of Phytochemicals. Dans Intecch eBooks.
78. **Mavric E, Wittmann S, Bart G, Henle T (2008)** Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of Manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand. *Molecular Nutrition and Food Research* 52: 483–489.
79. **Medina, F. G., Marrero, J. G., Macías-Alonso, M., González, M. C., Córdova-Guerrero, I., García, A. G. T., & Osegueda-Robles, S. (2015).** Coumarin heterocyclic derivatives : chemical synthesis and biological activity. *Natural product reports*, 32(10), 1472-1507.
80. **Mérillon M., Fauconneau B., Waffo P., Barrier L., Vercauteren J and Huguet F. (1997).** Antioxydant activity of the stilbene Astringin, newly extracted from *Vitis vinifera* cell cultures. *Clinical chemistry*. 43: 1092-1093
81. **Mogode, D. J (2005).** Etude phytochimique et des activités biologiques de *Cassia nigricans* Vahl (Ceasalpiniaceae) dans le traitement des dermatoses au Tchad. Thèse Pharm, Bamako, 132 p
82. **Mompon, B., Lemaire, B., Mengal, P. et Surbled, M., (1998).** Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle., s.l.: Ed. INRA, Paris (les Colloques, N° 87)
83. **Moroh, J.L.A., Bahi, C., Dje, K., Loukou, Y. G. et Guede-Guina, F. (2008).** «Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'*Escherichia coli*», *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège [En ligne]*, (77): 44 - 61.
84. **Mostade J. P., (2015).** 39;ortie et ses mille secrets ». Editions: Tylgo. pp 15-23.
85. **Mosunova, O., Navarro-Muñoz, J. C., & Collemare, J. (2021).** The Biosynthesis of Fungal Secondary Metabolites : From Fundamentals to Biotechnological Applications.

Références bibliographiques

86. **Mzid, M., Khedir, S. B., Salem, M. B., Regaieg, W., & Rebai, T. (2017).** Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol and aqueous extracts from *Urtica urens*. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 775-781.
87. **Nasri, I. (2016).** Etude phytochimique et activités biologiques de : *diplotaxis* sp. Application à l'étude des cellules souches coliques pathologiques. Thèse de doctorat.
88. **Niyah Njik G ; Watchop ; Nguelefack T.B. Kamanyi A ; (2005)**-Hypoglycaemic activity of the leaves of *Bersama engleriana* in rats. *Af J Trad. Vol. 2(3)*.
89. **Ouedraogo, S., Yoda, J., Traore, T. K., Nitiema, M., Sombie, B. C., Diawara, H. Z., Yameogo, J. B., Djande, A., Belemnaba, L., Kini, F. B., Ouedraogo, S., & Semde, R. (2021).** Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. *International Journal Of Biological And Chemical Sciences*, 15(2), 750-772
90. **Pandey KB, Rizvi SI (2009).** Protective effect of resveratrol on markers of oxidative stress in human erythrocytes subjected to in vitro oxidative insult. *Phytother Res.* . In press
91. **Peters, R. J. (2010).** Two rings in them all : The labdane-related diterpenoids. *Natural Product Reports*, 27(11), 1521.
92. **Pillai, M.K., 1Matamane, R.P. and 2Mekbib, S.B (2020).** Antimicrobial activities of extracts from *Urtica urens* University of Lesotho, Roma Campus *Food Research* 4 (5), 1487 – 1492.
93. **Ponce A.G; Fritz.R; Del Valle.C; et Roura.S.I . (2003).** Antimicrobial activity of oils on the native microflora of organic swiss chard. *Society of food Science and Technology (Elsevier)*.36:679-684.
94. **Reed Jess, D. (1995).** Nutritional Toxicology of Tannins and Related Polyphenols in Forage Legumes'. *J. h i m. Sci.*, 73, PP.1516-1528.
95. **Reshi, Z.A., Amhed,W., Lukatkin, A.S., & Javed, S.B.(2023).** From Nature to Lab: A Review of Secondary Metabolite Biosynthetic Pathways, Environmental Influences, and In Vitro Approaches. *Metabolites*, 13(8), 895.
96. **Richard, T., Tamsamani, H., Delaunay, J., Krisa, S., & Mérillon, J. (2014).** Stilbènes : de la chimie à la neuroprotection. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(4), 173-180.
97. **Robert, D. W; Arkadiusz, D; Danuta, I; Malgorzata, K; Robert, K; Agata,K.D.(2013).**Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates to Propolis Extract Alone or in Combination with Antimicrobial Drugs.*Molecules* (18): 9623-9640. doi:10.3390/molecules18089623.
98. **Ronald Bentley.(1999).** Secondary Metabolite Biosynthesis: The First Century

Références bibliographiques

99. Sakagami H., Hashimoto K., Suzuki F., Ogiwara T., Satoh K., Ito H., Hatano T., Takashi Y and Fujisawa S, (2005). Molecular requirements of lignin-carbohydrate complexes for expression of unique biological activities. *Phytochemistry*. 66: 2108-2120
100. Salem, H., Toumi-Benali, F., Kerfouf, A., & Benyamina, A. (2021). Antioxidant, Antibacterial and Antifungal Activities of the Aqueous and Hydroalcoholic Extracts of Western Algerian *Urtica urens*. *South Asian Journal Of Experimental Biology*, 11(3), 327-336.
101. Sayed, B., Hijazi, A., Fayyad-Kazan, H., Kobeissy, A., Badran, B., & Saad, Z. (2014). Extraction, phytochemical screening, chemical quantification and identification of bioactive compounds from Lebanese *Urtica dioica*.
102. Sayed, B., Hijazi, A., Rammal, H., Damaj, Z., Salam, N., Saad, Z., & Badran, B. (2014). Determination of bioactive compounds including gc-ms investigation of hexane and dichloromethane extracts and the trace metal composition of *Urtica dioica*.
103. Schauenberg, P. Paris, F., (2010). Guide des plantes médicinales. Analyse, description et utilisation de 400 plantes. CHARTE Delachaux et Niestlé. Paris. pp 396.
104. Schwarz S, Noble WC. (1999) Aspects of bacterial resistance to antimicrobials used in veterinary dermatological practice. *Vet Dermatol*; 10(3): 163-76.
105. Seaman, Fc. (1982). Sesquiterpenes Lactones As Taxonomic Characters In Asteraceae. In *The Botanical Review*. Botanical Garden. (48): 121-594.
106. Shahidi F, Naczki M. Food phenolics, sources, chemistry, effects, applications. Lancaster, PA: Technomic Publishing Co Inc, 1995.
107. Sousa, I., Teixeira, M. S., & Furtado, N. J. C. (2018). An Overview of Biotransformation and Toxicity of Diterpenes. *Molecules* (Basel, Switzerland), 23 (6), 1387.
108. Spencer JP, Abd El Mohsen MM, Minihane AM, Mathers JC (2008). Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. *Br J Nutr* 99:12-22.
109. Trousseau A, Pidoux H., (1839). «Traité de thérapeutique et de matière médicale » Edition: Société Typographique Belge. P 312
110. Wichtl, M. et Anton, R. (2009). Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition Lavoisier, Paris: 38, 41.
111. Zachary, D.B. (2015). The Unexhausted Potential Of *E. Coli*. The Natural History Of Model Organisms. Michigan State University, États-Unis. Doi: 10.7554/Elife.05826.001.

Références bibliographiques

SITE INTERNET

[1] https://commons.wiki.media.org/wiki/File:Lignin.png?fbclid=IwZXh0bgNhZW0CMATAAR1nIsFoQ8Ft3VQNBq3kN1ea15O3BZZCYz9PFdDgeCYiRca0v8NNYg5dHhs_aem_ZmFrZWR1bW15MTZieXRlcw

[2] https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/beco1/2022/Pr-LABBANI-M%C3%A9tabolisme%20Secondaire.pdf?fbclid=IwZXh0bgNhZW0CMATAAR1Q_hrWHM7lNnT9K97waWJWSjOAJAY0dsDTOB9BsmjjEil-KHmXCafTuX4_aem_AbZJe8paoKBNQyKxp3Vsk0T-xJRNxfPcHUNmmleZKnMGbUvrXL1nJf3PRuiKZ41S3bIF9fqg2ovZakPbT2py-p



Annexes

Annexe

Annexe 1 : Résultats de l'activité antimicrobienne.

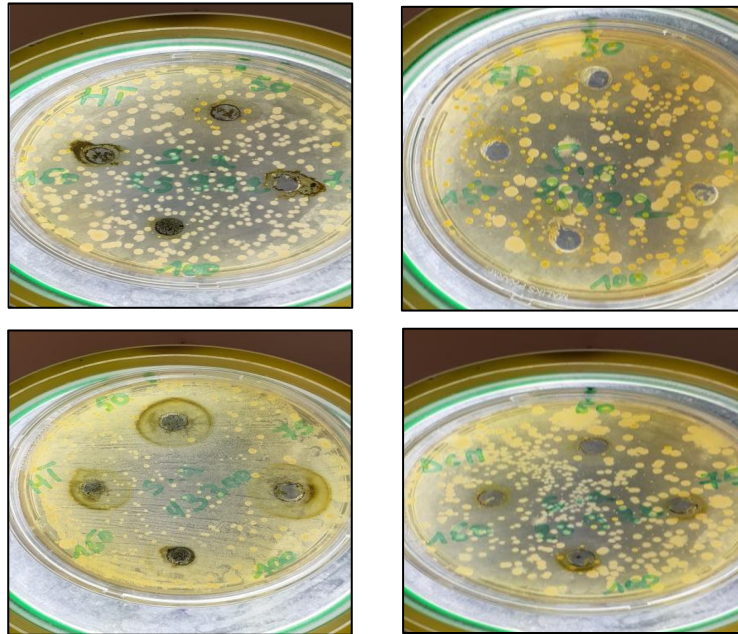


Figure 1 : résultats d'aromatogramme

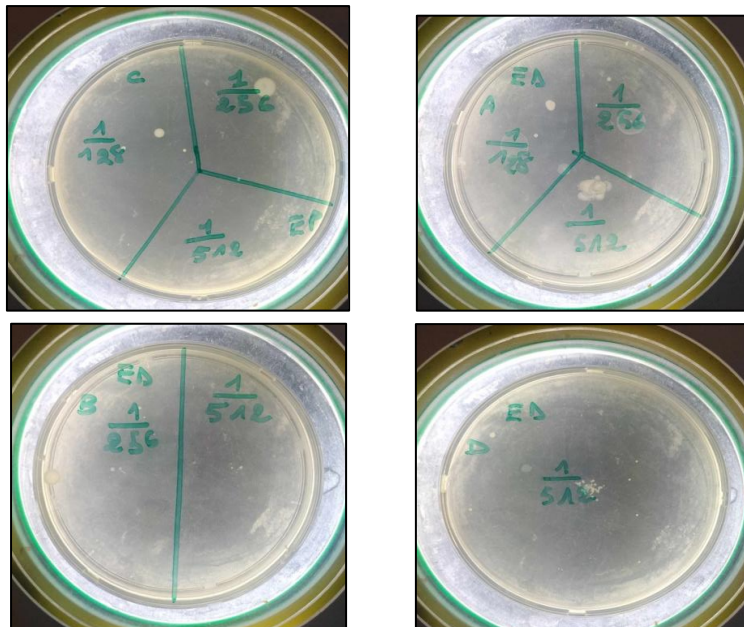


Figure 2: Résultat de la concentration minimale bactéricide




Annexe

Annexe 2 : Produits chimiques et appareillages

Tableau 01 : Les produits chimiques et leur formules.

Produits chimiques	Formule brute
Ether de pétrole	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-CH}_3$
Ethanol	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$
Méthanol	CH_3OH
Dichlorométhane	CH_2Cl_2
Diméthylsulfoxyde (DMSO)	$\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$

Tableau 02 : Appareillages et leurs références.

Appareils	Références	
Étuve	ES13304	
Agitateur magnétique chauffant	AG500	
Agitateur orbital		

Annexe





Balance analytique magnétique		
Rotary évaporateur	RE300	
Autoclave	AR3055	
compteur de colonie		

Tableau 03 : température d'ébullition des solvants (INRS)

Solvant	Température d'ébullition
Ether de pétrole	30-50°C
Ethanol	78-78,5°C
Dichlorométhane	39,8°C
Méthanol	64,5°C
Hexane	68,7°C

Annexe

Annexe 3 : Milieu de culture

Tableau 04 : Composition de bouillon Muller-Hinton (BMH)

Ingrédients	Les mesures
Peptone de caséine	17,5 g
Extrait de viande	2,0 g
Amidon	1,5 g
Eau distillée	1 L

Tableau 05 : Composition de gélose Muller-Hinton (MH)

Ingrédients	Les mesures
Milieu déshydraté	38,0 g
Eau distillée	1 L