

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أمحمد بوقرة بومرداس
Université M'Hamed Bougara Boumerdès



Faculté des Sciences - Département de Chimie

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie Organique

Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de **Master**

Présenté et soutenu par :

BOUMZIBERA Merouane

Thème :

**Extraction, étude physico-chimique, évaluation de l'activité
antioxydante et étude bio-informatique de molécules
bioactives d'origine végétale**

Le 18 Juillet 2023

Devant les membres de jury :

DEHAK Karima	Professeur	FS-UMBB	Présidente
SAHNOUNE Hiba	M.C.A	FS-UMBB	Examinatrice
BOUAZIZ-TERRACHET Souhila	Professeur	FS-UMBB	Promotrice

Année universitaire : 2022 /2023

Remerciements

Louanges à Allah, par la grâce duquel les bonnes actions sont accomplies. Je suis reconnaissant envers Allah le Tout-Puissant pour m'avoir guidé vers le succès.

*Tout d'abord, je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers mon encadrante, **Mme. BOUAZIZ-TERRACHET Souhila**, professeure au département de chimie de la faculté des sciences (UMBB), pour avoir accepté de me superviser. Sa proposition du sujet de ce mémoire et son accompagnement tout au long de cette étude ont été d'une aide précieuse. Sa gentillesse, sa disponibilité et son expertise ont été des atouts essentiels dans la réalisation de ce travail.*

*Je tiens également à remercier sincèrement **Mme DAHAK Karima**, professeure au département de chimie de la faculté des sciences (UMBB), d'avoir accepté de présider le jury de soutenance de ce mémoire.*

*Mes chaleureux remerciements vont également à **Mme SAHNOUNE Hiba**, M.C.A au département de chimie de la faculté des sciences (UMBB), pour avoir accepté de faire partie de ce jury.*

*Je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers mon encadreur pendant mon stage, **M. BADJOU Mehdi**, chef du Département Traitement et Contrôle des Fluides au sein de la Division laboratoires de Sonatrach, ainsi qu'à tout le personnel de ce département. Leur soutien et leurs conseils ont été inestimables dans le cadre de mon stage et de ce mémoire*

Enfin, je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont aidé à réaliser ce travail.

Je prie Allah de les récompenser généreusement et de bénir tous leurs efforts.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À mes précieux parents,

Les mots de remerciement et d'éloge ne suffisent pas à exprimer pleinement ma gratitude envers vous. Je suis profondément reconnaissant pour tout ce que vous avez fait pour moi, et aucun mot ne peut traduire l'amour que j'ai dans mon cœur à votre égard. Vous êtes un trésor inestimable dans ma vie. Vous avez été un soutien inépuisable, une source de force et d'inspiration à chaque étape de ma vie. Vous m'avez donné un amour infini et un soutien sans faille, et je ne pourrai jamais rendre assez à la hauteur. Je vous remercie pour tous les sacrifices que vous avez faits pour moi, pour tout le temps et les efforts que vous avez consacrés à me fournir les meilleures opportunités. Grâce à votre confiance indéfectible, j'ai pu réaliser mes succès et arriver là où je suis aujourd'hui. Je souhaite que vous sachiez que mon amour pour vous ne connaît pas de limites, et que je serai reconnaissant et reconnaissant tout au long de ma vie. Je prie pour que Dieu vous accorde santé et bonheur, et vous récompense pour tout le bien que vous avez fait pour moi. Encore une fois, merci du fond du cœur. Je suis chanceux d'avoir des parents comme vous, et je vous promets de travailler dur et de vous rendre fiers à chaque étape de ma vie.

À mon frère et à mes chères sœurs,

Votre soutien et votre amour inconditionnels ont été un cadeau précieux dans ma vie. Vous êtes des compagnons fidèles et des piliers de soutien. Je suis fier de vous avoir dans ma vie et je vous remercie du fond du cœur pour tout ce que vous avez fait pour moi.

À ma famille et à mes amis,

Vous êtes un trésor inestimable dans ma vie. Votre présence, votre inspiration et votre soutien infailible m'ont porté tout au long de ce périple. Je vous remercie du fond du cœur pour vos paroles de courage et d'encouragement. Je m'engage à vous rendre hommage en poursuivant l'excellence et en connaissant d'autres succès dans l'avenir.

Merouane

Sommaire

Liste des abréviations	8
Introduction générale.....	14
Présentation de Lieu de stage	18
Chapitre 1	22
I Introduction	22
II Les méthodes d'extraction.....	22
II.1 Les méthodes conventionnelles/classiques d'extraction.....	22
II.1.1 La macération.....	22
II.1.2 L'infusion	23
II.1.3 La digestion.....	23
II.1.4 La décoction.....	23
II.1.5 La percolation	24
II.1.6 L'extraction au Soxhlet	24
II.2 Les méthodes d'extraction non conventionnelles (modernes).....	25
II.2.1 L'extraction assistée par micro-ondes	25
II.2.2 L'extraction assistée par ultrasons.....	26
II.2.3 L'extraction par fluide supercritique	27
III Les méthodes de la bioinformatique.....	28
III.1 Définitions et champs d'application de la bioinformatique	28
III.2 La bioinformatique structurale.....	29
III.2.1 Le screening virtuel.....	30
III.2.2 Docking moléculaire.....	31
IV Conclusion.....	32
Chapitre II	35
I Introduction	35
II Historique	35
III Description de l'ortie dioïque.....	35
IV Composition chimique de l'ortie	36
IV.1 Composition chimique des feuilles	37
IV.1.1 Minéraux	37

IV.1.2	Vitamines	37
IV.1.3	Protéines et acides aminés	37
IV.1.4	Les composés phénoliques.....	38
IV.1.5	Les caroténoïdes et chlorophylles.....	42
IV.1.6	Acides gras.....	44
IV.2	Composition des tiges	44
IV.3	Composition des poils.....	44
IV.4	Composition des fleurs.....	44
IV.5	Composition des graines	45
IV.6	Composition des racines.....	45
V	Différents usages connus de l'ortie	45
VI	Usages traditionnel de l'ortie.....	46
VII	Conclusion	46
	Chapitre III.....	48
I	Introduction	48
II	L'extraction des principes actifs des feuilles d'ortie (<i>Urtica dioica</i> L) par macération....	48
II.1	Matériel végétal.....	48
II.1.1	Lavage.....	48
II.1.2	Séchage	49
II.1.3	Broyage.....	49
II.2	Solvant utilisé.....	49
II.3	Mode opératoire	49
III	Calcul du rendement.....	52
IV	Les analyses physico-chimiques de l'extrait aqueux obtenu.....	52
IV.1	Les analyses physiques.....	52
IV.1.1	La densité relative	52
IV.1.2	Indice de réfraction	53
IV.1.3	Conductivité électrique	54
IV.2	Les analyses chimiques.....	55
IV.2.1	Le potentiel hydrogène (PH).....	55
V	Le screening phytochimique.....	55
V.1	Test des flavonoïdes	56

V.2	Test des alcaloïdes.....	56
VI	Les analyses quantitatives	57
VI.1	Uv-visible.....	57
VI.2	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	57
VII	Etude biologique : Détermination expérimentale de l'Activité antioxydante	58
VII.1	Principe de test DPPH	58
VII.2	Préparation des solutions	59
VII.3	Mesure des absorbances	59
VII.4	Calcul des pourcentages d'inhibition	60
VII.5	Détermination de la concentration efficace (IC50)	60
VII.6	Détermination du pouvoir anti-radicalaire (APR).....	61
VIII	Résultats et discussions.....	61
VIII.1	Calcul de rendement	61
VIII.2	Les analyses physico-chimiques de l'extrait aqueux obtenu.....	61
VIII.2.1	Les analyses physiques.....	61
VIII.2.2	Les analyses chimiques	62
VIII.3	Le screening phytochimique.....	62
VIII.3.1	Test des flavonoïdes	62
VIII.3.2	Test des alcaloïdes.....	63
VIII.4	Les analyses quantitatives	63
VIII.4.1	UV-visible	63
VIII.4.2	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	65
VIII.5	Détermination expérimentale de l'activité antioxydante	66
VIII.5.1	Détermination de la concentration efficace (IC50).....	67
VIII.5.2	Détermination du pouvoir anti-radicalaire (APR).....	68
IX	Conclusion.....	68
	Chapitre IV.....	70
I	Introduction	70
II	I. Etat actuel des connaissances sur les cibles biologiques étudiées	70
II.1	I. 1. Les NADPH oxydases (Nox).....	70
II.2	La cyclooxygénase (COX).....	71
III	Méthodologie suivie	71

III.1	Structures de départ.....	71
III.1.1	Préparation des cibles	71
III.1.2	Préparation des structures des principes actifs.....	73
III.1.3	Protocole de criblage virtuel	74
IV	Résultats et discussions	75
	Partie A : NADPH oxydase (NOX)	75
I	Visualisation des conformations obtenues	76
I.1	Visualisation des conformations du kaempférol obtenues.....	76
I.2	Visualisation des conformations du quercétine obtenues	77
II	Les modes de liaisons	78
II.1	Mode de liaisons de kaempférol.....	78
II.2	Mode de liaisons de quercétine	80
II.3	Mode de liaisons de naringine.....	82
	Partie B : La protéine cyclooxygénase 2.....	85
I	Visualisation des conformations obtenues	85
I.1	Visualisation des conformations du kaempférol obtenues.....	85
I.2	Visualisation des conformations du naringine obtenues	86
I.3	Visualisation des conformations du quercétine obtenues	87
II	Les modes de liaisons	88
II.1	Mode de liaisons de kaempférol.....	88
II.2	Mode de liaisons de quercétine	90
II.3	Mode de liaisons de naringine.....	93
III	Conclusion.....	96
	Conclusion générale	98
	Bibliographie.....	101
	Résumé:.....	107
	Abstract:	107
	:الملخص.....	107

Liste des abréviations

Hz : Hertz
KHz : Kilohertz
MHz : Megahertz
GHz : Gigahertz
W : Watt
NIH : National Institutes of Health
Tc : Température critique
Pc : Pression critique
ADN : Acide désoxyribonucléique
PDB : Protein data bank
AA : Acide aminé
FTIR : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
UV : Ultraviolet
DPPH : 2,2-DiPhenyl-1-PicrylHydrazyl
Ethanol 96° : Une solution d'éthanol dans l'eau avec une concentration d'alcool de 96% en volume.
g : Gramme
mL : Millilitre
°C : Degré Celsius
Mbar : Millibar
% : Pourcentage
mg : Milligramme
pH : Potentiel d'hydrogéné
nm : Nanomètre
PI : Pourcentage d'inhibition
IC50 : Concentration efficace à 50%
APR : Pouvoir antiradicalaire
IR : Infrarouge
NOX : NADPH oxydases
COX : Cyclooxygénase
NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
ADP : Acide adénosine-di phosphorique
ACD : Acide arachidonique
ROS : Reactive oxygen species
A° : Angstrom
MM2 : Molecular Mechanics 2
SDF : Structure data file
3D : Trois dimensions

2D : Deux dimensions

LEU : Leucine

GLY : Glycine

ALA : Alanine

ILE : Isoleucine

VAL : Valine

SER : Sérine

THR : Threonine

PHE : Phenylalanine

TYR : Tyrosine

PRO : Proline

CYS : Cystéine

MET : Méthionine

ASN : Asparagine

GLN : Glutamine

ARG : Arginine

LYS : Lysine

HIS : Histidine

ASP : Acide Aspartique

GLU : Acide Glutamique

Liste des figures

Figure I. 1 : Extracteur de Soxhlet	25
Figure I. 2 : Représentation systématique d'un appareil d'extraction assistée par micro-ondes	26
Figure I. 3 : Schéma de principe de l'extraction assistée par ultrasons	27
Figure I. 4 : Schéma de principe d'extraction par CO ₂ supercritique	28
Figure I. 5 : La relation de la bioinformatique avec les autres	29
Figure I. 6 : Le processus de découverte de médicaments	30
Figure II. 1 : Parties de la plante <i>Urtica dioica</i> L; (a) Plante entière; (b) Fleur ; (c) Polis ; (d) Racines; (e) Feuille	36
Figure II. 2 : Structures de l'enchaînement benzo- γ -pyrone	38
Figure III. 1 : La poudre obtenue après le broyage et le tamisage.....	49
Figure III. 2 : Préparation d'extrait éthanolique des feuilles d'ortie par macération.....	50
Figure III. 3 : Filtration d'extrait éthanolique des feuilles d'ortie.....	51
Figure III. 4 : L'évaporateur Rotatif	52
Figure III. 5 : L'extrait aqueux.....	53
Figure III. 6 : La balance analytique	53
Figure III. 7 : Le réfractomètre	54
Figure III. 8 : Le conductimètre portable.....	54
Figure III. 9 : Le pH-mètre.....	55
Figure III. 10 : Le spectromètre UV-visible.....	57
Figure III. 11 : Le spectromètre IR	58
Figure III. 12 : Principe de test de DPPH.....	59
Figure III. 13 : Mesure de l'absorbance de la solution témoin	60
Figure III. 14 : Les mélanges préparés.....	60
Figure III. 15 : Le test des flavonoïdes	62
Figure III. 16 : Le test des alcaloïdes	63
Figure III. 17 : Le spectre d'absorption dans le domaine UV-visible de l'extrait dilué	64
Figure III. 18 : Le spectre de transmittance (%) de notre extrait en fonction de nombres d'onde (cm ⁻¹) dans le domaine IR.....	65

Figure III. 19 : Courbe de pourcentage d'inhibition (%) en fonction de concentration (mg/mL)	67
Figure IV. 1 : l'interface graphique iGEMDOCK.	74
Figure IV. 2 : superposition des conformations de kaempférol issues du criblage, représentée en stick colorées, et celle du ligand expérimental (ADP), représentée en balles et stick gris. Le backbone de la protéine est représenté en rubbons lignes (colorées)	76
Figure IV. 3 : superposition des conformations de naringine issues du criblage, représenté en stick colorées, et celle du ligand expérimental (ADP), représentée en balles et stick gris. Le backbone de la protéine est représenté en rubbons lignes (colorées)	77
Figure IV. 4 : superposition des conformations de quercétine issues du criblage, représenté en stick colorées, et celle du ligand expérimental (ADP), représentée en balles et stick gris. Le backbone de la protéine est représenté en rubbons lignes (colorées)	78
Figure IV. 5 : Représentation A- 3D et B- 2D du mode de liaison de kaempférol dans le site actif de la NOX	79
Figure IV. 6 : Représentation A- 3D et B- 2D du mode de liaison de quercétine dans le site actif de la NOX	82
Figure IV. 7 : Représentation A- 3D et B- 2D du mode de liaison de naringine dans le site actif de la NOX	83
Figure IV. 8 : superposition des conformations de kaempférol issues du criblage, représentée en stick colorées, et celle du ligand expérimental (ACD), représentée en balles et stick gris. Le backbone de la protéine est représenté en rubbons lignes (colorées)	86
Figure IV. 9 : superposition des conformations de naringine issues du criblage, représentée en stick colorées, et celle du ligand expérimental (ACD), représentée en balles et stick gris. Le backbone de la protéine est représenté en rubbons lignes (colorées)	87
Figure IV. 10 : superposition des conformations de quercétine issues du criblage avec le ligand expérimental (ACD), représentée en stick colorées, et celle du ligand expérimental, représentée en balles et stick gris. Le backbone de la protéine est représenté en ribb	88
Figure IV. 11 : Représentation A- 3D et B- 2D du mode de liaison de kaempférol dans le site actif de la COX-2	89
Figure IV. 12 : Représentation A- 3D et B- 2D du mode de liaison de quercétine dans le site actif de la COX-2	92
Figure IV. 13 : Représentation A- 3D et B- 2D du mode de liaison de naringine dans le site actif de la COX-2	94

Liste des tableaux

Tableau 1 : La composition minérale des feuilles d'ortie en mg/100g	37
Tableau 2 : Acides aminés (AA) essentiels et non essentiels présents dans les feuilles d'ortie	37
Tableau 3 : Les flavonoïdes présents dans les feuilles d'ortie	38
Tableau 4 : Les acides phénoliques présents dans les feuilles d'ortie	41
Tableau 5 : Les caroténoïdes présents dans les feuilles d'ortie	43
Tableau 6 : Différents usages connus de l'ortie	45
Tableau 7 : Les longueurs d'onde (exprimées en nm) et les valeurs d'absorption correspondantes pour notre extrait dilué dans la plage du domaine UV-visible	64
Tableau 8 : Table de pics de transmittance en spectroscopie infrarouge (IR).....	65
Tableau 9 : Pourcentage d'inhibition de chaque concentration.....	66
Tableau 10 : Caractéristiques des cibles biologiques étudiées ainsi que leurs ligands expérimentaux	72
Tableau 11 : Structures des ligands expérimentaux	73
Tableau 12 : Energie de liaison (kJ/mol), Liaisons hydrogène, interactions favorables entre kaempférol et la NOX.....	80
Tableau 13 : Energie de liaison (kJ/mol), Liaisons hydrogène, interactions favorables entre quercétine et la NOX	82
Tableau 14 : Energie de liaison (kJ/mol), Liaisons hydrogène, interactions favorables entre naringine et la NOX.....	84
Tableau 15 : Energie de liaison (kJ/mol), Liaisons hydrogène, interactions favorables entre kaempférol et la COX-2.....	90
Tableau 16 : Energie de liaison (kJ/mol), Liaisons hydrogène, interactions favorables entre quercétine et la COX-2	92
Tableau 17 : Energie de liaison (kJ/mol), Liaisons hydrogène, interactions favorables entre naringine et la COX-2.....	95

Introduction générale

Introduction générale

Depuis de nombreux siècles, les êtres humains ont exploité les ressources naturelles qui les entourent pour traiter différentes affections [1]. Au jour d'aujourd'hui, de nombreuses populations, notamment dans les pays en développement, continuent de se soigner principalement à l'aide de remèdes traditionnels à base de plantes [2]. Les plantes présentent une caractéristique remarquable : elles renferment une grande diversité de principes actifs, qui sont des composés organiques aux structures variées et qui jouent un rôle essentiel dans leurs propriétés thérapeutiques.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés aux principes actifs de l'ortie (*Urtica dioica* L.), une plante sauvage répandue dans de nombreuses régions, y compris le nord de l'Algérie. Bien qu'elle soit souvent considérée comme une "herbe indésirable" en raison de sa piquûre douloureuse, l'ortie a été traditionnellement utilisée en phytothérapie et dans divers domaines tels que l'agriculture, l'alimentation, la cosmétique et la médecine traditionnelle [3]. Elle est connue pour ses propriétés potentielles anti-inflammatoires et antioxydantes, qui sont attribuée en grande partie à la présence d'alcaloïdes et de flavonoïdes tels que le kaempférol, la quercétine et la naringine, ce qui a suscité l'intérêt des chercheurs [4].

Dans ce projet de fin d'études, nous nous concentrons sur une étude approfondie de l'ortie et de ses applications thérapeutiques. Notre objectif principal est d'explorer le potentiel thérapeutique des principes actifs de l'ortie, notamment le potentiel anti-inflammatoire et antioxydant. Pour ce faire, nous avons entrepris une démarche intégrée qui combine des approches expérimentales et bioinformatiques afin de caractériser les principes actifs extraits de l'ortie et d'évaluer leur potentiel thérapeutique.

Pour extraire les principes actifs de l'ortie, nous avons utilisé la méthode de macération par l'éthanol. Cette méthode est couramment utilisée en phytochimie pour extraire les composés actifs des plantes. Après l'extraction, nous avons procédé à des tests physico-chimiques et phytochimiques pour identifier les classes de composés présents dans l'ortie. En particulier, nous avons réalisé des tests spécifiques pour détecter la présence de flavonoïdes et d'alcaloïdes, deux groupes de composés largement répandus dans les plantes et connus pour leurs propriétés médicinales. Par la suite, nous avons évalué l'activité antioxydante de l'extrait d'ortie en utilisant la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). Le DPPH est un radical libre qui réagit avec les antioxydants pour former un composé stable. En mesurant la diminution de l'absorbance du DPPH après l'ajout de l'extrait d'ortie, nous pouvons estimer son activité antioxydante.

La deuxième partie de notre travail consiste à utiliser une approche de criblage virtuel pour identifier les composés puissants puis évaluer leurs affinités et leurs modes de liaison avec deux cibles biologiques clés : la cyclooxygénase-2 (COX-2) et la NADPH oxydase (NOX). La COX-2 est une enzyme impliquée dans la synthèse de prostaglandines inflammatoires, tandis que la NOX est responsable de la production d'espèces radicalaires réactives (ROS) associées à plusieurs maladies.

Le criblage virtuel est une méthode informatique puissante qui repose sur le docking moléculaire et permet d'identifier les composés puissants et de prédire leurs interactions avec une molécule cible, en utilisant des modèles moléculaires et des algorithmes avancés.

Ce mémoire est structuré en quatre chapitres, précédés d'une introduction générale. Chaque chapitre se concentre sur un aspect spécifique de l'étude sur l'ortie et de ses applications thérapeutiques. L'introduction générale fournit un aperçu du sujet de recherche, met en évidence l'importance de l'étude sur les plantes médicinales et présente les objectifs du mémoire. Les quatre chapitres couvrent respectivement :

Dans le premier chapitre, nous donnons un rappel bibliographique sur les méthodes d'extraction des principes actifs et la bioinformatique : Ce chapitre explore les différentes méthodes d'extraction des principes actifs des plantes médicinales, des méthodes classiques aux approches modernes, ainsi que les concepts et les domaines d'application de la bioinformatique.

Le deuxième chapitre concerne les généralités sur l'ortie (*Urtica dioica*) : Ce chapitre présente des informations générales sur l'ortie, y compris son historique, ses utilisations traditionnelles et sa composition chimique.

Dans le troisième chapitre, nous présentons l'étude d'extraction et caractérisation des principes actifs contenus dans les feuilles d'ortie : Ce chapitre se concentre sur la méthode d'extraction des principes actifs à partir des feuilles d'ortie, en décrivant en détail la technique de macération à base d'éthanol, ainsi que les analyses physico-chimiques et phytochimiques réalisées pour caractériser l'extrait.

Le quatrième chapitre concerne l'étude bioinformatique des principes actifs de l'ortie avec les cibles NOX et COX-2 : Ce dernier chapitre utilise des techniques de bioinformatique tel que le criblage virtuel, pour sélectionner les composés puissants puis étudier les interactions entre ces principes actifs et les cibles biologiques NOX et COX-2, en mettant l'accent sur leur potentiel thérapeutique.

Introduction générale

Enfin, la conclusion générale résume les principales conclusions de l'étude, met en évidence les contributions du mémoire et propose des perspectives pour des recherches futures dans le domaine de l'utilisation thérapeutique de l'ortie.

Présentation de Lieu de stage

Présentation de Lieu de stage

Le Centre de Recherche et Développement (CRD) a été créé en 1973 à Dar El Beida, et a été installé à Boumerdès en 1975 ; cette structure est devenue un outil scientifique et technique indispensable pour les structures opérationnelles de la SONATRACH, aussi bien en amont qu'en aval du domaine pétrolier.

Ses missions se situent dans le cadre général de la recherche, de l'exploitation et de développement des gisements d'hydrocarbures et fournir le support et l'évaluation scientifiques pour la résolution des problèmes qui nécessitent des études et analyses plus particulièrement pour les travaux et le suivi géologique.

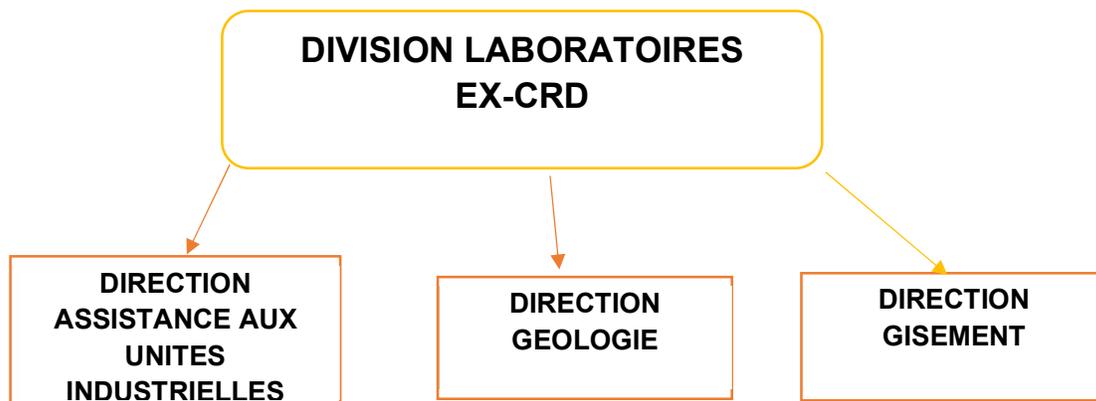
La Division laboratoires est accrédité suivant la norme internationale homologuée NF ISO/CEI 17025 : 2005. Cette accréditation est la preuve de la compétence technique du laboratoire pour un domaine d'activités clairement défini et du bon fonctionnement dans ce laboratoire d'un système de management de la qualité adapté (cf. communiqué conjoint ISO / ILAC / IAF de janvier 2009)

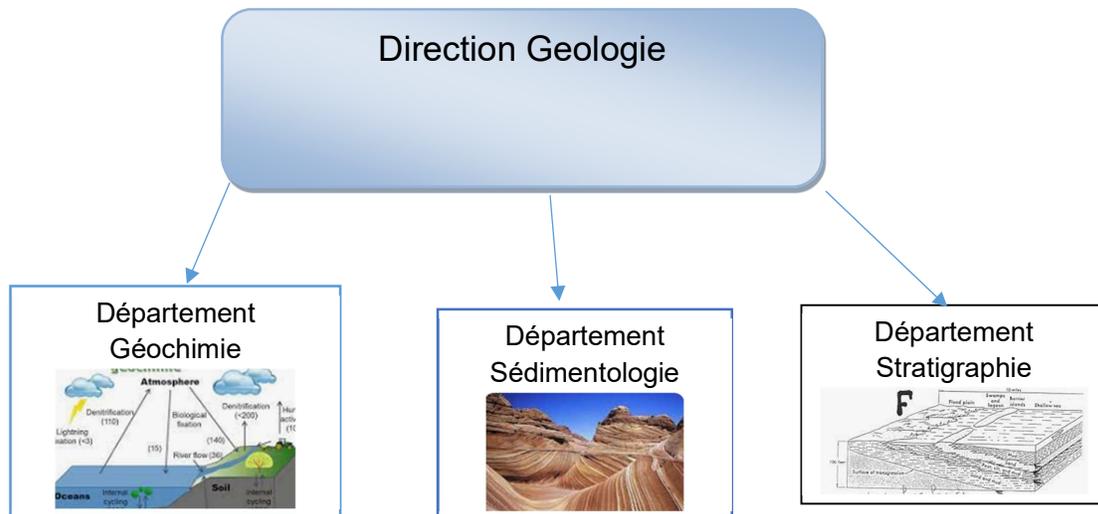
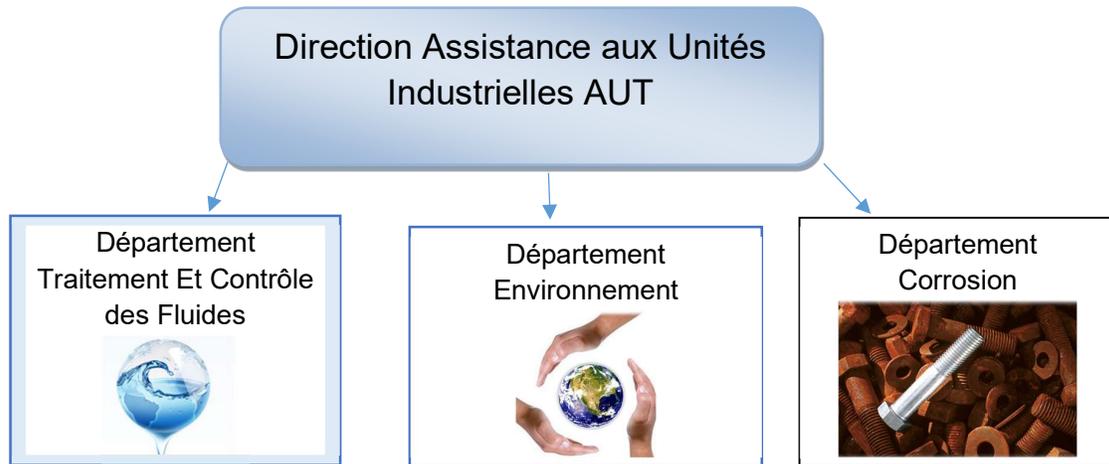
Intervention à tous les niveaux en commençant du forage jusqu'au client demandeur de service.

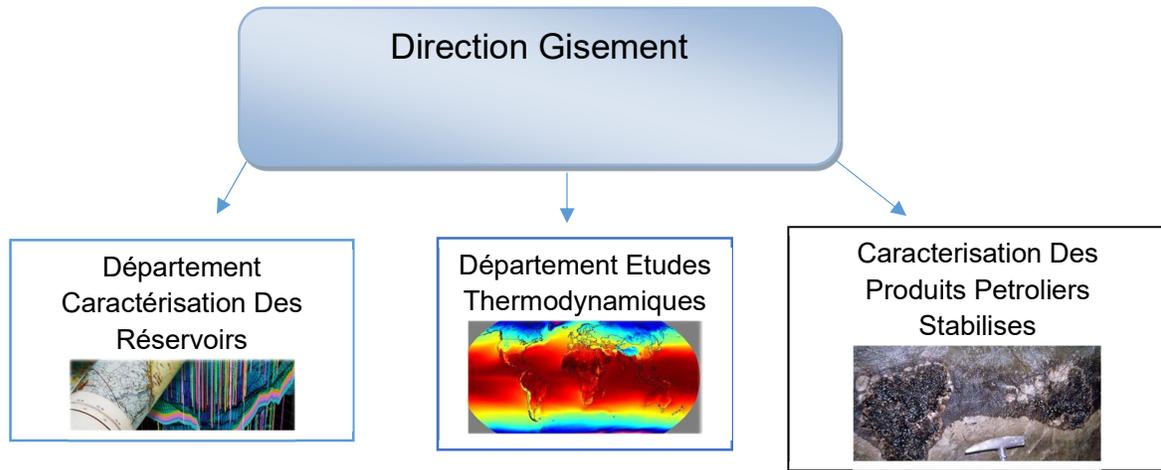
La Division Laboratoires est organisée en directions opérationnelles situées à Boumerdès et une située à Hassi Messaoud comme suit :

La Division Laboratoires est organisée en directions opérationnelles situées à Boumerdès et une située à Hassi Messaoud comme suite:

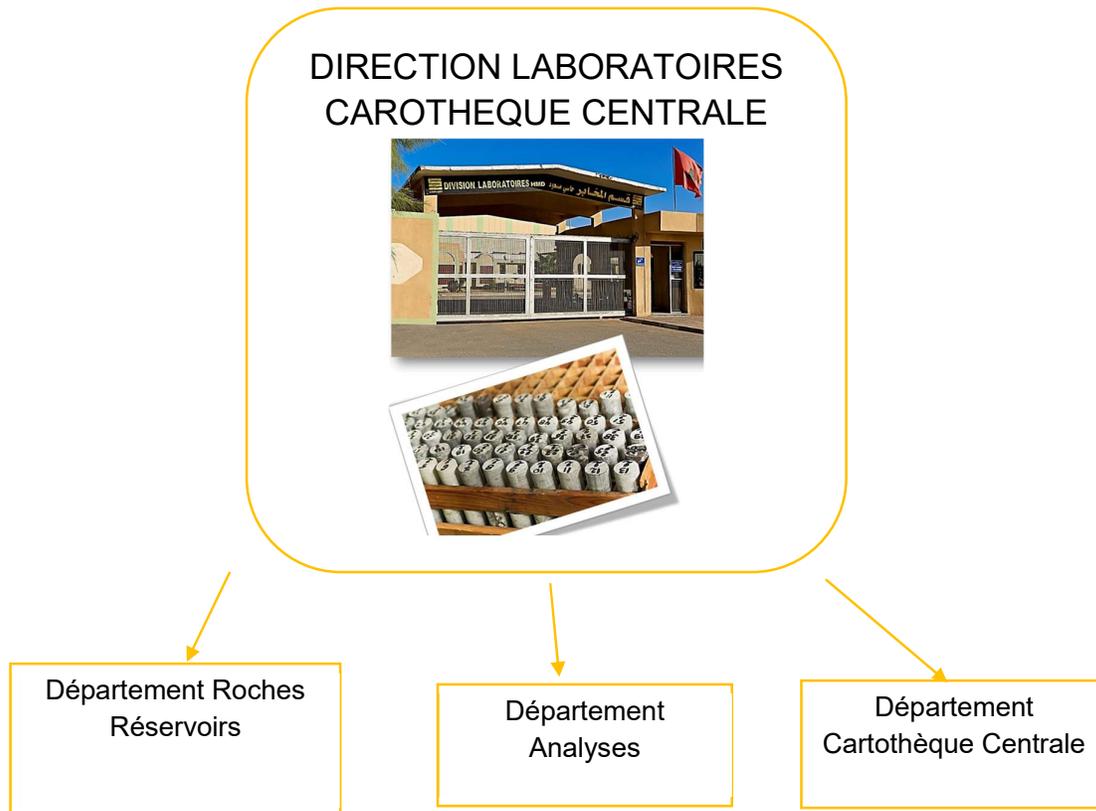
I. Direction de la Division Laboratoires située à Boumerdes :







II. Laboratoires DLCC située à Hassi- Messaoud



Notre stage pratique de fin d'étude s'est déroulé au niveau du service Analyse et Contrôle du département Traitement et Contrôle des Fluides appartenant à la direction Assistance aux Unités Industrielles.

Chapitre I

Chapitre 1

I Introduction

La recherche sur les plantes médicinales suscite un intérêt croissant en raison de leur potentiel thérapeutique. Les principes actifs présents dans ces plantes jouent un rôle clé dans leurs propriétés curatives. Afin de récupérer efficacement ces principes actifs, diverses méthodes d'extraction ont été développées, allant des méthodes conventionnelles aux approches plus modernes.

Nous présenterons dans ce chapitre les méthodes d'extraction classiques, telles que la macération, l'infusion, la digestion, la décoction, la percolation et l'extraction au Soxhlet, ainsi que sur les méthodes d'extraction non conventionnelles, telles que l'extraction assistée par micro-ondes, l'extraction assistée par ultrasons et l'extraction par fluide supercritique. De plus, nous tenterons d'introduire les concepts et les champs d'application de la bioinformatique, une discipline en pleine expansion. Cette technique permet l'analyse des données biologiques provenant des plantes médicinales et offre des outils pour identifier, caractériser et étudier les principes actifs ainsi que leurs mécanismes d'action.

II Les méthodes d'extraction

II.1 Les méthodes conventionnelles/classiques d'extraction

II.1.1 La macération

La macération est une technique traditionnelle et peu coûteuse utilisée depuis longtemps pour la préparation de toniques. Elle est également utilisée pour l'extraction de composés actifs à partir de matières végétales. La procédure de macération comprend plusieurs étapes d'extraction. Tout d'abord, le matériau médicamenteux grossièrement pulvérisé, qu'il s'agisse de feuilles, d'écorce de tige ou d'écorce de racine, est placé dans un récipient. Ensuite, le menstruum, qui est le solvant approprié, est versé sur le matériau médicamenteux jusqu'à ce qu'il soit complètement recouvert. Le récipient est ensuite fermé et conservé pendant au moins trois jours. Pendant cette période, le contenu est périodiquement agité, et s'il est placé dans une bouteille, il doit être secoué de temps en temps pour assurer une extraction complète. À la fin de l'extraction, la solution obtenue est séparée de la matière solide, appelée marc, par filtration ou décantation. Ensuite, la solution est séparée du solvant par évaporation, soit dans un four,

soit sur un bain-marie. Cette méthode est pratique et particulièrement adaptée aux matières végétales thermolabiles [5].

II.1.2 L'infusion

L'infusion est une méthode d'extraction couramment utilisée pour préparer des solutions diluées de principes actifs (composés naturels bioactifs) facilement solubles à partir de plantes médicinales brutes. Elle implique la macération du matériau végétal brut ou des parties de la plante dans de l'eau froide ou chaude pendant une courte période de temps. Cette procédure permet l'extraction de tous les composés naturels bioactifs solubles dans l'eau, et une fois le liquide filtré, il est désigné comme une infusion [6].

II.1.3 La digestion

La digestion est une méthode d'extraction des composés actifs des plantes médicinales qui implique l'utilisation d'une chaleur modérée pour augmenter l'efficacité de l'extraction. Elle consiste à mélanger le matériau végétal pulvérisé avec un solvant d'extraction dans un récipient propre, puis à appliquer une chaleur contrôlée, généralement autour de 50 °C, sur le mélange. La chaleur diminue la viscosité du solvant d'extraction et favorise la dissolution des composés souhaités dans le solvant, ce qui facilite leur extraction [5-6]

II.1.4 La décoction

La décoction est un processus d'extraction continu à chaud qui utilise un volume spécifié d'eau comme solvant. Dans ce processus, du matériel végétal séché, broyé et réduit en poudre est placé dans un récipient propre. L'eau est ensuite ajoutée et agitée, puis le mélange est chauffé pendant une période courte, généralement autour de 15 minutes. L'application de chaleur accélère l'extraction des composés, présents dans les plantes, solubles dans l'eau et stables à la chaleur. Le rapport entre le solvant et le matériau végétal est généralement de 4:1 ou de 16:1. La décoction est utilisée pour extraire efficacement les substances actives (les principes actifs) des plantes qui sont solubles dans l'eau et résistantes à la chaleur [5]

II.1.5 La percolation

La percolation est une méthode couramment utilisée pour extraire les composés naturels bioactifs lors de la préparation d'extraits liquides et de teintures. Cette procédure implique l'utilisation d'un appareil appelé "percolateur", qui est un récipient conique étroit ouvert aux deux extrémités. Les matières végétales ou les médicaments bruts sont trempés dans des solvants appropriés (menstruum) pendant une durée définie de 4 heures dans un récipient hermétiquement fermé. Ensuite, suffisamment de menstruum est ajouté pour couvrir entièrement les plantes ou les matériaux, et le processus de macération se déroule dans le percolateur fermé pendant 24 heures. En ouvrant l'extrémité du percolateur, le liquide est recueilli lentement. Du menstruum supplémentaire est ajouté jusqu'à ce que le percolat atteigne environ les trois quarts du volume du produit fini. Ce processus est répété deux à trois fois afin d'extraire de manière optimale les composés naturels bioactifs des matériaux biologiques [6]

II.1.6 L'extraction au Soxhlet

L'extraction au Soxhlet est une méthode d'extraction continue à chaud, utilisant un appareil appelé extracteur Soxhlet, composé de verre. Il comprend un ballon à fond rond, une chambre d'extraction, un tube de siphon et un condenseur. Dans cette méthode, un matériau végétal séché, broyé et finement pulvérisé est placé dans un sac poreux appelé "thimble", qui est ensuite fermé hermétiquement. Le solvant d'extraction est versé dans le ballon inférieur, puis le mélange est chauffé, provoquant l'évaporation du solvant. Celui-ci se condense dans le condenseur et retourne à la chambre d'extraction, où il entre en contact avec le matériau végétal et extrait les constituants souhaités. Lorsque le niveau de solvant dans la chambre d'extraction atteint le sommet du siphon, le solvant et le matériau végétal extrait retournent dans le ballon. Ce processus est répété plusieurs fois jusqu'à ce que le médicament soit complètement extrait, c'est-à-dire lorsque le solvant qui s'écoule de la chambre d'extraction ne laisse aucun résidu derrière lui. Cette méthode est adaptée aux plantes dont les constituants sont partiellement solubles dans le solvant choisi, ainsi qu'aux plantes contenant des impuretés insolubles. Cependant, elle n'est pas recommandée pour les plantes thermolabiles. L'extraction au Soxhlet présente l'avantage d'extraire une grande quantité de médicament avec une faible quantité de solvant, et elle peut être utilisée avec des plantes résistantes à la chaleur. Cependant, elle ne permet pas de secouer régulièrement le mélange et n'est pas adaptée aux matériaux thermolabiles [5].

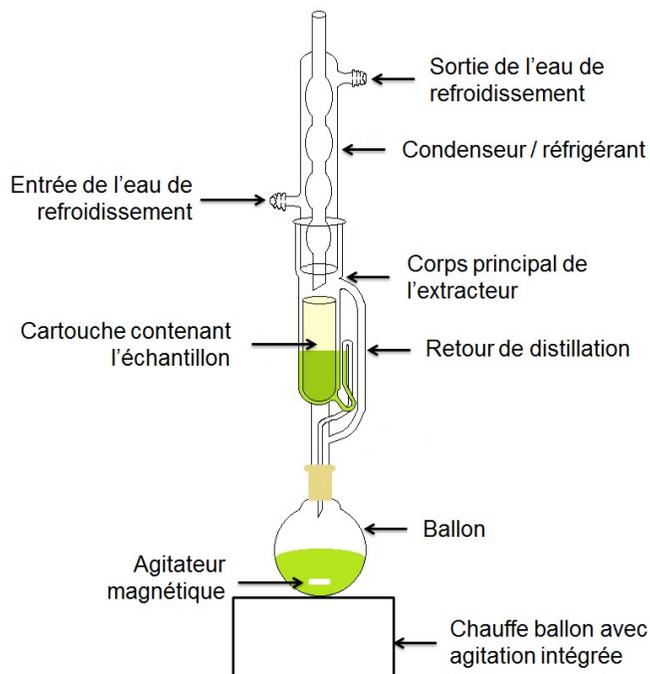


Figure I. 1 : Extracteur de Soxhlet [7]

II.2 Les méthodes d'extraction non conventionnelles (modernes)

II.2.1 L'extraction assistée par micro-ondes

Il s'agit d'une des techniques d'extraction moderne utilisées dans la préparation des plantes médicinales. Cette méthode utilise le mécanisme de rotation des dipôles et de transfert ionique par déplacement des ions chargés présents dans le solvant et le matériau végétal. Elle est adaptée à l'extraction des flavonoïdes. Elle implique l'application de rayonnements électromagnétiques dans des fréquences comprises entre 300 MHz et 300 GHz et des longueurs d'onde entre 1 cm et 1 mètre. Les micro-ondes sont généralement appliquées à une fréquence de 2450 Hz et produisent une puissance d'énergie entre 600 et 700 W. La technique utilise les micro-ondes pour bombarder un objet, qui peut absorber l'énergie électromagnétique et la convertir en chaleur (Figure I. 2). Par la suite, la chaleur produite facilite la pénétration du solvant dans la matrice végétale. Lorsque l'on utilise un solvant polaire, la rotation des dipôles et la migration des ions se produisent, favorisant ainsi une meilleure pénétration du solvant et facilitant le processus d'extraction. En revanche, lorsque l'on utilise un solvant non polaire, les

micro-ondes émises génèrent une faible quantité de chaleur, ce qui rend cette méthode moins adaptée à l'utilisation de solvants non polaires.

Avantages : L'extraction assistée par micro-ondes offre des avantages notables, notamment la réduction de la quantité de solvant et du temps d'extraction, ainsi qu'une augmentation du rendement d'extraction.

Inconvénients : Il convient de souligner que cette méthode est spécifiquement adaptée aux composés phénoliques et aux flavonoïdes. Cependant, certains composés tels que les tanins et les anthocyanes peuvent se dégrader en raison des températures élevées impliquées dans le processus d'extraction assistée par micro-ondes [5].

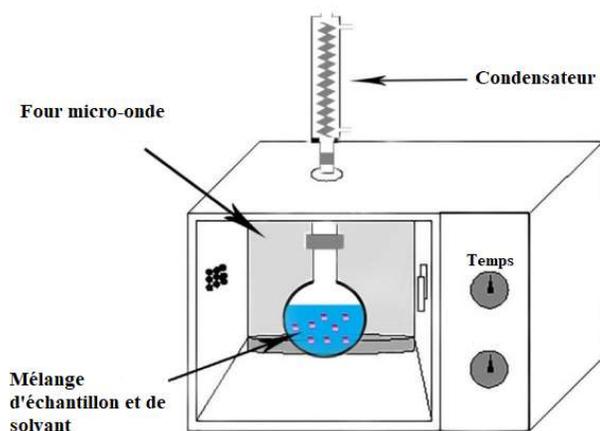


Figure I. 2 : Représentation systématique d'un appareil d'extraction assistée par micro-ondes [8]

II.2.2 L'extraction assistée par ultrasons

Ce procédé implique l'utilisation d'une énergie sonore à une fréquence supérieure à 20 kHz afin de perturber la structure cellulaire des plantes et d'augmenter la surface du matériau végétal, facilitant ainsi la pénétration du solvant. Par conséquent, la libération des métabolites secondaires est favorisée. Dans cette méthode, il est nécessaire de préalablement sécher le matériau végétal, le réduire en une fine poudre et le tamiser de manière appropriée. Par la suite, l'échantillon préparé est mélangé à un solvant d'extraction adapté et placé dans un dispositif d'extraction ultrasonique (Figure I.3). L'application d'une énergie sonore intense permet d'accélérer le processus d'extraction tout en réduisant les besoins en chaleur.

Avantages : L'extraction assistée par ultrasons est applicable aux petits échantillons ; elle réduit le temps d'extraction et la quantité de solvant utilisée, et maximise le rendement.

Inconvénients : Cette méthode est difficile à reproduire ; de plus, la quantité élevée d'énergie appliquée peut dégrader les principes actifs en produisant des radicaux libres [5]

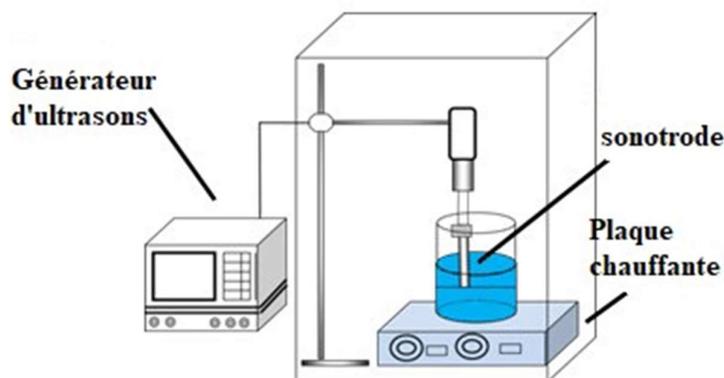


Figure I. 3 : Schéma de principe de l'extraction assistée par ultrasons [9].

II.2.3 L'extraction par fluide supercritique

La méthode d'extraction par fluide supercritique, initialement mise au jour par les chercheurs Hannay et Hogarth et brevetée ultérieurement par Zosel pour le processus de décaféination du café, a acquis une notoriété considérable dans divers domaines tels que la pharmacie, l'environnement, les polymères et l'analyse alimentaire. L'usage répandu de cette méthode se retrouve notamment dans l'industrie de la décaféination du café. Son attrait réside dans sa capacité à remplacer les solvants organiques par des technologies d'extraction plus respectueuses de l'environnement. Lorsque la substance atteint un point critique, caractérisé par une température (T_c) et une pression (P_c) spécifiques, les phases liquide et gazeuse se confondent pour former un fluide supercritique. L'équipement utilisé pour l'extraction par fluide supercritique se compose d'un réservoir de solvant, généralement du CO_2 d'une pompe pour générer la pression, d'un récipient pour le cosolvant, d'un four pour maintenir la température, d'un régulateur de pression et d'un récipient de capture des composés extraits (Figure I.4). Afin d'améliorer la solvatation des composés d'intérêt, présentant une polarité moyenne à non polaire, de faibles quantités de solvants organiques sont utilisées en tant que modificateurs en combinaison avec le CO_2 supercritique, ce qui élargit la gamme de composés

naturels bioactifs extraits. Bien que cette approche constitue une solution partielle aux problèmes environnementaux associés aux extractions par solvants organiques, ses limites demeurent [6].

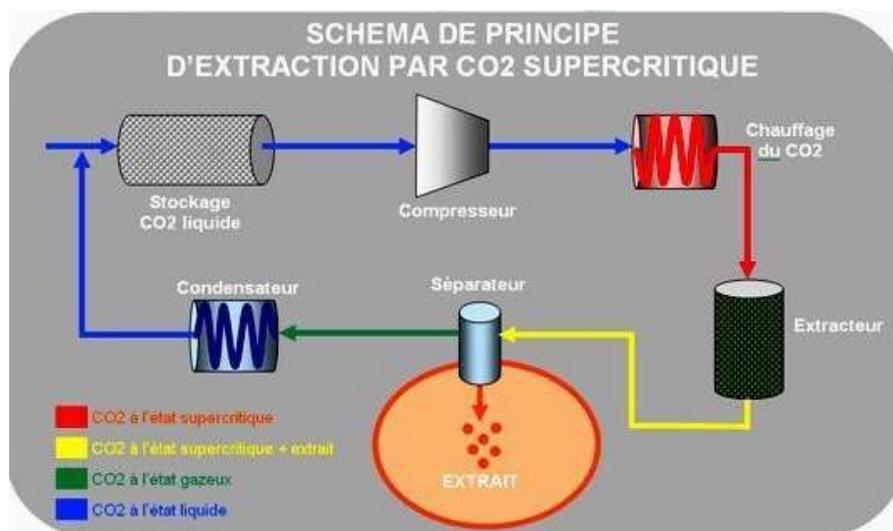


Figure I. 4 : Schéma de principe d'extraction par CO₂ supercritique [10].

III Les méthodes de la bioinformatique

III.1 Définitions et champs d'application de la bioinformatique

La bioinformatique est un domaine interdisciplinaire qui combine la biologie, la chimie, la physique, la médecine, l'informatique et les mathématiques pour étudier, analyser et interpréter des informations présentes dans les données de séquences d'acides nucléiques et de protéines [11-12], (Figure I.5) .

D'après les Instituts américains de la santé (*NIH: National Institutes of Health*), la bioinformatique correspond à la recherche, au développement ou à l'application d'outils et de méthodes informatiques visant à étendre l'utilisation des données biologiques, médicales, comportementales ou de santé. Cela englobe l'acquisition, le stockage, l'organisation, l'analyse ou la visualisation de telles données [11]

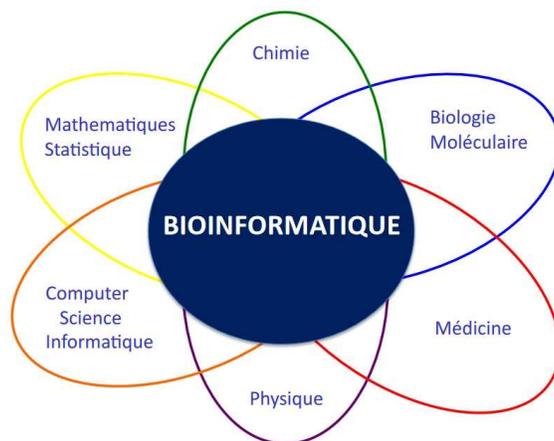


Figure I. 5 : La relation de la bioinformatique avec les autres [13].

Plusieurs domaines d'application ou sous-disciplines de la bioinformatique ont été développés :

- **La bioinformatique des séquences**, qui se concentre sur l'analyse des données provenant de l'information génétique présente dans la séquence d'ADN ou de protéines codées par celui-ci.
- **La bioinformatique structurale**, qui se focalise sur la reconstruction, la prédiction ou l'analyse de la structure tridimensionnelle ou du repliement des macromolécules biologiques (protéines, acides nucléiques) à l'aide d'outils informatiques.
- **La bioinformatique des réseaux**, qui étudie les interactions entre les gènes, les protéines, les cellules et les organismes.
- **La bioinformatique statistique et la bio-informatique des populations [14].**

III.2 La bioinformatique structurale

La bioinformatique structurale regroupe des ressources de données, des algorithmes et des outils permettant d'étudier, analyser, prédire et interpréter les structures bio macromoléculaires, notamment les structures des protéines. Ces dernières, composées d'acides aminés, sont des molécules complexes de différentes tailles et formes. Elles jouent un rôle essentiel dans les organismes en participant à de nombreuses fonctions cellulaires et en contribuant à la structure, la fonction et la régulation des tissus et des organes.

L'augmentation du nombre de structures et de séquences protéiques déposées dans des bases de données spécialisées est principalement due aux avancées dans les technologies de

séquençage génomique et les méthodes de détermination des structures. La Banque de données des protéines (PDB) est un exemple de catalogue des structures macromoléculaires et a joué un rôle clé dans le développement de la bioinformatique structurale. La prédiction de la structure des protéines a également connu des progrès significatifs [15] De plus plusieurs banques de données contenant une vaste collection du nombre de composés chimiques, des médicaments approuvés, des produits naturels et des fragments moléculaires sont apparues.

III.2.1 Le screening virtuel

Le screening virtuel, appelé également criblage virtuel, est une méthode utilisée en bioinformatique pour identifier et prédire des composés chimiques potentiels ayant une activité biologique spécifique. C'est une approche *in silico* qui permet de filtrer rapidement et efficacement un grand nombre de molécules candidates, en utilisant des techniques de bioinformatique et d'analyse des interactions moléculaires (Figure 06).

L'objectif du screening virtuel est d'identifier des composés qui pourraient se lier et interagir de manière favorable avec une cible biologique spécifique, telle qu'une protéine cible impliquée dans une pathologie biologique particulière. En utilisant des bases de données de structures chimiques, des méthodes de docking moléculaire et d'autres approches bioinformatiques sont appliquées pour prédire les affinités de liaison, la stabilité et d'autres propriétés pertinentes des molécules candidates.

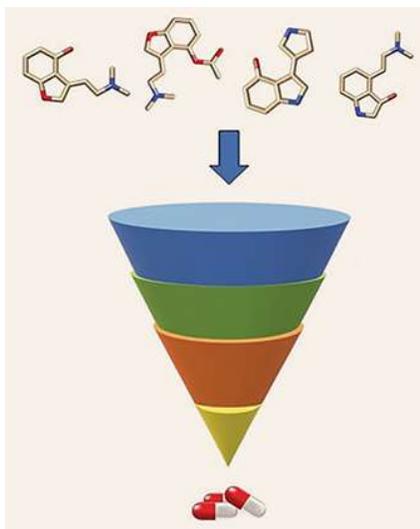


Figure I. 6 : Le processus de découverte de médicaments

Le screening virtuel permet ainsi d'accélérer le processus de découverte de médicaments en réduisant le nombre de composés à tester expérimentalement, en fournissant des indications préliminaires sur l'activité, et en aidant à orienter la conception et l'optimisation de composés prometteurs.

III.2.2 Docking moléculaire

Le docking moléculaire est une technique largement utilisée dans différents domaines de recherche, tels que le développement de médicaments et l'étude de la reconnaissance moléculaire, pour comprendre les interactions entre les protéines et les ligands, ainsi qu'entre les protéines elles-mêmes. Son principe fondamental consiste à déterminer la meilleure configuration spatiale d'une molécule afin de former un complexe stable avec un récepteur. Cette approche permet d'analyser et de prédire les interactions moléculaires, ce qui ouvre de nouvelles perspectives dans la conception de médicaments et la compréhension des processus biologiques [15] Les programmes de docking diffèrent dans leurs méthodes de placement du ligand, d'exploration de l'espace conformationnel et d'estimation de l'affinité. L'interaction entre le ligand et la cible est influencée à la fois par la conformation de la protéine dans la région du site de site actif et par l'orientation des chaînes latérales présentes dans ce site. Toutefois, il convient de noter que le docking moléculaire présente une limitation majeure en ne tenant généralement pas compte des changements conformationnels induits au niveau du site de actif [16]

Trois classifications de docking peuvent être établies en fonction de la manière dont la flexibilité des molécules est prise en compte lors de l'échantillonnage :

III.2.2.1 Le docking rigide

Suppose que la protéine et le ligand sont considérés comme étant complètement rigides. Ainsi, seuls les degrés de liberté de translation et de rotation du ligand par rapport au récepteur sont explorés. Cette approche simplifiée est semblable à un modèle de liaison de type "serrure-clé", où ni le ligand ni le récepteur subissent de modifications conformationnelles suite à leur interaction. Le docking rigide est généralement utilisé pour le docking entre deux macromolécules (comme le docking protéine-protéine ou protéine/acide nucléique structuré) où les degrés de liberté sont trop nombreux pour permettre un échantillonnage conformationnel efficace dans des délais de calcul raisonnables.

III.2.2.2 2. Le docking semi-flexible

Traite uniquement de la flexibilité du ligand, tandis que le récepteur reste rigide. Ainsi, l'échantillonnage des degrés de liberté du ligand est ajouté à l'exploration translationnelle et rotationnelle. Cette approche repose sur l'hypothèse simplifiée selon laquelle la conformation du récepteur utilisée est suffisamment apte à reconnaître le ligand.

III.2.2.3 3. Le docking flexible

Prend en compte à la fois la flexibilité du ligand et du récepteur. Les degrés de liberté conformationnels du récepteur peuvent être limités à certaines chaînes latérales ou inclure des mouvements plus importants, tels que les arrangements possibles entre les domaines d'une protéine. Ce type de docking représente une approche plus réaliste en considérant des modèles de liaison du ligand au récepteur de type "ajustement induit" et/ou "sélection conformationnelle". Cependant, l'exploration de tous les degrés de liberté du ligand et du récepteur présente des difficultés significatives en raison des temps de calcul nécessaires pour exploiter efficacement le docking flexible [17].

IV Conclusion

Le développement de nouvelles techniques d'extraction est un domaine de recherche en constante évolution. Parmi les nouvelles techniques les plus prometteuses, on retrouve l'extraction par fluide supercritique, l'extraction assistée par micro-ondes et l'extraction assistée par ultrasons. Ces méthodes présentent plusieurs avantages par rapport aux techniques d'extraction traditionnelles, tels qu'une meilleure efficacité d'extraction, une réduction de la consommation de solvant et des temps d'extraction plus courts.

La bioinformatique est un domaine en plein essor où de nouveaux outils et méthodes sont continuellement développés. Ces outils peuvent être utilisés pour analyser des données biologiques provenant de diverses sources, y compris les plantes médicinales. La bioinformatique permet d'identifier et de caractériser les principes actifs présents dans les plantes médicinales, ainsi que d'étudier les mécanismes d'action de ces composés.

La combinaison de techniques d'extraction efficaces et de l'utilisation de la bioinformatique a le potentiel de révolutionner la recherche sur les plantes médicinales. Ces technologies peuvent contribuer à l'identification de nouveaux médicaments potentiels issus des plantes médicinales, ouvrant ainsi la voie à des approches novatrices dans le développement de médicaments.

Chapitre II

Chapitre II

I Introduction

L'ortie, appelée également *Urtica dioica* L., est une plante facilement reconnaissable en raison de sa piqûre douloureuse, laissant une impression désagréable. Cependant, il ne faut pas se fier à cette première impression, car derrière ce mécanisme de défense se cache une véritable panacée. Nos ancêtres ont bien compris ses bienfaits et l'utilisaient déjà à des fins médicinales et pour d'autres usages.

Dans ce chapitre, examinerons divers aspects fondamentaux de l'ortie, allant de son historique à ses utilisations traditionnelles. Nous examinerons également sa composition chimique. Notre objectif est de fournir une base solide pour approfondir notre compréhension de cette plante polyvalente et de ses nombreuses applications potentielles dans différents domaines.

II Historique

L'ortie, appelée également *Urtica dioica* L., est une plante herbacée, vivace, de la famille des urticaceae et du genre *urtica*. Le mot français "ortie" dérive du latin "urtica" qui signifie "brûler" en référence à l'irritation que provoque cette plante. Le nom scientifique de la grande ortie, *Urtica dioica*, vient du grec "*di-oikos*" signifiant "2 maisons", faisant référence à sa caractéristique dioïque avec des pieds mâles et des pieds femelles séparés.

L'ortie a une longue histoire d'utilisation par l'homme à des fins médicinales, alimentaires et textiles. Depuis l'Antiquité, cette plante a été utilisée en Égypte, en Grèce et à Rome. Elle a été appréciée pour ses fibres utilisées dans la fabrication de tissus et de cordages. Au fil du temps, elle a été reconnue pour ses propriétés purifiantes, tonifiantes et médicinales. Au Moyen Âge, l'ortie était utilisée comme remède contre divers maux, tout en continuant à être utilisée dans la fabrication de textiles. De nos jours, elle est encore utilisée pour ses bienfaits sur la santé et est consommée sous forme d'infusions ou de compléments alimentaires. Elle trouve également des applications dans l'industrie cosmétique [18].

III Description de l'ortie dioïque

Urtica L., communément appelée ortie, est une plante herbacée annuelle et vivace, connue pour ses poils urticants. Les feuilles de l'ortie sont disposées de manière opposée, tandis que

les fleurs sont de couleur verte avec des étamines jaunes. Les fleurs mâles et femelles se trouvent sur des plantes distinctes, et chaque fleur donne naissance à un fruit individuel [19]. Ces plantes vivaces sont remarquables pour leurs qualités urticantes, qui disparaissent après une légère cuisson. Elles sont souvent parmi les premières à émerger dans les régions enneigées au printemps. Les orties sont riches en chlorophylle, vitamine C, minéraux essentiels et protéines. Elles contiennent environ 7 % d'azote sur une base de poids sec, ce qui les rend plus riches en cet élément nutritif essentiel que certains engrais commerciaux. Là où les orties prospèrent, le sol est souvent riche et fertile [20].

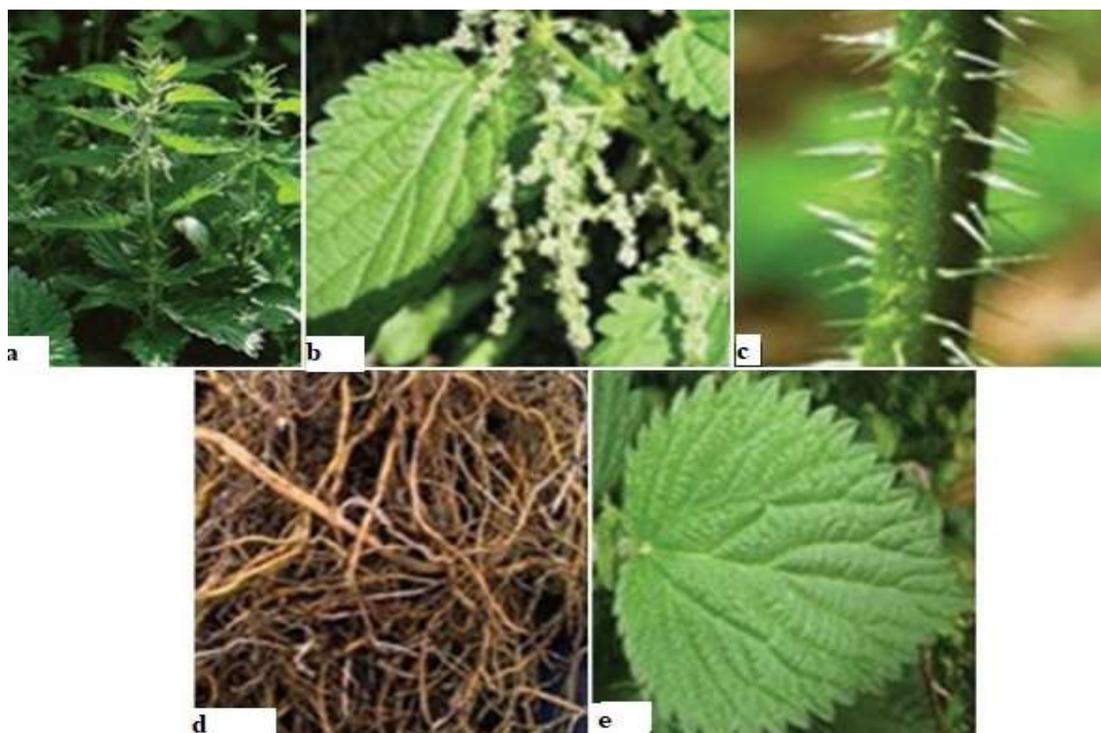


Figure II. 1 : Parties de la plante *Urtica dioica* L; (a) Plante entière; (b) Fleur ; (c) Polis ; (d) Racines; (e) Feuille [21].

IV Composition chimique de l'ortie

La composition chimique des plantes d'ortie est influencée par divers facteurs, notamment la variété, le génotype, le climat, le sol, le stade végétatif, le moment de la récolte, le stockage, le traitement et la manipulation [22]. Par conséquent, il est possible de trouver différentes valeurs fournies par la littérature.

IV.1 Composition chimique des feuilles

IV.1.1 Minéraux

Dans le tableau 1, nous présentons la quantité approximative de chaque élément présente dans 100 g d'ortie.

Tableau 1 : La composition minérale des feuilles d'ortie en mg/100g [19-23]

L'élément	La teneur en mg/100 g	L'élément	La teneur en mg/100 g
Sodium	10,3 ± 2,8	Zinc	2;32 ± 0,1
Potassium	917,2 ± 26,3	Magnésium	0,22 ± 0,04
Fer	8,1 ± 1,8	Sélénium	0,0027
Calcium	113,2 ± 7,5	Phosphore	75
Cuivre	0,67 ± 0,03		

IV.1.2 Vitamines

Les feuilles d'ortie renferment diverses vitamines, telles que la vitamine C, la provitamine A, la vitamine K et une série de vitamines B [24-25].

IV.1.3 Protéines et acides aminés

Les feuilles d'ortie présentent une teneur en protéines relativement élevée, de qualité supérieure par rapport à celle de nombreux autres légumes à feuilles vertes [19].

Comme indiqué dans le tableau 2, les feuilles d'ortie contiennent 18 acides aminés, dont 9 sont essentiels.

Tableau 2 : Acides aminés (AA) essentiels et non essentiels présents dans les feuilles d'ortie [19]

AA essentiels	AA non essentiels	AA essentiels	AA non essentiels
Lysine	Alanine	Isoleucine	Tyrosine
Tryptophane	Acide aspartique	Phénylalanine	Arginine
Valine	Cystéine	Thréonine	Glycine
Leucine	Acide glutamique	Histidine	Proline
Méthionine	Sérine		

IV.1.4 Les composés phénoliques

IV.1.4.1 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés largement répandus dans le règne végétal et font partie intégrante de notre alimentation quotidienne à travers les fruits, les légumes et des boissons telles que le thé. Leur capacité à moduler l'activité enzymatique et à influencer le comportement des cellules suggère qu'ils pourraient avoir de multiples effets biologiques, incluant des propriétés antioxydantes, vasculoprotectrices, anti hépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires, anti ulcéreuses, voire même des effets significatifs contre les tumeurs [26].

IV.1.1.1.1 Structure

Les flavonoïdes, qui dérivent tous de la structure de base benzo- γ -pyrone (Figure II. 2), peuvent être classés en fonction des substituants présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation du squelette benzo- γ -pyrone.

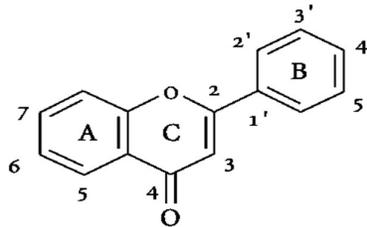
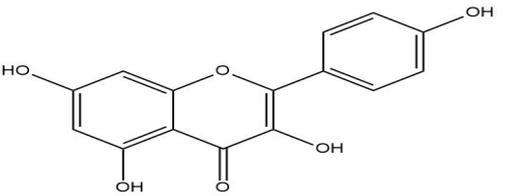
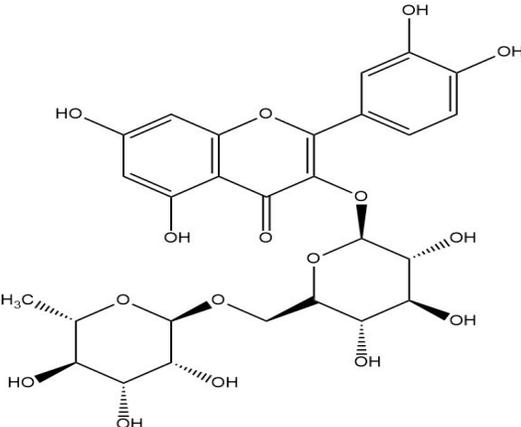
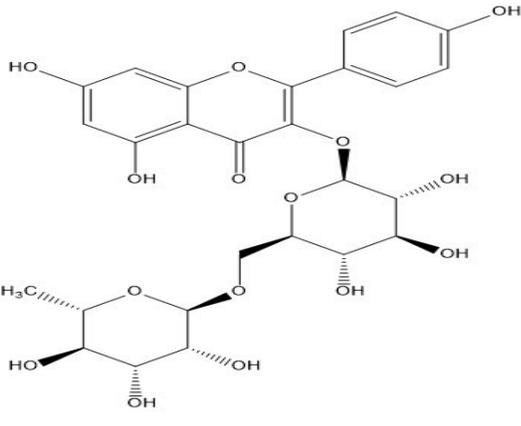
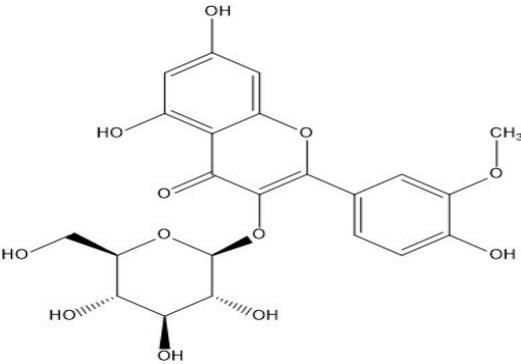


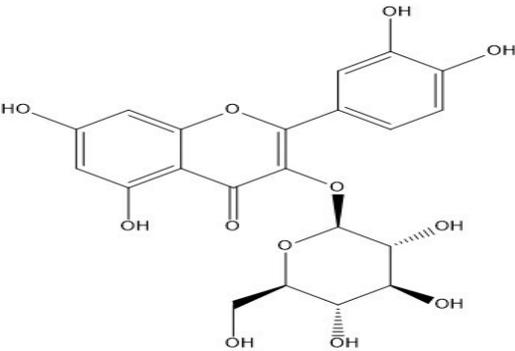
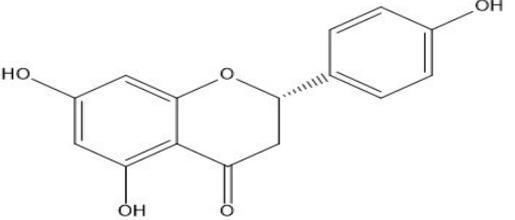
Figure II. 2 : Structures de l'enchaînement benzo- γ -pyrone [26].

IV.1.4.1.1 Les flavonoïdes présents dans les feuilles d'ortie

Tableau 3 : Les flavonoïdes présents dans les feuilles d'ortie

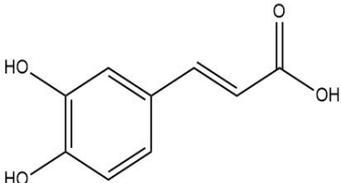
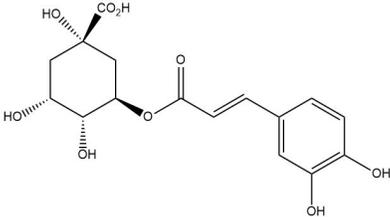
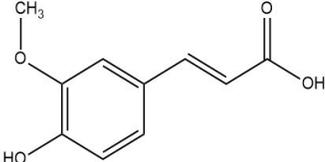
<i>le nom :</i>	<i>la structure :</i>	<i>la référence :</i>
la quercétine		[27]

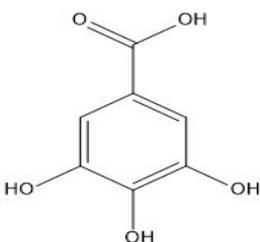
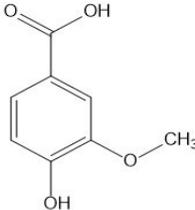
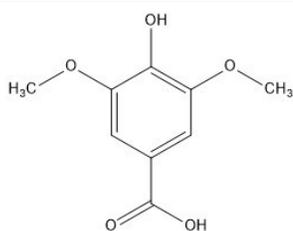
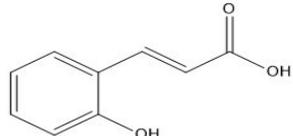
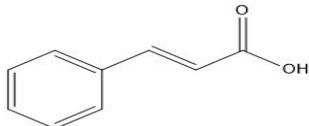
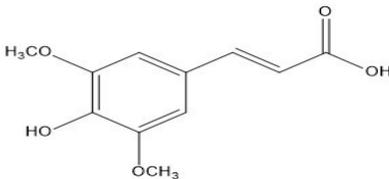
<i>le nom :</i>	<i>la structure :</i>	<i>la référence :</i>
le kaempférol		[24]
la rutine (le quercétine-3-O-rutinoside)		[28]
la nicotiflorine (le kaempférol-3-O-rutinoside)		[28]
l'isorhamnétine-3-O-glucoside		[28]

<i>le nom :</i>	<i>la structure :</i>	<i>la référence :</i>
l'iso quercétine		[27]
La naringine		[27]

IV.1.4.2 Les acides phénoliques

Tableau 4 : Les acides phénoliques présents dans les feuilles d'ortie

Nom :	la structure :	la référence :
l'acide caféique		[27]
l'acide chlorogénique		[24]
l'acide férulique		[24]

Nom :	la structure :	la référence :
l'acide gallique		[24]
l'acide vanillique		[24]
l'acide syringique		[24]
l'acide p-coumarique		[24]
l'acide cinnamique		[24]
l'acide sinapique		[24]

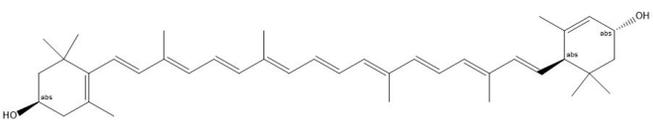
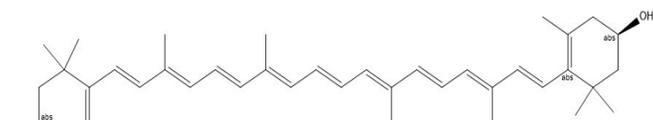
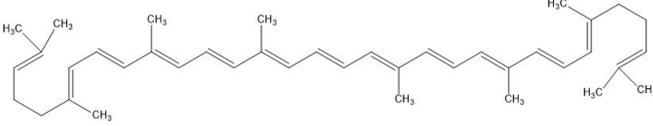
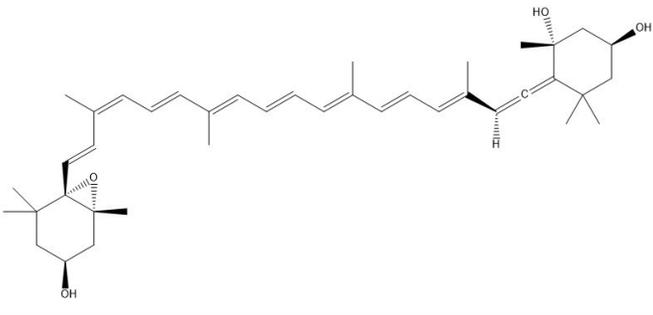
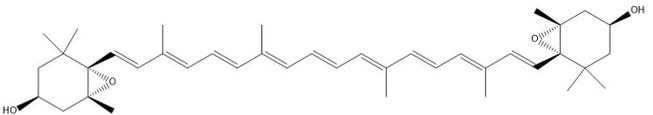
IV.1.5 Les caroténoïdes et chlorophylles

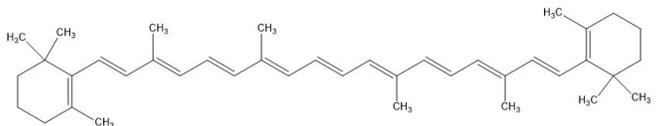
Les chlorophylles et les caroténoïdes jouent un rôle essentiel dans les plantes en tant que pigments impliqués dans la captation de la lumière. La chlorophylle a est le principal photorécepteur dans la plupart des plantes vertes, tandis que la chlorophylle b et les caroténoïdes agissent comme des pigments accessoires qui captent la lumière et transfèrent

l'énergie vers les centres de réaction. En plus de leur rôle dans la photosynthèse, les caroténoïdes ont la capacité de neutraliser les réactions photochimiques dommageables, en particulier celles impliquant l'oxygène. Cette fonction des caroténoïdes est d'une grande importance car ils protègent les chlorophylles contre la dégradation, préservant ainsi l'intégrité de ces pigments verts. Il convient de souligner que des études antérieures ont montré que les caroténoïdes ont également un rôle d'antioxydants importants pour la santé humaine [24]

- Les feuilles d'ortie contiennent à la fois de la chlorophylle a et de la chlorophylle b [24]
- Les caroténoïdes présents dans les feuilles d'ortie sont répertoriés dans le tableau 5

Tableau 5 : Les caroténoïdes présents dans les feuilles d'ortie

Nom	Structure	Référence
la lutéine		[25]
la zéaxanthine		[25]
le lycopène		[25]
la néoxanthine		[25]
la violaxanthine		[25]

le β -carotène		[25]
----------------------	--	------

IV.1.6 Acides gras

Les feuilles d'ortie contiennent différents acides gras, tels que l'acide palmitique, l'acide stéarique, l'acide oléique et l'acide linoléique. Ces acides gras jouent un rôle important dans la composition lipidique de l'ortie. L'acide palmitique et l'acide stéarique sont des acides gras saturés, tandis que l'acide oléique et l'acide linoléique sont des acides gras insaturés. Chaque acide gras présente des caractéristiques et des effets spécifiques sur le métabolisme et la fonction du corps humain [21-25].

IV.2 Composition des tiges

La composition des tiges de l'ortie a été peu étudiée, contrairement aux feuilles, aux fruits et aux racines qui font l'objet de recherches plus fréquentes. Cependant, il a été mentionné que les tiges contiennent des acides gras similaires à ceux présents dans les feuilles. De plus, les tiges renferment également des composés phénoliques tels que, les flavonoïdes, les et les acides phénoliques [30].

IV.3 Composition des poils

Les poils présents sur les feuilles de l'*Urtica dioica* contiennent des composés tels que l'acétylcholine, l'histamine, la 5-hydroxytryptamine (sérotonine) et de faibles quantités de leucotriènes, qui sont responsables de l'effet piquant et brûlant lorsqu'ils entrent en contact avec la peau [31].

IV.4 Composition des fleurs

Les fleurs de l'ortie renferment divers composés tels que le sitostérol, le sitostérol glucoside et la scopolétine, comme l'ont démontré des études antérieures [25]. De plus, des glycosides de flavonols ont été identifiés dans les extraits méthanoliques des fleurs. Il a également été rapporté que les fleurs femelles de l'ortie contiennent de l'acide chlorogénique et de l'acide caféoyl-malique [24].

IV.5 Composition des graines

Il existe peu d'études dans la littérature portant sur les constituants ou la pharmacologie des graines d'ortie. Cependant, une analyse de la fraction lipidique des graines a révélé la présence d'une proportion élevée d'acides gras insaturés, principalement des acides gras palmitiques, ainsi qu'une faible quantité d'acides gras insaturés oméga-3 [28].

IV.6 Composition des racines

Les racines de l'ortie contiennent des lectines et des saccharides [29]. De plus, d'autres composés ont été identifiés dans les racines, tels que le sécoisolaricirésinol, les acides oléanolique et ursolique [34], ainsi que des acides gras tels que l'acide (9Z,11E)-13-hydroxy-9,11-octadécadiénoïque et le 14-octacosanol et les acides palmitoléique, oléique, gadoléique, linoléique, α -linoléique [25-34].

V Différents usages connus de l'ortie

L'ortie est une plante qui attire l'attention à la fois sur le plan scientifique et commercial en raison de sa capacité à produire de nombreux produits naturels à valeur ajoutée à partir de toutes ses parties, y compris les tiges, les feuilles, les racines et les graines. Le tableau 6 offre un résumé des principales utilisations de ces différentes parties de l'ortie [35].

Tableau 6 : Différents usages connus de l'ortie [35]

Domaine d'application	Utilisations	Parties de la plante
Textile/ fibre	Cordes et filets de pêche, tissus et papiers, tissus soyeux, colorant naturel, biocomposites.	Tissus fibreux des tiges, Extraits de racines et de feuilles pour les colorants
Médecine	Anémie, rhumatisme, goutte, eczéma, diurétique, hypoglycémie, hypotension, hyperplasie bénigne de la prostate, problèmes cardiovasculaires, arthrite, rhinite allergique, antioxydant, antimicrobien, antifongique, antiviral, antiulcéreux.	Feuilles, graines, racines, extraits aqueux et alcooliques.
Cosmétique	Savons, shampoings, lotions pour la peau.	Extrait de la plante
Alimentation	Salades, tartes, soupes, thé.	Feuilles et jeunes pousses.
Culture fourragère	Volaille, bovins, chevaux et oiseaux	Toute la plante

VI Usages traditionnel de l'ortie

L'ortie (*Urtica dioica*) est une plante utilisée traditionnellement pour divers problèmes de santé. Ses utilisations comprennent le traitement de l'ictère, des diarrhées, de la fatigue et du rhumatisme. Elle peut également être utilisée pour soulager les piqûres d'insectes et pour prendre soin du cuir chevelu. Les feuilles de l'ortie peuvent être utilisées sous forme de décoction, d'infusion ou d'application locale du suc de la plante fraîche écrasée [29]

VII Conclusion

L'ortie piquante (*Urtica dioica*) est une plante qui présente un potentiel important en tant que source de biomasse pour divers produits naturels. Ses applications prometteuses se situent notamment dans les domaines de l'alimentation humaine et animale, de la médecine, des cosmétiques et des fibres. Des recherches scientifiques ont démontré la présence de plusieurs composés actifs dans l'ortie piquante, ce qui justifie les utilisations traditionnelles de la plante dans la médecine populaire [35].

Chapitre III

Chapitre III

I Introduction

L'ortie est une plante médicinale qui est utilisée depuis des décennies pour traiter diverses maladies. Elle est riche en composés antioxydants, antimicrobiens, anti-inflammatoires...

Dans ce contexte, ce chapitre se concentre sur l'extraction par la technique de macération à l'éthanol et la caractérisation des principes actifs présents dans les feuilles d'ortie (*Urtica dioica* L). L'objectif de cette étude est de vérifier la présence des flavonoïdes et des alcaloïdes puis évaluer l'activité antioxydante de l'extrait. Pour ce faire, des analyses physico-chimiques, telles que la détermination de la densité, de l'indice de réfraction, de la conductivité électrique et du pH, sont effectuées. Un dépistage phytochimique est également réalisé pour identifier les différents groupes de composés chimiques présents dans l'extrait. En complément, des analyses quantitatives, telles que l'analyse UV-visible et la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), sont effectuées pour étudier les caractéristiques d'absorption et la composition chimique de l'extrait. Enfin, l'activité antioxydante de l'extrait est évaluée en utilisant le test DPPH.

II L'extraction des principes actifs des feuilles d'ortie (*Urtica dioica* L) par macération

II.1 Matériel végétal

La collecte de la plante *Urtica dioica* L a été réalisée au mois d'avril 2023 dans la région de la wilaya de Boumerdes. Les parties sélectionnées de la plante pour cette étude sont les feuilles fraîches. Afin de mener à bien cette recherche, les feuilles de l'espèce étudiée, *Urtica dioica* L, ont été soumises à une série d'étapes successives :

II.1.1 Lavage

Les feuilles d'*Urtica dioica* L, qui ont été récoltées, ont subi un lavage méticuleux à l'eau du robinet dans le but d'éliminer toute présence de contaminants, notamment les poussières fines. Ensuite, ces feuilles ont été délicatement rincées à l'aide d'eau distillée.

II.1.2 Séchage

Les feuilles fraîches d'*Urtica dioica* L, après avoir été soigneusement lavées, ont été séchées sur du papier absorbant à température ambiante, dans un environnement sec et à l'abri de l'humidité pendant plusieurs jours.

II.1.3 Broyage

Afin de maximiser la surface de contact avec le solvant utilisé, la matière végétale a été réduite en taille par broyage à l'aide d'un mixeur. Cette étape vise à faciliter une interaction optimale entre la matière végétale et le solvant. Par la suite, la poudre obtenue a été tamisée à l'aide d'un tamis de cuisine (Figure III.1).



Figure III. 1 : La poudre obtenue après le broyage et le tamisage

II.2 Solvant utilisé

Le solvant employé dans cette extraction est l'éthanol à 96° (C₂H₆O). Le choix de l'éthanol comme solvant pour cette procédure d'extraction repose sur sa faible toxicité, son respect à l'environnement et sur les résultats probants issus d'études antérieures, qui ont mis en évidence les capacités antioxydantes supérieures des extraits éthanoliques par rapport aux extraits méthanoliques et acétiques [36].

II.3 Mode opératoire

1^{er} étape : Macération

L'extraction des principes actifs à partir des feuilles de la plante *Urtica dioica* L. a été réalisée selon la méthode de macération en utilisant de l'éthanol à 96% comme solvant. Trois béciers de grande taille ont été préparés, chacun contenant une quantité précise de poudre d'ortie

correspondant à un volume de 100 mL et une masse de 3.050 g. Un volume de solvant trois fois supérieur à celui de la poudre a été ajouté à chaque bécher. Le mélange a été rigoureusement agité à l'aide d'une baguette en verre pour assurer une extraction complète des composés d'intérêt. Par la suite, les béchers ont été hermétiquement recouverts d'un film alimentaire suivi d'un papier aluminium afin de prévenir toute contamination externe et de minimiser l'exposition aux rayonnements indésirables. Les béchers ont ensuite été entreposés dans un environnement à l'abri de la lumière et de la chaleur, où ils ont été laissés en état de macération pendant une période de quatre semaines. Une agitation régulière du mélange a été effectuée tous les deux jours pour optimiser l'efficacité de l'extraction (Figure III.2).

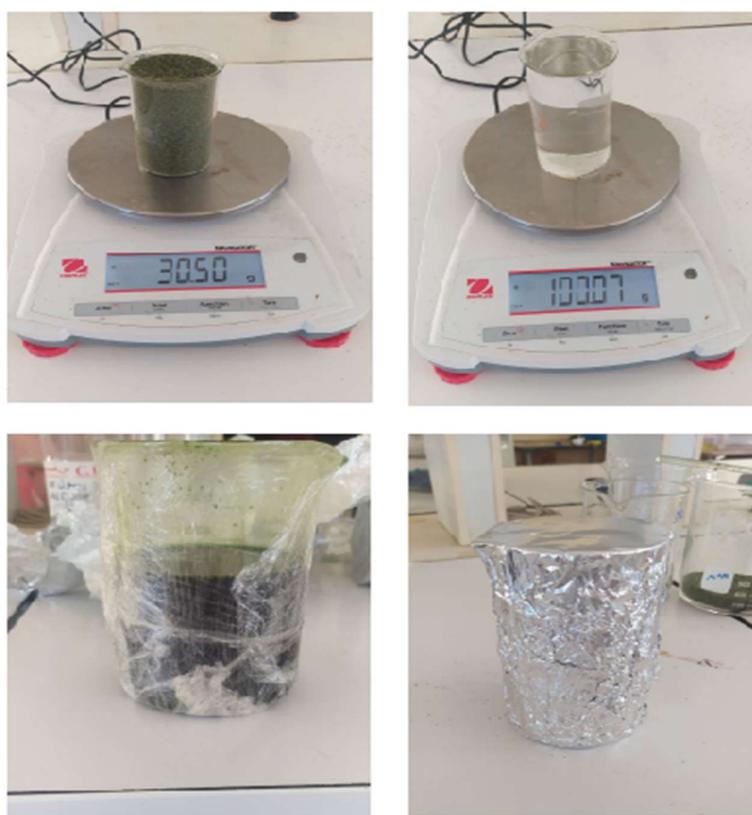


Figure III. 2 : Préparation d'extrait éthanolique des feuilles d'ortie par macération

2^{ème} étape : Filtration

Après les quatre semaines de macération, l'extrait obtenu a été filtré à l'aide d'un papier filtre et d'un entonnoir (Figure III.3).



Figure III. 3 : Filtration d'extrait éthanolique des feuilles d'ortie

3^{ème} étape : L'évaporation

Après filtration, le filtrat contenant les principes actifs a été soumis à un processus d'évaporation utilisant un évaporateur rotatif Buchi R-210. Les conditions de l'évaporation ont été fixées à une température de 60°C et une pression de 997 mbar (Figure III.4). Cette étape a permis de séparer et de retirer tout le solvant éthanol du mélange, laissant ainsi l'extrait aqueux en résultat. L'extrait aqueux a été récupéré après cette opération d'évaporation (Figure III.5).



Figure III. 4 : L'évaporateur Rotatif



Figure III. 5 : L'extrait aqueux.

III Calcul du rendement

Le rendement en extrait aqueux (R) est le ratio de la masse de l'extrait aqueux (m) par la masse de poudre utilisée (MT) [37], Dans ce travail, nous avons calculé le rendement pour un bécher. Le rendement, exprimé en pourcentage (%), est calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{m}{MT} \times 100$$

IV Les analyses physico-chimiques de l'extrait aqueux obtenu

IV.1 Les analyses physiques

IV.1.1 La densité relative

Pour mesurer la densité relative de notre extrait d'ortie, nous avons utilisé une éprouvette de 5 mL. Tout d'abord, nous avons pesé l'éprouvette vide sur une balance analytique KERN ALJ N/ALS_N (Figure 6) et nous l'avons tarée pour éliminer la masse de l'éprouvette elle-même. Ensuite, nous avons rempli l'éprouvette avec 5 mL d'eau distillée et nous avons mesuré la masse totale de l'éprouvette remplie d'eau. Après avoir vidé l'éprouvette et tarée à nouveau,

nous avons répété la même procédure en remplissant l'éprouvette avec 5 ml de notre extrait d'ortie et en mesurant la masse totale de l'éprouvette remplie d'extrait.

À partir de ces mesures, nous avons calculé la masse volumique de l'eau en divisant la masse de l'eau par son volume (5 mL). De même, nous avons calculé la masse volumique de l'extrait en divisant la masse de l'extrait par son volume (5 mL). Pour obtenir la densité relative de notre extrait par rapport à l'eau, nous avons divisé la masse volumique de l'extrait par la masse volumique de l'eau suivant la formule :

$$d = \frac{\rho_{ex}}{\rho_{eau}}$$

ρ_{ex} : la masse volumique de l'extrait.

ρ_{eau} : la masse volumique de l'eau.

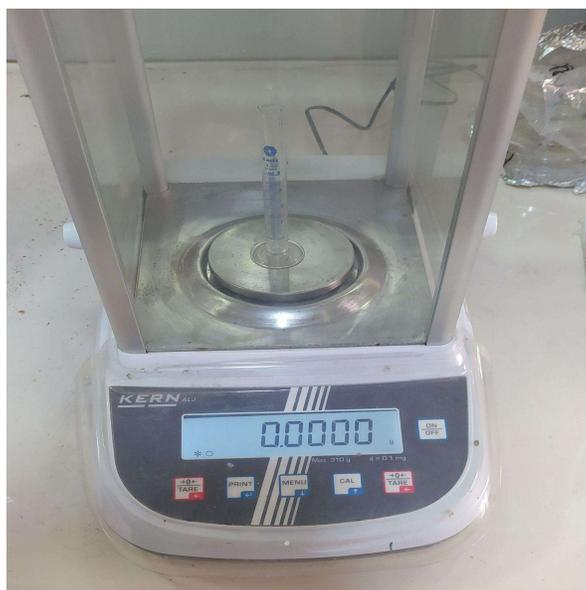


Figure III. 6 : La balance analytique

IV.1.2 Indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une substance est une grandeur adimensionnelle qui caractérise sa capacité à ralentir et dévier la lumière. Il est déterminé en calculant le rapport entre la vitesse de la lumière dans le vide et la vitesse de la lumière dans la substance [38]. Pour déterminer

l'indice de réfraction de notre extrait aqueux, nous avons utilisé un réfractomètre numérique Bellingham + Stanley RFM340, réglé à une température de 20 °C (Figure III.7).



Figure III. 7 : Le réfractomètre

IV.1.3 Conductivité électrique

Nous avons mesuré la conductivité électrique de l'extrait aqueux à l'aide d'un conductimètre portable Mettler Toledo S7-USP/EP (Figure III.8).



Figure III. 8 : Le conductimètre portable

IV.2 Les analyses chimiques

IV.2.1 Le potentiel hydrogène (PH)

Le pH est une mesure de l'activité chimique des ions H^+ (protons) dans une solution, et il est utilisé pour évaluer l'acidité ou l'alcalinité de cette solution. À 25°C, une solution est considérée comme neutre si son pH est égal à 7. Si le pH est inférieur à 7, la solution est acide (et plus le pH est bas, plus la solution est acide). Si le pH est supérieur à 7, la solution est basique (ou alcaline) [39]. Nous avons mesuré le pH de notre extrait à l'aide d'un pH-mètre SensION+ pH3 (Figure III.9).



Figure III. 9 : Le pH-mètre

V Le screening phytochimique

Le screening phytochimique, également appelé criblage phytochimique, est une analyse phytochimique qualitative utilisée pour identifier les différents groupes de composés chimiques présents dans les extraits de plantes tels que (glycosides, alcaloïdes, tanins, saponines, terpénoïdes, glucides, flavonoïdes et phénols...). Cette analyse repose sur des réactions colorimétriques spécifiques qui permettent d'observer des changements de couleur caractéristiques en présence de ces composés [40]. Dans notre étude, nous avons réalisé des tests spécifiques pour détecter la présence de flavonoïdes et d'alcaloïdes dans l'extrait. Malheureusement, nous n'avons pas pu effectuer les autres tests en raison de l'indisponibilité des réactifs nécessaires.

V.1 Test des flavonoïdes

Dans un bécher, nous avons ajouté 2 g de l'extrait aqueux et nous avons ensuite ajouté 10 mL d'acide chlorhydrique concentré (37%). Le mélange a été chauffé à feu doux pendant 30 minutes. Après refroidissement, nous avons ajouté 50 mL d'éthanol à 70% et nous avons laissé le mélange macérer pendant 24 heures à température ambiante. Ensuite, nous avons filtré le mélange à l'aide d'un papier filtre Whatman n° 1 et nous avons recueilli le filtrat. Enfin, nous avons ajouté quelques gouttes de solution de NaOH à 10% et une petite quantité de solution de MgCl₂ à 5% (Figure III.15) [41].

V.2 Test des alcaloïdes

Dans un tube à essai, nous avons ajouté une petite quantité d'extrait aqueux, puis nous avons ajouté une goutte d'acide sulfurique concentré. Le mélange a été chauffé à l'aide d'un bain-marie jusqu'à ce qu'il bouillonne. Ensuite, nous avons laissé le mélange refroidir et nous avons ajouté quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 10% et nous avons agité vigoureusement. Ensuite, nous avons ajouté 2 mL de chloroforme et nous avons agité à nouveau. Nous avons laissé le tube à essai reposer pour permettre la séparation des deux phases. Enfin, nous avons récupéré la couche de chloroforme à l'aide d'une petite seringue et nous avons évaporé le chloroforme à l'aide d'un bain-marie (Figure III.16)

VI Les analyses quantitatives

VI.1 Uv-visible

Nous avons procédé à la détermination du spectre d'absorption de notre extrait aqueux, préalablement dilué avec de l'éthanol absolu, dans la plage du domaine UV-visible en utilisant un spectrophotomètre Shimadzu UV-1800 (Figure III.10).

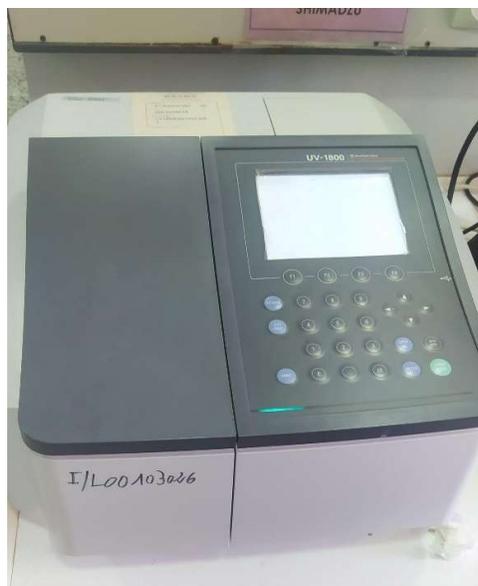


Figure III. 10 : Le spectromètre UV-visible

VI.2 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est une méthode analytique largement utilisée pour étudier la structure et la composition des molécules. Elle repose sur l'absorption de la lumière infrarouge par les liaisons chimiques d'une molécule, ce qui permet d'obtenir des informations sur les vibrations moléculaires et les groupes fonctionnels présents [42].

Dans notre étude, nous avons utilisé un spectromètre Spectrum Two FT-IR pour déterminer le spectre de transmittance de notre extrait aqueux d'ortie dans le domaine infrarouge de 700 à 4000 nm. Cette analyse nous a permis d'obtenir des informations sur les vibrations des liaisons chimiques présentes dans l'extrait et sur les groupes fonctionnels caractéristiques.

En analysant le spectre de transmittance, nous avons pu identifier les bandes d'absorption spécifiques correspondant à différents groupes fonctionnels tels que les liaisons C-H, O-H et

C=O. Ces informations nous ont permis de caractériser la composition chimique de notre extrait et d'identifier les molécules actives présentes.

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier est une technique puissante car elle fournit une empreinte caractéristique de la molécule étudiée. Les positions et les intensités des bandes d'absorption dans le spectre peuvent être utilisées pour identifier et caractériser les composés chimiques présents dans l'échantillon.

En conclusion, l'utilisation de la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier nous a permis d'obtenir des informations détaillées sur la composition chimique de notre extrait aqueux d'ortie. Cette méthode analytique est précieuse pour comprendre la structure moléculaire et les propriétés des composés présents dans les échantillons.



Figure III. 11 : Le spectromètre IR

VII Etude biologique : Détermination expérimentale de l'Activité antioxydante

VII.1 Principe de test DPPH

Le test DPPH est utilisé pour évaluer l'activité antioxydante en mesurant la réduction du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). Ce radical DPPH est stable et présente une forte absorbance à 517 nm, donnant une couleur violette caractéristique. Lorsqu'un antioxydant réagit avec le radical DPPH, les électrons non appariés du radical DPPH sont transférés au composé antioxydant. Cette nouvelle forme de radical a une absorbance plus faible en raison de la diminution du nombre d'électrons non appariés, ce qui entraîne une décoloration de la

solution, passant du violet au jaune pâle. Cette décoloration est indicative de l'activité antioxydante de l'échantillon testé, car elle reflète la capacité de l'antioxydant à neutraliser les radicaux libres. Ainsi, plus la décoloration est importante, plus l'activité antioxydante de l'échantillon est élevée [43] (Figure III.12).

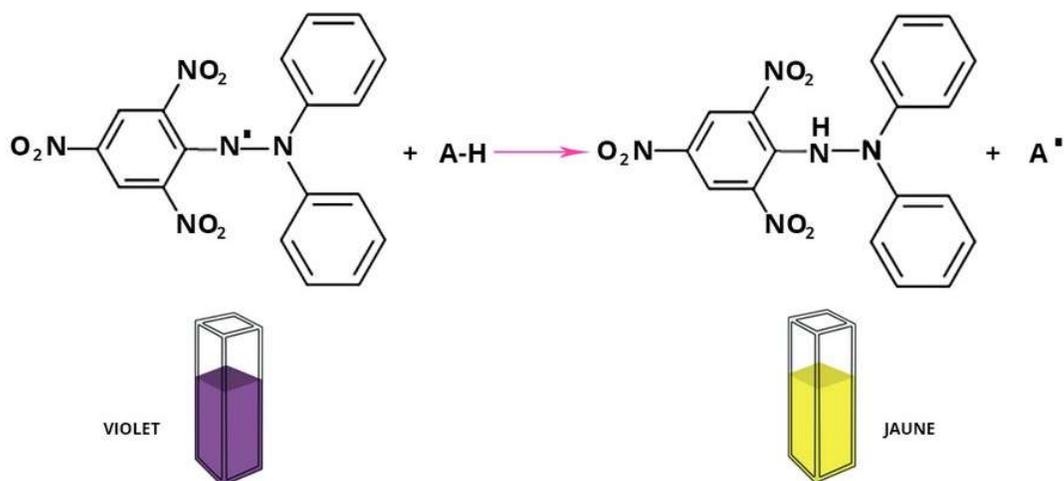


Figure III. 12 : Principe de test de DPPH [44]

VII.2 Préparation des solutions

Nous avons préparé une solution de DPPH en dissolvant 4 mg de DPPH dans 100 mL d'éthanol. Cette solution a été conservée à l'abri de la lumière et à une température fraîche pendant une période de 2 heures. Par la suite, une solution mère a été préparée en incorporant 50 mg de l'extrait aqueux dans 50 mL d'éthanol. À partir de cette solution mère, plusieurs solutions filles de concentrations différentes ont été préparées en effectuant des dilutions avec l'éthanol. Toutes ces solutions ont été soigneusement stockées dans l'obscurité et à une température fraîche.

VII.3 Mesure des absorbances

Nous avons introduit 4 mL de solution de DPPH dans une cuve en quartz avec un trajet optique de 1 cm. À l'aide d'un spectrophotomètre Shimadzu UV-1800 réglé à une longueur d'onde de 517 nm, nous avons mesuré l'absorbance de la solution témoin (Figure III.13). Ensuite nous avons préparé différentes solutions d'extrait avec des concentrations variables.

Dans le but d'étudier l'inhibition du DPPH par notre extrait, nous avons préparé des mélanges en combinant 1 mL de chaque solution d'extrait préparée avec 3 mL de la solution

DPPH. Ensuite, nous avons mesuré l'absorbance de ces mélanges en utilisant la même méthode que celle utilisée pour mesurer l'absorbance de la solution témoin (Figure III.14).



Figure III. 13 : Mesure de l'absorbance de la solution témoin



Figure III. 14 : Les mélanges préparés

VII.4 Calcul des pourcentages d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition (%) du radical libre DPPH a été calculé avec la formule suivante [45] :

$$PI\% = \frac{A_{\text{témoin}} - A_E}{A_{\text{témoin}}} \times 100$$

PI% : Pourcentage d'inhibition exprimé en (%).

$A_{\text{témoin}}$: Absorbance de la solution de DPPH sans extrait.

A_E : Absorbance de la solution de DPPH avec extrait.

VII.5 Détermination de la concentration efficace (IC50)

L'IC50 représente la concentration requise pour réduire de 50% la présence du radical DPPH●, ou pour obtenir 50% de l'activité antioxydante maximale. Une valeur d'IC50 plus faible indique une activité plus importante de l'extrait testé [46].

VII.6 Détermination du pouvoir anti-radicalaire (APR)

Le pouvoir anti-radicalaire relatif (APR) d'un extrait est inversement proportionnel à sa concentration efficace IC50. En d'autres termes, plus la valeur de l'IC50 est petite, plus le pouvoir antiradicalaire de l'extrait est élevé [47]. Par conséquent, un APR élevé indique une forte capacité de l'extrait à neutraliser les radicaux libres et à exercer une activité antioxydante.

VIII Résultats et discussions

VIII.1 Calcul de rendement

Le rendement de cette extraction, qui est de 42,09%, indique la proportion d'extrait aqueux obtenue par rapport à la quantité initiale de poudre végétale utilisée. Ce résultat témoigne de l'efficacité de la méthode d'extraction par macération avec de l'éthanol à 96° comme solvant pour obtenir un extrait aqueux riche en principes actifs et minéraux présents dans les feuilles d'ortie à partir de la poudre végétale étudiée.

Ces résultats sont significatifs car ils démontrent la capacité de cette méthode d'extraction à isoler les composés souhaités de la plante et à obtenir un rendement satisfaisant.

VIII.2 Les analyses physico-chimiques de l'extrait aqueux obtenu

VIII.2.1 Les analyses physiques

VIII.2.1.1 La densité relative

La densité relative de notre extrait d'ortie à une température de 25,3 °C est de 0,9049.

VIII.2.1.2 L'indice de réfraction

L'indice de réfraction de notre extrait, mesuré à l'aide d'un réfractomètre numérique Bellingham + Stanley RFM340 réglé à une température de 20 °C, est de 1.3796. Cette valeur est en accord avec celle obtenue dans l'étude menée par BOUGAR & KOURMI en 2016 [48] sur un extrait similaire. De plus, l'indice de réfraction de notre extrait est supérieur à celui de l'eau distillée à 20 °C (1.333) [49], ce qui indique la présence de composants dans notre extrait qui dévient la lumière polarisée.

VIII.2.1.3 Conductivité électrique

En utilisant le conductimètre portable Mettler Toledo S7-USP/EP, nous avons mesuré la conductivité de notre extrait, qui s'élève à 2641 µS/cm (microsiemens par centimètre). Cette

valeur témoinne d'une conductivité relativement élevée de notre extrait, suggérant la présence probable de composés ioniques ou de sels dissous dans l'extrait.

VIII.2.2 Les analyses chimiques

VIII.2.2.1 Le potentiel hydrogène (pH)

La valeur de pH de notre extrait, mesurée à l'aide d'un pH-mètre SensION+ pH3, est de 6,62. Cette valeur indique que notre extrait est légèrement acide, avec une tendance vers la neutralité. Cette valeur est similaire à celle obtenue dans l'étude menée par [50] sur un extrait similaire.

VIII.3 Le screening phytochimique

VIII.3.1 Test des flavonoïdes

Le changement de couleur vers le rouge (Figure III.15) lors du test des flavonoïdes utilisé indique la présence potentielle de flavonoïdes dans notre extrait.



Figure III. 15 : Le test des flavonoïdes

VIII.3.2 Test des alcaloïdes

La substance restante à la fin du test des alcaloïdes présente une couleur vert jaunâtre et une odeur et texture caractéristiques (Figure III.16), cela peut suggérer la présence d'alcaloïdes dans notre extrait.

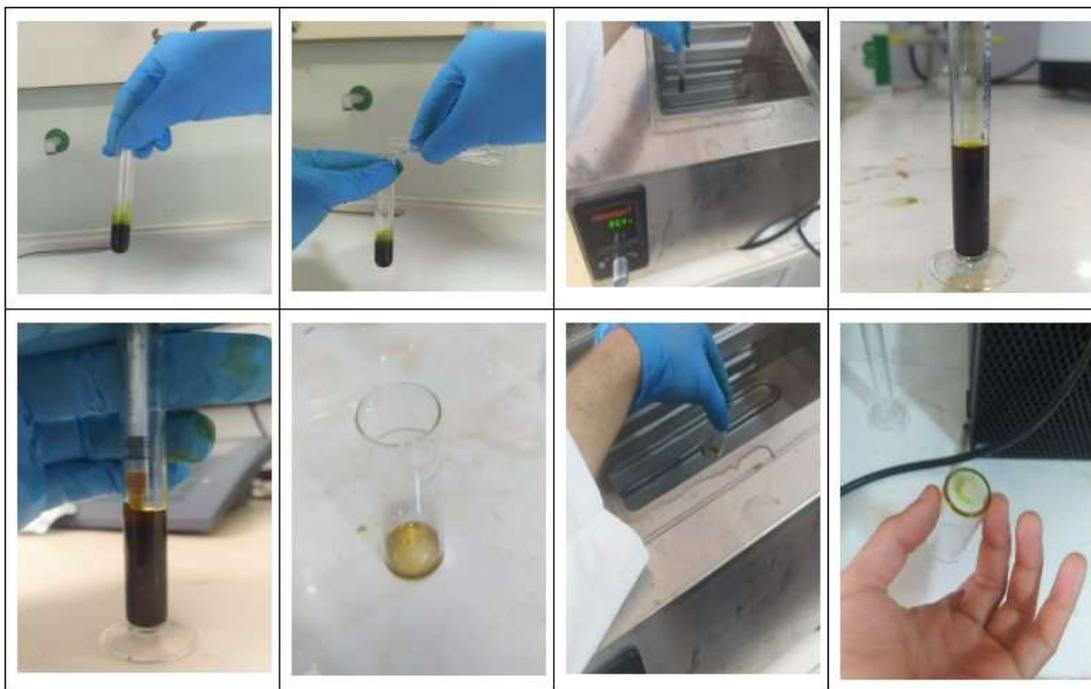


Figure III. 16 : Le test des alcaloïdes

VIII.4 Les analyses quantitatives

VIII.4.1 UV-visible

Le Tableau 7 regroupe les résultats d'absorbance de l'extrait dilué dans la plage du domaine UV-visible, enregistrés à l'aide du spectrophotomètre Shimadzu UV-1800

Tableau 7: Les longueurs d'onde (exprimées en nm) et les valeurs d'absorption correspondantes pour notre extrait dilué dans la plage du domaine UV-visible

longueur d'onde (nm)	Absorbance	longueur d'onde (nm)	Absorbance
664,00	2,734	619,00	0,828
614,50	0,829	551,00	0,442
534,00	0,611	521,50	0,511
413,00	3,932	366,00	3,391

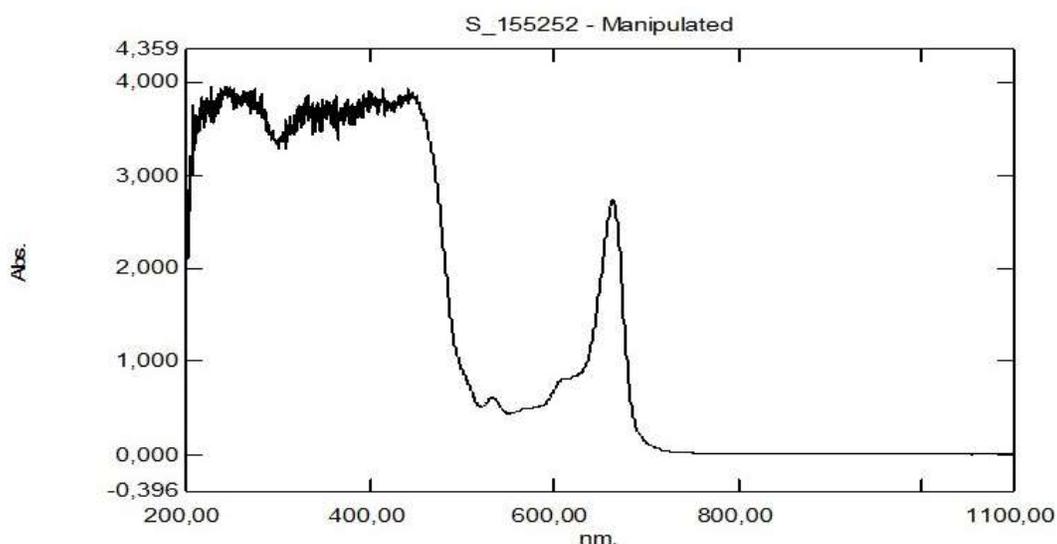


Figure III. 17 : Le spectre d'absorption dans le domaine UV-visible de l'extrait dilué

Les résultats du spectre d'absorption de notre extrait indiquent que des composés spécifiques présents dans celui-ci absorbent la lumière à différentes longueurs d'onde. Plus précisément :

- L'absorbance élevée à 366 nm correspond généralement aux flavonoïdes, ce qui est en accord avec les travaux de référence menés par Mabry et al. (2012) [51].
- Les absorbances élevées à 664 nm et 413 nm sont attribuées aux pigments, en particulier à la chlorophylle. Ces résultats sont cohérents avec les études de Lichtenthaler et Buschmann (2001) [52].

VIII.4.2 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Le spectre de transmittance de notre extrait, dans le domaine infrarouge, est reporté sur la Figure III.18, qui a été obtenu à l'aide d'un spectromètre Spectrum Two FT-IR.

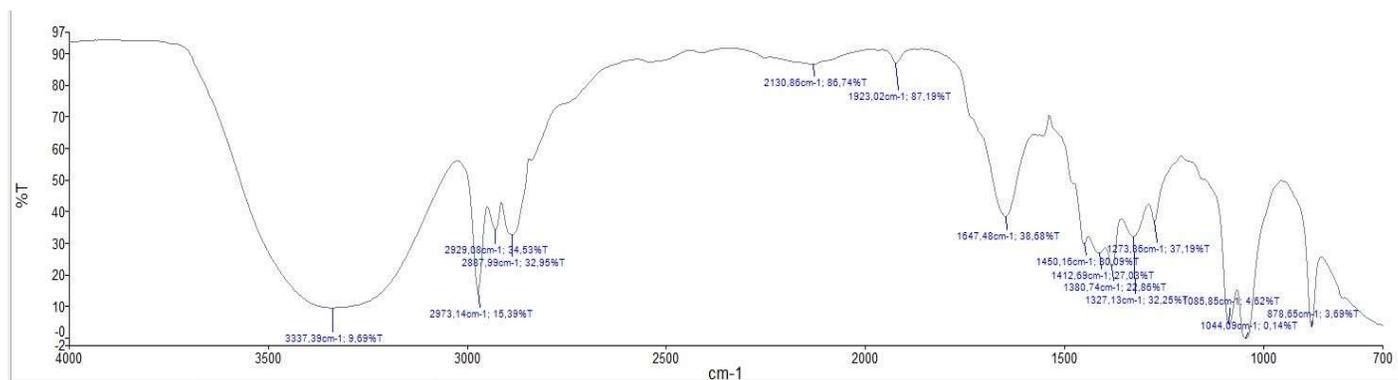


Figure III. 18 : Le spectre de transmittance (%) de notre extrait en fonction de nombres d'onde (cm^{-1}) dans le domaine IR

Tableau 8 : Table de pics de transmittance en spectroscopie infrarouge (IR)

Numéro de pic	Nombre d'ondes (cm^{-1})	Transmittance (%)	Numéro de pic	Nombre d'ondes (cm^{-1})	Transmittance (%)
1	3337,39	9,69	9	1412,69	27,03
2	2973,14	15,39	10	1380,74	22,86
3	2929,08	34,53	11	1327,13	32,25
4	2887,99	32,95	12	1273,36	37,19
5	2130,86	86,74	13	1085,85	4,62
6	1923,02	87,19	14	1044,09	0,14
7	1647,48	38,68	15	878,65	3,69
8	1450,16	30,09			

L'analyse des résultats obtenus par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) met en évidence la présence de polyphénols dans l'extrait d'ortie étudié. La bande large observée à $3337,39\text{ cm}^{-1}$, correspondant à la vibration de l'hydroxyle (O-H) des phénols, indique la présence de groupes phénoliques dans la structure moléculaire.

De plus, les bandes observées à $1647,48\text{ cm}^{-1}$ et $1923,02\text{ cm}^{-1}$, attribuées à la présence de groupes carbonyle (C=O), suggèrent la présence de motifs caractéristiques des flavonoïdes.

Les bandes identifiées à $1085,85\text{ cm}^{-1}$ et $1044,09\text{ cm}^{-1}$, correspondantes à des liaisons éthers (C-O-C), renforcent l'hypothèse de la présence de flavonoïdes dans l'extrait étudié, ces motifs étant fréquemment retrouvés dans cette classe de composés.

Enfin, la bande observée à $878,65\text{ cm}^{-1}$, attribuée à des liaisons C-H des groupes aromatiques, complète le profil spectroscopique de l'extrait d'ortie.

Ces résultats confirment ainsi la présence de polyphénols tels que les flavonoïdes dans l'extrait d'ortie, ce qui est cohérent avec les caractéristiques chimiques attendues de cette plante. Néanmoins, l'analyse FTIR ne permet pas de déterminer directement la présence d'alcaloïdes dans l'extrait d'ortie, en raison de l'absence de vibrations caractéristiques d'amides ($1500\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$) et d'azote ($1000\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$).

VIII.5 Détermination expérimentale de l'activité antioxydante

Les résultats obtenus sont répertoriés dans le tableau 9, où chaque concentration de l'extrait est associée à son pourcentage d'inhibition correspondant. Ces données nous permettent de déterminer l'activité antioxydante de l'extrait d'ortie à différentes concentrations et de comparer son efficacité dans l'inhibition du DPPH.

Tableau 9 : Pourcentage d'inhibition de chaque concentration

Concentration (mg/mL)	Pourcentage d'inhibition (%)
1	79,11
0,4	75,80
0,16	67,01
0,064	44,42
0,0256	23,53
0,01024	17,95

Les résultats obtenus démontrent que l'extrait d'ortie présente une activité antioxydante significative, avec un pourcentage d'inhibition qui varie en fonction de la concentration. À une concentration de 1 mg/mL, nous avons observé un pourcentage d'inhibition de 79,11%, indiquant une forte capacité de l'extrait à réduire le radical DPPH•. À des concentrations plus faibles, le pourcentage d'inhibition diminue progressivement, atteignant 17,95% à une concentration de 0,01024 mg/mL. Ces résultats soulignent l'efficacité de l'extrait d'ortie en tant qu'agent antioxydant naturel.

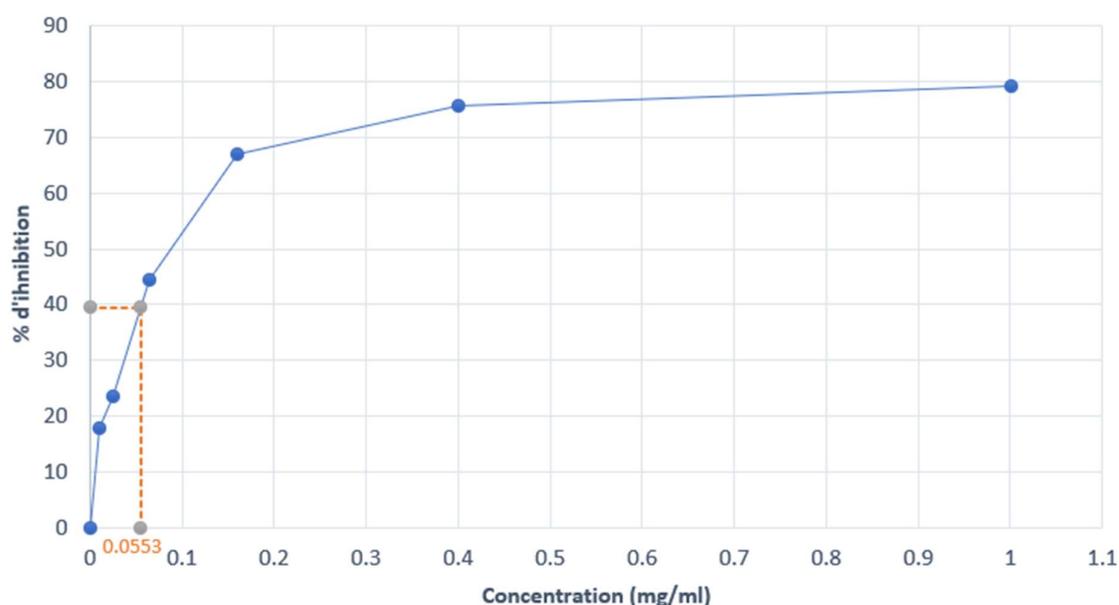


Figure III. 19 : Courbe de pourcentage d'inhibition (%) en fonction de concentration (mg/mL)

VIII.5.1 Détermination de la concentration efficace (IC50)

La concentration efficace à 50% d'activité antioxydante maximale (IC50) de notre extrait d'ortie a été déterminée graphiquement (Figure III.19) et s'est révélée être de 0,0553 mg/mL. Cette valeur témoigne d'une capacité antioxydante significative de l'extrait. Il est intéressant de noter que cette valeur est inférieure à celle obtenue dans une étude antérieure menée en Iran par Kharé et al. (2012) [53].

VIII.5.2 Détermination du pouvoir anti-radicalaire (APR)

Le pouvoir anti-radicalaire relatif (APR) est inversement proportionnel à la concentration efficace IC₅₀, ce qui signifie que plus la valeur de l'IC₅₀ est petite, plus le pouvoir antiradicalaire de l'extrait est élevé [47]. Dans notre cas, à partir de la valeur de l'IC₅₀ de 0,0553 mg/mL, nous avons calculé un APR de 18,08 mL/mg pour notre extrait. Cette valeur témoigne d'un pouvoir antiradicalaire élevé de notre extrait.

IX Conclusion

L'extraction des principes actifs des feuilles d'*Urtica dioica* L. par macération à froid dans de l'éthanol s'est avérée être une méthode efficace, avec un rendement satisfaisant. Les analyses physicochimiques réalisées sur l'extrait sec (après évaporation de l'éthanol) ont permis de caractériser plusieurs propriétés de celui-ci.

Tout d'abord, le pH, la densité, l'indice de réfraction et la conductivité de l'extrait sec indiquent la présence de substances qui modifient la polarisation de la lumière et la présence d'ions, ainsi qu'une faible teneur en substances à caractère acide.

Le screening phytochimique de l'extrait sec a révélé la présence d'alcaloïdes et de flavonoïdes. De plus, les analyses par spectroscopie infrarouge (IR) et ultraviolet-visible (UV-visible) ont confirmé la présence de flavonoïdes, de chlorophylle et d'autres substances dans l'extrait.

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait par le Test de DPPH a montré un IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50 %) égal à 0,0553 mg/mL, indiquant une forte teneur en substances capables de piéger les radicaux libres DPPH et donc une capacité antioxydante élevée.

Ces résultats suggèrent que l'extrait d'*Urtica dioica* L. obtenu par macération à froid dans de l'éthanol est riche en principes actifs, tels que les flavonoïdes et les alcaloïdes, qui sont connus pour leurs propriétés bénéfiques pour la santé. Son fort pouvoir antioxydant peut contribuer à la protection contre les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme.

Chapitre IV

Chapitre IV

I Introduction

L'utilisation de plantes médicinales pour le traitement de diverses maladies est une pratique ancienne qui continue de susciter l'intérêt de la communauté scientifique [4]. Selon les études, l'ortie (*Urtica dioica L*) est une plante médicinale largement utilisée dans différentes traditions médicales en raison de ses propriétés potentielles anti-inflammatoires, anticancéreuses et antioxydantes [54]. Cependant, l'identification précise des principes actifs responsables de ces activités thérapeutiques reste un défi à relever [55].

Dans ce chapitre, notre objectif est de mener une étude bioinformatique des principes actifs présents dans l'extrait d'ortie et de comprendre leur interaction avec les cibles biologiques impliquées dans le stress oxydatif et dans l'inflammation à savoir la cyclooxygénase-2 (COX-2) et la NADPH oxydase (NOX). La COX-2 est une enzyme clé impliquée dans la synthèse des prostaglandines inflammatoires, tandis que la NADPH oxydase (NOX) joue un rôle crucial dans la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) responsables de plusieurs maladies [56-57].

Dans cette optique, nous avons réalisé un criblage virtuel court en utilisant le logiciel iGEMDOCK [58], sur les différents principes actifs de l'ortie afin de déterminer ceux ayant des activités anti-inflammatoire et antioxydante les plus importantes. Les résultats ont été visualisés à l'aide du logiciel Discovery Studio Visualization 2016 [67].

II I. Etat actuel des connaissances sur les cibles biologiques étudiées

II.1 I. 1. Les NADPH oxydases (Nox)

Les NADPH oxydases, également connues sous le nom de Nox, sont des protéines présentes au niveau des membranes cellulaires qui ont pour principale fonction de réduire l'oxygène moléculaire pour produire l'anion superoxyde $O_2^{\circ-}$. Cette réaction conduit à la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) hautement toxiques et oxydantes [59]. Il est important de noter que les ROS sont produites en excès dans les maladies chroniques, les pathologies liées au vieillissement et le stress oxydatif. De plus, les ROS jouent un rôle crucial dans le développement de nombreuses maladies, telles que le cancer, l'arthrose, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, le diabète et les maladies cardiovasculaires. Par

conséquent, l'inhibition de la protéine Nox pourrait être une approche prometteuse pour limiter la production de ROS [60].

II.2 La cyclooxygénase (COX)

La cyclooxygénase (COX) est une enzyme clé impliquée dans la synthèse des prostaglandines, des médiateurs inflammatoires. Elle existe sous deux isoformes, COX-1 et COX-2, qui jouent des rôles différents dans l'organisme. La COX-1 est constitutivement exprimée et est impliquée dans des fonctions physiologiques telles que la protection de la muqueuse gastrique et la régulation de la fonction rénale. La COX-2, quant à elle, est induite en réponse à des stimuli inflammatoires et joue un rôle clé dans la médiation de l'inflammation et de la douleur. La COX-2 a suscité un intérêt particulier en tant que cible thérapeutique en raison de son implication dans les processus inflammatoires et sa surexpression dans de nombreuses maladies, notamment le cancer. Les inhibiteurs de la COX-2 sont des médicaments qui bloquent sélectivement l'activité de cette enzyme, réduisant ainsi la production de prostaglandines inflammatoires [56].

III Méthodologie suivie

III.1 Structures de départ

III.1.1 Préparation des cibles

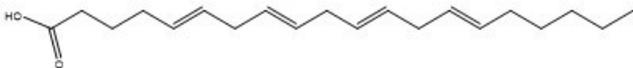
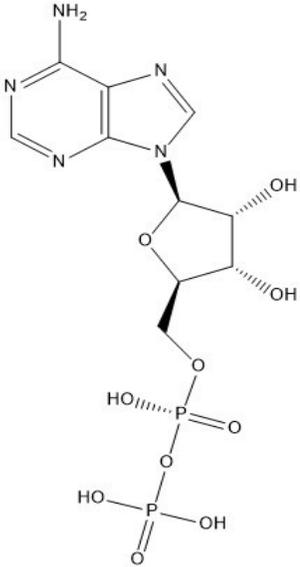
Les coordonnées des protéines COX-2, NOX ont été obtenues à partir de structures cristallographiques disponibles dans la banque de données des protéines (PDB : Protein Data Bank). Pour notre étude, nous avons sélectionné les structures codées 1CVU et 2CDU, avec des résolutions de 2,40 Å et 1,80 Å respectivement. Ces structures correspondent aux complexes COX-2/ACD et NOX/ADP. Une seule chaîne de chaque structure (1CVU et 2CDU) a été sélectionnée, excluant les molécules d'eau et le ligand, afin de mener les calculs de criblage virtuel. Après avoir retiré le ligand, les hydrogènes manquants ont été ajoutés. Tous les résidus situés à une distance inférieure à 8 Å du centre du ligand expérimental, formant ainsi le site actif de la cible, ont été pris en compte. Les caractéristiques des cibles biologiques étudiées sont répertoriées dans le tableau 10.

Tableau 10 : Caractéristiques des cibles biologiques étudiées ainsi que leurs ligands expérimentaux [68-69]

Cible	Code PDB	Nombre de chaînes	Résolution (Å)	Nombre d'acide aminés de la chaîne A	Ligand expérimental
Cyclooxygénase-2 (COX-2)	1CVU	2 chaînes (A, B)	2.40	550	ACD
NADPH oxydase (NOX)	2CDU	2 chaînes (A, B)	1,80	451	ADP

Les structures chimiques ainsi que les codes des ligands expérimentaux de chaque cible sont données dans le Tableau 11.

Tableau 11 : Structures des ligands expérimentaux [68-69]

Cible	Ligand expérimental	Structure 2D de ligand expérimental
Cyclooxygénase-2 (COX-2)	ACD	
NADPH Oxydase (NOX)	ADP	

III.1.2 Préparation des structures des principes actifs

Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisé le logiciel ChemDraw 20.0 pour dessiner les structures des principes actifs de l'ortie, telles qu'identifiées dans la littérature scientifique. Les structures ont été enregistrées au format SDF (Structure-Data File) afin de faciliter leur manipulation ultérieure.

Par la suite, nous avons utilisé le logiciel Chem3D pour procéder à une optimisation géométrique des structures en utilisant un champ de force MM2 (Molecular Mechanics 2). Cette étape avait pour objectif de minimiser l'énergie et de relaxer les molécules, en assurant une meilleure conformité structurelle.

Une fois les structures optimisées obtenues, nous les avons enregistrées au format PDB (Protein Data Bank). Ce format standardisé est largement utilisé dans le domaine de la biologie

structurale pour stocker les informations sur les structures moléculaires tridimensionnelles [61].

Ce processus de modélisation et d'optimisation des structures moléculaires de l'ortie à l'aide des logiciels ChemDraw, Chem3D et le champ de force MM2 nous permet de disposer de représentations précises et conformes des principes actifs de cette plante, prêtes à être utilisées dans des études ultérieures.

III.1.3 Protocole de criblage virtuel

En utilisant l'interface graphique iGEMDOCK [58], nous avons effectué un criblage virtuel en utilisant la fonction de drug screening. Les paramètres utilisés comprenaient une population de 200 unités, 70 générations et la recherche de 3 solutions. Nous avons commencé par insérer la cible biologique dans le système. Par la suite, nous avons ajouté les structures des principes actifs (ligands) sous forme de fichiers PDB (Figure IV.1). Enfin, nous avons lancé le calcul en utilisant le même protocole pour les deux cibles étudiées.

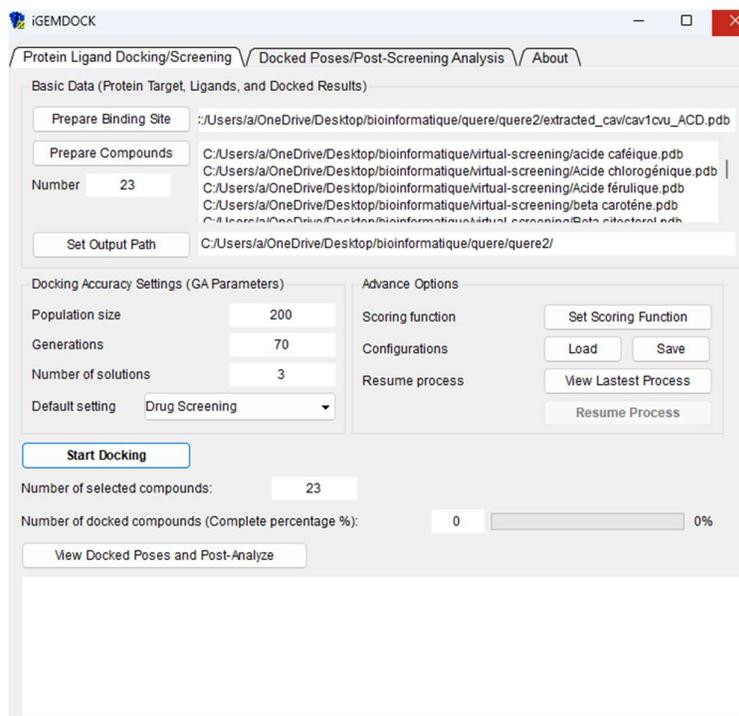


Figure IV. 1 : l'interface graphique iGEMDOCK.

IV Résultats et discussions

Les calculs de criblage virtuel ont généré, pour chaque cible et ligand, trois complexes contenant des conformations différentes des principes actifs dans les sites actifs des cibles étudiées (1 CVU, 2 CDU). Ces complexes ont été classés par ordre croissant d'énergie à l'aide du logiciel iGEMDOCK. La visualisation de ces conformations a été réalisée à l'aide du logiciel Discovery Studio 2016 Client. Les meilleures conformations correspondant aux ligands naringine, kaempférol et quercétine ont été identifiées, car elles s'insèrent de manière efficace dans les sites actifs des cibles étudiées. De plus, ces conformations présentent les énergies les plus faibles lors de la formation des complexes, ce qui suggère une forte affinité entre les ligands et les cibles biologiques.

Nous avons procédé à une analyse approfondie des différents modes de liaison prédits par nos calculs pour les ligands naringine, kaempférol et quercétine avec les deux cibles étudiées. Pour déterminer le meilleur mode de liaison, nous avons pris en considération plusieurs critères importants. Tout d'abord, nous avons évalué le nombre de liaisons hydrogène formées entre les ligands et les cibles, car ces liaisons sont cruciales pour la stabilité des complexes ligand-cible. Ensuite, nous avons examiné le nombre de liaisons hydrophobes, qui contribuent à l'ancrage et à la stabilité du complexe en favorisant les interactions entre les parties non polaires des ligands et des cibles. Enfin, nous avons pris en compte le nombre d'interactions π , qui sont des interactions non covalentes impliquant les orbitales π des ligands et des résidus de la cible [62]. En combinant ces différents critères, nous avons identifié le mode de liaison le plus favorable pour chaque ligand avec les cibles étudiées. Nous exposerons, dans ce qui suit, nos résultats pour chacune des cibles étudiées.

Partie A : NADPH oxydase (NOX)

Dans ce travail, nous avons réalisé les calculs de criblage avec la cible NADPH oxydase (NOX), protéine responsable de la production des espèces radicalaires ROS (reactive oxygen species) qui sont à l'origine de plusieurs maladies. Les résultats des calculs ont révélé que les principes actifs kaempférol, quercétine et naringine présentaient une affinité élevée avec le site actif de la cible NOX. Ces composés ont démontré leur capacité à se lier et à interagir efficacement avec la cible, ce qui suggère leur potentiel en tant qu'inhibiteurs de l'activité biologique de la cible NOX. Ces observations sont en accord avec les activités anti-oxydantes observées expérimentalement avec l'extrait d'ortie, qui contient ces principes actifs.

I Visualisation des conformations obtenues

I.1 Visualisation des conformations du kaempférol obtenues

La visualisation des différentes conformations du kaempférol obtenues à partir des calculs de criblage virtuel a révélé qu'elles se superposent bien sur la structure du ligand expérimental (ADP) (Figure IV.2). L'analyse des résultats révèle que la conformation 1 du kaempférol, obtenue à partir des calculs de criblage virtuel, présente un plus grand nombre d'interactions favorables avec les acides aminés du site actif de la NOX. De plus, cette conformation affiche la plus faible énergie de liaison entre la kaempférol et la NOX.

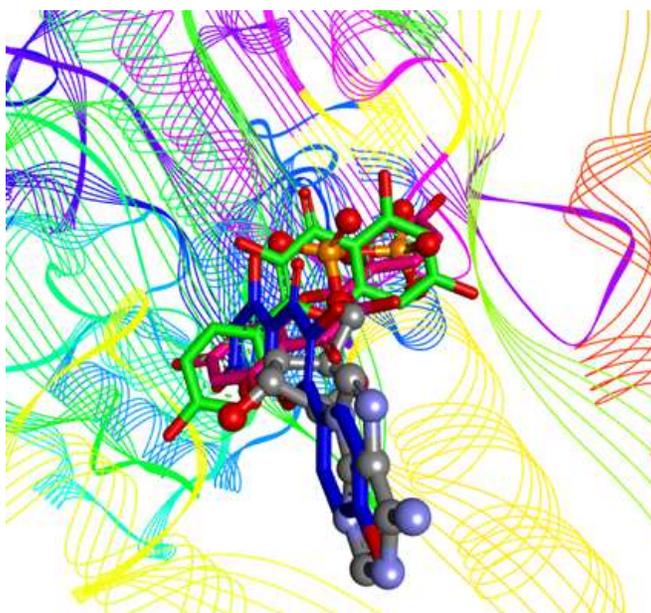


Figure IV. 2 : superposition des conformations de kaempférol issues du criblage, représentée en stick colorées, et celle du ligand expérimental (ADP), représentée en balles et stick gris. Le backbone de la protéine est représenté en ribbons lignes (colorées)

I. 2. Visualisation des conformations du naringine obtenues

La visualisation des différentes conformations du naringine obtenues à partir des calculs de criblage virtuel a révélé qu'elles se superposent bien sur la structure du ligand expérimental (ADP) (Figure IV.3). L'analyse des résultats révèle que la conformation 2 du naringine, obtenue à partir des calculs de criblage virtuel, présente un plus grand nombre d'interactions favorables avec les acides aminés du site actif de la NOX.

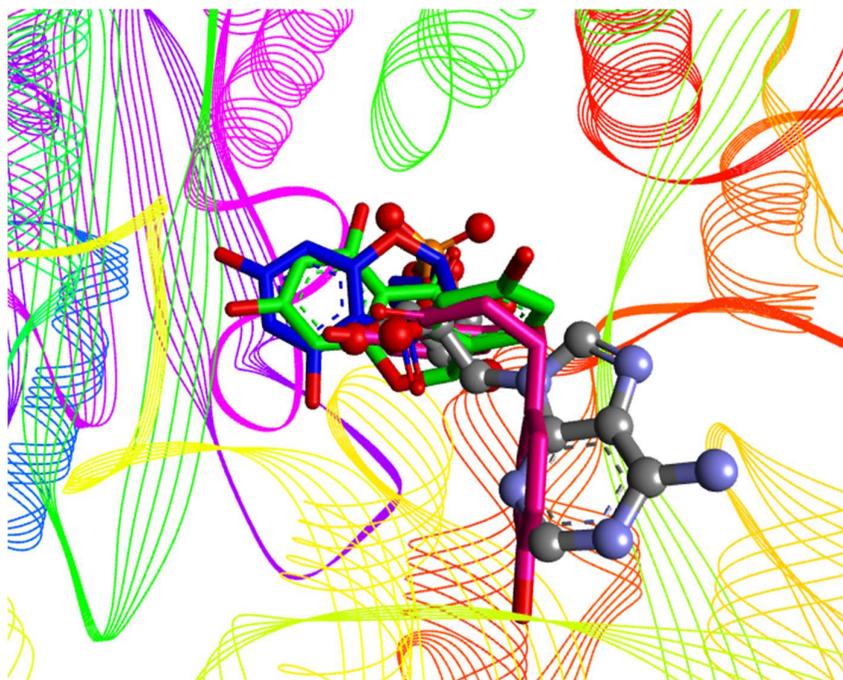


Figure IV. 3 : *superposition des conformations de naringine issues du criblage, représenté en stick colorées, et celle du ligand expérimental (ADP), représentée en balles et stick gris. Le backbone de la protéine est représenté en ribbons lignes (colorées)*

I.2 Visualisation des conformations du quercétine obtenues

La visualisation des différentes conformations de la quercétine obtenues à partir des calculs de criblage virtuel a révélé qu'elles se superposent bien sur la structure du ligand expérimental (ADP) (Figure IV.4). L'analyse des résultats révèle que la conformation 0 du quercétine, obtenue à partir des calculs de criblage virtuel, présente un plus grand nombre d'interactions favorables avec les acides aminés du site actif de la NOX. De plus, cette conformation affiche la plus faible énergie de liaison entre la quercétine et la NOX.

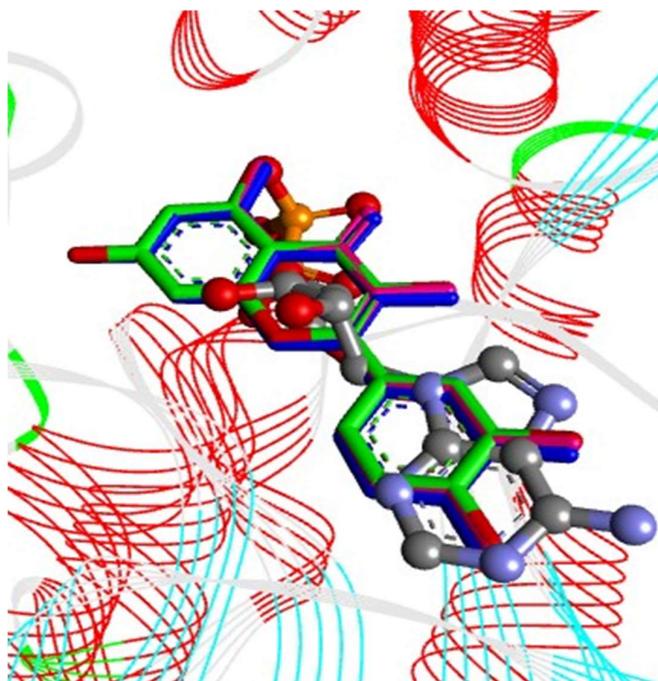


Figure IV. 4 : superposition des conformations de quercétine issues du criblage, représenté en stick colorées, et celle du ligand expérimental (ADP), représentée en balles et stick gris. Le backbone de la protéine est représenté en ribbons lignes (colorées)

II Les modes de liaisons

II.1 Mode de liaisons de kaempférol

Dans le mode de liaison bioactif de kaempférol avec la NOX, le noyau chromen-4-one et le cycle phénolique interagissent avec les résidus hydrophobes Gly244, Gly242, Gly180, Asp179, Gly156, Gly158 et Tyr159, permettant des interactions hydrophobes favorables. La Lysine (Lys187), grâce à son groupement NH_2 de la chaîne latérale, est impliquée dans des interactions hydrophobes de type π -Cation avec les deux cycle du noyau chromen-4-one de kaempférol (Figure IV.5 et Tableau 4). Le cycle imidazole de la chaîne latérale de l'acide aminé His181 se trouve à une distance (4.01\AA) du cycle aromatique du noyau chromen-4-one de **kaempférol** conduisant à une interaction hydrophobe de type π - π T-shaped. De plus, les résidus Ile243 et Lys213 sont impliqués dans des interactions favorables de type π -sigma et π -alkyle, respectivement (Figure IV.5 et Tableau 12).

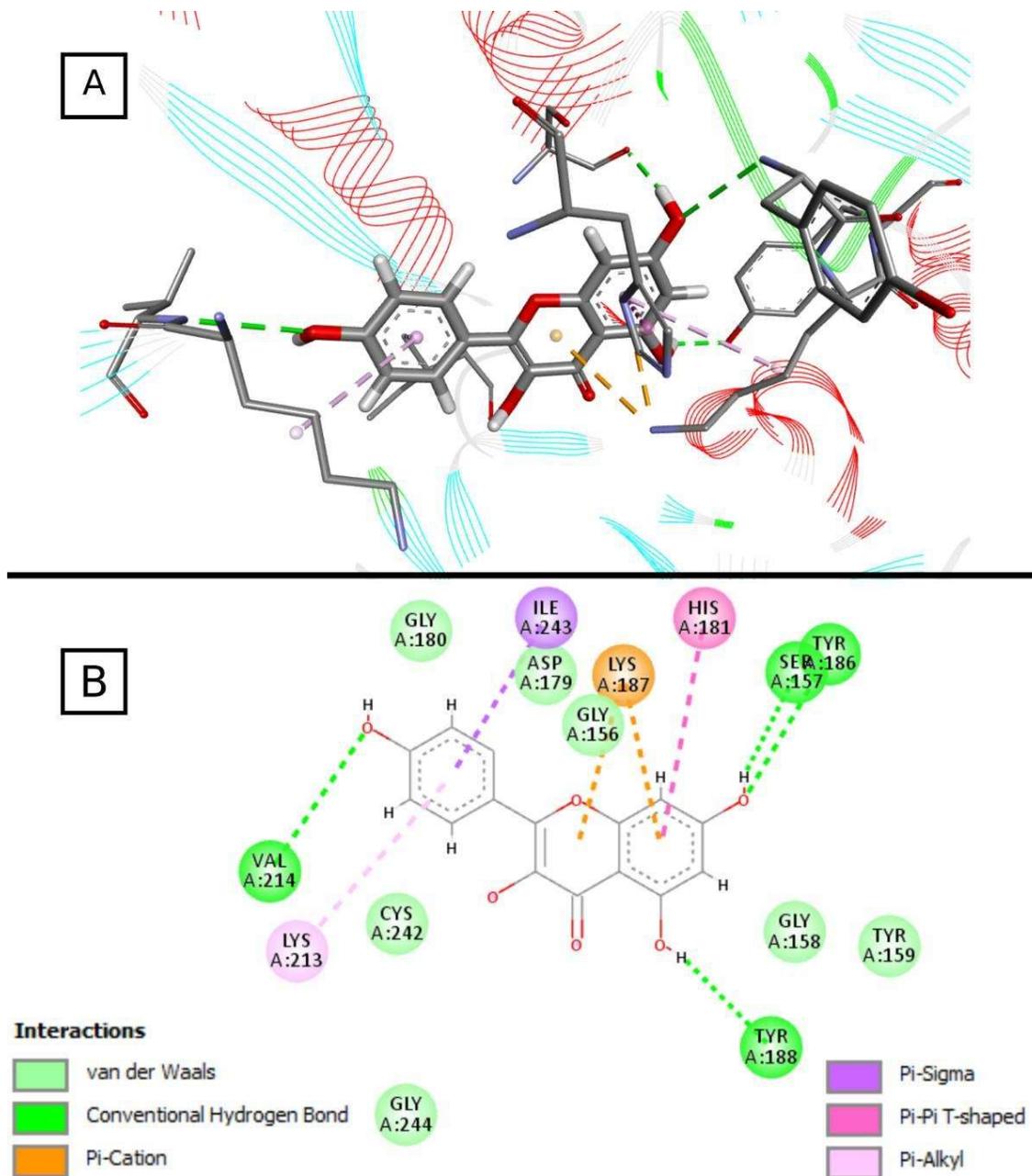


Figure IV. 5 : Représentation A- 3D et B- 2D du mode de liaison de kaempférol dans le site actif de la NOX

L'oxygène du groupement hydroxyle (OH) en position 7 du noyau chromen-4-one de kaempférol se trouve à une distance $d=3,01 \text{ \AA}$ de OH du cycle phényle de l'acide aminé Tyr186 et à une distance $d=2,04 \text{ \AA}$ du groupe hydroxyle de la chaîne latérale de l'acide aminé SER157 conduisant à des interactions favorables de type liaison hydrogène. De plus, L'oxygène du

groupement hydroxyle (OH) en position 5 du noyau chromen-4-one de kaempférol forme une liaison hydrogène avec OH du cycle phényle de l'acide aminé TYR188 ($d=2,38 \text{ \AA}$). Une autre liaison hydrogène est observée entre l'hydrogène du groupement NH_2 de l'acide aminé VAL214 et l'oxygène de la fonction OH du cycle phényle de kaempférol ($d(\text{H-O})=3,29 \text{ \AA}$).

Tableau 12 : Energie de liaison (kJ/mol), Liaisons hydrogène, interactions favorables entre kaempférol et la NOX

Liaisons hydrogène	Autres interactions	Energie de liaison (kJ/mol)
1. TYR188 (OH) : (OH) en position 5 de kaempférol $d(\text{O-H})=2,38 \text{ \AA}$ 2. TYR186 (NH_2): (OH) en position 7 de kaempférol $d(\text{O-H})=3,01 \text{ \AA}$ 3. VAL214 (NH) : (OH) en position 4' de kaempférol $d(\text{O-H})=3,29 \text{ \AA}$ 4. SER157(C=O) : (OH) en position 7 de kaempférol $d(\text{O-H})=2,04 \text{ \AA}$	Van der Waals : GLY180, GLY156, GLY158, GLY244, ASP179, TYR159, CYS242 π-Cation : LYS187 (NH_2) et kaempférol (cycle C) $d=3,95 \text{ \AA}$ LYS187 (NH_2) et kaempférol (cycle A) $d=3,97 \text{ \AA}$ π-sigma : ILE243 et kaempférol (cycle B) $d=3,69 \text{ \AA}$ π-π T-shaped : HIS181 et kaempférol (cycle A) $d=5,03 \text{ \AA}$ π-alkyl : LYS213 et kaempférol (cycle B) $d=4,95 \text{ \AA}$ LYS187 et kaempférol (cycle A) $d=4,69 \text{ \AA}$	-103

II.2 Mode de liaisons de quercétine

Dans le mode de liaison bioactif de la quercétine avec la NOX, le noyau chromen-4-one et le cycle phénolique interagissent avec certains résidus hydrophobes tels que ILE122, ILE178, ILE155, GLY244, GLY158, GLY180, GLY156, LEU241, LEU210, LEU185, PHE245, TYR159, ARG183, VAL184, VAL214, ASP179 et GYS242, permettant des interactions hydrophobes favorables. De plus, grâce à son groupement NH_2 de la chaîne latérale, la Lys187 est impliquée dans des interactions hydrophobes de type π -alkyl avec le cycle phényle du noyau chromen-4-one de la quercétine (Figure IV.6 et Tableau 13).

Le cycle imidazole de la chaîne latérale de l'acide aminé His181 et le cycle phényle de la SER157 sont également impliqués dans des interactions hydrophobes favorables de type amide π -Stacked et π - π T-shaped, respectivement, avec le cycle phényle du noyau chromen-4-one de la quercétine. De plus, les résidus LYS213 et ILE243 participent à des interactions favorables de type Pi-alkyl et pi-sigma, respectivement, avec le noyau phényle de la quercétine.

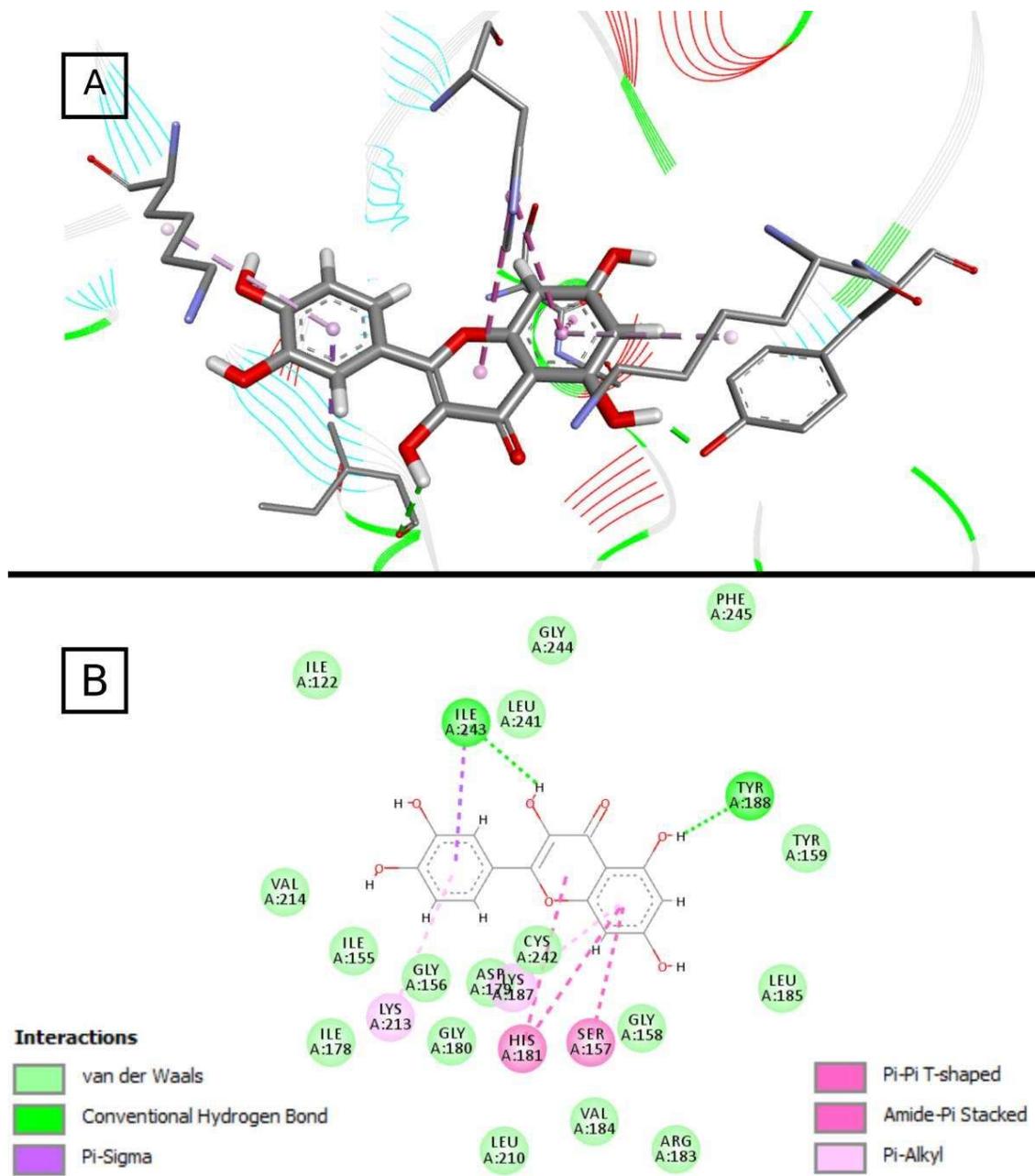


Figure IV. 6 : Représentation A- 3D et B- 2D du mode de liaison de quercétine dans le site actif de la NOX

L'oxygène du groupement hydroxyle (OH) en position 3 du noyau chromen-4-one de la quercétine est à une distance de 2,39 Å du groupement carbonyle (C=O) du backbone de l'acide aminé ILE243, ce qui entraîne des interactions favorables de type liaison hydrogène. De plus, l'oxygène du groupement hydroxyle (OH) en position 5 du noyau chromen-4-one de la quercétine forme une liaison hydrogène avec l'OH du cycle phényle de l'acide aminé TYR188 avec une distance de 1,75 Å.

Tableau 13 : Energie de liaison (kJ/mol), Liaisons hydrogène, interactions favorables entre quercétine et la NOX

Liaisons hydrogène	Autres interactions	Energie de liaison (kJ/mol)
1. ILE243 (C=O) : (OH) en position 3 de quercétine $d(O-H)=2,39\text{Å}$ 2. TYR188 (OH) : (OH) en position 5 de quercétine $d(H-O)=1,75\text{Å}$ 3. ILE243 (C=O) : (OH) en position 3 de quercétine $d(O-H)=2,39\text{Å}$ 4. TYR188 (OH) : (OH) en position 5 de quercétine $d(H-O)=1,75\text{Å}$	Van der Waals : ILE122, ILE178, ILE155, GLY244, GLY158, GLY180, GLY156, LEU241, LEU210, LEU185, PHE245, TYR159, ARG183, VAL184, VAL214, ASP179, GYS242 π-Alkyl : LYS213 et quercétine (cycle B) $d=5,07\text{Å}$ LYS187 et quercétine (cycle A) $d=5,13\text{Å}$ π-Sigma : ILE243 et quercétine (cycle B) $d=3,61\text{Å}$ π-π T-shaped : HIS181 et quercétine (cycle A) $d=4,56\text{Å}$ HIS181 et quercétine (cycle C) $d=5,19\text{Å}$ Amide-π Stacked : SER158 et quercétine (cycle A) $d=4,25\text{Å}$	-105,6

II.3 Mode de liaisons de naringine

Dans le mode de liaison bioactif de la naringine avec la NOX, il y a une interaction entre le noyau chromen-4-one et le cycle phénolique avec certains résidus hydrophobes tels que HIS181, GLY158, GLY156, GLY180, GLY244, LYS213, ASP179, PHE245, TYR159, ILE160 et CYS242, permettant des interactions hydrophobes favorables. De plus, la Lys187, grâce à son groupement NH_2 de la chaîne latérale, participe à des interactions hydrophobes de

type π -Cation avec le noyau chromen-4-one et le cycle phényle de la naringine (Figure IV.7 et Tableau 14). La chaîne aliphatique du résidu ILE243 se trouve également à proximité du cycle phényle de la naringine, ce qui permet des interactions favorables de type π -alkyl. Par ailleurs, la fonction amide du backbone de la SER157 est en proximité du noyau chromen-4-one, créant ainsi des interactions du type Amide- π Stacked.

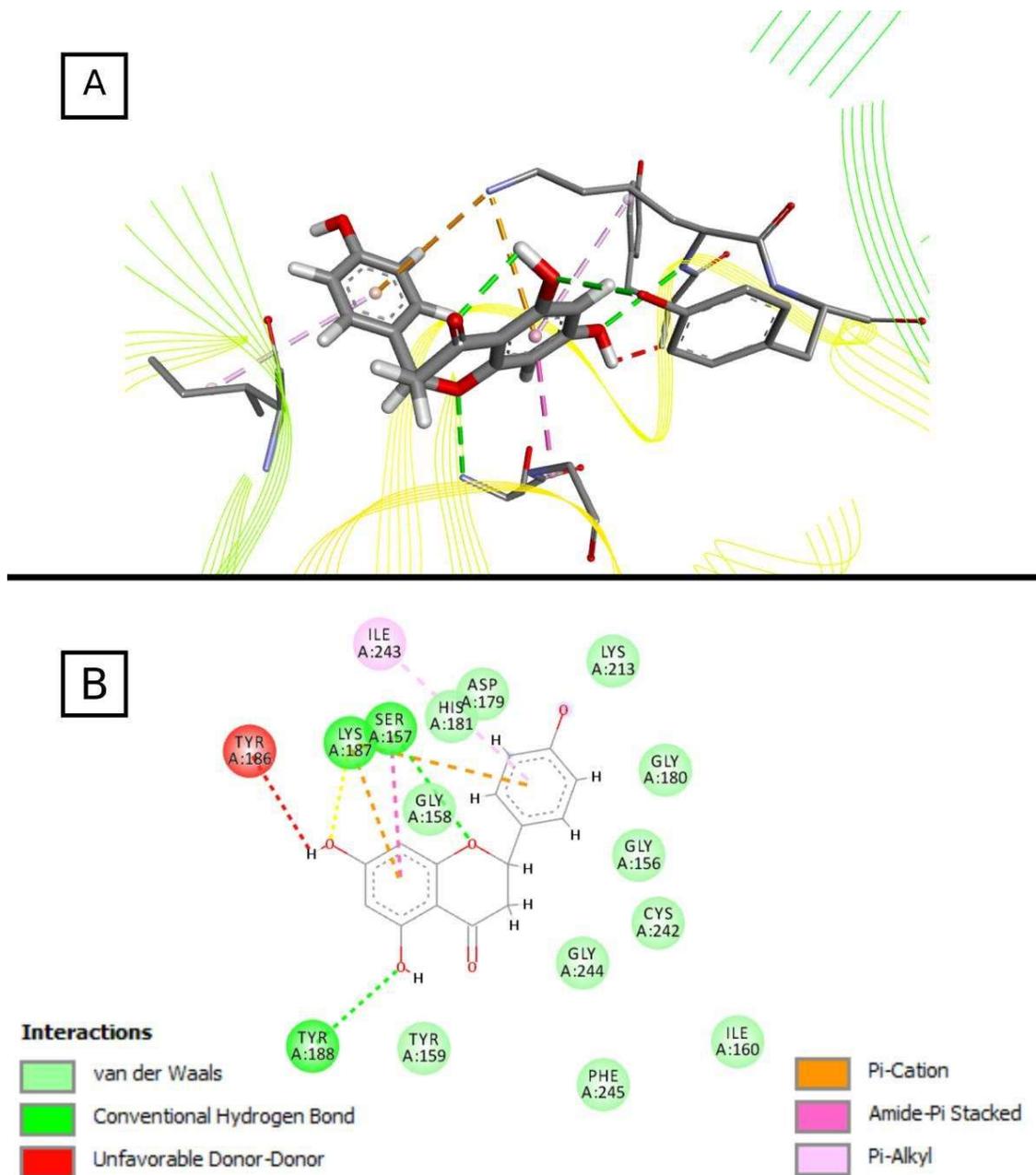


Figure IV. 7 : Représentation A- 3D et B- 2D du mode de liaison de naringine dans le site actif de la NOX

Le groupement hydroxyle (OH) en position 7 du noyau chromen-4-one de la naringine est à une distance de 3,01 Å de l'atome d'azote du backbone de l'acide aminé LYS187, ce qui entraîne une interaction favorable de type liaison hydrogène. De plus, l'oxygène du noyau chromen-4-one de la naringine forme une liaison hydrogène avec le groupe OH de la chaîne latérale du SER157 ($d = 2,99 \text{ \AA}$). Une autre liaison hydrogène est observée entre le groupement OH de la chaîne latérale de l'acide aminé TYR188 et l'oxygène de la fonction OH en position 5 du noyau chromen-4-one de la naringine avec une distance $d(\text{H-O})$ de 2,79 Å.

Néanmoins, une interaction défavorable a été enregistrée entre le groupement hydroxyle de l'eugénol et la fonction amine du backbone de l'acide aminé TYR186. Ce mauvais contact est probablement due à la grosse taille de la structure de la naringine, nécessitant ainsi plus d'espace au sein du site actif. Rappelons que nous avons effectué un docking semi-flexible, c'est-à-dire qu'aucune flexibilité n'a été permise pour la cible.

Tableau 14 : Energie de liaison (kJ/mol), Liaisons hydrogène, interactions favorables entre naringine et la NOX

Liaisons hydrogène	Autres interactions	Energie de liaison (kJ/mol)
1. LYS187 (NH) : (OH) en position 7 de naringine $d(\text{H-O})=3,10\text{\AA}$ 2. SER157 (NH ₂) : (O) en position 1 de naringine $d(\text{H-O})=2,99\text{\AA}$ 3. TYR188 (OH) : (OH) en position 5 de naringine $d(\text{O-H})=2,79\text{\AA}$	Van der Waals : HIS181, GLY158, GLY156, GLY180, GLY244, LYS213, ASP179, PHE245, TYR159, ILE160, CYS242 π-Alkyl : ILE243 et naringine (cycle B) $d=5,33\text{\AA}$ LYS187 et naringine (cycle A) $d=4,51\text{\AA}$ π-Cation : LYS187 (NH ₂) et naringine (cycle B) $d=4,56\text{\AA}$ LYS187 (NH ₂) et naringine (cycle A) $d=4,19\text{\AA}$ Amide-π stacked : SER157 et naringine (cycle A) $d=3,99\text{\AA}$	-98,6

Les résultats obtenus mettent en évidence les résidus pertinents impliqués dans la liaison des trois flavonoïdes étudiés, à savoir le kaempférol, la quercétine et la naringine, avec les acides aminés du site actif de la NOX. Ces résidus stabilisent les complexes formés entre

les ligands et la NOX, comme le montrent les énergies de docking calculées négatives. Ces observations permettent d'interpréter les activités antioxydantes que nous avons expérimentalement observées.

Partie B : La protéine cyclooxygénase 2

La cyclooxygénase-2 (COX-2) est une enzyme qui joue un rôle clé dans la voie de synthèse des prostaglandines, des médiateurs inflammatoires. Elle est impliquée dans de nombreux processus biologiques, tels que l'inflammation, la douleur et la réponse immunitaire [63]. En raison de son rôle dans la médiation de l'inflammation, la COX-2 est une cible d'intérêt dans le développement de médicaments anti-inflammatoires et anticancéreux. Les inhibiteurs de la COX-2 sont des médicaments qui bloquent sélectivement l'activité de cette enzyme, réduisant ainsi la production de prostaglandines inflammatoires. Ces inhibiteurs ont été largement utilisés pour traiter la douleur, l'inflammation et certaines formes de cancer [64-64-66].

Dans le cadre de cette étude, nous avons réalisé des calculs de criblage avec la cible COX-2. Les résultats obtenus ont révélé que les principes actifs kaempférol, quercétine et naringine présentaient une forte affinité pour le site actif de la cible COX-2. Ces composés ont démontré leur capacité à se lier et à interagir de manière efficace avec la cible, ce qui suggère qu'ils pourraient agir comme inhibiteurs de l'activité biologique de la cible COX-2. Ces résultats mettent en évidence le potentiel de ces principes actifs en tant que candidats prometteurs pour le développement de molécules ciblant la COX-2.

I Visualisation des conformations obtenues

I.1 Visualisation des conformations du kaempférol obtenues

La visualisation des différentes conformations du kaempférol issues des calculs de criblage virtuel a permis de constater une bonne superposition avec la structure du ligand expérimental (ACD) (Figure IV.8). L'analyse approfondie des résultats a révélé que la conformation 2 du kaempférol, obtenue lors du criblage virtuel, présentait un nombre plus élevé d'interactions favorables avec les acides aminés du site actif de la COX-2. De plus, cette conformation affichait la plus faible énergie de liaison entre le kaempférol et la COX-2.

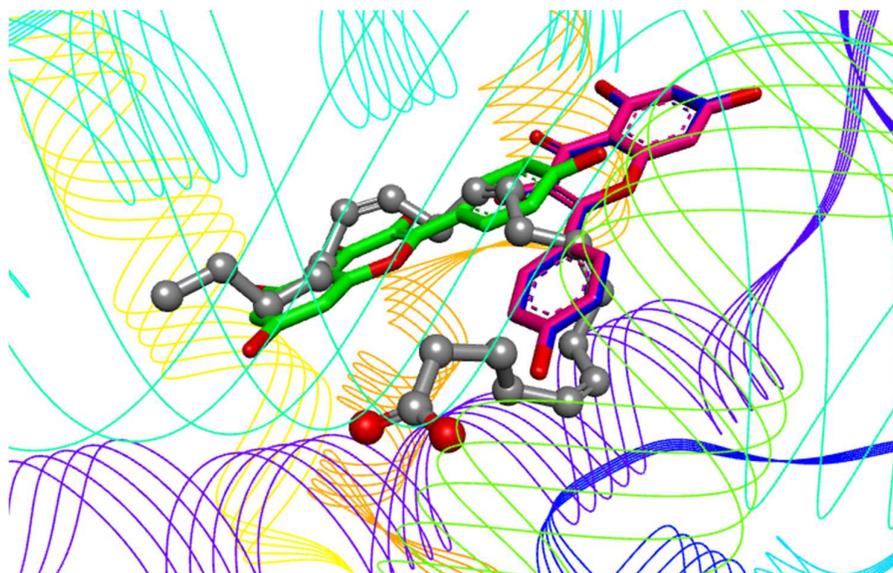


Figure IV. 8 : *superposition des conformations de kaempférol issues du criblage, représentée en stick colorées, et celle du ligand expérimental (ACD), représentée en balles et stick gris. Le backbone de la protéine est représenté en ribbons lignes (colorées)*

I.2 Visualisation des conformations du naringine obtenues

La visualisation des différentes conformations du naringine obtenues à partir des calculs de criblage virtuel a permis d'observer une bonne superposition avec la structure du ligand expérimental (ACD) (Figure IV.9). L'analyse approfondie des résultats a révélé que la conformation 1 du naringine, issue du criblage virtuel, présentait un plus grand nombre d'interactions favorables avec les acides aminés du site actif de la COX-2. De plus, cette conformation affichait la plus faible énergie de liaison entre le naringine et la COX-2. Ces observations suggèrent que la conformation 1 du naringine est plus susceptible d'interagir efficacement avec la COX-2 et de présenter une activité inhibitrice potentiellement élevée.

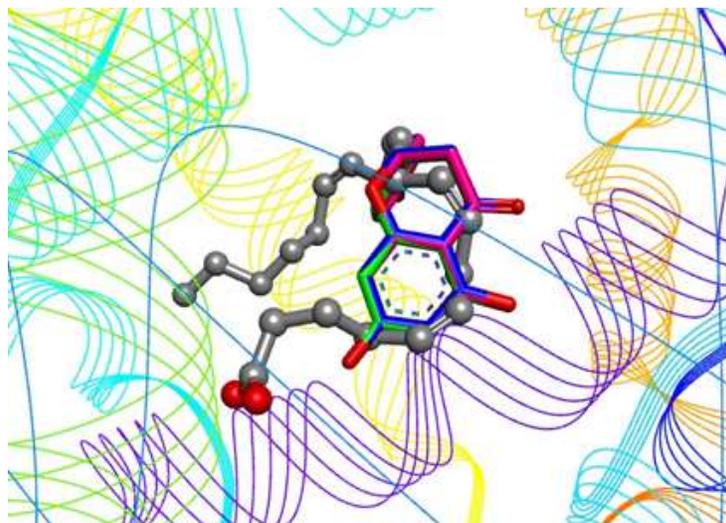


Figure IV. 9 : *superposition des conformations de naringine issues du criblage, représentée en stick colorées, et celle du ligand expérimental (ACD), représentée en balles et stick gris. Le backbone de la protéine est représenté en ribbons lignes (colorées)*

I.3 Visualisation des conformations de la quercétine obtenues

La visualisation des différentes conformations de la quercétine obtenues à partir des calculs de criblage virtuel a révélé une bonne superposition avec la structure du ligand expérimental (ACD) (Figure IV.10). L'analyse approfondie des résultats a montré que la conformation 0 de la quercétine, issue du criblage virtuel, présentait un plus grand nombre d'interactions favorables avec les acides aminés du site actif de la COX-2. De plus, cette conformation présentait la plus faible énergie de liaison entre la quercétine et la COX-2. Ces observations suggèrent que la conformation 1 de la quercétine est susceptible d'interagir de manière efficace avec la COX-2 et de présenter une activité inhibitrice potentiellement élevée.

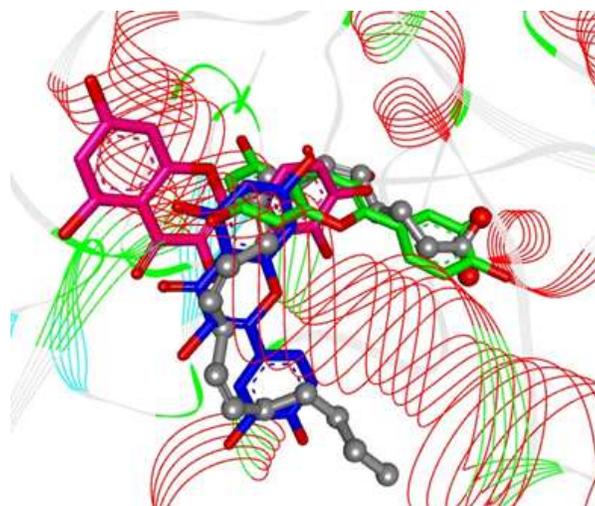


Figure IV. 10 : superposition des conformations de quercétine issues du criblage avec le ligand expérimental (ACD), représentée en stick colorées, et celle du ligand expérimental, représentée en balles et stick gris. Le backbone de la protéine est représenté en ribb

II Les modes de liaisons

II.1 Mode de liaisons de kaempférol

Dans le mode de liaison bioactif de kaempférol avec la COX-2, il y a une interaction entre le noyau chromen-4-one et le cycle phénolique avec certains résidus hydrophobes tels que GLN192, PHE518, PHE529, ILE517, ILE345, LEU352, LEU534, LEU117, LEU359, LEU93, ALA516, ARG513, VAL344, VAL116, LYS532, MET535, MET113, MET522, GLU524, HIS90, permettant la stabilisation du ligand dans le site de liaison et l'augmentation de l'affinité de l'eugénol pour cette cible. Le kaempférol forme deux interactions de type π - sigma. La première interaction se produit avec la chaîne aliphatique de l'acide aminé VAL523 ($d = 3.81 \text{ \AA}$) et la deuxième avec la partie aliphatique de la chaîne latérale de l'acide aminé ALA527 ($d = 3.75 \text{ \AA}$). La visualisation de la conformation bioactive montre aussi que les cycles aromatiques de ce composé forment plusieurs interactions π -Alkyl avec les acides aminés du site actif de la COX-2) savoir VAL349, ALA527 et LEU531 (Figure IV.11 et tableau 15).

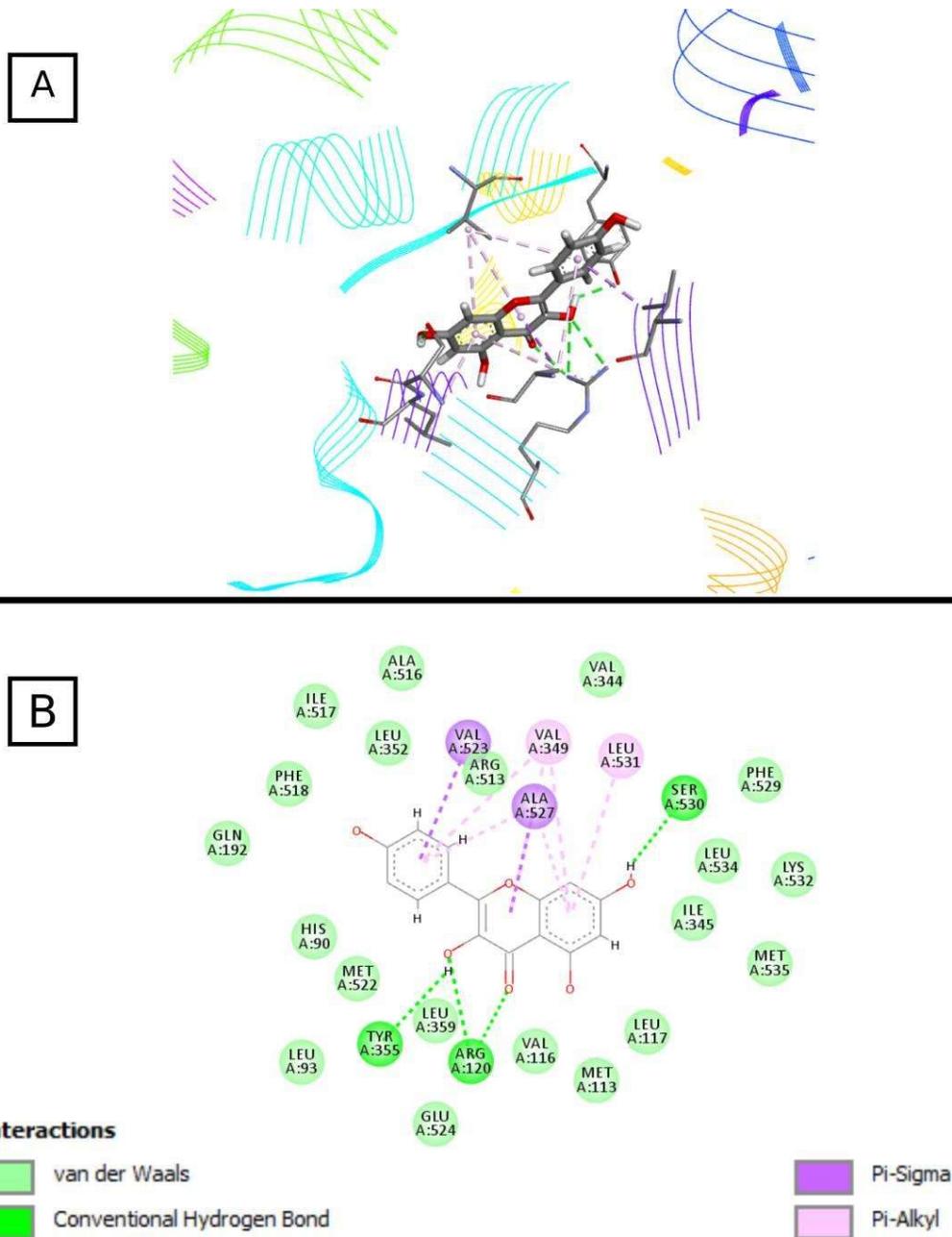


Figure IV. 11 : Représentation A- 3D et B- 2D du mode de liaison de kaempférol dans le site actif de la COX-2

La visualisation de la conformation bioactive de kaempférol avec la COX-2 montre que ce ligand forme plusieurs liaisons hydrogène avec les acides aminés du site actif. Trois liaisons hydrogène sont observées entre le groupement guanidinium de l'ARG120 et l'hydroxyle en position 3 du noyau chromen-4-one de kaempférol d(H-O)=2,46Å, d(H-O)=3,12Å et d(H-

O)=3,13 Å. la deuxième a lieu entre l'hydroxyle de la chaîne latérale du TYR335 et l'hydroxyle en position 3 du noyau chromen-4-one d(O-H)=2,01Å. une autre liaison hydrogène a lieu entre l'hydroxyle de la chaîne latérale de SER530 et l'hydroxyle en position 7 de kaempférol d(O-H)=2,01Å.

Tableau 15 : Energie de liaison (kJ/mol), Liaisons hydrogène, interactions favorables entre kaempférol et la COX-2

<i>Liaisons hydrogène</i>	<i>Autres interactions</i>	<i>Energie de liaison (kJ/mol)</i>
1. ARG120 (NH) : (C=O) en position 4 de kaempférol d(H-O)=2,46Å 2. ARG120 (NH) : (OH) en position 3 de kaempférol d(H-O)=3,12Å 3. ARG120 (NH ₂) : (OH) en position 3 de kaempférol d(H-O)=3,13Å 4. TYR335 (OH) : (OH) en position 3 de kaempférol d(O-H)=2,43Å 5. SER530 (OH) : (OH) en position 7 de kaempférol d(O-H)=2,01Å	Van der Waals : GLN192, PHE518, PHE529, ILE517, ILE345, LEU352, LEU534, LEU117, LEU359, LEU93, ALA516, ARG513, VAL344, VAL116, LYS532, MET535, MET113, MET522, GLU524, HIS90 π-Alkyl : VAL349 et kaempférol (cycle B) d=5,29Å VAL349 et kaempférol (cycle C) d=5,01Å VAL349 et kaempférol (cycle A) d=5,14Å ALA527 et kaempférol (cycle B) d=5,25Å ALA527 et kaempférol (cycle A) d=4,77Å LEU531 et kaempférol (cycle A) d=5,13Å π-Sigma : VAL523 et kaempférol (cycle A) d=3,81Å ALA527 et kaempférol (cycle C) d=3,76Å	-100,4

II.2 Mode de liaisons de quercétine

Dans le mode de liaison bioactif du quercétine avec la COX-2, il y a une interaction entre le noyau chromen-4-one et le cycle phénolique avec certains résidus hydrophobes tels que LEU93, LEU531, LEU359, LEU525, LEU384, ARG120, ARG513, VAL349, ALA527, ALA435, PHE529, PHE381, PHE198, MET522, ASP515 et GLN192, ce qui permet la stabilisation du ligand dans le site de liaison et augmente son affinité pour cette cible.

Le kaempférol forme également trois interactions de type π -sigma. Ces interactions se produisent avec la chaîne aliphatique de l'acide aminé VAL523 et les deux cycles aromatiques A et C du noyau chromen-4-one, à des distances de 3,09 Å et 3,62 Å respectivement.

La visualisation de la conformation bioactive montre également que les cycles aromatiques de ce composé forment plusieurs interactions π -alkyl avec les acides aminés du site actif de la COX-2, notamment VAL523, ALA516 et LEU352 (Figure IV.12 et Tableau 16).

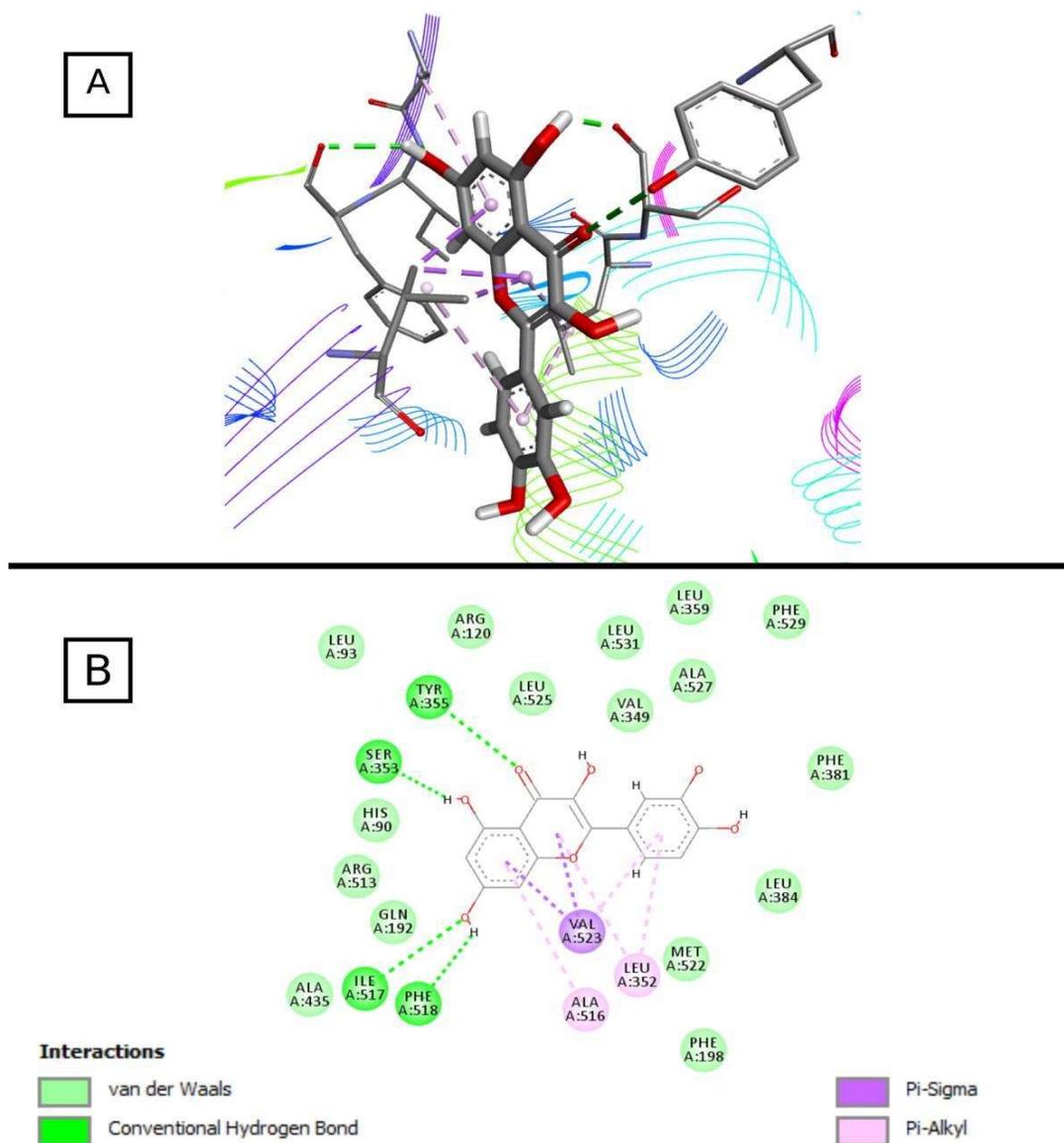


Figure IV. 12 : Représentation A- 3D et B- 2D du mode de liaison de quercétine dans le site actif de la COX-2

La visualisation de la conformation bioactive de quercétine avec la COX-2 montre que ce ligand forme plusieurs liaisons hydrogène avec les acides aminés du site actif. La première est observée entre l'hydroxyle de la chaîne latérale de TYR355 et le groupement carbonyle (C=O) de la quercétine $d(\text{H-O}) = 2,97\text{\AA}$. La deuxième a lieu entre le carbonyle du backbone de SER530 et l'hydroxyle en position 5 de la quercétine $d(\text{O-H}) = 1,77\text{\AA}$. La troisième est observée entre le carbonyle du backbone de PHE518 et l'hydroxyle en position 7 du noyau chromen-4-one de la quercétine $d(\text{O-H}) = 2,38\text{\AA}$. Une autre liaison hydrogène est observée entre l'azote du backbone de ILE517 et l'hydroxyle en position 7 du noyau chromen-4-one de la quercétine $d(\text{N-H}) = 3,11\text{\AA}$.

Tableau 16 : Energie de liaison (kJ/mol), Liaisons hydrogène, interactions favorables entre quercétine et la COX-2

<i>Liaisons hydrogène</i>	<i>Autres interactions</i>	<i>Energie de liaison (kJ/mol)</i>
1. TYR355 (OH) : (C=O) en position 4 de quercétine $d(\text{H-O})=2,97\text{\AA}$ 2. SER530 (C=O) : (OH) en position 5 de quercétine $d(\text{O-H})=1,77\text{\AA}$ 3. PHE518 (C=O) : (OH) en position 7 de quercétine $d(\text{O-H})=2,38\text{\AA}$ 4. ILE517 (N) : (OH) en position 7 de quercétine $d(\text{N-H})=3,11\text{\AA}$	Van der Waals : LEU93, LEU531, LEU359, LEU525, LEU384, ARG120, ARG513, VAL349, ALA527, ALA435, PHE529, PHE381, PHE198, MET522, ASP515, GLN192, HIS90 π-Alkyl : VAL523 et quercétine (cycle B) $d=5,42\text{\AA}$ LEU352 et quercétine (cycle B) $d=4,84\text{\AA}$ LEU352 et quercétine (cycle C) $d=5,18\text{\AA}$ ALA516 et quercétine (cycle A) $d=5,05\text{\AA}$ π-Sigma : VAL523 et quercétine (cycle C) $d=3,09\text{\AA}$ VAL523 et quercétine (cycle C) $d=3,62\text{\AA}$ VAL523 et quercétine (cycle A) $d=3,28\text{\AA}$	-111,9

II.3 Mode de liaisons de naringine

Dans le mode de liaison bioactif de la naringine avec la COX-2, il se produit une interaction entre le noyau chromen-4-one et le cycle phénolique avec certains résidus hydrophobes tels que LEU534, LEU93, LEU359, LEU352, LEU531, LEU525, LEU384, HIS90, HIS351, ARG513, ARG120, VAL344, VAL116, CLU531, ILE517, GLN192, GLN350, PHE518, PHE198, PHE209, PHE529, PHE381 et PHE205. Cette interaction permet la stabilisation du ligand dans le site de liaison et augmente son affinité pour cette cible.

De plus, la naringine forme deux interactions de type π -alkyl. Ces interactions se produisent avec les chaînes aliphatiques des acides aminés VAL349 et ALA527, ainsi qu'avec le cycle aromatique B du noyau chromen-4-one, à des distances de 5,04 Å et 4,12 Å respectivement. On observe également deux interactions de type π - π T-shaped et π -sigma entre les cycles aromatiques de la naringine et les acides aminés VAL523 (à une distance de 3,95 Å) et TRP387 (à une distance de 5,34 Å). De plus, deux interactions de type carbone-hydrogène ont été observées entre l'hydroxyle de la chaîne latérale de SER530 et le groupe carbonyle (C=O) du backbone de VAL523, avec une distance de 3,47 Å pour l'hydroxyle en position 7 du noyau chromen-4-one et une distance de 3,03 Å pour le groupe carbonyle (C=O) en position 4 du noyau chromen-4-one de la naringine (Figure IV.13 et Tableau 17).

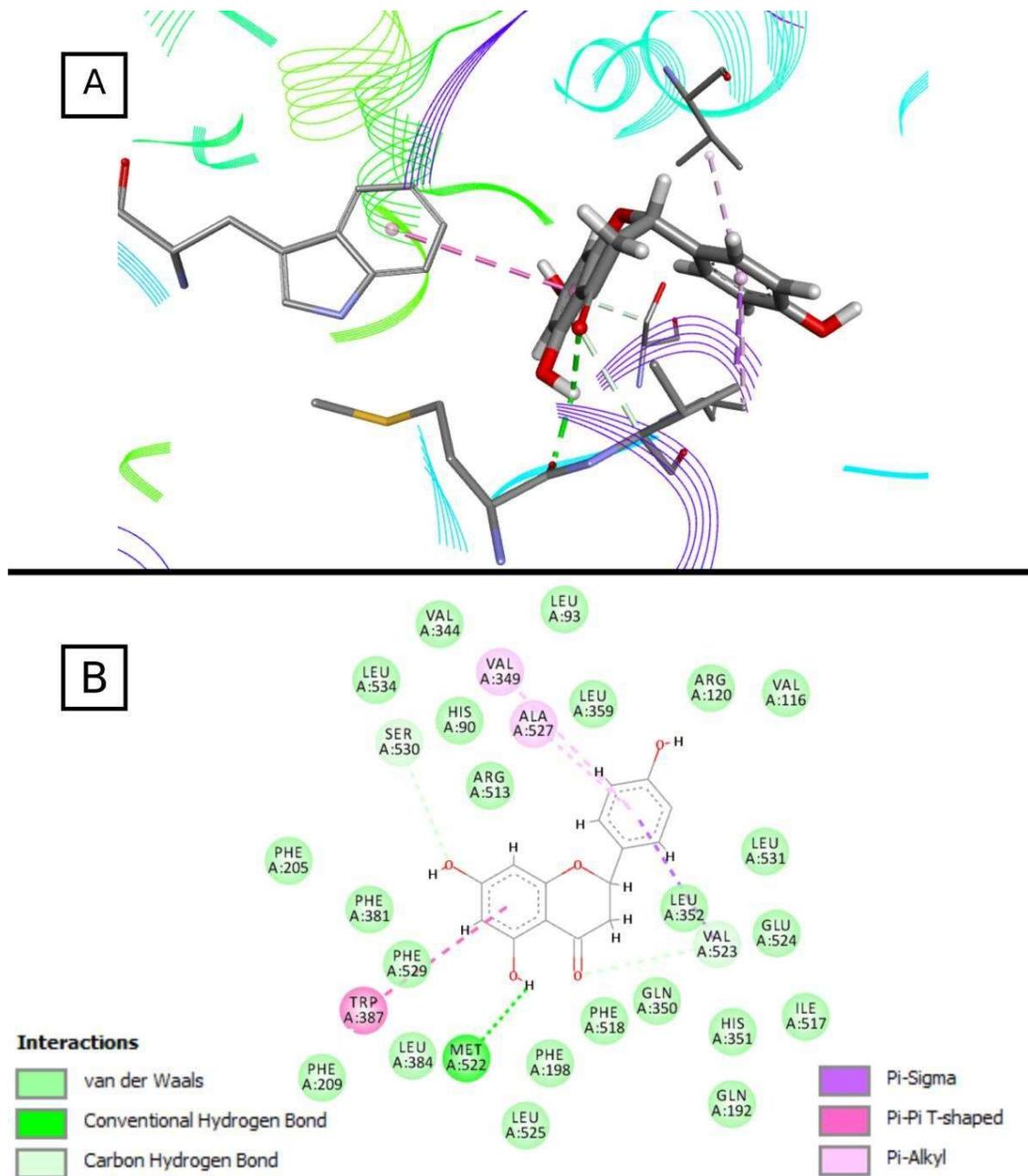


Figure IV. 13 : Représentation A- 3D et B- 2D du mode de liaison de naringine dans le site actif de la COX-2

La visualisation de la conformation bioactive de quercétine avec la COX-2 montre que ce ligand forme une seule liaison hydrogène avec les acides aminés du site actif. En effet, cette interaction a lieu entre le carbonyle du backbone de MET522 et le groupement hydroxyle en position 5 du noyau chromen-4-one de la naringine $d(O-H)=2,10\text{\AA}$.

Tableau 17 : Energie de liaison (kJ/mol), Liaisons hydrogène, interactions favorables entre naringine et la COX-2

<i>Liaisons hydrogène</i>	<i>Autres interactions</i>	<i>Energie de liaison (kJ/mol)</i>
1. MET522 (C=O) : (OH) en position 5 de naringine d(O-H)=2,10Å	<p>Van der Waals : LEU534, LEU93, LEU359, LEU352, LEU531, LEU525, LEU384, HIS90, HIS351, ARG513, ARG120, VAL344, VAL116, CLU531, ILE517, GLN192, GLN350, PHE518, PHE198, PHE209, PHE529, PHE381, PHE205</p> <p>Carbone-hydrogène : SER530 et (OH) en position 7 de naringine d=3,47Å VAL523 et (C=O) en position 4 de naringine d=3,03Å</p> <p>π-Sigma : VAL523 et naringine (cycle B) d=3,95Å</p> <p>π-π T-shaped : TRP387 et naringine (cycle A) d=5,34Å</p> <p>π-Alkyl : VAL349 et naringine (cycle B) d=5,04 ALA527 et naringine (cycle B) d=4,12Å</p>	-92,5

Au terme de cette étude, et vu le nombre d'interactions favorables mis en jeu entre les trois composés étudiés et la protéine COX-2, nous pouvons considérer que l'effet anti-inflammatoire observé avec les feuilles d'ortie est dû à la grande affinité de ses principes actifs pour la cible impliquée dans l'inflammation.

III Conclusion

Ce travail, mené au moyen du criblage virtuel, est consacré à la recherche des meilleurs principes actifs parmi les composants de l'ortie et la compréhension de leurs modes de liaison avec deux cibles biologiques à savoir la cible NADPH oxydase (NOX) et la COX-2.

Dans la première partie, nous avons utilisé la cible NADPH oxydase, une protéine impliquée dans la sécrétion des radicaux libres qui sont à l'origine de plusieurs maladies, dans les simulations de docking. Ainsi, le kaempférol, la quercétine et la naringine ont tous montré des interactions hydrophobes et des liaisons hydrogène avec les résidus du site actif. De plus, des interactions π ont été observées entre les cycles aromatiques des principes actifs et certains résidus de la NOX. De ce fait, la mise en évidence des résidus pertinents intervenants dans la liaison de l'eugénol avec les acides aminés du site actif de la NOX, nous a permis d'interpréter l'activité anti- oxydante que nous avons observées expérimentalement.

Dans la deuxième partie de ce chapitre, nous avons essayé d'interpréter l'effet anti-inflammatoire des feuilles d'ortie. Pour cela, nous avons étudié le mode de reconnaissance par la COX-2, protéine impliquée dans la pathologie inflammatoire, de kaempférol, la quercétine et lanaringine. L'analyse des modes de liaison a révélé que les principes actifs formaient des interactions spécifiques avec les résidus clés des sites actifs. Pour la COX-2, le kaempférol a formé des interactions hydrophobes et des liaisons hydrogène avec plusieurs résidus, tandis que la quercétine a montré des interactions hydrophobes et des liaisons hydrogène différentes. La naringine a également formé des interactions hydrophobes, des liaisons hydrogène et des interactions π avec les résidus du site actif de la COX-2. Ceci nous a permis d'avoir un aperçu sur la grande affinité des principes actifs des feuilles d'ortie pour la cible impliquée dans l'inflammation et de comprendre ainsi son effet anti-inflammatoire.

En conclusion, ces résultats mettent en évidence le potentiel des principes actifs de l'ortie, en particulier le kaempférol, la quercétine et la naringine, en tant qu'inhibiteurs potentiels de l'activité biologique de la COX-2 et de la NOX. Ces composés pourraient servir de base pour le développement de nouvelles molécules thérapeutiques ciblant ces enzymes et contribuer ainsi à la recherche de traitements anti-inflammatoires, antioxydants et anticancéreux

Conclusion générale

Conclusion générale

Les travaux présentés dans ce travail portent sur l'extraction des principes actifs contenus dans les feuilles d'ortie (*Urtica dioica*) et l'évaluation de leurs propriétés thérapeutiques. L'ortie est une plante connue depuis longtemps pour ses utilisations traditionnelles en médecine populaire, notamment pour ses effets anti-inflammatoires, antioxydants et antimicrobiens.

La première partie de notre travail concerne l'extraction des principes actifs de l'ortie par le biais de la macération à froid dans l'éthanol. Les résultats ont montré que cette méthode était efficace, avec un rendement satisfaisant. L'analyse physico-chimique de l'extrait obtenu a permis de caractériser plusieurs de ses propriétés, notamment le pH, la densité, l'indice de réfraction et la conductivité. Ces analyses ont révélé la présence de substances modifiant la polarisation de la lumière, d'ions et une faible teneur en substances acides.

Le screening phytochimique de l'extrait nous a permis d'identifier la présence d'alcaloïdes et de flavonoïdes, tandis que les analyses spectroscopiques par infrarouge (IR) et ultraviolet-visible (UV-visible) nous ont permis de confirmer la présence de flavonoïdes, de chlorophylle et d'autres substances. De plus, l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait par le test de DPPH a révélé une forte capacité antioxydante, ce qui indique sa capacité à piéger les radicaux libres DPPH.

Ainsi, la méthode de macération utilisée dans cette étude présente l'avantage d'être simple, peu coûteuse et facilement réalisable en laboratoire. Elle nous a permis d'extraire efficacement les principes actifs de l'ortie. De plus, les tests phytochimiques effectués ont permis de confirmer la présence de flavonoïdes dans l'extrait d'ortie. Ces tests sont rapides, économiques et largement utilisés pour identifier les composés chimiques spécifiques présents dans les extraits végétaux. L'utilisation de la méthode du DPPH pour évaluer l'activité antioxydante de l'extrait d'ortie est une approche couramment utilisée. Elle nous a permis d'évaluer rapidement et efficacement la capacité de l'extrait à neutraliser les radicaux libres. Néanmoins, les techniques de spectroscopie FTIR (spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier) et UV-VIS (spectroscopie ultraviolette-visible) nous ont pas permis de détecter la présence d'alcaloïdes. Cela peut être dû à la sensibilité limitée de ces techniques pour détecter certains types de composés ou à une concentration insuffisante d'alcaloïdes dans l'échantillon analysé. Pour remédier à ces insuffisances, nous comptons explorer d'autres techniques analytiques plus sensibles et spécifiques, telles que la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ou la spectrométrie de masse.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons utilisé une approche de criblage virtuel pour étudier les interactions entre les principes actifs de l'ortie et deux cibles biologiques : la NADPH oxydase (NOX) et la COX-2. Les résultats des simulations ont montré que trois composés de la famille des flavonoïdes, le kaempférol, la quercétine et la naringine présentent de grandes affinités envers les cibles étudiées traduites par des interactions hydrophobes, des liaisons hydrogène et des interactions π . Ces interactions ont fourni une interprétation de l'activité anti-oxydante observée expérimentalement ainsi que de l'effet anti-inflammatoire potentiel de l'ortie.

Le criblage virtuel réalisé dans la deuxième partie de ce travail nous a permis de tester un grand nombre de principes actifs contenus dans les feuilles d'ortie et de sélectionner rapidement les plus puissants en évaluant les énergies de liaison et de prédire les modes de liaison bioactifs au sein des cibles étudiées. De ce fait, cette partie nous a permis d'économiser du temps et des ressources en évitant la nécessité de réaliser des expérimentations physiques coûteuses. Néanmoins, Le criblage virtuel repose sur des modèles et des algorithmes prédictifs, ce qui signifie qu'il y a une marge d'erreur possible dans les résultats obtenus, ils doivent donc être validés expérimentalement, par des expériences *in vitro* et *in vivo*, pour confirmer leur pertinence. De plus, Les systèmes biologiques sont extrêmement complexes, et la prédiction précise des interactions entre les composés et les cibles peut être un défi. Les calculs de criblage virtuel basé sur le docking moléculaire ne prennent pas en considération la flexibilité de la cible. Pour remédier à ces insuffisances, nous comptons poursuivre ce travail en utilisant des approches bio-informatiques qui prennent en considération la flexibilité de la cible telles que les méthodes de dynamique moléculaire.

En conclusion, ce travail met en évidence le potentiel des principes actifs de l'ortie, extraits par macération à froid dans l'éthanol, en tant qu'agents thérapeutiques prometteurs. Les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires de l'ortie, associées aux interactions spécifiques des principes actifs avec les cibles biologiques étudiées, ouvrent des voies pour le développement de nouvelles thérapies. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour approfondir notre compréhension des mécanismes d'action des principes actifs de l'ortie et évaluer leur efficacité et leur sécurité à plus grande échelle.

Bibliographie

Bibliographie

- [1] Lee, K. H. (2003). Current developments in the discovery and design of new drug candidates from plant natural product leads. *Journal of Natural Products*, 67(2), 273-283. <https://doi.org/10.1021/np030373o>
- [2] Hostettmann, K., Marston, A., & Ndjoko, K. (1998). Le manuel de phytochimie analytique. In Presses polytechniques et universitaires romandes.
- [3] Bertrand, B., & Jeanne, A. (2008). Les secrets de l'Ortie", 10^{ème} Ed. In Du Terran (pp. 45-95).
- [4] Mukherjee, P. K., Maity, N., Nema, N. K., & Sarkar, B. K. (2021). Medicinal plants for therapeutic purposes: an overview. In Bioactive natural products for health and wellness.
- [5] Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of medicinal plants : basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 12(1), 1. https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_175_19
- [6] Srivastava, N., Singh, A., Kumari, P., Nishad, J. H., Gautam, V. S., Yadav, M., Bharti, R., Kumar, D., & Kharwar, R. N. (2021). Advances in extraction technologies: isolation and purification of bioactive compounds from biological materials. In Natural Bioactive Compounds (pp. 409-433). Elsevier.
- [7] Do, Tièn. (2016). Évaluation des performances de la chromatographie sur couche mince haute performance (HPTLC) dans l'analyse (qualitative et quantitative) des métabolites secondaires dans les extraits naturels.
- [8] Doulabi, M. S. H., Golmakani, M., & Ansari, S. (2020). Evaluation and optimization of microwave-assisted extraction of bioactive compounds from eggplant peel by-product. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(11). <https://doi.org/10.1111/jfpp.14853>
- [9] Adilah, S. N., Ziad, S. A., & Azilah, A. (2016). Effect of temperature and sonication on the extraction of gallic acid from labisia pumila (Kacip Fatimah). *ARPN journal of engineering and applied sciences*, 11(4), 2193-2198. <http://umpir.ump.edu.my/id/eprint/11568/>
- [10] *Maroc végétal : Image*. (s. d.). Consulté le 13 juin 2023, à l'adresse https://marocvegetal.files.wordpress.com/2016/10/img_6370.jpg
- [11] Pevsner, J. (2015). *Bioinformatics and Functional Genomics* (3rd ed.). John Wiley & Sons.
- [12] Lesk, A. (2019). Introduction to bioinformatics.
- [13] Gonzalez-Rizzo, S. (2019). Introduction à la Bioinformatique [PDF]. Institut Pasteur Guadeloupe. http://www.pasteur-guadeloupe.fr/pdf/Cours_BIOINFO_2019_KARU.pdf
- [14] Plattard, O. (2018). La bio-informatique, Kesaco ? quelle est son utilité ? *Blog du crowdfunding par Happy Capital*. <https://blog.happy-capital.com/la-bio-informatique-kesaco/>

- [15] Paiva, V., De Souza Gomes, I., Monteiro, C., Mendonça, M. A., Martins, P. S., Santana, C. C., Gonçalves-Almeida, V. M., Izidoro, S. C., De Melo-Minardi, R. C., & De A Silveira, S. (2022). Protein structural bioinformatics : An overview. *Computers in Biology and Medicine*, 147, 105695. <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2022.105695>
- [16] Pérez, S., & Tvaroška, I. (2014). Carbohydrate–Protein interactions. Dans *Elsevier eBooks* (p. 9-136). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-800128-8.00001-7>
- [17] Chevrollier, N. (2019). *Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-Brin*. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02436914>
- [18] Delahaye, J. (2015). Utilisations de l'ortie- *Urtica dioica L.* In *Sciences pharmaceutiques*, 227. <https://cel.archives-ouvertes.fr/MEM-UNIV-ROUEN/dumas-01232406v1>
- [19] Kavalali, G. M. (2003). *Urtica*. CRC Press eBooks. <https://doi.org/10.1201/9780203017920>
- [20] Angier, B., & Foster, D. K. (2008). Field guide to medicinal wild plants. -Stackpole Books.-
- [21] Kalia, A., Joshi, B., & Mukhija, M. (2014). Pharmacognostical Review of *urtica dioica L.* *International Journal of Green Pharmacy*, 8(4), 201. <https://doi.org/10.4103/0973-8258.142669>
- [22] Kregiel, D., Pawlikowska, E., & Antolak, H. (2018). *Urtica* spp. : ordinary plants with extraordinary properties. *Molecules*, 23(7), 1664. <https://doi.org/10.3390/molecules23071664>
- [23] Pradhan S., ManivannanSand Tamang J. P.(2015). Proximate, mineral composition and antioxidant properties of some wild leafy vegetables. *J Sci Ind Res*,74:155-159.
- [24] Đurović, S., Pavlić, B., Šorgić, S., Popov, S., Savić, S., Pertonijević, M., Radojković, M., Cvetanović, A., & Zeković, Z. (2017). Chemical composition of stinging nettle leaves obtained by different analytical approaches. *Journal of Functional Foods*, 32, 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.02.019>
- [25] Guil-Guerrero J.L., Reboloso-Fuentes M.M., Isasa M.E.T. (2003). Fatty acids and carotenoids from Stinging Nettle (*Urtica dioica L.*). *Journal of Food Composition and Analysis*. 2003;16(2):111-119.
- [26] Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162–169. <https://doi.org/10.1007/s10298-005-0096-8>

- [27] Kavtaradze, N.S., Alaniya, M.D. & Aneli, J.N. Chemical Components of *Urtica dioica* Growing in Georgia. *Chemistry of Natural Compounds* 37, 287 (2001).
<https://doi.org/10.1023/A:1012594713302>
- [28] Akbay, P., Başaran, AA, Ündeğer, Ü., & Başaran, N. (2003). Activité immunomodulatrice in vitro des glycosides flavonoïdes de l'*urtica dioica* L. *Phytotherapy Research* , 17 (1), 34-37. <https://doi.org/10.1002/ptr.1068>
- [29] Lazli, A., Beldi, M., Ghouri, L., & Nouri, N. E. H. (2019). Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous. *Bulletin de la Société royale des sciences de Liège*, 22-43. <https://doi.org/10.25518/0037-9565.8429>
- [30] Orčić, D., Francišković, M., Bekvalac, K., Svirčev, E., Beara, I., Lesjak, M., & Mimica-Dukić, N. (2014). Quantitative determination of plant phenolics in *urtica dioica* extracts by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection. *Food Chemistry*, 143, 48-53. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.097>
- [31] Upton, R. (2013). Stinging nettles leaf (*Urtica dioica* L.) : Extraordinary vegetable Medicine. *Journal of Herbal Medicine*, 3(1), 9-38.
<https://doi.org/10.1016/j.hermed.2012.11.001>
- [32] Yener, Z., Celik, I., Ilhan, F., & Bal, R. (2009). Effects of *Urtica dioica* L. seed on lipid peroxidation, antioxidants and liver pathology in aflatoxin-induced tissue injury in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47(2), 418-424. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.11.031>
- [33] Wagner, H., Geiger, W., Boos, G. A., & Samtleben, R. (1995). Studies on the binding of *urtica dioica* agglutinin (UDA) and other lectins in an in vitro epidermal growth factor receptor test. *Phytomedicine*, 1(4), 287-290. [https://doi.org/10.1016/s0944-7113\(11\)80004-8](https://doi.org/10.1016/s0944-7113(11)80004-8)
- [34] Gansser, D., & Spiteller, G. (1995). Aromatase inhibitors from *Urtica dioica* Roots. *Planta Medica*, 61(02), 138-140. <https://doi.org/10.1055/s-2006-958033>
- [35] Di Virgilio, N., Papazoglou, E. G., Jankauskiene, Z., Di Lonardo, S., Praczyk, M., & Wielgusz, K. (2015). The potential of stinging nettle (*Urtica dioica* L.) as a crop with multiple uses. *Industrial Crops and Products*, 68, 42-49.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.08.012>
- [36] Bourgou, S., Beji, R. S., Medini, F., & Ksouri, R. (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of New Sciences*, 28.
<https://www.jnsciences.org/agri-biotech/36-volume-28/159-effet-du-solvant-et-de-la-methode-d-extraction-sur-la-teneur-en-composes-phenoliques-et-les-potentialites-antioxydantes-d-euphorbia-helioscopia.html>

- [37] Kouamé, T. K., Siaka, S., Kassi, A. B. B., & Soro, Y. (2021). Détermination des teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins de jeunes feuilles non encore ouvertes de *Piliostigma thonningii* (Caesalpiniaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15 (1), 97-105. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v15i1.9>
- [38] Chevrier, S. (2021). Indice de réfraction. *Dicoptic, le dictionnaire de l'optique*. <https://dicoptic.fr/indice-de-refraction>
- [39] docThom. (s. d.). Définition de « PH » - dictionnaire médical. Dictionnaire médical. <https://www.dictionnaire-medical.fr/definitions/534-ph>
- [40] Pant, DR, Pant, ND, Saru, DB, Yadav, UN, & Khanal, DP (2017). Criblage phytochimique et étude des activités anti-oxydantes, anti-microbiennes, anti-diabétiques, anti-inflammatoires et analgésiques d'extraits de bois de tige de *Pterocarpus marsupium* Roxburgh. *Journal d'ethnopharmacologie interculturelle*, 6 (2), 1. <https://doi.org/10.5455/jice.20170403094055>
- [41] Harborne, J. B. (1973). *Phytochemical Methods : A guide to modern techniques of plant analysis*. https://www.springer.com/cda/content/document/productFlyer/productFlyer_978-0-412-57260-9.pdf?SGWID=0-0-1297-33550746-0
- [42] *Guide de la spectroscopie IRTF*. (s. d.). Bruker. <https://www.bruker.com/fr/products-and-solutions/infrared-and-raman/ft-ir-routine-spectrometer/what-is-ft-ir-spectroscopy.html>
- [43] Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A. A., Pandey, R. P., & Chang, C. (2022). Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4), 1326. <https://doi.org/10.3390/molecules27041326>
- [44] *CHIMACTIV - Ressources pédagogiques numériques interactives dans l'analyse chimique de milieux complexes*. (s. d.). <http://chimactiv.agroparistech.fr/fr/aliments/antioxydant-dpph/principe>
- [45] Akrou, A., Mighri, H., Krid, M., Thabet, F., Turki, H., El-Jani, H., & Neffati, M. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of aqueous extracts of some medicinal plants wild growing in southern Tunisia. *International journal of life science and medical research*, 2(1), 1-4. <https://doi.org/10.5963/lsmr0201001>
- [46] Hebi, M., & Eddouks, M. (2015). Évaluation de l'activité antioxydante de *Stevia Rebaudiana*. *Phytothérapie*, 14(1), 17-22. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0999-y>
- [47] Prakash, D., Upadhyay, G., Singh, B. N., & Singh, H. B. (2007). Antioxidant and free radical-scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (*Glycine max*). *Food Chemistry*, 104(2), 783-790. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.029>

[48] BOUGAR, N., & BELKACEM KOURMI, Z. (2016). Contribution à la caractérisation physico-chimique et anti-bactérienne de l'extrait de la plante *urtica dioica* L (ortie dioïque) [Mastre]. Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana.

[49] AquaPortail, Q. (2023). Indice de R fraction de l'eau. *AquaPortail*.
<https://www.aquaportail.com/definition-7485-indice-de-refraction-de-l-eau.html#:~:text=L'indice%20de%20r%C3%A9fraction%20de%20l'eau%20est%20de%201%2C333,la%20glace%20vaut%201%2C31>

[50] LAMARA, S., & RIMOUCHE, S. (2017). Propriétés physico-chimiques et antifongiques des extraits de deux plantes thérapeutiques : L'Ortie (*Urtica dioica* .L) et Fougère - Aigle (Ptéridium aquilinum .L) contre le Fusarium oxysporum f .sp. lycopersici [Master]. Université Med-Seddik benyahia- Jijel.

[51] Mabry, T., Markham, K. R., & Thomas, M. B. (2012). The Systematic Identification of Flavonoids. Springer Science & Business Media.

[52] Lichtenthaler, H. K., & Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids : measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1(1), F4.3.1-F4.3.8. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>

[53] Khare, V., Kushwaha, P., Verma, S., Gupta, A., Srivastava, S., & Rawat, A. K. S. (2012). Pharmacognostic Evaluation and Antioxidant Activity of *Urtica dioica* L. Chinese Medicine, 03(03), 128–135. <https://doi.org/10.4236/cm.2012.33021>

[54] Roschek, B., Jr, Fink, R. C., McMichael, M., & Alberte, R. S. (2009). Nettle extract (*Urtica dioica*) affects key receptors and enzymes associated with allergic rhinitis. *Phytotherapy Research: PTR*, 23(7), 920–926. <https://doi.org/10.1002/ptr.2763>

[55] Cortés-Rojas, D. F., de Souza, C. R. F., & Oliveira, W. P. (2014). Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(2), 90–96. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60215-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60215-X)

[56] Rouzer, C. A., & Marnett, L. J. (2009). Cyclooxygenases: structural and functional insights. *The Journal of Lipid Research*, 50 Suppl(Supplement), S29-34. <https://doi.org/10.1194/jlr.R800042-JLR200>

[57] Bedard, K., & Krause, K.-H. (2007). The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*, 87(1), 245–313. <https://doi.org/10.1152/physrev.00044.2005>

[58] Hsu, K.-C., Chen, Y.-F., Lin, S.-R., & Yang, J.-M. (2011). iGEMDOCK: a graphical environment of enhancing GEMDOCK using pharmacological interactions and post-screening analysis. *BMC Bioinformatics*, 12 Suppl 1(S1), S33. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-S1-S33>

[59] Morel, F., Rousset, F., Vu Chuong Nguyen, M., Trocme, C., Grange, L., & Lardy, B. (2015). La NADPH oxydase Nox4, une cible thérapeutique potentielle dans l'arthrose. *Bulletin de l'Academie nationale de medecine*, 199(4–5), 673–687. [https://doi.org/10.1016/s0001-4079\(19\)30941-0](https://doi.org/10.1016/s0001-4079(19)30941-0)

- [60] Cifuentes-Pagano, M. E., Meijles, D. N., & Pagano, P. J. (2015). Nox inhibitors & therapies: Rational design of peptidic and small molecule inhibitors. *Current Pharmaceutical Design*, 21(41), 6023–6035. <https://doi.org/10.2174/1381612821666151029112013>
- [61] Tong, J. C., & Ranganathan, S. (2013). Scientific publications and databases. In *Computer-Aided Vaccine Design* (pp. 21–46). Elsevier.
- [62] M. Khalil, (2016). Interactions et stabilité des protéines étudiées par spectroscopies infrarouge et Raman [UNIVERSITÉ DE STRASBOURG]. <http://www.theses.fr/2016STRAF011.pdf>
- [63] Vane, J. R., Bakhle, Y. S., & Botting, R. M. (1998). Cyclooxygenases 1 and 2. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 38(1), 97–120. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.38.1.97>
- [64] FitzGerald, G. A., & Patrono, C. (2001). The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. *The New England Journal of Medicine*, 345(6), 433–442. <https://doi.org/10.1056/NEJM200108093450607>
- [65] Grosser, T., Fries, S., & FitzGerald, G. A. (2006). Biological basis for the cardiovascular consequences of COX-2 inhibition: therapeutic challenges and opportunities. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(1), 4–15. <https://doi.org/10.1172/JCI27291>
- [66] Subbaramaiah, K., Altorki, N., Chung, W. J., Mestre, J. R., Sampat, A., & Dannenberg, A. J. (2002). Inhibition of Cyclooxygenase-2 Gene Expression by p53. *J Biol Chem*, 277(11), 9919–9926. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109638200>
- [67] Ds. (2023). Free download : BIOVIA Discovery Studio Visualizer. *Dassault Systèmes*. <https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>
- [68] RCSB Protein Data Bank. (n.d.). *1CVU*. Rcsb.org. Retrieved March 15, 2023, from <https://www.rcsb.org/structure/1CVU>
- [69] RCSB Protein Data Bank. (n.d.). *2CDU*. Rcsb.org. Retrieved March 15, 2023, from <https://www.rcsb.org/structure/2CDU>

Résumé:

Ce mémoire se concentre sur une étude approfondie de la plante *Urtica dioica L.*, largement présente dans le nord de l'Algérie. L'objectif principal de cette recherche est d'explorer les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires en extrayant les composés actifs des feuilles d'ortie, tels que les flavonoïdes, en utilisant la méthode de macération avec de l'éthanol. Des analyses physiques, chimiques, phytochimiques et biologiques ont été réalisées pour caractériser l'extrait et évaluer son activité antioxydante à l'aide du test DPPH, qui a montré une concentration efficace (IC50) de 0,055 mg/mL. Des techniques de bioinformatique ont été utilisées pour étudier l'interaction des composés actifs de l'ortie avec des cibles biologiques responsables de l'inflammation et de l'oxydation afin de démontrer l'activité anti-inflammatoire de l'ortie et confirmer l'activité antioxydante observée expérimentalement.

Mots clés: Extraction, macération, *Urtica dioica L.*, ortie, activité antioxydante, DPPH, bioinformatique.

Abstract:

This thesis focuses on an in-depth study of the plant *Urtica dioica L.*, widely present in northern Algeria. The main objective of this research is to explore the antioxidant and anti-inflammatory properties by extracting the active compounds from nettle leaves, such as flavonoids, using the maceration method with ethanol. Physical, chemical, phytochemical, and biological analyses were conducted to characterize the extract and evaluate its antioxidant activity using the DPPH test, which showed an effective concentration (IC50) of 0.055 mg/mL. Bioinformatics techniques were employed to study the interaction of nettle's active compounds with biological targets responsible for inflammation and oxidation in order to demonstrate the anti-inflammatory activity of nettle and substantiate the antioxidant activity experimentally observed.

Keywords: Extraction, maceration, *Urtica dioica L.*, nettel, antioxidant activity, DPPH, bioinformatics.

الملخص:

هذا البحث يستعرض موضوعا مهما يتمحور حول دراسة شاملة لنبات القراص (*Urtica dioica L.*) الذي يوجد بكثرة في شمال الجزائر. يهدف هذا البحث إلى استكشاف الخصائص المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات عن طريق استخراج المركبات النشطة من أوراق القراص، مثل الفلافونويدات، باستخدام طريقة الاستخلاص بالنقع في الإيثانول. تم إجراء تحاليل فيزيائية وكيميائية وفيتو كيميائية وبيولوجية لتوصيف المستخلص وتقييم نشاطه المضاد للأكسدة باستخدام اختبار DPPH، والذي أظهر تركيزا فعالا (50IC) قدره 0.055 ملغ/مل. تم استخدام تقنيات البيوانفورماتيك لدراسة تفاعل المركبات النشطة في القراص مع الأهداف البيولوجية المسؤولة عن الالتهاب والأكسدة بهدف إظهار النشاط المضاد للالتهاب للقراص وإثبات النشاط المضاد للأكسدة الذي تم تحديده تجريبيا.

الكلمات المفتاحية: استخلاص، النقع، *Urtica dioica L.*، القراص، النشاط المضاد للأكسدة، DPPH، البيوانفورماتيك.