



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université de Tissemsilt



Faculté des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme
de Master académique en

Filière : **Sciences biologique**

Spécialité : **Microbiologie appliquée**

Présentée par : - **ARAB Fatima Zohra Batoul**

- **KHALED KHOUDJA Maroua**

Thème

**Valorisation des activités biologiques
de certaines espèces (*Ajuga iva et Urtica dioïca*)**

Soutenu le 23/06/2022

Devant le Jury :

BENKADA Ahmed Mohamed Ali	Président	Prof.	Univ-Tissemsilt
BEGHALIA Mohamed	Encadrant	Prof.	Univ-Tissemsilt
DRISS Ibrahim	Examinatrice	M.C.B.	Univ-Tissemsilt
BOUHENNI Hasna	Co-encadrant	Doctorante	Univ Tiaret

Année universitaire : 2021-2022

R *emerciements*

Au terme de ce travail, nous remercions tous d'abord le Bon Dieu qui nous avons donné la force et la patience pour terminer ce travail.

Nous voulons aussi adresser tous nos remerciements aux personnes avec lesquelles nous avons pu échanger et qui nous ont aidés pour la rédaction de ce mémoire.

Nos remerciements vont vivement et profondément, à notre encadreur de recherche, BEGHALIA Mohamed. Professeur à la Faculté des sciences et des technologies Tissemsilt, pour ses conseils précieux, ses remarques pertinentes et ses aides généreuses tout au cours de la rédaction de notre mémoire.

Nos remerciements vont également à :

Mme. BOUHENNI Hasna, Co-encadreur pour avoir dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, sa patience et ses conseils nous a permis de réaliser ce travail.

Professeur BENKADA Ahmed Mohamed Ali, pour sa disponibilité qui nous a fait honneur de présider les jurys de mon travail.

Le membre jury : Monsieur DRISS Ibrahim, qui nous fait l'honneur de juger ce modeste travail. Vos suggestions et remarques sont un apport pour la suite de la carrière du chercheur que nous embrassons avec cette recherche.

Nous adressons un grand merci à Melle HENNI Asma, ET Mme CHIHJIH Hadjira, pour l'aide fournie dans la réalisation de ce travail. J'ai beaucoup apprécié la disponibilité et les conseils avisés.

Nous tenons vivement à remercier Mr AMOR Rabah Directeur de l'EPSP MAHDIA et Mr LAIMACHE Djilali l'Économiste de l'EPSP MAHDIA, Qu'ils veuillent trouver ici l'expression de nos remerciements pour avoir toujours aidé chaque fois que nous désirions avancer dans la recherche de différents réactifs et produits. Soyez assuré de notre profond respect.

Je remercie tous chef du laboratoire d'analyse Médical d'EPSP Mahdia Mr BOUSSKIN Ahmed pour leur collaboration et leurs conseils.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les Professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences dans nos études.

Au terme de ce travail, nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés et soutenus de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce mémoire.

Liste des abréviations

Ag:	Acide Gallique
AlCl₃ :	Chlorure D'aluminium
Aq :	Solution Aqueuse
Atcc :	American Type Culture Collection
Caz :	Ceftazidine
DPPH	2.2.diphényl-1picrylhydrazyl
E :	Erythromycine
Eag :	Equivalent D'acide Gallique
Eq :	Equivalent De Quercitrine
Ect :	Equivalent Catéchol/G De Matière Végétale Sèche
EPSP :	Etablissement Public De Sante De Proximité
Eth :	Ethanol
Mth :	Méthanol
Fc :	Folin Ciocalte
NAOH :	Hydroxyde de sodium
TP :	Taux de prothrombine
S :	Second
Mm :	Millimètre
Fa :	Acide Fusidique
FeCl₃ :	Chlorure De Fer(Iii)
G :	Pénicilline
Hcl :	Acide Chlorhydrique
K :	Kanamycin
Mg :	Milligrammes
MH :	Milieu Mueller Hinton
ml :	Millilitre
Ms :	Matière Sèche
M/V :	Masse Sur Volume
Nac₂co₃ :	Sodium Carbonate
Ox :	Oxacilline
Prl :	Piperacillin
PPP :	Plasma pauvre en plaquettes
S :	Streptomycine

Te :	Tetracycline
Tob :	Terramycine
TQ :	Temps De Quick
TP :	Taux de prothrombine
UFC :	Unite Formant Colonie
UV :	Ultra-Violet
Va :	Vancomycine
V/V :	Volume Sur Volume
μl :	Microlitre
μg:	Microgramme

Liste des figures

Figure 01 : Structure du noyau phénol	15
Figure 02 : Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques.....	15
Figure 03 : Structures chimiques des acides hydroxycinnamiques.....	16
Figure 04 : Squelette de base des flavonoïdes	17
Figure 03 : Structures chimiques des acides hydroxycinnamiques.....	16
Figure 04 : Squelette de base des flavonoïdes	17
Figure 05 : Structure de base des tanins hydrolysables.....	18
Figure 06 : Structure de base des tanins condensés	19
Figure 07 : Aspect morphologique d' <i>Urtica dioïca l.</i>	22
Figure 08 : Aspect morphologique d' <i>Ajuga iva.</i>	25
Figure 09 : Propriétés pharmacologiques de l' <i>Ajuga iva.</i>	27
Figure 10 : Structure d'une cellule procaryote	29
Figure 11 : Schéma de structure de paroi à gram positif et négatif.....	30
Figure 12 : Protocole expérimentale	38
Figure 13 : ORTIE (<i>Urtica dioïca</i>) partie aérienne.....	39
Figure 14 : BUGLE (<i>Ajuga iva</i>) partie aérienne	39
Figure 15 : Matériel végétale broyé en poudre	44
Figure 16 : Etapes de l'extraction par macération	46
Figure 17 : Evaporation Les six solutions d'extraction.....	46
Figure 18 : Schéma récapitulative du Protocole de dosage des polyphénols	49
Figure 19 : Schéma récapitulatif du protocole de dosage des flavonoides.....	50
Figure 20 : Schéma récapitulatif du protocole de dosage des tanins condensés.....	52
Figure 21 : Protocole d'évaluation de l'activité antioxydant DPPH.....	54
Figure 22 : Schéma récapitulatif de protocole d'évaluation de l'activité antibactérienne	55
Figure 23 : Schéma de principe de la méthode de diffusion en puits.....	55
Figure 24 : Etapes de préparation plasma pauvre en plaquettes	58
Figure 25 : Schéma récapitulatif d'étapes de test de taux de prothrombine ou (temps de Quick (TQ).) vis-à-vis de la voie exogène de coagulation	58
Figure 26 : Résultats des rendements de l'extraction.....	61
Figure 27 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (AG)	62
Figure 28 : Résultats de teneur en phénols totaux dans des extraits	64

Figure 29 : Courbe d'étalonnage de la quercitrine (Q)	65
Figure 30 : Résultats de Teneur en flavonoïdes dans des extraits	66
Figure 31 : Courbes d'étalonnages catéchine (Cat)	67
Figure 32 : Résultats de teneur en tanins dans des extraits d' <i>Ajuga iva</i> et d' <i>Urtica dioïca</i>	68
Figure 33 : Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits d' <i>Ajuga iva</i> et d' <i>Urtica dioïca</i>	74
Figure 34 : Résultats de capacité anticoagulante des extraits d' <i>Ajuga iva</i> et d' <i>Urtica dioïca</i> ...	75

Liste des tableaux

Tableau 01 : Structures générales des hétérocycles des flavonoïdes.....	17
Tableau 02 : Quelques structures chimiques des alcaloïdes.....	19
Tableau 03 : Quelques Différences caractéristiques entre les bactéries Gram (-) et (+).....	31
Tableau 04 : Appareillage utilisé	40
Tableau 05 : Réactifs chimiques	41
Tableau 06 : Souches microbiennes utilisées	41
Tableau 07 : Antibiotiques utilisées.....	42
Tableau 08 : Résultats de rendement de l'extraction (%)	60
Tableau 09 : Résultats de criblage phytochimique des feuilles d' <i>Ajuga iva</i> et d' <i>Urtica dioïca</i> L61	
Tableau 10 : Résultats obtenus de teneur en polyphénols totaux (EAG/g Ms).....	63
Tableau 11 : Résultats de teneur en flavonoïdes mg EQ/g de matière sèche	65
Tableau 12 : Résultats de teneur en tanins mg éq cat/g MS d'extraitp.....	67
Tableau 13 : Résultats de la concentration inhibitrice de 50% de DPPH	69
Tableau 14 : Diamètres des zones d'inhibition des souches microbiennes vis-à-vis des antibiotiques	71
Tableau 15 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l' <i>Ajuga iva</i> et d' <i>Urtica dioïca</i> par la méthode de diffusion en puits d'agar.	72
Tableau 16 : Résultats de l'activité anticoagulante des extraits	77

Table de matière

Remerciement	
Dédicace	
Liste d'abréviation	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	

Première Partie : Etude bibliographique

Chapitre 01 : Phytothérapie

1. Phytothérapie : (histoire des phytothérapie)	5
1.2. C'est quoi la phytothérapie ?	6
1.3. Différents types de la phytothérapie	6
1.3.1. Médecine traditionnelle.....	6
1.3.2. Moderne médecine.....	7
1.4. Avantages de la phytothérapie	7
1.5. Inconvénients et les risques de la phytothérapie	8
1.6. Méthodes d'utilisation de la phytothérapie	8
1.6.1. Tisanes	8
1.6.2. Hydrolat.....	9
1.6.3. Onguent	9
1.6.4. Lotion.....	9

Chapitre 02. Plantes Médicinales

1. Définition des Plantes Médicinales	11
2. Origines.....	11
2.1. Plantes spontanées	11
2.2. Plantes cultivées	11
2.3. Plantes importées.....	12
3. Métabolites primaire.....	12
4. Métabolites secondaires.....	12

Chapitre 03 : Principes Actifs

1. Définition	14
2. Composés Phénoliques	14
3. Classification des polyphénols	15
3.1. Acide Phénolique.....	15
3.1.1. Acide hydroxybenzoïque	15
3.1.2. Acides Hydroxycinnamiques	16
3.1.3. Rôle et intérêt des composés phénoliques.....	16
3.2. Flavonoïdes	16
3.3. Polyphénols complexes (Tannins)	18
3.3.1. Tanins hydrolysables	18
3.3.2. Tannins condensés	18
3.4. Lignine	19
3.5. Alcaloïdes.....	19
4. Propriétés biologiques des phénoliques.....	20
4.1. Propriété antioxydant	20
4.2. Propriété antibactérienne.....	20
4.3. Propriétés anti-Inflammatoires	20
4.4. Propriété préventive des maladies cardiovasculaires	21
4.5. Propriétés anti cancérogènes	20
4.6. Propriétés anti ulcères	20

Chapitre 04. Monographie des plantes étudiées

1. <i>Urtica Dioïca L</i>	22
1.1. Description botanique	22
1.2. Classification systématique	23
1.3. Composés chimiques	23
1.4. Propriétés et utilisations médicinales.....	23
2. <i>Ajuga iva</i>	24
2.1. Description botanique	24
2.2. Classification systématique	25
2.4. Composés chimiques	26
2.5. Propriétés et utilisations médicinales.....	26

Chapitre 05 : Microorganismes Etudies

1. Généralités sur les Bactéries	29
2. Classification bactérienne	29
3. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées	32
3.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	32
3.2. <i>Bacillus cereus</i>	33
3.3. <i>Proteus mirabilis</i>	34
3.4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34

Deuxième Partie : Partie Expérimentale

Chapitre -1 –Matériel

1. Présentation du lieu de l'étude expérimentale	38
2. Matériels	39
2.1. Matériels végétaux	39
2.1.1. Choix du plantée	39
2.2. Appareillages utilisés	40
2.3. Réactifs	41
2.4. Souches microbiens utilisées	41
2.5. Antibiotiques utilisés	42

Chapitre -2 – Méthodologies et techniques analytiques

1. Préparation des extraits	44
1.1. Préparation de la poudre végétale	44
1.2. Extractions	45
1.2.1. Macération aqueuse	45
1.2.2. Macération par méthanol	45
1.2.3. Macération par éthano	45
1.3. Evaporation	46
2. Etude qualitatifs (Screening photochimique)	47
2.1. Screening photochimique des composés phénoliques	47
2.2. Screening photochimique des flavonoïdes	47
2.3. Screening photochimique des tanins condensés (TC)	47
3. Etude quantitatifs	48
3.1. Dosage des polyphénols (phénols totaux)	48
3.2. Dosage des flavonoïdes	49

3.3. Dosage des tannins	51
4. Evaluation des Activités Biologiques.....	52
4.1. Evaluation de l'activité antioxydant	52
4.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne	54
4.3. Evaluation de l'activité anticoagulante.....	57
5. Analyse statistique.....	66

Troisième Partie Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction.....	60
2.1. Résultats de screening photochimique.....	61
3. Résultats de l'étude quantitative	62
3.1. Dosage des polyphénols totaux	62
3.2. Dosage des flavonoïdes.....	64
3.3. Dosage des tanins	66
4. Résultats d'évaluation des activités biologiques.....	68
4.1 Résultats d'évaluation de l'activité antioxydant	68
4.2. Résultats d'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	71
4.3. Résultats d'évaluation de l'activité anticoagulante <i>in vitro</i>	75
Conclusion générale	78

Résumé x

Summary xi

ملخص .

Références bibliographiques

Annexes



Introduction générale

L'Algérie possède un patrimoine botanique important par sa richesse et sa diversité en zones côtières, montagnes, hauts plateaux, steppes et oasis sahariennes : on y dénombre plus de 3000 espèces de plantes. Parmi ces ressources naturelles, les plantes aromatiques et les plantes médicinales occupent une place importante dans l'économie nationale. Ils sont utilisés dans différents domaines : industrie alimentaire, conserverie, pharmacie et phytothérapie. [1]

La matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des usages variés dans les domaines de l'industrie, de l'agroalimentaire, de la cosmétique et dermatologie, et de la phytopharmacie. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80 % de la population des pays en voie de développement dépend presque entièrement de la médecine traditionnelle pour leurs besoins de santé de base. [2]

Actuellement, la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants de synthèse et les divers effets secondaires provoqués par des médicaments antithrombotiques délétères tels que l'ulcère gastrique, la thrombocytopénie et la résistance thérapeutique, ont conduit les chercheurs à exploiter le monde végétal à la recherche de molécules naturelles puissantes sans aucun effet indésirable. [3]

De nombreuses études ont mis en évidence la présence des métabolites secondaires biologiquement actifs tels que les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes. [4]

Dans notre étude nous souhaitons contribuer à la connaissance de certaines plantes taxonomique en Algérie, qui sont importants au niveau botanique mais surtout en tant que taxons dépositaires de diverses substances actives, très utiles dans l'usage médical traditionnel important.

Dans ce but, « *Ajuga Iva* », « *Urtica Dioïca* » constituent un matériel de choix. Ces espèces sont riches en substances actives ; elles méritent d'être étudiées en vue d'une amélioration et d'une adaptation à des exigences diverses.

Dans ce contexte , notre étude a pour but de déterminer le profil phytochimique de plantes à travers l'analyse qualitative de certains groupes chimiques bioactifs contenus dans différentes extraits (aqueux, méthanolique, éthanolique) d'une part ; et de l'autre part l'analyse quantitative de certains métabolites secondaires : les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins, et à la mise en évidence des activités biologiques de ces plantes. Le présent manuscrit, s'articule autour de trois parties :

La première partie est consacrée pour la revue bibliographique dans laquelle sont détaillés Les chapitres suivants : Phytothérapie, Les plantes Médicinales, Les Principes Actifs, Monographie des Plantes Etudiés et Les Microorganismes Etudiés Dans la deuxième partie, nous avons envisagé la partie expérimentale qui se déroule en cinq axes :

Dans le premier axe, nous avons réalisé l'extraction et l'analyse qualitative screening photochimique de quelques composés bioactifs.

Dans le deuxième axe, nous avons déterminé les teneurs en composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes, tannins).

Dans le troisième axe, Nous sommes intéressés à évaluer le pouvoir antioxydant d'extrait de plante par la méthode de DPPH

Dans le quatrième axe nous sommes intéressés à évaluer le pouvoir antimicrobien des extraits des plantes.

Le dernier axe est consacré à l'évaluation de l'activité anticoagulante des extraits. Enfin, dans la troisième partie, nous avons rapporté les résultats obtenus, les rendements, les composants trouvés, les teneurs des composés phénoliques et l'étude de l'activité antioxydant, antibactérienne et l'activité anticoagulante ainsi que leurs discussions et nous finirons par une conclusion.



Partie -1 :

Synthèse bibliographique



Chapitre – 01 –

Phytothérapie

1. Phytothérapie (Histoire des phytothérapie)

Pendant de nombreuses années, les remèdes naturels sont restés le seul traitement disponible par conséquent, leur utilisation et leurs effets ont été minutieusement étudiés, documentés et développé [5].

La première collection de légumes pharmaceutiques pour l'Égyptien Papyrus Ebers retour à 1500 av. qui a examiné des centaines de plantes. Au fil du temps, les médecins antiques sont des mesures de secours relativement développées. Grâce à son livre, via *Materia Medica* (« Sur la matière médicale ») qui énumère environ 600 plantes, la deuxième commande du médecin de la Grèce au cours du premier siècle de J.C [5]

Grand impact sur la médecine occidentale Ce livre laisse l'une des références les plus importantes en Europe jusqu'à la fin du XVIIIe siècle. Il a été traduit en plusieurs langues. En 1512, crée une version en utilisant les dessins des plantes mentionnées De *Materia medica* est le premier herbier illustré [5]

Au Moyen Âge, les médecines d'inspiration gréco-latine ou arabe sont restées fidèles à l'usage des plantes. Lors de fouilles dans un hôpital de l'abbaye écossaise du XIe siècle, les archéologues ont pu déterminer que les moines utilisaient des extraits de plantes comme le pavot ou le cannabis pour lutter contre la douleur. Au XVIe siècle, l'invention de l'imprimerie a bouleversé la phytothérapie européenne. [6]

À ce moment-là, les pratiques médicales avaient été transmises oralement de génération en génération, permettant aux scientifiques d'utiliser la plante. Depuis le XVIe siècle, l'augmentation de l'introduction de plantes médicinales lointaines telles que le thé, le café, le cincona ou l'ipéca a créé une division entre les populations rurales qui utilisaient principalement les plantes locales et la bourgeoisie aisée qui les achetait. [7]

Vers le XVIIIe siècle, les plantes médicinales des années 1700, disponibles en pharmacie, étaient importées de l'étranger et prescrites par des médecins hautement qualifiés.

Les progrès de la physique et de la chimie ont permis d'extraire et d'identifier les principes actifs de plantes spécifiques. Cela nous permet d'identifier de nombreuses molécules encore utilisées aujourd'hui. [7]

Morphine de pavot, colchicine, théobromine de cacao, coumarine de mélilot et plus encore. La découverte du numérique a commencé en même temps. En 1838, l'acide salicylique (acide acétylsalicylique), le précurseur chimique de l'aspirine, a été extrait du *yanagi blanc*. Il a été synthétisé pour la première fois en laboratoire en 1860. Depuis ce jour, les herbes chinoises et les synthétiques prennent des chemins différents. L'aspirine a été fabriquée à partir de

Spirea (ou Meadow Sweet) en Allemagne en 1899. Pour la première fois, la chimie fortifie les composés naturels pour augmenter leur puissance. Dans la seconde moitié du XIXe siècle, ce procédé évolue et la chimie médicinale est née. [6]

Peu à peu, les chimistes peuvent déterminer comment les substances extraites des plantes agissent sur le corps. Aussi, vers 1860, des biologistes, comme Louis Pasteur, ont identifié des micro-organismes qui causent des maladies infectieuses telles que le paludisme. Les plantes sont utilisées pour lutter contre les infections. La quinine, dérivée de l'écorce de Cincona, est relativement efficace pour soulager les attaques de paludisme et utilisée pour synthétiser d'autres médicaments antipaludiques [7]

1.2. C'est quoi la phytothérapie ?

En étymologique, le terme « phytothérapie » provient du grec ancien avec le terme « phyto » et signifie "végétal" et « Therapeia » signifie « Traitement ». La phytothérapie est une "thérapie par le végétal « [8]

Aujourd'hui Tous les dictionnaires s'accordent à donner à la phytothérapie la définition suivante : « La phytothérapie concerne le traitement des maladies par les plantes ou par leurs extraits » [8].

La phytothérapie est considérée par l'OMS comme une médecine conventionnelle, utilisée de manière curative ou préventive [9].

1.3. Différents types de la phytothérapie

1.3.1. Médecine traditionnelle

La médecine traditionnelle comprend la pharmacothérapie, qui implique l'utilisation de médicaments à base de plantes basés sur des avantages découverts empiriquement. Largement utilisé dans certains pays. En raison du manque de recherche clinique, on parle souvent de médecine « complémentaire », « alternative » ou « non conventionnelle » [10].

■ Aromathérapie

Est une thérapie qui utilise des essences végétales ou des huiles essentielles, des substances aromatiques sécrétées par de nombreuses familles de plantes, et ces huiles sont extraites par distillation ou autres procédés appropriés. Ces huiles sont des produits à utiliser avec précaution et en respectant les dosages prescrits, car elles ne sont pas totalement sans danger. [11].

▪ **Gemmothérapie**

Basée sur l'utilisation d'extraits alcooliques et glycéринés de jeunes tissus végétaux tels que pousses et racelles [12]

▪ **Herboristerie**

Correspond aux méthodes phyto-thérapeutiques les plus classiques et les plus anciennes. L'herboristerie utilise des plantes fraîches ou séchées, elle utilise la plante entière ou l'écorce, les fruits et les fleurs. La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau décoction, infusion et trempage [13]

1.3.2. Moderne médecine

La phytothérapie clinique, c'est-à-dire la médecine de terrain dans laquelle le patient se présente avant de tomber malade. Pour déterminer le traitement, une approche globale du patient et de son environnement est nécessaire, ainsi qu'un examen clinique complet, sont nécessaires pour déterminer le traitement [10]

Pratique fondée sur les progrès et les preuves scientifiques dans la recherche d'extraits actifs dans les plantes. Des extraits actifs déterminés sont standardisés, cette pratique conduit à la fabrication de produits pharmaceutiques ou botaniques dont la circulation nécessite une autorisation de mise sur le marché du produit fini, comme ainsi que la fourniture de matières premières médicinales pour les préparations botaniques médicinales, qui sont livrées exclusivement en pharmacie. On parle alors de pharmaco-gnostique ou de biologie pharmaceutique [14]

1.4. Avantages de la phytothérapie

Malgré les progrès considérables de la médecine moderne, la phytothérapie a de nombreux Avantages. À l'exception des cent dernières années, les gens ont toujours non seulement il y a des plantes qui peuvent se soigner pour des maladies bénignes, rhumes, toux, ou plus maladies graves. [10]

Un grand intérêt en phytothérapie est l'excellente tolérance de la plante lorsqu'elle est utilisée au bon dosage. Les effets secondaires sont généralement mieux connus que les molécules synthétiques [15]

En général, les plantes médicinales largement utilisées ont peu d'effets secondaires, sont faciles à utiliser à la maison et l'effet recherché apparaît presque immédiatement [16]

1.5. Inconvénients et les risques de la phytothérapie

Certaines plantes peuvent être dangereuses (et même causer la mort), mais elles ne sont pas prescrites en petite quantité. Les risques qui surviennent dans ce domaine sont :

- Surdosage
- Allergies
- Contamination par diverses toxines (métaux lourds, micro-organismes)
- La présence de substances homéopathiques dans la formulation.
- Interactions avec d'autres plantes ou traitements, notamment homéopathiques [17].

1.6. Méthodes d'utilisation de la phytothérapie

La façon dont les produits à base de plantes sont fabriqués peut affecter la quantité d'ingrédients actifs présents. Le moment et la saison de la récolte et le type de sol dans lequel il pousse peuvent également affecter son efficacité. La fabrication de médicaments commence généralement par le broyage de la partie de la plante qui a des propriétés médicinales. Ces matières végétales en purée sont appelées macéras. Selon le type d'installation et le procédé utilisé, le trempage peut être séché avant le broyage. Le macérât est ensuite immergé dans le liquide pour en extraire le principe actif. Ce liquide s'appelle un solvant et il existe plusieurs façons de le faire : infusions, décoctions, teintures, extraits, cataplasmes, etc. [18]

1.6.1. Tisanes

Est une boisson obtenue par ramollissement, digestion, Infusion ou décoction de matières végétales (fleurs fraîches ou séchées, feuilles, tiges, racines) dans de l'eau chaude ou froide. Ce terme est utilisé familièrement pour désigner toutes les infusions qui ne contiennent pas de caféine et donc pour les distinguer du thé et du maté [19]

- **Extrait à l'eau froide**

Macération est utilisée lors de la préparation de matériaux qui se détruisent lorsqu'ils sont chauffés. La partie soluble est extraite par mise en contact de la plante avec n'importe quel liquide froid dans une cuve ouverte. [20]

- **Infusion**

L'infusion est la façon la plus courante et classique de faire des tisanes, généralement appliquée aux parties délicates des plantes telles que les fleurs, les feuilles parfumées et les sommités. La formule consiste à verser de l'eau bouillante sur des parties des organes d'une plante, comme les fleurs, les feuilles et les tiges, comme le thé. Une fois les ingrédients infusés (après environ 5 à 10 minutes), filtrez la tisane, un papier filtre ou un tamis à mailles

fines non métalliques et servez. Cette forme assure une diffusion optimale des substances volatiles telles que les essences, les résines et les huiles. [21]

- **Décoction**

La décoction est obtenue en faisant bouillir les herbes à feu doux pendant 10 à 30 minutes, généralement dans de l'eau. [21]

1.6.2. Hydrolat

Distillation des composants volatils contenus dans la poudre de plante et d'autres parties de la plante. Étant donné que 1 à 5 parties d'hydrolat peuvent être obtenues à partir d'une substance, la concentration de ces hydrolats varie de 1 à 1/5. L'HE flotte facilement dans l'eau et conserve ses caractéristiques. Ainsi, en raison de la forte évaporation dans les milieux alcooliques, les hydrolats conservent une odeur plus persistante que les alcoolates [21].

1.6.3. Onguent

Une formulation crémeuse à usage externe appliquée sur la peau, les muqueuses ou les tissus endommagés. Ils sont obtenus à partir de corps gras (pétrole, huile végétale ou paraffine) dans lesquels sont dissous les principes actifs de la plante [20]

1.6.4. Lotion

Préparations à base d'eau et de plantes contenant quelques gouttes d'HE. Ils sont utilisés pour frotter, masser et tapoter la zone enflammée ou enflammée de la peau [20]



Chapitre – 02 –

Plantes Médicinales.

1. Définition des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle, dont certaines au moins ont des propriétés médicinales, et leur action est due à des métabolites primaires ou secondaires ou à des effets synergiques entre les différents composés présents [22].

Organisation mondiale de la santé a compilé une liste monographique de plante médicinale, qui est divisée en trois catégories : les plantes dont l'utilisation a été confirmée par des données cliniques, les plantes dont l'utilisation a été confirmée par la pharmacopée et les systèmes médicaux traditionnels, et L'utilisation par le système de médecine traditionnelle. Décrit dans le cadre populaire mais non confirmé par les données cliniques et de laboratoire [23]

Selon l'OMS, plus de 20000 plantes utilisées dans le monde pour ses propriétés médicinales, seulement 2000 à 3000 plantes ont été étudiées au niveau scientifique. [7].

2. Origines

2.1. Plantes spontanées

Le concept de végétation naturelle se définit comme une espèce végétale qui prend racine et se propage dans un milieu donné sans intervention humaine directe.

Les plantes indigènes sont des plantes qui poussent naturellement dans une zone sans introduction humaine. Ce sont des espèces sauvages utilisées par l'homme mais non intentionnellement plantées. [24]

2.2. Plantes Cultivées

La culture des plantes médicinales présente de nombreux avantages. En cultivant soigneusement des graines soigneusement sélectionnées, vous pouvez obtenir des matières premières riches et de haute qualité.

Toutes les plantes ont le même degré de maturité à la récolte. C'est facile et souvent mécanisé, ce qui réduit les coûts de main-d'œuvre. Les plantes peuvent être séchées et transformées en bon état près de la zone de culture. [24]

Comme les cultures comestibles, les plantes sélectionnées et améliorées sont utilisées pour obtenir des niveaux élevés d'actifs bénéfiques et faciliter la culture, par exemple en augmentant la résistance aux conditions climatiques et aux parasites [24].

2.3. Plantes Importées

Par définition, une plante est dite exotique parce qu'elle est introduite, volontairement ou non, par un être humain dans une zone qui n'est pas la sienne et se situe en dehors de son espace naturel. Par conséquent, l'utilisation du terme est étroitement liée à sa situation géographique. [24]

Les plantes sont d'une importance primordiale pour la survie humaine et Performance de divers écosystèmes. Ils contiennent des parties importantes Composés impliqués dans toutes les réactions enzymatiques. Substances biochimiques qui se produisent dans le corps. Deux groupes de Métabolites : Métabolites primaires et secondaires [25]

3. Métabolites primaires

Les molécules de base impliquées dans la structure des cellules végétales et leurs fonctions de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés, glucides) [26]

4. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires végétaux sont des molécules essentielles à la vie des plantes et leur interaction avec l'environnement, ces composés bios synthétisés naturellement par les végétaux, qui ne participent pas directement à son développement. Ces métabolites sont responsables des fonctions périphériques essentielles à la survie de la plante. [26]



Chapitre – 03 –

Principes Actifs

1. Principes actifs

L'une des grandes caractéristiques des plantes est leur capacité à régénérer une grande variété de substances naturelles. En plus des métabolites primaires classiques glucides, protéines et lipides ils accumulent souvent des métabolites secondaires. Cette dernière est une source importante de molécules utilisables par l'homme. [27]

Le principe actif ou principe d'action des plantes médicinales est un ingrédient naturel Il existe en lui. Ils donnent à la plante son effet thérapeutique. Souvent à Très petite quantité dans la plante (seulement quelques pour cent du poids total), ces composants sont des éléments essentiels. Il existe un intérêt thérapeutique chez l'homme ou l'animal. Il est de plantes fraîchesou sèches. [28]

Parmi les parties utilisées : feuilles, fleurs, racines, Écorce, sommités florales ou graines. Connaître la composition des plantes est important pour comprendre comment elles affectent le corps .Les principes actifs capitaux des plantes sont : Les phénols, Les flavonoïdes, Les tanins, Les alcaloïdes, Les anthocyanes, Les coumarines, Les vitamines, Les minéraux, Les huiles essentielles [27].

2. Composés phénoliques

Le terme polyphénol a été introduit en 1980. Les polyphénols, aussi appelés composés phénoliques, sont des molécules spécifiques Il appartient au métabolisme secondaire du règne végétal. On les trouve dans les plantes, des racines aux fruits. [29]

Les éléments structurels de base qui les caractérisent sont au moins Noyau phénolique à 6 carbones auquel au moins un groupe d'hydroxyle (OH) est directement lié, libreou engagé dans une autre fonction : éther ou ester [30].

Le terme « phénol » regroupe environ 10 000 substances naturelles identifiées [29].

Ces substances jouent un rôle important dans les interactions d'une plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie dans son écosystème

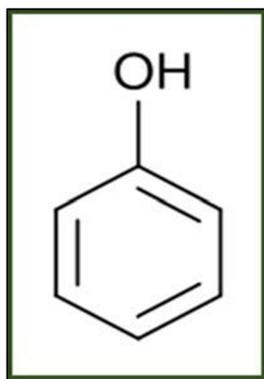


Figure 01 : Structure du noyau phénol [30]

3. Classification des polyphénols

La classification des polyphénols est essentiellement basée sur la structure et le nombre des éléments structurel qui relie les noyaux aromatiques à ces noyaux, a la base de leurs structures chimiques, les polyphénols peuvent être classés en au moins 10 classes différentes, allant des molécules simples, telles que les acides phénoliques, aux composés hautement polymères, tels que les tanins. [31]

Les phénols sont la classe la plus importante de composés phytochimiques dans les plantes. Les principales classes des composés phénoliques sont les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins. [31]

3.1. Acide phénolique

Ce sont les formes phénoliques les plus simples et sont composées de deux sous-groupes majeurs. [32].

3.1.1. Acide Hydroxybenzoïque

Dérivé de l'hydroxylation de l'acide benzoïque. Structure de base de type C6-C1. Les acides phénoliques existent généralement sous forme libre ou liée. Cette catégorie est riche en plantesAliments tels que les épices, les fraises, certaines baies et les oignons [33]

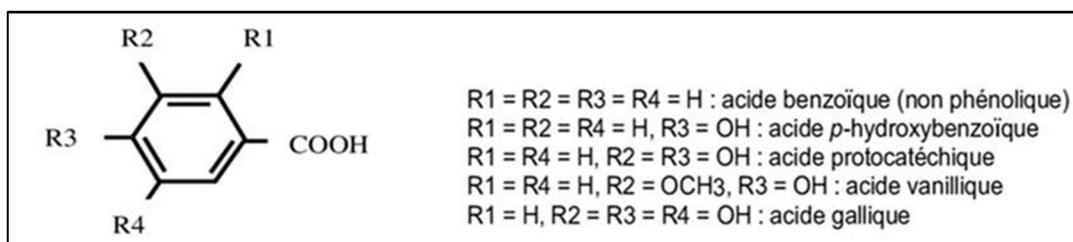


Figure 02 : Structures chimiques des acides hydroxybenzoïque [33]

3.1.2. Acides Hydroxycinnamiques

Dérivés de l'acide cinnamique sont souvent estérifiés. Ont une structure de base de type C6-C3. Ces acides sont rarement trouvés dans la forme libre, À l'exception les aliments transformés. et peuvent également être amidifiés ou combinés avec des sucres (O-acylglucosides, Acylglucosides) [33]

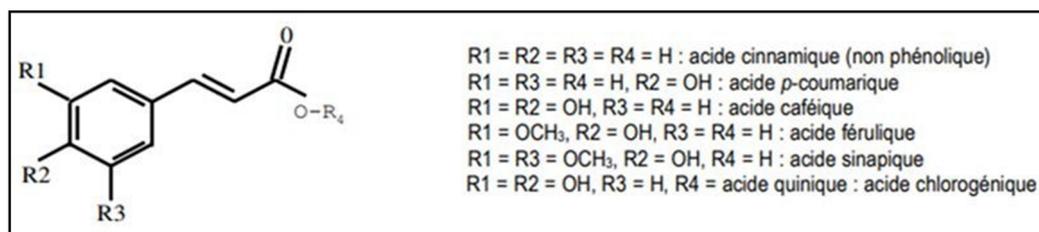


Figure 03 : Structures chimiques des acides Hydroxycinnamiques [33]

3.1.3. Rôle et intérêt des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects :

Dans la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...).

Les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV; soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux

Les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par la transformation, dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini [33]

3.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes présents dans la plupart des plantes sont considérés comme des pigments végétaux presque universels et sont souvent impliqués dans la coloration des fleurs et des fruits [34]. Le terme flavonoïde (de flavus, « jaune » en latin)

Composé d'un squelette à 15 carbones constitué de deux cycles aromatiques A et B, et d'un hétérocycle central C de type pyrane forme une structure C6-C3-C6 [34].

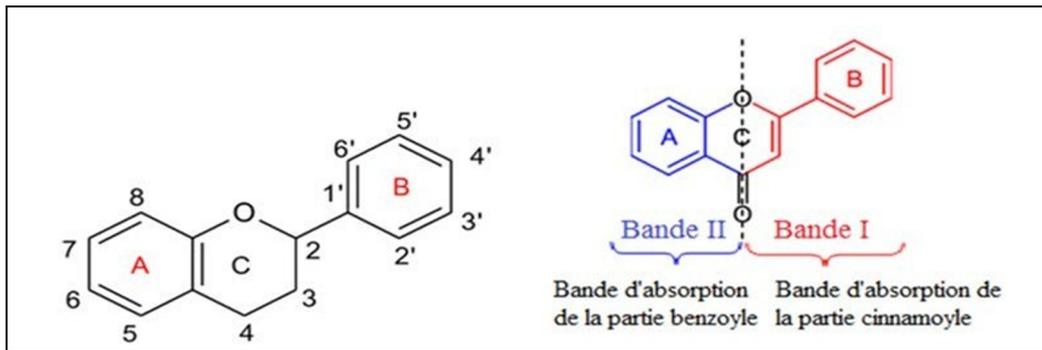


Figure 04 : Squelette de base des flavonoïdes [34].

Des différents flavonoïdes peuvent subir de nombreuses substitutions, Les substitutions variées au sein de l'hétérocycle C donnent les différentes sous-classes des flavonoïdes

Tableau 01 : Structures générales des hétérocycles des flavonoïdes. [34].

Sous class	Structure	Flavonoïdes typiques
Flavanols		Catéchine (-)-Epicatéchine Gallocatechine
Flavones		Lutéoline Apigénine
Flavanones		Naringinine Eriodictyol
Isoflavones		Daidzéine Formononétine Génistéine Glycitéine

3.2.1. Propriétés des flavonoïdes

- Protection des plantes contre les radiations UV
- Sont impliqués dans les processus de défense contre les infections bactériennes
- Agissent comme des pigments ou des co-pigments
- Régulation de l'élongation des tiges
- Interviennent dans la maturité des fruits

3.3. Polyphénols complexes (tannins)

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols, Les tanins sont un groupe de polyphénols à haut poids moléculaire (500 et 3000 Da) et qui existent dans presque chaque partie de la plante. Ces composés sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés [35].

3.3.1. Tanins hydrolysables

Sont des oligos ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénolique. Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) [35].

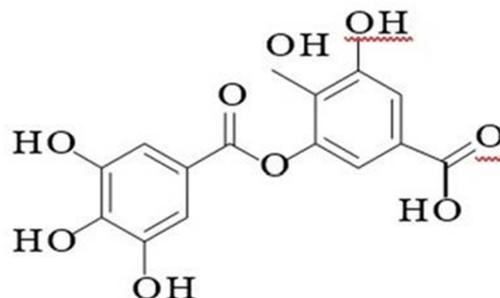


Figure 05 : Structure de base des tanins hydrolysables [36]

3.3.2. Tannins condensés

Les proanthocyanidines sont des dimères ou d'unités flavonoïdes, le plus souvent la catéchines, les catéchols, reliées par des liaisons fortes de carbone entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6, non hydrolysables mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines [35].

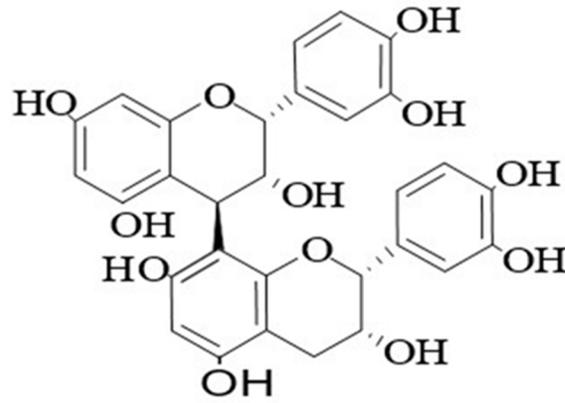


Figure 06 : Structure de base des tanins condensés [36]

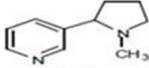
3.4. Lignine

Lignine est un polymère polyphénolique de masse moléculaire élevée (C6-C3) *2, de composition très complexe, en forme de réseau, présent dans les parois cellulaires de certains tissus de plantes vasculaires et trachéales (communément appelées plantes ligneuses). On les trouve principalement dans les parois secondaires des tissus de soutien et conducteurs, offrant une grande résistance mécanique pour l'usage humain. [36]

3.5. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés basiques, généralement forts et complexes. Effets physiologiques. Pour la plupart d'entre eux, ce sont des toxines végétales très actives aux effets spécifiques. [36]

Tableau 02 : Quelques structures chimiques des alcaloïdes [36].

Alcaloïde	Dérivés
 <p>pyridine</p>	 <p>nicotine</p>
 <p>pyridine</p>	 <p>piperidine</p>

4. Propriétés biologiques des composés phénoliques

4.1. Propriété antioxydant

La capacité d'éliminer les radicaux libres générés Spontanément et continuellement chez les êtres vivants. Flavonoïdes a une Capacité à éliminer les radicaux libres tels que les radicaux peroxylipides et Accélère la sénescence cellulaire [37]

4.2. Activité antibactérienne

L'effet antibactérien des produits polyphénoliques est dû à la perturbation de la fraction lipidique de la membrane plasmique microbienne. Il en résulte une modification de la perméabilité de la membrane et la perte de ses organites intracellulaires. les Propriétés physicochimiques des composés polyphénolique (hydrosolubilité et lipophilie) peut affecter cet effet antibactérien [38]

4.3. Propriétés anti-inflammatoires

Les flavanols peuvent prévenir la douleur des muscles en inhibant la synthèse d'oxyde nitrique qui est déclencheur chimique de l'inflammation, Plus précisément, ils inhibent l'enzyme NOS Responsable de la synthèse de l'oxyde nitrique [39]

4.4. Propriété préventive des maladies cardiovasculaires

Les flavonoïdes inhibent l'oxydation des lipoprotéines, les lipoprotéines provoque l'accumulation de dépôts lipidiques (essentiellement cholestérol) dans les vaisseaux sanguins [40]

4.5. Propriétés anti cancérogènes

Effet hépato-protecteur des polyphénols contre les dommages causés ADN des hépatocytes et par divers composés hépatotoxiques Cancérogène.[41]

4.6. Propriétés anti ulcères

Les Flavonoïdes A Des Propriétés Préventives Contre Les Ulcères, un flavanol qui joue un rôle important dans la réduction l'ulcération et la protection des cellules gastriques [42]



Chapitre – 04 –

Monographie des plantes étudiées

1. *Urtica dioïca* L

1.1. Description botanique

L'ortie est considérée comme une plante rurale très envahissante, elle est herbacée mais vivace, de 60 à 120 cm de haut. La partie souterraine comprend rhizomes cylindriques de 3 à 10 mm d'épaisseur, racines longues de 1 à 5 mm d'épaisseur portez-en d'autres meilleures, jaunâtres, bien marquées et profusément ramifiées de nouvelles pousses poussent chaque année, elles sont donc parfois envahissantes ortie. Ils fixent l'azote de l'air grâce à l'action de micro-organismes (*Rhizobium frankia*) symbiose avec les orties. Les feuilles sont grandes, par paires, vert foncé, ils sont riches en chlorophylle et mesurent généralement plus de 5 cm de long, ovale, charnue, pendante, déchiquetée, grossièrement en forme de cœur, se termine par des points

Le fruit d'*Urtica dioïca* est constitué d'akènes ovales enfermés dans un calice persistant, avec des graines. Produit à partir de panicules à maturité, sableux à brun, plat, ovale, pointu, 1 à 1,5 mm de long et 0,7 à 1 mm de large gros. Ses membres pointus portent les restes de stigmates de soie cyan, et le fruit est généralement entouré de deux petits lobes extérieurs étroits et de deux lobes intérieurs vert plus grand, plus large et ovale l'urticaire est caractérisée par la présence de poils unicellulaires en forme de cône sur la face supérieure des feuilles et des tiges, un bulbe recouvert de silice et couvert d'une pointe courbe [43].

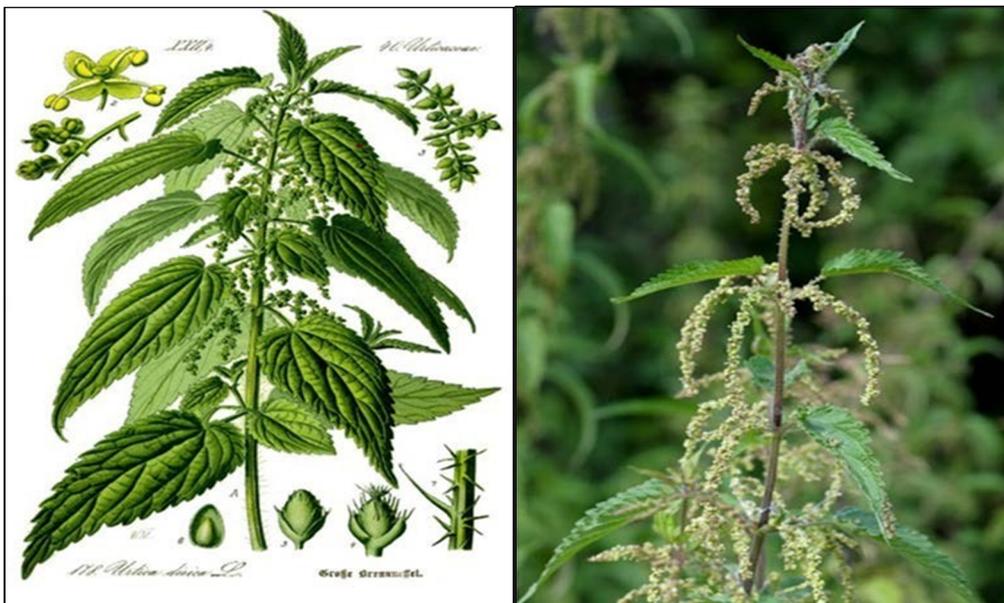


Figure 07: Aspect morphologique d'*Urtica dioïca* L.

1.2. Classification systématique

D'après la troisième version de la classification botanique des angiospermes établie par AngiospermsPhylogeny Group (APGII) en 2009, la position systématique de l'ortie est la suivante (DELAHAYE, 2015) :

Règne *Végétale*

Sous règne *Tracheobionta*

Embranchement *Magnoliophyta*

Sous- embranchement *Magnoliophytina*

Super -division *spermatophyta*

Division *Magnoliophyta*

Classe *Rosidaeae*

Sous classe *Rosideaedialycarperllées*

Ordre *Rosales*

Famille *Urticaceae*

Genre *Urtica*

Espèce *diïcao*

1.3. Composés chimiques

La surface de la plante, en particulier les feuilles, est recouverte de poils urticants, qui portent à leur base un liquide composé de nombreux composés acétylcholine, acide antral histamine, sérotonine chimique le plus important. L'acide formique et astragaline isoquercitrine La plante à fleurs contient 8,1-7,0% de flavonoïdes, dont la rutine kaempférol, astragaline Acide de pomme, une huile malique. Le café (a,) et l'acide salicylique ,41% sont des composés phénoliques, dont le plus important est caféique. la chlorophylle et les minéraux (potassium, bore, et vitamines (A, B, C et K)céto volatils, nitrate de potassium 3-2% Glucoprotéines, stérols, tanins et enzymes. Calcium, fer, soufre, phosphore .

Les racines contiennent des lectines (1,0 %) et un mélange de composés d'isolectine, d'agglutinine et de stérol. .) campestérol, stigmastérol, bêta-sitostérol (stérols. glucogalacturonana glucanes polysaccharides oligosaccharides [43],

1.4. Propriétés et utilisations médicinales

L'ortie a un effet anesthésique local. Ses produits sont utilisés dans le traitement des rhumatismes, de l'arthrite et de la goutte. IL possède des propriétés anti-inflammatoires, antifongiques et antivirales et s'est avérée efficace dans le traitement des infections des voies urinaires et des coliques.

Des expériences montrent l'effet des extraits de plantes sur le VIH & Dans le virus de la grippe. La recherche a prouvé l'efficacité des jus verts, y compris le nitrate de potassium, la scopolamine et le bêta-sitostérol. L'histamine est un diurétique. Les extraits aqueux des racines, y compris les polysaccharides et les lectines, sont également augmentés (Lectine) de l'urètre pour les personnes atteintes de prostatite. L'urine résiduelle diminue chez ces patients. Il est utilisé pour traiter l'irritation de la vessie, l'inflammation et l'hyperplasie bénigne de la prostate.

Les médecins russes affirment avoir traité avec succès des porcs et d'autres cancers avec de la teinture d'ortie. L'efficacité de cette plante a été prouvée pour abaisser la glycémie et le stress émotionnel [43]

2. *Ajuga iva*

2.1. Description botanique

Herbe vivace. Sa base est semi-dentelée. Ramifié par le bas. Mopper. Couleur grise. Sa longueur est de 20 à 30 cm. Le marché ment ou monte. Feuilles denses. Les feuilles sont linéaires à oblongues. Son bord est tordu vers le bas. Compléter ou porter 3-11 dents sur chaque main. Les feuilles fleuries sont généralement plus longues que. Fleur. Les fleurs se rencontrent en coccards à quelques fleurs (4-2 fleurs dans chaque tour). Aisselle. Il développe une inflorescence semi-groupée. Les fleurs sont hermaphrodites. Dualité de symétrie. Sessile.

La corolle est d'environ 5 mm, tubulaire. Opar Blanc. Il se termine par cinq dents ovales à lancéolées. Leur longueur est égale à la longueur du tuyau ou plus courte que celle-ci. La corolle mesure environ 15 mm de long. Violet, rose ou jaune. Ses cinq pétales sont fusionnés en un tube dont la longueur dépasse la longueur de la coupe. Ensuite, il se divise en deux lèvres de taille différente, de sorte que la semelle de la lèvre ressemble. La lèvre supérieure est très petite. Droit et ivre. La lèvre inférieure est composée de trois lobes plats, le lobe moyen étant le plus grand de taille. Son haut est vissé. [44].

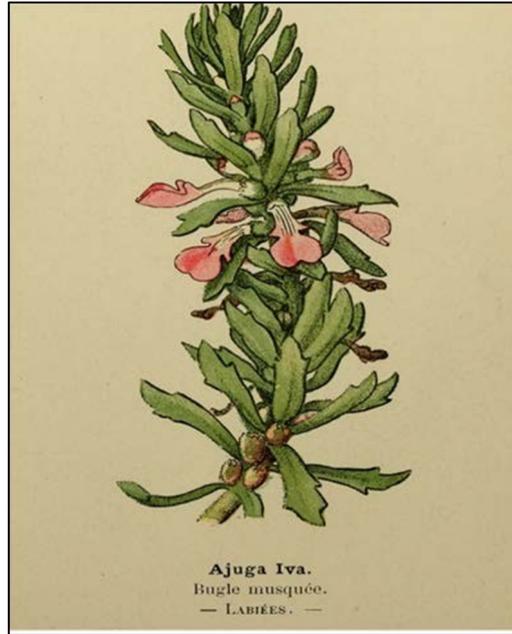


Figure 08 : Aspect morphologique d'*Ajuga iva* [44].

2.2. Classification systématique

A.iva appartient à la famille des Lamiacées avec 266 genres et près de 301 espèces. D'après la nouvelle classification de l'*Ajuga iva* est classée comme suite [44].

Règne *Plantae*

Embranchement *Embryophytes*

Sous Embranchement *rachéophytes*

Super Classe *Spermaphytes*

Classe *Angiospermes*

Ordre *Lamiales*

Famille *Lamiaceae*

Genre *Ajuga*

Espèce *Ajuga iva*

2.3. Distribution géographique

La plante *Ajuga iva* se développe dans le sol profond des terres fraîches, la floraison de la plante est étendue d'avril à octobre, pousse à une altitude de 0 à 1600 mètres, dans les régions arides ou elle croît dans les champs. Elle est très répandue dans la région méditerranéenne, telles les pelouses et les forêts algériennes. [44].

Ajuga iva est une plante assez commune dans les pays d’Afrique du Nord et d’Europe du Sud. Il est largement distribué dans les îles Baléares, la Corse, la Crète, la France (y compris Monaco et les îles anglo-normandes), la Grèce, l’Espagne (y compris Andorre mais à l’exclusion des îles Baléares), l’Italie, l’ex-Yougoslavie, le Portugal, la Sardaigne, la Sicile et/ou Malte et Australie et Amérique du Nord. [44].

2.4. Composants chimique

La plupart des plantes contiennent des composés polyphénoliques, qui sont parmi les meilleurs antioxydants. De grandes quantités de flavonoïdes et de tanins se trouvent dans *Ajuga iva*.

Il contient également des anthocyanes, des acides phénoliques et d’autres substances, notamment l’améthyste. Des études ont montré que *l’Ajuga iva* contient les trois principaux ecdystéroïdes (makistéron A, 20-hydroxyecdysone et cyastéron), en plus de la 24,28-déhydromakistéron A et de deux nouveaux phytoecdystéroïdes (22-oxocyastéron et 24,25-déhydroprécycastéron). Il contient également de la 2-désoxy-20-hydroxyecdysone, de la polypodine B et de la 14,15-dihydroajugapitine. Les thérapeutiques (topiques), les diterpénoïdes (crothane), les iridoïdes et les saponines sont également des composés que les chercheurs ont trouvés dans *Ajuga iva* [44].

2.5. Propriétés et utilisations médicales

A. iva est utilisé en médecine traditionnelle depuis l’Antiquité contre plusieurs maladies (Les enquêtes ethnobotaniques sur *A. iva* ont suggéré ses applications médicales potentielles dans de nombreux troubles. Il possède des effets carminatifs, stomachiques, antidiabétiques, antiallergiques, anticancéreux et antihypertenseurs, ainsi qu’une activité protectrice contre les troubles cardiovasculaires et métaboliques, rénaux, digestifs et respiratoires [44].

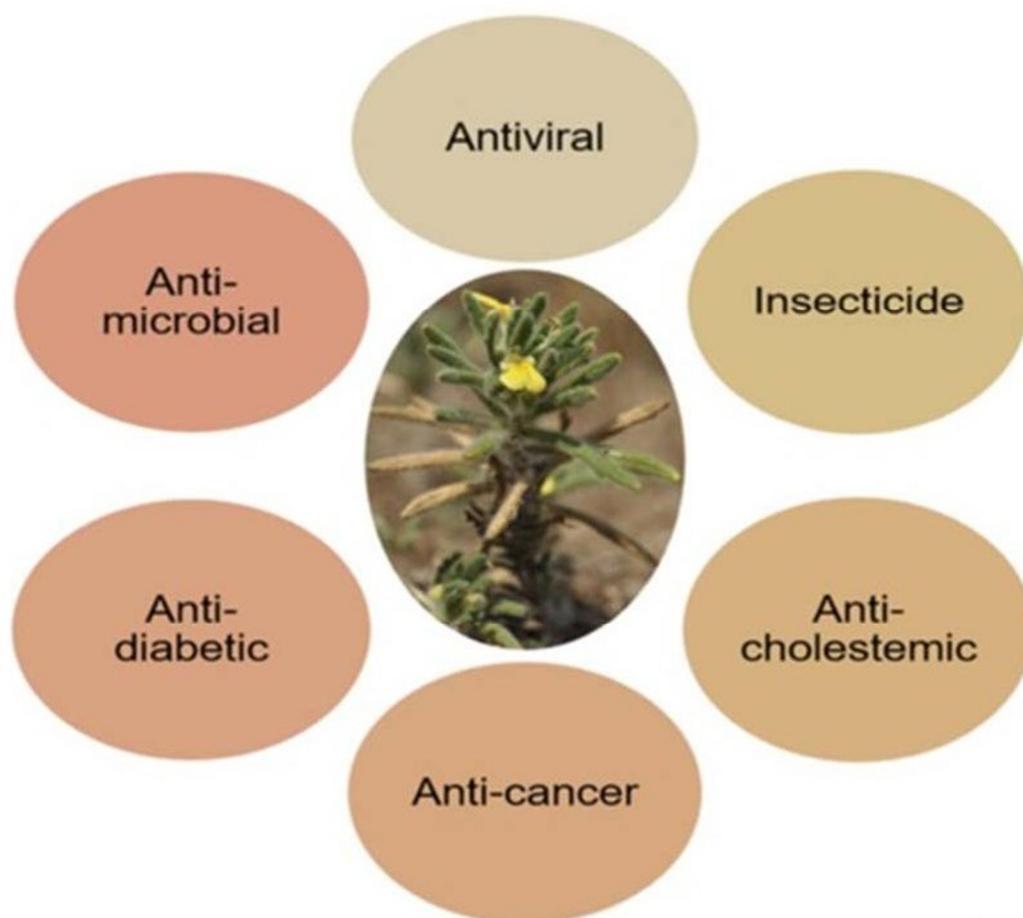


Figure 09 : Propriétés pharmacologiques de *Ajuga reptans*. [44].

 Chapitre – 05 –

Microorganismes Etudiés

1. Généralités sur les bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires qui sont classés comme procaryotes car ils n'ont pas d'enveloppe nucléaire. Cette caractéristique distingue des autres organismes unicellulaires considérés comme des eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). Ils sont divisés en bactéries appropriées (bactéries) et bactéries primitives (Archaea) [45]

Les bactéries ont souvent un diamètre inférieur à 1 µm. Ils peuvent être frais ou après coloration dans des microscopes optiques. Leur forme peut être sphérique (cocci), bâtons (bacilli), incurvée (vibrio) ou spirale (spirochète). Les détails de leur structure ne peuvent être vus qu'au microscope électronique. [45]

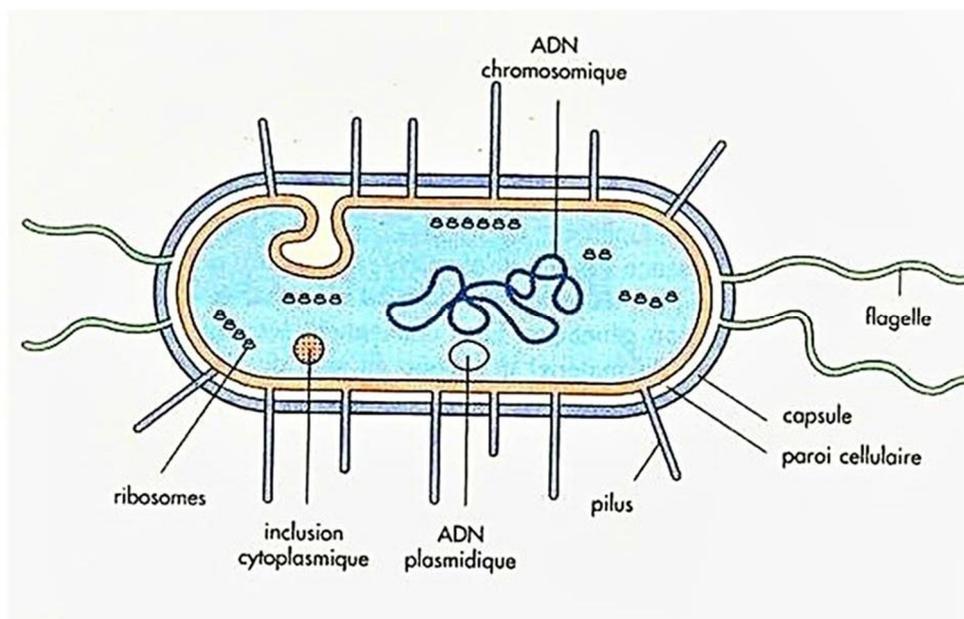


Figure 10 : Structure d'une cellule procaryote [44]

2. Classification bactérienne

En 1984, fut publiée la première édition du « Bergey's Manual of systematic bacteriology », il contient la description de toutes les espèces de bactéries et d'archées identifiées à l'époque.

Chaque volume couvre un groupe spécifique de microbes et est écrit par les experts de ce domaine particulier qui en détaillent la morphologie, la physiologie, les conditions de croissance, l'écologie et d'autres informations au point de faire de chaque volume une référence appréciée par les microbiologistes.

Le dernier volume contient aussi une section qui met à jour les descriptions et les classements phylogénétiques qui auront été revus depuis la publication du volume 1.

Bien que La forme des bactéries et leur affinité pour les colorants constituent la base de leur classification. Les bactéries peuvent être sphériques (coques ou cocci), en forme de bâtonnet (bacilles), La plupart prennent la coloration de Gram. [47]

Les bactéries à Gram positif en bleu-violet, les bactéries à Gram négatif en rosé. Les mycobactéries (ex. Mycobacterium tuberculosis) sont colorées en rosé par la technique de ziehi- Neelsen. [47]

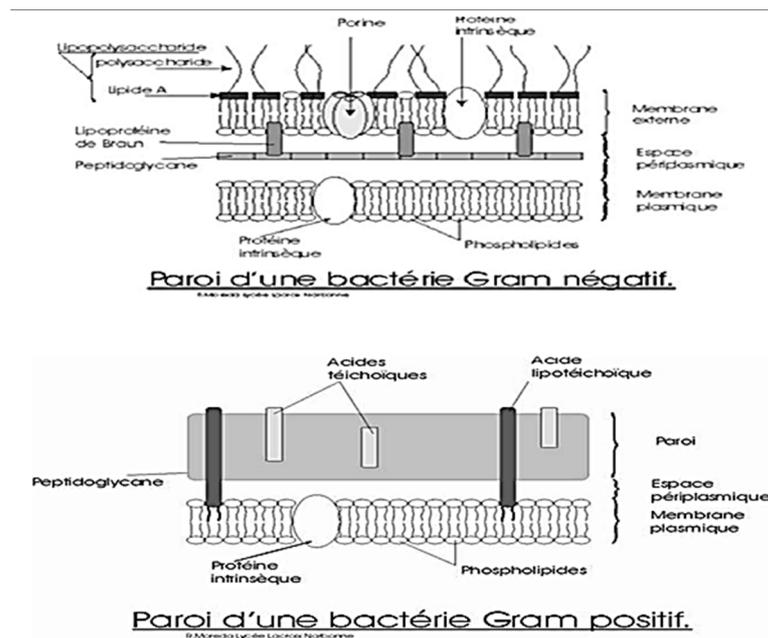


Figure 11 : Schéma de structure de paroi du gram positif et négatif [48]

Tableau 03 : Quelques différences caractéristiques entre les bactéries Gram (-) et (+) [48]

Propriétés	Bactéries Gram négatives	Bactéries Gram positives
Paroi cellulaire	Paroi cellulaire de type Gram négatif avec une couche interne de peptidoglycane de 2 à 7nm et une membrane externe épaisse de 7 à 8nm) contenant des lipides, des protéines et des lipopolysaccharides	Paroi cellulaire de type Gram positif homogène et épaisse (20 à 80 nm) faite principalement de peptidoglycane. Il peut y avoir d'autres polysaccharides et des acides teichoïques.
Forme cellulaire	Sphère, ovale, bâtonnets droits ou courbés, hélices ou filaments, certaines ont des gaines ou des capsules	Sphères, bâtonnets ou filaments peuvent avoir de vraies ramifications
Métabolisme	Phototrophes, chimiolithoautotrophes, ou chimioorganohétérotrophes.	Généralement chimioorganohétérotrophes quelques un sont phototrophes
Mobilité	Mobiles ou non mobiles. La localisation des flagelles. La mobilité peut être due à des filaments axiaux (spirochètes) ou à du glissement.	Le plus souvent non mobiles ; si mobiles ont des flagelles péritriches.
Endospores	Ne forment pas d'endospores	Certains groupes forment des endospores

3. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

3.1. *Staphylococcus aureus*

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 µm. Elles sont regroupés en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Ce type de bactéries sont immobiles, asporulés, habituellement sans capsule.

La bactérie cultive facilement sur les milieux usuels et aussi sur des milieux riches en NaCl. Elle doit son nom d'espèce à l'aspect pigmenté de ses colonies. Elle possède une coagulase (enzyme provoquant la coagulation du plasma), ce qui la distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques, et peut produire de nombreuses toxines [48]

- **Classification:**

Domain: *Bacteria*

Phylum: *Firmicutes*

Class: *Bacilli*

Order: *Lactobacillales*

Family: *Staphylococcaceae*

Genus: *Staphylococcus*

Species: *Staphylococcus aureus*

- ▀ **Habitat**

La bactérie est très répandue chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales.

Chez l'homme, environ un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses (principalement les fosses nasales) et des zones cutanées humides (périnée, aisselles).

- ▀ **Transmission**

La transmission interhumaine s'opère généralement par contact direct (manu portage).

Elle peut aussi être indirecte par les vêtements, la literie ou les aliments.

Des épidémies de caractère nosocomial peuvent survenir.

- ▀ **Pouvoir pathogène**

Staphylococcus aureus est le principal agent pathogène des infections des plaies, de l'ostéomyélite infantile (infections osseuses), de l'arthrite (infections articulaires), de la septicémie et de la pneumonie (multiples petits abcès dans les deux poumons).

L'intoxication alimentaire, qui élimine rapidement la diarrhée et les vomissements, peut être causée par des *staphylocoques* (surtout des toxines). Les *staphylocoques* peuvent causer diverses lésions, mais les lésions cutanées sont les plus courantes. [48]

3.2. *Bacillus cereus* :

Le genre *Bacillus* sont des bacilles rectilignes à extrémités carrées ou arrondies, de taille variable (de 0,5 x 1,2 µm jusqu'à 2,5 x 10 µm), sporulés à Gram positif, Ils se distinguent des autres *Bacillus* essentiellement par leur aptitude à croître en anaérobiose. Généralement, ils sont mobiles grâce à une ciliature péri triche.

L'espèce *cereus* vient de l'adjectif latin *cereus* (qui ressemble à la cire) à cause des Colonies que *Bacillus cereus* forme sur les géloses. Les espèces du groupe *Bacillus cereus* sont caractérisées par une température optimale de croissance de 30-37°C mais elles sont capables de croître de 4°C à 50°C selon les espèces (55°C pour certaines souches).

Ces caractéristiques les rendent particulièrement résistantes à chaleur, le froid, la déshydratation, l'action des désinfectants et des substances bactéricides. La croissance de *Bacillus cereus* est inhibée dans les aliments à activité de l'eau (aw) inférieure à 0,92 ou à pH inférieur à 4,5. [44]

■ Classification

Règne : *Bacteria*

Division : *Firmicutes*

Classe : *Bacilli*

Ordre : *Bacillales*

Famille : *Bacillaceae*

Genre : *Bacillus*

Espèce : *Bacillus cereus sensu stricto* 4. [44]

■ Habitat

Les espèces du groupe *cereus* sont très répandues dans la nature et sont souvent isolées du sol, de la poussière ou de la surface de végétaux, ce qui favorise leur prolifération dans les aliments

■ Pouvoir pathogène

Certaines espèces sont aussi capables d'infecter des mammifères et/ou des insectes. *Bacillus cereus* peut produire deux types de toxines, une toxine émétique préformée dans les aliments et résistante à une large gamme de températures et de pH, et des toxines diarrhéiques produites pendant la croissance dans l'intestin grêle après ingestion de cellules végétatives ou de spores en quantité [48]

3.3. *Proteus mirabilis*

Proteus mirabilis (*P. mirabilis*) est une bactérie à Gram négatif et un membre de la famille *Enterobacteriaceae*. Généralement très mobile et mesure de 0,4 à 0,8 µm de diamètre sur 1 à 80µm de longueur [44]

Comme les *entérobactéries*, *P. mirabilis* a un métabolisme respiratoire aérobie anaérobie facultatif, fermente le glucose, a une catalase et dépourvu d'une oxydase. Elle ne produit pas de l'indole mais produit de l'H₂S, fermente le xylose mais pas le lactose, possède une nitrate réductase, une uréase et une lysine décarboxylase. [44]

▮ Classification

Règne : *Bacteria* ;

Embranchement : *Poteobacteria*

Classe : *Gamma Proteobateria*;

Ordre : *Enterobacteriales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Proteus*

Espèce : *Proteus mirabilis*

▮ Habitat

Les bactéries du genre *Proteus* sont largement répandues dans l'environnement, notamment l'eau, le sol et les eaux usées. Le principal réservoir de ces bactéries est l'homme et l'animal, elles font partie de leur flore gastro-intestinale normale [46]

Les *P. mirabilis* peuvent survivre quelques jours sur les surfaces inanimées, elles sont fréquemment retrouvées sur des cathéters contaminés et notamment sur des sondes urinaires [47]

▮ Pouvoir pathogène

P. mirabilis est à l'origine de 90 % de toutes les infections par *Proteus* chez l'être humain. Elle est fréquemment en cause dans les infections des voies urinaires compliquées. Les bacilles sont habituellement observés dans les voies urinaires hautes (siège fréquent de l'infection) et peuvent entraîner des urolithiases (formation de pierres dans le rein ou la vessie). De rares cas de septicémie et d'infection des plaies ont été également signalés [48]

3.4. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa sont des bacilles à Gram négatif, fines de 1.5 à 3 µm de long et de 0.5 à 0.8 µm de large. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche. *P. aeruginosa* ne forme ni spores ni sphéropastes. Elle est responsable de 10 %

de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le premier rang pour les infections pulmonaires et le troisième rang pour les infections urinaires.

▮ Classification

Règne *Bacteria*

Division *Proteobacteria*

Classe *Gamma proteobacteria*

Ordre *Pseudomonadales*

Famille *Pseudomonadaceae*

Genre *Pseudomonas*

▮ Habitat

La bactérie est très répandue dans l'eau et les milieux humides. Elle peut aussi coloniser l'homme.

▮ Transmission

Elle peut se faire à partir des sources environnementales, soit directement, soit par l'intermédiaire de matériels lavés ou rincés à l'eau du réseau. Elle peut aussi être interhumaine à partir d'un sujet colonisé.

▮ Pouvoir pathogène

La bactérie n'est pas pathogène pour le sujet normal, mais elle peut provoquer des infections parfois sévères chez les sujets dont les défenses sont amoindries. Elle peut provoquer des infections urinaires bronchiques (en particulier chez les Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques (en particulier chez les sujets atteints de mucoviscidose), pulmonaires (chez les immunodéprimés ou les malades ventilés), oculaires (kératite ou endophtalmie), ostéo-articulaires. Elle peut aussi surinfecter des lésions cutanées (brûlures), des plaies traumatiques ou postopératoires, provoquer des otites externes (pouvant évoluer de manière invasive chez les sujets âgés et diabétiques), des septicémies (en particulier chez les neutropéniques), des endocardites (chez les toxicomanes). [48].



Partie Expérimentale



Chapitre – 01 –

Matériels et méthodes

1. Présentation du lieu de l'étude expérimentale

Le travail expérimental subdivisé en plusieurs étapes a été réalisé en différents lieux :

- Les extractions, Le screening, les dosages et l'activité antioxydant : a été réalisée aux laboratoires pédagogiques de la faculté des sciences et technologie département SNV L'université de Tissemsilt pendant la période allant de 01/03/2022 jusqu'au 01/04/2022.
- L'activité antimicrobienne, L'activité anticoagulante : à Laboratoire d'analyse médicale de L' EPSP Mahdia wilaya de Tiaret. Service d'hématologie et bactériologie 1/04/2022 jusqu'au 20/04/2022.

Les étapes de cette étude expérimentale sont résumées dans la figure 13.

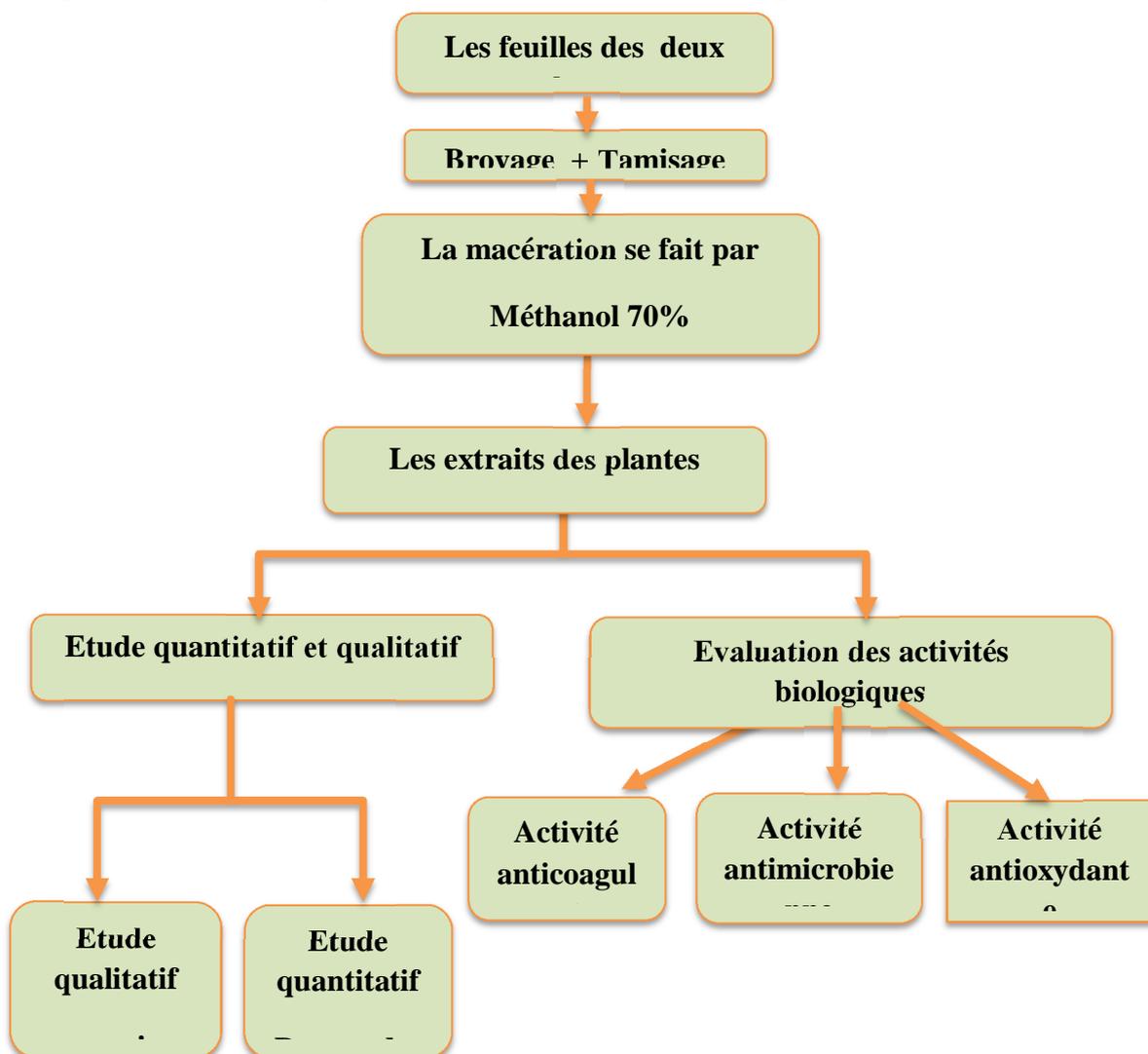


Figure 12 : Protocole expérimentale

2. Matériels

2.1. Matériels végétaux

Ce travail a été effectué sur deux espèces végétales, *Ajuga iva*, *Urtica dioïca*, Le matériel végétal est constitué des feuilles de deux espèces végétales, *Ajuga iva*, *Urtica dioïca* les plantes ont été achetées dans une herboristerie de Tissemsilt en 20 février 2022.

2.1.1. Choix des plantes

Le choix des plantes *Ajuga iva* et *Urtica dioïca* afin d'étudier les activités biologiques est basé sur la raison de leurs utilisations en médecine traditionnelle par macération ou décoction dans l'eau et le manque de travaux de recherche sur ces propriétés de pouvoir anticoagulant.



Figure 13 : L'ORTIE (*Urtica dioïca*)
Partie aérienne (photo originale 2022)



Figure 14 : BUGLE (*Ajuga iva*)
Partie aérienne (photo originale 2022)

2.2. Appareillage utilisé

Parmes des appareillages utilise sont :

Tableau 04 : Appareillages utilisés

▪ Balance de précision (KERN)	▪ Pipette Pasteur. (Labbox)
▪ Autoclave (Biobase)	▪ Erlenmeyer(labbox)
▪ Bain Marie (<i>Memmer</i>)	▪ Verre De Montre
▪ Agitateur à barreau magnétique nonchauffant (<i>RSLAB</i>)	▪ Cristallisoir (labbox) ▪ Etuve : ELos
▪ Broyeur électrique (Moulinex)	▪ Pinces
▪ Spectrophotomètre UV-visible (VWR)	▪ Bec Bunsen ▪ Rotavapeur (Butchi)
▪ Balance (KERN)	▪ Eprouvette <i>labbox</i>
▪ Etuve (Memmer)	▪ Spatule
▪ Micropipette (Sri Krishna Traders)	▪ Papier Filtre
▪ Cuvette	▪ Bec Bunsen
▪ Portoir pour tubes	▪ Béchers De 500 MI <i>Labbox</i>
▪ entonnoir en verre <i>labbox</i>	▪ Fioles De 1000 MI <i>labbox</i>
▪ Tubes à essai (labbox)	▪ ERLÉN MAYER <i>labbox</i>
▪ Pissette	▪ Entonnoir
▪ Coagulomètre MONO MINIVOLT	▪ Cupule

2.3. Réactifs

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés pour cette étude, parmi lesquels

Tableau 05 : Réactifs chimiques et solvants utilisés

▪ Réactif De Folin-Ciocalteu	▪ Catéchine Hydrate
▪ FecI3 (Chlorure Ferrique)	▪ Quercitrine
▪ Méthanol	▪ Acide Ascorbique
▪ Ethanol	▪ Réactif De Vallin
▪ Eau Distillée	▪ Thromboplastine Tissulaire
▪ L'Acide Sulfurique	▪ Tube Citrate De Sodium
▪ Alcl3	▪ Gélose Nutritive
▪ HCL	▪ Gélose Mueller Hinton
▪ L'Acide Acétique	▪ Des Antibiotiques
▪ DPPH	▪ Disque De Papier Wattman
▪ L'acide Gallique	▪ Catéchine Hydrate
▪ Eau Physiologique Stérile	▪ Eau Distillée Stérile
▪ Tromboplastin BIOLAB	▪ SINTROM 4mg

2.4. Souches Microbiens Utilisées

Les souches bactériennes utilisées sont des souches de Référence Obtenues DE L'AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION (ATCC).

Tableau 06 : Souches Microbiennes Utilisées

Souche	Code	Gram	Sour ce
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Négatif	Institut Pasteur d'Alger
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC 19606	Négatif	
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 35659	Négatif	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	positif	
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 14579	positif	

2.5. Antibiotiques Utilisés

Tableau 07 : Antibiotiques Utilisées

Antibiotiques	Abrivation	Dose
Acidefusidique	FA	10
Erythromycine	E	15
Tetracycline	TE	30
Vancomycin	VA	30
Oxacillin	Ox	5
Streptomycine	S	30 0
Piperacillin	PRL30	30
Penicillin	G	10
Kanamycin	K	30
Tobramycin	TOB	10
Ceftazidine	CAZ	30



Chapitre – 02 –

Méthodologie et technique analytique

La partie expérimentale a été réalisée en 5 étapes :

1. Préparation des extraits des plants
2. Screening (criblage) phytochimique des extraits
3. Dosage des composés phénoliques de ces extraits.
4. Evaluation des activités biologiques des plantes :
 - Evaluation de l'activité antibactérienne.
 - Evaluation de l'activité antioxydante
 - Evaluation de L'activité anticoagulante sur plasma humain
5. Analyses statistiques.

1. Préparation des extraits

1.1. Préparation de la poudre végétale

Les plantes ont été broyées à l'aide d'un moulin de café électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre elle est suivie d'une opération importante: tamisage (250nm) afin d'obtenir une poudre par granulométrie bien définie adaptée à l'usage.

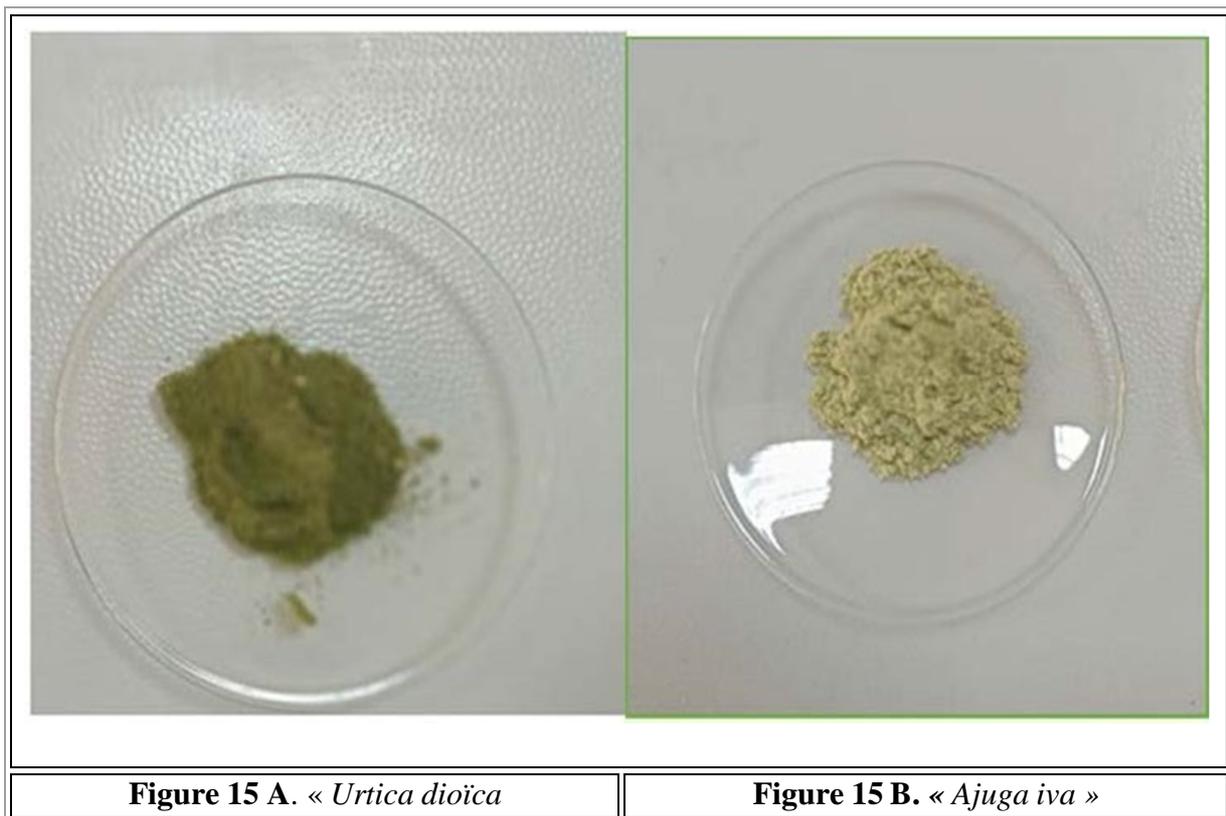


Figure 15 A. « *Urtica dioïca* »

Figure 15 B. « *Ajuga iva* »

Figure 15 : matériel végétale broyé en poudre (photo originale 2022)

1.2. Extractions

L'extraction des principes actifs a été effectuée par la technique de macération à froid

1.2. Méthode de macération

Est principalement choisie car elle est simple et peu coûteuse. Des extractions par solvant ont été réalisées avec trois solvants différents, à savoir l'éthanol à 70%, le méthanol à 70% et l'eau distillée. Le processus de macération a été réalisé en suivant le protocole de Medjeldi [49], Suryavanshi [50] avec quelques modifications.,

1.2.1. Macération aqueuse

- A. Le mélange de 30g du plant sec avec 300ml de l'eau distillé
- B. L'agitation en une température ambiante
- C. La filtration après une macération de 24h

1.2.2. Macération par méthanol

- A. Le mélange 30g du plant sec avec 300ml de méthanol 70
- B. L'agitation en une température ambiante.
- C. La filtration après une macération de 24

1.2.3. Macération par éthanol

- A. Le mélange 30g du plant sec avec 300ml de l'éthanol 70°
- B. L'agitation en une température ambiante
- C. La filtration après une macération de 24h

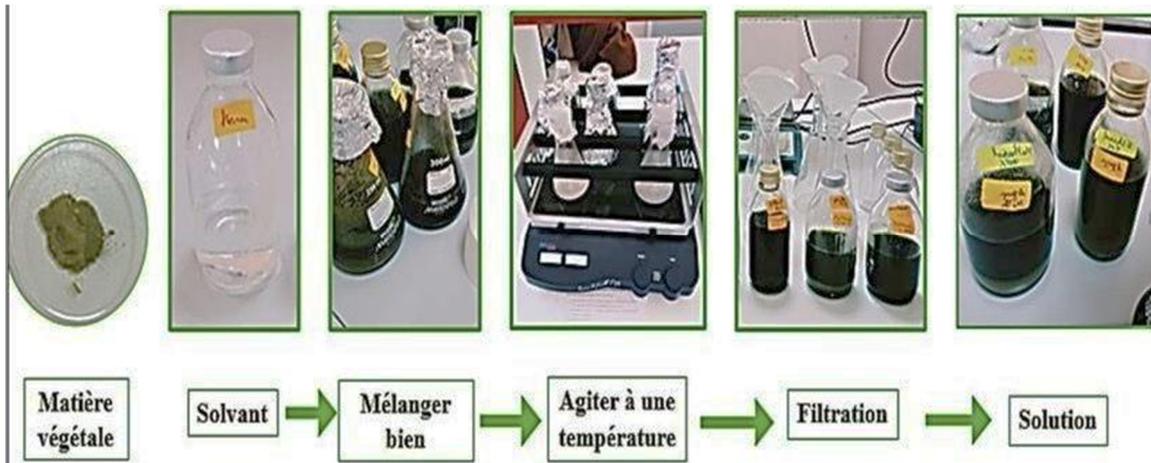


Figure 16 : Etapes de l'extraction par macération

1. 3.Evaporation

Les six solutions de l'extraction par macération ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif qui permet a éliminé le solvant.

- La solution d'extraction est placée dans le ballon d'évaporation
- L'évaporation jusqu'à la disparition complète du solvant ($T^{\circ}=55^{\circ}\text{C}$). (même procédurepour les autres extraits)



Figure 17 : Evaporation Les six solutions d'extraction [49], (photo original 2022)

Calcul du rendement de l'extraction

Rendement de l'extraction est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait et celle de la plante sèche en poudre Il est calculé selon l'équation suivante [49] :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{poids de l'extrait brut}}{\text{poids de la plante sèche en poudre}} \times 100$$

Où : $R\% = 100 \cdot (m / M)$

m : la masse d'extrait après l'évaporation du solvant en (g).

M: la masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction en (g).

2. Screening photochimique

Le criblage photochimique des extraits consiste à rechercher les différents groupements chimiques présents dans les extraits, qui peuvent être à l'origine de l'activité biologique des plantes. C'est une étude qualitative utilisée pour connaître la composition chimique globale contenus dans nos extraits [51].

Dans notre travail, nous intéressons à l'étude quelques groupes chimiques : phénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés [52]

2.1. Screening photochimique des phénoliques totaux

Le test consiste à ajouter à 3ml de chaque extraites (AQ et Met et Eth) ,5 gouttes de FeCl_3 à 2 %. La présence de composés phénoliques est marquée par un aspect bleu-vert. [52]

2.2. Screening photochimique des Flavonoïdes

Le test consistait à ajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) à une concentration de 2 mg/ml, suivies de quelques comprimés de magnésium (Mg^{2+}) à 3 ml de chaque extrait (Aq et Met et Eth). L'aspect orange signifie la présence de flavonoïdes [52]

2.3. Screening photochimique des Tanins Condensés (TC)

La présence de tanins a été mise en évidence par ajoutant 1 ml d'eau distillée et 2 à 3 gouttes de solution de FeCl_3 à 1 % à chaque extrait. Le bleu-noir, le vert-noir indique la présence de tanins [52]

Les résultats sont classés selon l'apparition en :

- Réaction franchement positive : +++
- Réaction positive : ++
- Réaction moyennement positive : +
- Réaction négative : -

3. Analyses quantitatives par spectrophotométrie (UV-Visible)

L'estimation des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins dans divers extraits est déterminée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage et est exprimée en mg équivalents par gramme de plante sèche. [49]

3.1. Dosage des polyphénols (phénols totaux)

■ Principe

L'estimation de phénols totaux est évaluée par la méthode colorimétriquement de Folin Ciocalteu avec un spectrophotomètre UV [49]. Folin Ciocalteu est un réactif liquide jaune constitué d'un mélange de deux acides, acide phosphotungstique et l'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). En milieu alcalin, il est sur réduit lors de l'oxydation du phénol. Forme un complexe bleu stable. La couleur de produite est proportionnelle à la quantité de composé phénolique dans l'extrait végétal. L'absorbance était à 765 nm

■ Mode opératoire

Nous avons utilisé le protocole décrit par Phong [49] avec quelques modifications.

- Introduction de 100 μ l de chaque échantillon à analyser à différentes concentrations dans les tubes
- Ajout de 500 μ l du réactif Folin Ciocalteu
- Puis de 400 μ l de la solution de bicarbonate de sodium Na_2CO_3 à 7,5 % (m/v).
- Agitation puis incubation à l'obscurité pendant dix minutes dans l'obscurité à température ambiante
- Lecture des absorbances à 760 nm. ar un spectrophotomètre UV.
- Le blanc est représenté donc par 100 μ l d'eau distillée, additionnée de 500 μ l du réactif de Folin Ciocalteu et 400 μ l ml de carbonate de sodium à 7.5 %. Pour les extraits dissout dans le méthanol et éthanol, l'eau distillée est remplacée par méthanol et éthanol.
- Le blanc est représenté donc par 100 μ l d'eau distillée, additionnée de 500 μ l du réactif de Folin Ciocalteu et 400 μ l ml de carbonate de sodium à 7.5 %.

Le même protocole est suivi pour la construction de la courbe d'étalon d'acide gallique. Les valeurs de concentration sont déduites par extrapolation à partir de la droite d'étalonnage établie l'aide de la solution de référence d'acide gallique.

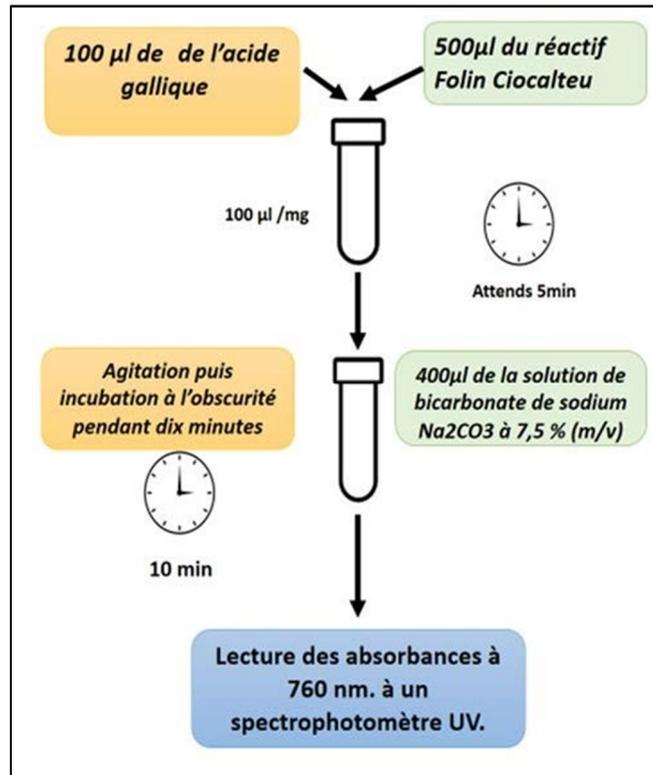


Figure 18 : Schéma récapitulatif du Protocole de dosage des polyphénols [53]

■ Expression des résultats

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (AG). Elle est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g de matière sèche « MS » selon l'équation suivante [49]:

$$T_{pt} = C \cdot V / M$$

T_{pt} : Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g d'extrait sèche de la plante)

C : Concentration de l'extrait équivalente à l'acide gallique, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml)

V : Volume de l'extrait (ml)

M : Matière sec de l'extrait de la plante (g)

3.2. Dosage des flavonoïdes

■ Principe

L'estimation des flavonoïdes est évaluée par la méthode colorimétriquement du trichlorure d'aluminium avec un spectrophotomètre U.V [49]

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium et la soude, entraînant ainsi la formation d'un complexe qui absorbe à 510 nm.

Mode opératoire

Nous avons utilisé le protocole décrit par Phong [49] avec quelques modifications. Le protocole du dosage consiste à

- Le mélange de 500 μ l de chaque extrait à analyser avec 1500 μ l de méthanol 95°,
- L'ajout de 100 μ l de $AlCl_3$ 10 % (m/v) avec 100 μ l d'acétate de sodium 5% (m/v). et 2.8ml d'eau distillée.
- Agiter le mélange puis incuber dans l'obscurité et à température ambiante. Pendant 30 minutes
- Pour le blanc Remplacer l'extrait par du méthanol à 95%,
- L'absorbance est mesurée à 415 nm. Spectrophotomètre UV.

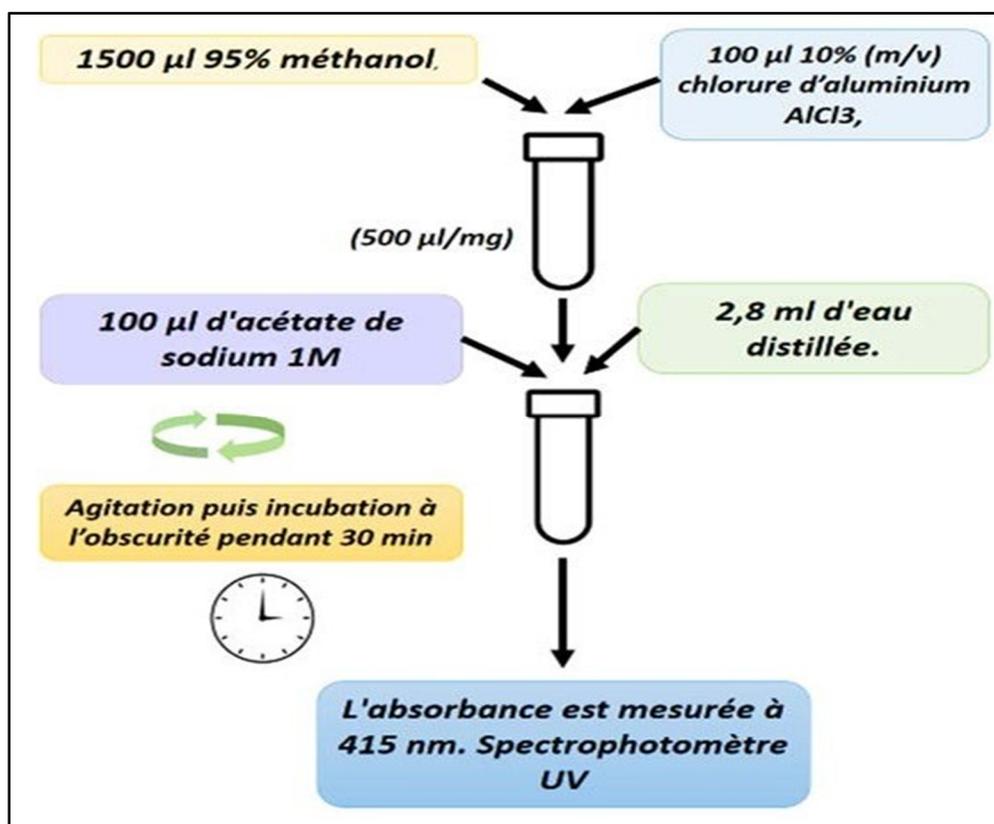


Figure 19 : Schéma récapitulatif du protocole de dosage des Flavonoïdes [53]

Le résultat est Représenté en mg d'équivalent de quercétine / g de matière Plantes séchées en référence à la courbe d'étalonnage de Quercétine. (mg EQ/g d'extrait sèche de la plante)

La courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions que les extraits avec la quercétine préparée à 1mg/ml et diluée pour avoir les différentes concentrations

■ Expression des résultats

La concentration des flavonoïdes est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec la quercetine. Elle est exprimée en mg équivalent de quercetine par gramme de matière sèche (mg EQ/g de matière sèche « MS ») selon l'équation suivante : [53]

$$T_f = C \cdot V/M$$

T_f : Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g d'extrait sec de la plante) ;

C : Concentration de l'extrait équivalente à la quercitine, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml) ;

V : Volume de l'extrait (ml) ;

M : Matière sec de l'extrait de la plante (g).

3.3. Dosage des tannins

Les tanins condensés sont estimés par la méthode à la vanilline en milieu acide décrite par Julkunen - Titto [54]. Cette méthode repose sur la capacité de la vanilline à réagir avec des fractions tanniques condensées en présence d'acide pour produire des complexes colorés mesurés à 500 nm.

■ Mode opératoire

Nous avons utilisé le protocole décrit par Algebaly [54] avec quelques modifications.

- 200 µl de chaque extrait à analyser
- Ajout 1000µl de réactif vanilline ; agiter le mélange,
- Puis Incubé pendant 20 minutes dans l'obscurité à 30°C.
- Absorption Mesuré à 500 nm avec un spectrophotomètre UV
- Control blanc : Remplacer l'extrait par du méthanol

Résultats sont exprimés en mg équivalent catéchol/g de matière végétale sèche (Ect mg/ gMS) en se référant à la courbe d'étalonnage du catéchol.

Préparation des solutions Vanilline

Le réactif de vanilline est préparé ; en mélangeant à parts égales : 8% (v/v) HCl, Solution méthanolique de 37% (v/v) de méthanol et de 4 % vanilline (M/v). Le mélange a été maintenu à 30°C avant le dosage. [54]

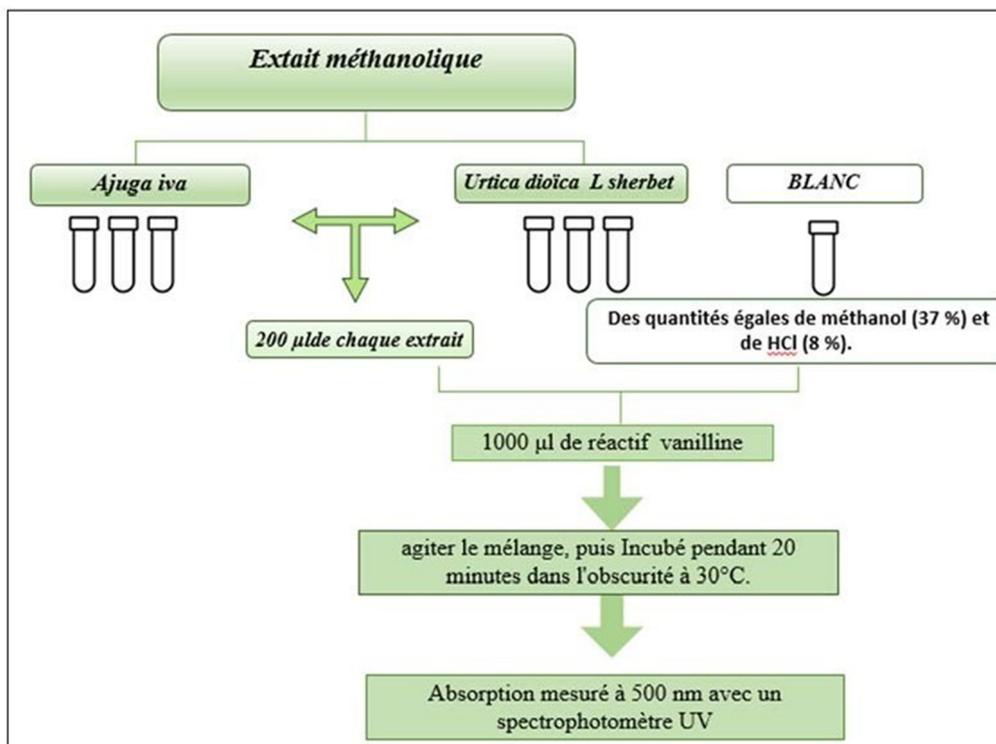


Figure 20 : Schéma récapitulatif du protocole de dosage des tanins condensés [54]

4. Evaluation des Activités Biologiques

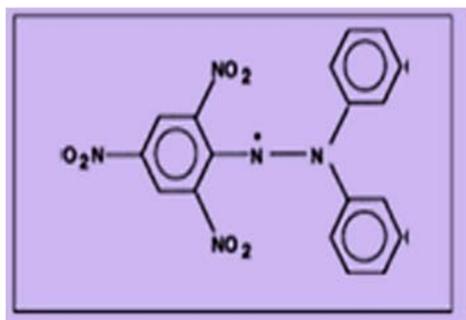
4.1. Evaluation de l'activité antioxydant

Pour évaluer l'activité antioxydant, nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) [55]

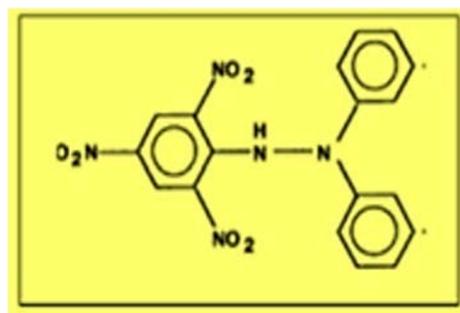
➤ Principe

Le 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle (DPPH), est un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété anti radicalaire, La méthode du DPPH• (diphénylpicryl-hydrayl) est basée sur la réduction de l'espèce Radicalaire stable DPPH• en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), qui Aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire, le DPPHH (diphénylPicryl-hydrazine). [55]

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



DPPH (radical libre).



DPPHH (radical capté).

Mode opératoire

Nous avons utilisé le Protocole décrit par Srinivasan [55], avec quelques modifications. Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait exprimé en g/l est ajouté à 1,950 µl de la solution méthanoïque du DPPH (0.004 g/l) fraîchement préparée.

La mesure de la décoloration à 515 nm correspondant à la réduction des radicaux du DPPH dans le milieu réactionnel est faite à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée par un témoin positif (acide ascorbique) à différentes concentrations.

La concentration minimale nécessaire pour l'inhibition de 50% du DPPH (IC50), utilisée pour évaluer le pouvoir antioxydant des différents extraits a été calculée à partir des courbes de tendances linéaires de chaque extrait

Nous calculons ainsi les pourcentages d'inhibition par la formule suivante des pourcentages D'inhibitions selon [55] :

$$DPPH \text{ scavenging activity (\%)} = \left[\frac{ABS \text{ blanc} - ABS \text{ échantillon}}{ABS \text{ blanc}} \right] \times 100$$

- **ABS blanc** : est l'absorbance de la réaction de control (solution DPPH)
- **ABS échantillon** : est l'absorbance des extraits

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesure dans les mêmes conditions que les échantillons.

L'activité antiradicalaire des extraits est alors exprimée en concentration inhibitrice de 50% de DPPH (CI50) à partir de l'équation des courbes du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'échantillon. Les résultats peuvent être aussi exprimés en puissance anti-radicalaire [55]

$$ARP = 1 / IC50 \text{ [55]}$$

ARP : Puissance anti radicalaire

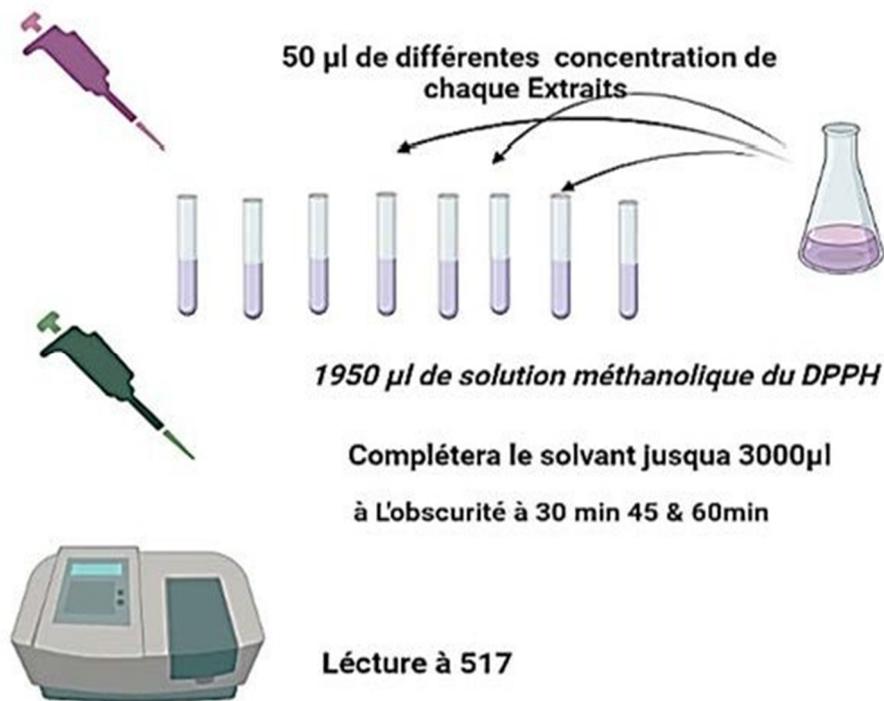


Figure 21 : Protocole d'évaluation de l'activité antioxydant DPPH [55]

4.2. Evaluation des activités antimicrobiennes

L'activité antibactérienne des extraits des plantes a été réalisée au niveau de laboratoire de Bactériologie de EPSP Mahdia wilaya de Tiaret.

La détermination *in vitro* de l'activité antibactérienne est effectuée selon la méthode de diffusion par puits [56,57].

Les extraits ont été testé contre plusieurs souches bactériennes, Gram + Gram –
Le but de ce test est la mise en évidence de l'activité antibactérienne et déterminer lequel des extraits préparés possède la plus forte activité inhibitrice contre les bactéries

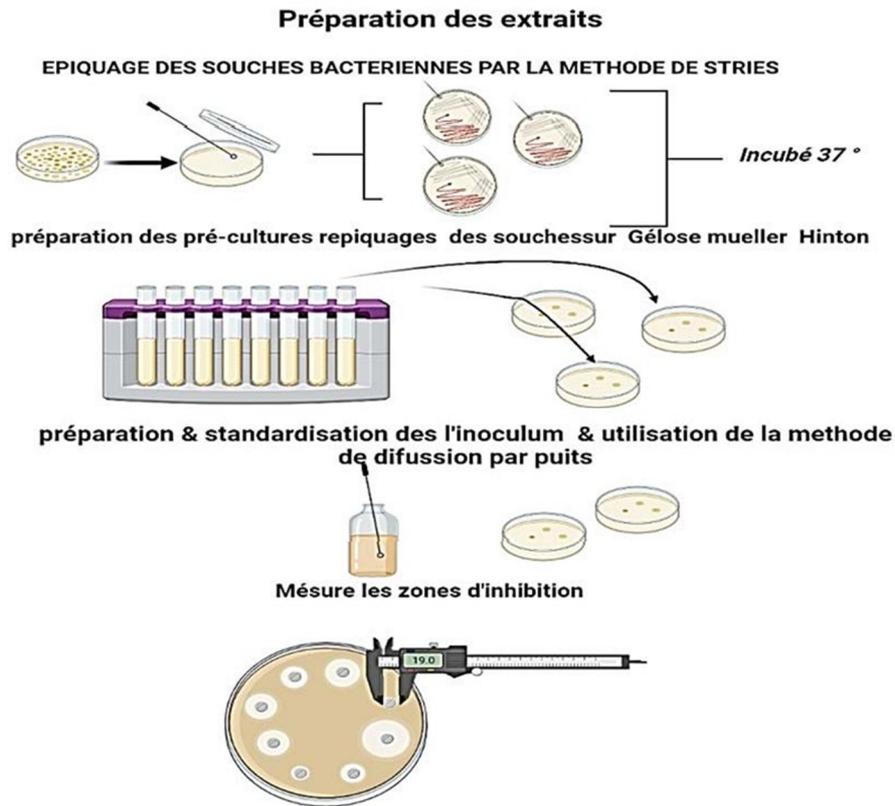


Figure 22: Schéma de protocole d'évaluation de l'activité antibactérienne [56,57].

Principe

La présence d'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition d'une zone circulaire claire autour le puits, qui correspond à l'absence de croissance. Plus le diamètre de cette région est grand, plus elle est sensible. [57]

Croissance bactérienne diffusion en puits Croissance bactérienne

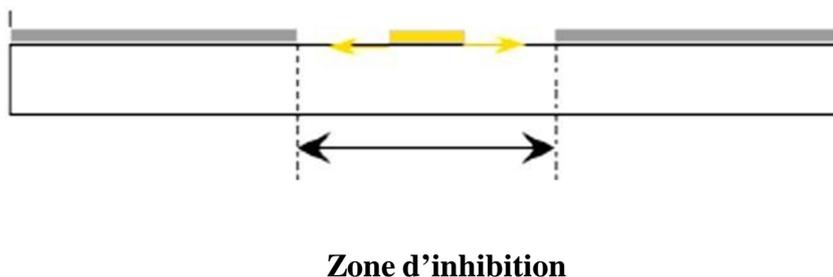


Figure 23 : Schéma de principe de la méthode de diffusion en puits [56]

Mode opératoire

– Repiquage des souches bactériennes

Les différentes espèces bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis Incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum [57].

– Préparation des précultures

A partir des géloses nutritives inclinées pour les souches ATCC, nous avons effectué des repiquages des souches bactériennes sur gélose Mueller-Hinton (MH) afin d'avoir une culture jeune de 18h à 24h en phase exponentielle de croissance [57].

– Préparation et standardisation de l'inoculum

Des suspensions bactériennes sont préparées dans de l'eau physiologique stérile, bien homogénéisées, Leur opacité doit être équivalente à 0,5McFarland, qui correspond à une concentration de 10^8 UFC/ml [57].

L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.[57].

Protocole

Des boites de Pétri contenant la gélose Mueller-Hinton :

- Étals 100 µl de la suspension bactérienne standardisée à l'aide d'un râteau à la surface du milieu gélosé MH.
- Sur chaque boite on réalise un puits de 06 mm de diamètre, ensuite on procède à l'enlèvement de la gélose à l'aide d'une pince stérile
- Chaque puits recevra 100 µL des différents extraits, ces derniers ont été solubilisés avec
- les solvants de chaque extraites.
- Les boites ont été incubées 24h à 37°C [57].
- Chaque essai a été répété trois fois.
- Méthanol et éthanol et eau distale stérile a servi de témoin négatif.
- Le témoin positif est représenté par les différents antibiotiques standards utilisés.

Technique d'antibiogramme

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité

- D'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques [57].
- Dans notre étude les antibiotiques utilisés présente dans le tableaux

Lecture des résultats

L'activité antibactérienne est appréciée par la mesure des diamètres des zones claires (en millimètres) qui se forment autour des puits. [57].

- Zone claire autour du puits : présence d'une activité inhibitrice.
- Absence de zone claire autour du puits : pas d'effet inhibiteur

4.3. Evaluation des activités anticoagulante

L'activité anticoagulante de l'extrait a été évaluée *in vitro* par rapport à la voie de coagulation exogène sur plasma pauvre plaquettes ppp (plasma humain) à l'aide du chrono- test « le taux de prothrombine » ou (temps de Quick (TQ)). La technique originale a été décrite par quick en 1935. [58].

L'objectif est de mesurer le temps de coagulation du plasma citraté en présence d'un excès de thromboplastine calcique [58].

▀ Principe

Le test consiste à mesurer le temps de coagulation à 37°C d'un plasma pauvre en plaquettes (plasma humain) en présence de facteur tissulaire et des phospholipides (la thromboplastine) et de calcium.

Les facteurs de la voie exogène donc sont activés et le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot est mesuré. Un temps de coagulation allongé par rapport à celui du contrôle négatif explique que l'échantillon exerce un effet anticoagulant vis-à-vis de cette voie de coagulation. [58].

▀ Préparation du plasma pauvre en plaquettes

Le plasma est obtenu à partir des 10 volontaires sains non traités âgés entre 20 à 36 ans dont les TP sont normaux et comparables.

Le sang de chaque volontaire est prélevé par ponction veineuse dans un tube citrate sur une solution anticoagulante de citrate de sodium à 3,2 % et à raison de 1 volume pour 9 volumes de sang. Le sang est ensuite centrifugé pendant 10 minutes à 3000 rpm pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes [59].

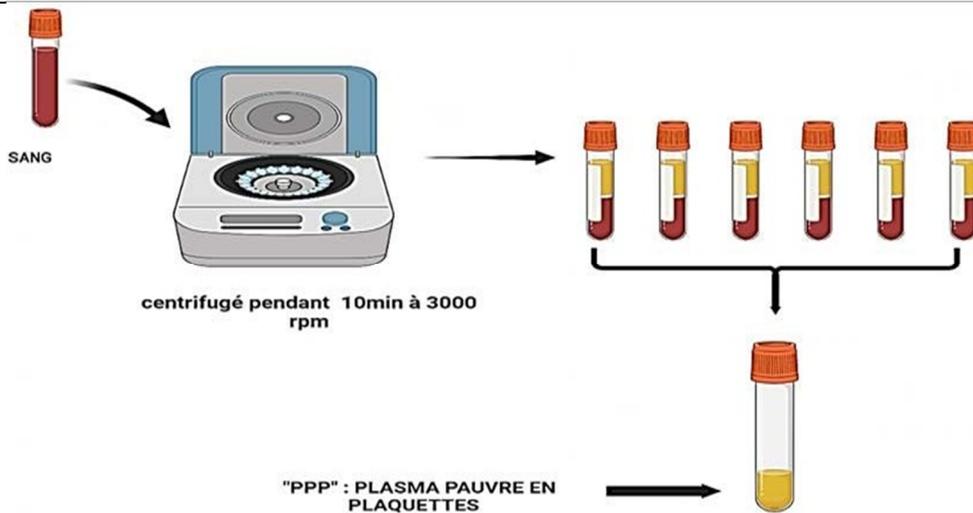


Figure 24: Schéma récapitulatif d'étapes de préparation plasma pauvre en plaquettes [59].

Test de temps de quick :

Selon Athukorala [60]. Le test passe par étapes suivantes :

- Prendre 100 µl de plasma humain normal citrate
- Ajouter 10µl, 20µl des différents extraits
- Incuber à 37 C° pendant 15 min,
- Ajouter 200µl de thromboplastine calcique additionné au mélange et réincuber durant 2 min sous agitation à 37C°.
- Déterminer le temps de coagulation à l'aide d'un coagulomètre (le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot fibrineux est alors mesuré.

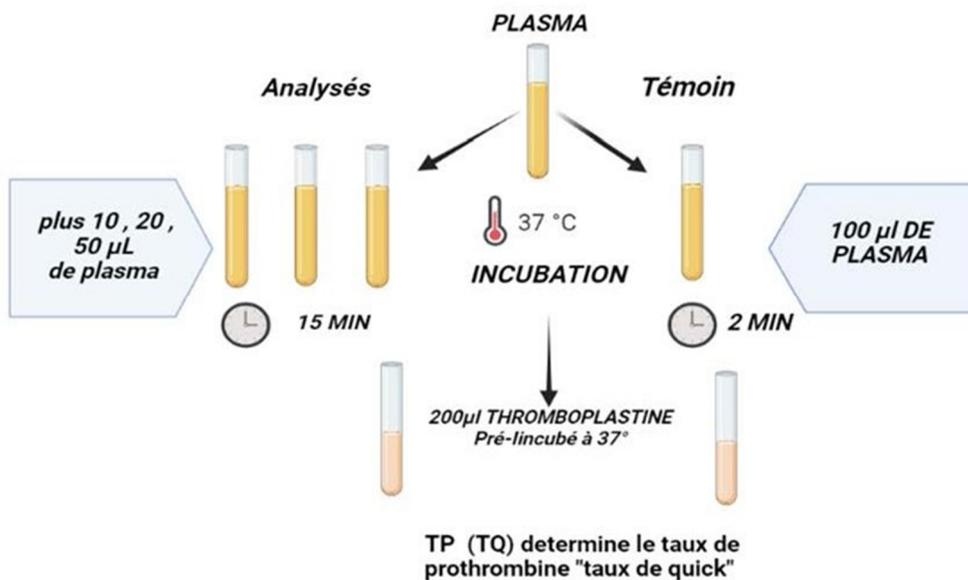


Figure 25 : Schéma récapitulatif d'étapes de test de taux de prothrombine ou (temps de Quick (TQ.)) vis-à-vis de la voie exogène de coagulation [60].



Troisième Partie

Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction

Le rendement de l'extraction obtenue en pourcentage (%), Est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait et celle de la plante sèche en poudre [45]. Le rendement de l'extraction sont illustrés dans le tableau suivant :

Espèces	Rendement%		
	Extraits Méthanolique	Extraits Ethanolique	Extraits Aqueux
<i>Ajuga iva</i>	29.81 %	26.20 %	33.06 %
<i>Urtica dioïca</i>	22.84 %	20.2 %	29.40 %

Tableau 08 : Résultats de rendement de l'extraction (%)

Les résultats obtenus, montrent que les rendements d'extraction varient *entre* 33.06 % pour *Ajuga iva* et 29.40 % pour *Urtica dioïca* concernant l'extrait aqueux, et de 29.81% à 22.54 % concernant l'extrait Méthanolique, et de 26.20 % à 20.20% pour l'extrait éthanolique respectivement.

Le rendement de l'extrait aqueux est considéré comme étant le plus important par rapport aux rendements obtenus par les autres extraits.

En comparant nos résultats avec d'autres recherches qui sont identiques concernant l'extrait aqueux : Il ressort de l'analyse des résultats que le rendement d'extraction de l'extrait aqueux de *Pteleopsis suberora* a présenté un rendement plus significatif de 79,33 % ($p = 0,012$) ; suivide celui de *Acalypha wilkesiana* (56,33 %) et de *Ocimum gratissimum* (32,33 %). Cela rapporte que les extraits aqueux ont présenté les meilleurs rendements comparés aux extraits hydro- éthanolique et éthanoliques [61].

Les variations des rendements d'extraction observés dépendent à la fois du solvant d'extraction et aussi du processus d'extraction et aux caractéristiques génétiques de la plante ainsi qu'à l'origine géographique, aux conditions et durée de stockage, à la récolte et aux conditions d'extraction

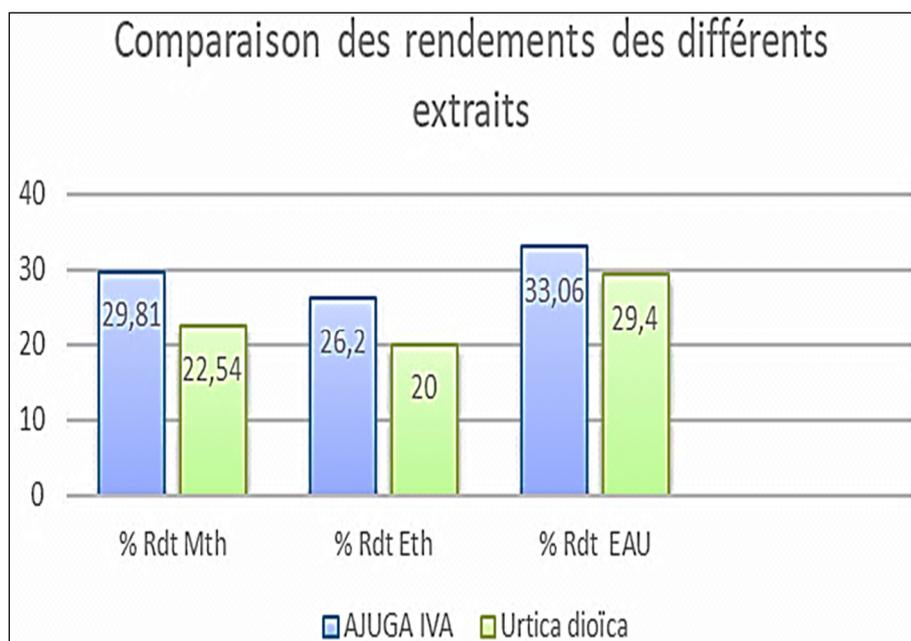


Figure 26: Résultats des rendements de l'extraction

2.1. Résultats de screening phytochimique

Les résultats du screening chimique des deux espèces *Ajuga iva* et *Urtica dioica* sont présentes dans le Tableau 09

Les espèces	<i>Ajuga iva</i>		<i>Urtica dioica</i>	
	Coloration	Résultats	Coloration	Résultats
Polyphénols totaux	bleu-vert.	+ +	bleu-vert.	+ + +
Flavonoïdes	orange	+ +	orange	+ +
Tannins	le vert-noir	+	bleu-noir	+

Tableau 09: Résultats de criblage phytochimique des feuilles *d'Ajuga iva* et *d'Urtica dioica* L

Réaction franchement positive : +++ Réaction positive : ++ Réaction moyennement positive: + Réaction négative :-

Les résultats de criblage photochimique que nous avons obtenus montrent qu'*A. iva* et *Urtica dioica* contiennent les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins. Ces résultats sont similaires que ceux trouvés dans une autre étude qui ont rapportés la présence des mêmes groupes chimiques au niveau de la partie aérienne d'*A. iva* [62], et *Urtica dioica* L. [63] respectivement.

Cette étude a permis de dévoiler que les trois espèces du genre *Urtica* sont potentiellement importantes grâce à ces atouts en termes de biomasse, d'abondance sur le terrain, de richesse en métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes, Stéroïdes, triterpènes, et saponosides) [63].

3. Résultats de l'étude quantitative

3.1. Dosage des polyphénols totaux

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes), dans les critères de qualité (couleur, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) [36].

Les teneurs en composés phénoliques totaux dans les extraits des deux plantes est déterminé par la méthode de Folin-Ciocalteu. Cette teneur a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage représentant l'absorbance à 765 nm en fonction de la concentration en acide gallique (mg/ml)[57]

La figure 35 suivante représente la courbe d'étalonnage de l'acide gallique -

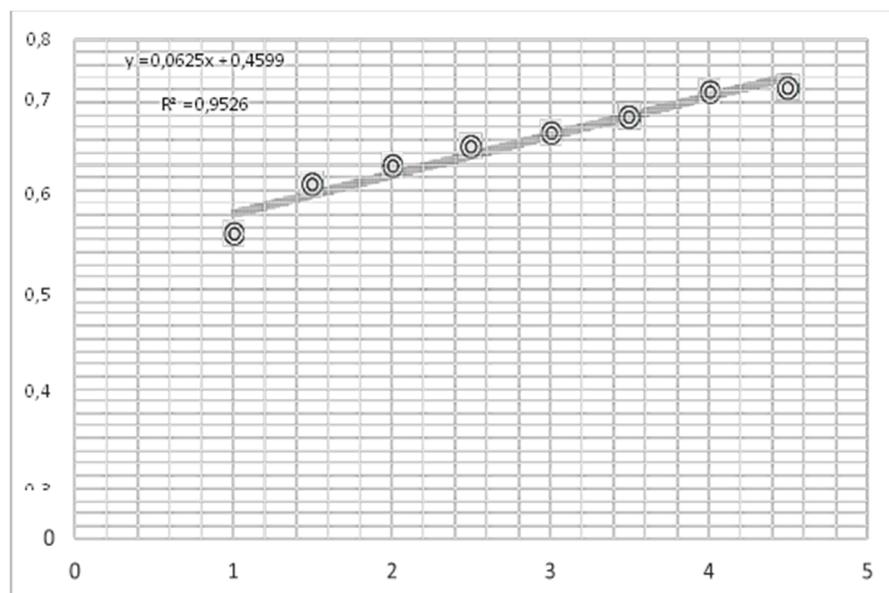


Figure 27 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (AG).

La courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations. Les quantités des polyphénols correspondantes de chaque extrait ont été rapportées en mg équivalent d'acide gallique /g d'extrait et déterminé par l'équation de type

$$Y = Ax + B$$

La quantité des polyphénols a été estimée par l'équation suivante :

$$y = 0,0625x + 0,4599 \quad R^2 = 0,9526$$

À partir de la courbe d'étalonnage, la teneur en polyphénols totaux est présente dans le tableau suivant :

Espèces	T _{pt} : Teneur en polyphénols totaux (EAG/g Ms)		
	Extraits Méthanolique	Extraits Ethanolique	Extraits Aqueux
<i>Ajuga iva</i>	50.15 ± 0.034	78.4 ± 0.054	13.96 ± 0.161
Suivant <i>Urtica dioïca</i>	62.25 ± 0.044	80.09 ± 0.064	36.80 ± 0.075

Tableau 10 : Résultats obtenus de Teneur en polyphénols totaux (EAG/g Ms)

Les résultats obtenus de nos études révélés la présence de charges importantes de polyphénols, avec une certaine variabilité entre les extraits aqueux et méthanoliques et éthanolique de même espèce. Cette différence est certainement due à la polarité de chaque solvant pour entraîner les composés phénoliques. [57]

Selon les résultats du tableau 10, les différents extraits de l'*Urtica dioïca* sont plus riches en composés phénoliques par rapport à l'extrait d'*Ajuga Iva*, et plus précisément l'extrait éthanolique.

Des études sur même espèce de l'*Ajuga* ont rapporté des résultats similaires à nos résultats [64].

Les résultats de dosage des polyphénols totaux que nous avons obtenus montrent qu'*A. iva* Présentent des teneurs plus élevées que celles trouvées dans autre étude qui ont trouvé que L'extrait méthanolique d'*Ajuga iva* était riche en polyphénols (25,26 ± 0,95 µg d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait) [65].

D'autre étude sur l'*Ajuga iva* rapporte une teneur en composés phénoliques de 44.41 ± 0.22 mg EAG/g pour extrait aqueux et 65.3 ± 2.11 mg GAE/g extrait pour extrait Méthanolique 90°/ ces teneurs en polyphénols totaux sont inférieures que nous avons trouvées

de 13.96 g EAG/g pour extrait Aq et 50.15 (mg GAE/g extrait) pour extrait méthanolique. [66].

Notre résultat de dosage quantitatif des polyphénols pour l'espèce *Urtica dioïca* a donné une teneur très importante par rapport de celle trouvée par d'autre études avec une Teneur en composés phénoliques et de $2,313 \pm 0,3$ mg EAG/30 g MS *Urtica urens L* [59] et de 56,76 mg d'AGE/g d'extrait. [67], et de 48,3 mg EAG/ g pour l'extrait de L'acétate d'éthyle pour *Urtica dioïca* [68].

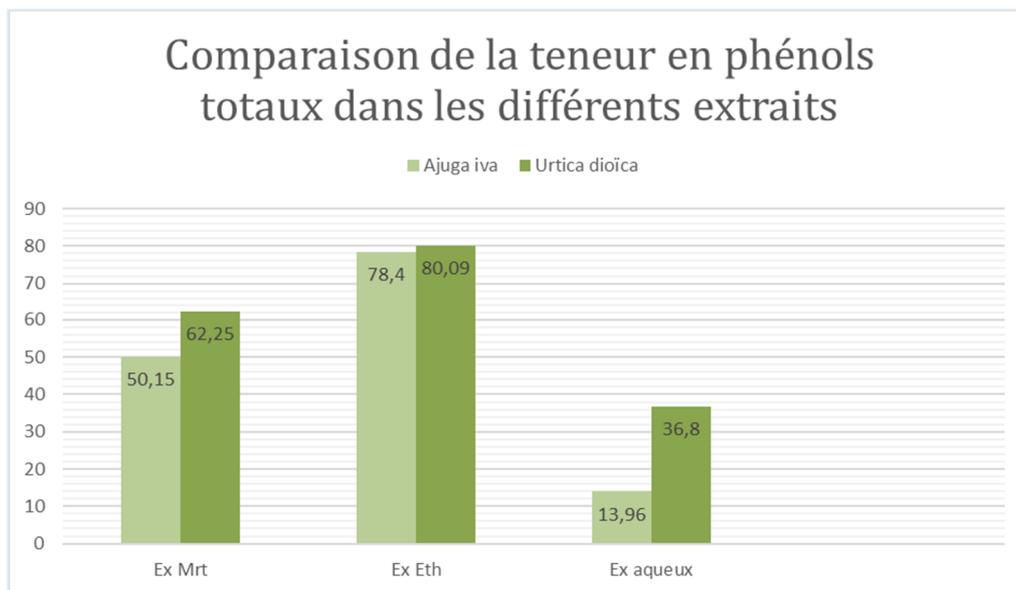


Figure 28 : Résultats de teneur en phénols totaux dans des extraits

Plusieurs travaux effectués sur les plantes médicinales ont montrés que les conditions climatiques, l'origine géographique et le mode d'extraction peuvent affecter la quantité et la composition en métabolites secondaires et par conséquent les activités biologiques [69 ,70].

3.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés avec un squelette à 15 carbones composé de deux cycles aromatiques A et B, et d'un hétérocycle central C de type pyranne forme une structure C6-C3-C6 [34].

La détermination des flavonoïdes a été effectuée selon la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) [53], elle est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits.

La courbe d'étalonnage établie à partir de différentes concentrations de quercitrine a permis d'estimer la teneur des flavonoïdes de chacun des extraits [53]. La concentration des flavonoïdes ensuite été exprimée en milligrammes équivalent de Quercétine par gramme d'extrait (mg QE / g d'extrait). [53]

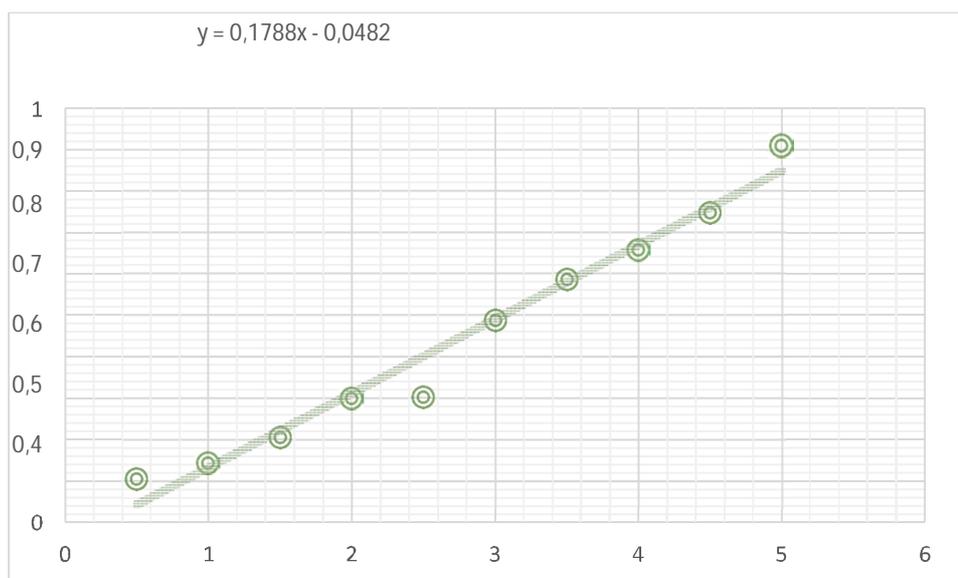


Figure 29 : Courbe d'étalonnage de la quercitrine (Q)

Le teneur en des flavonoïdes en dans les différents extraits a été rapportée en milligramme d'équivalent de la Quercitine par milligramme de matière sèche de l'extrait (mg EQ/ Mg MS).

À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des flavonoïdes est présentée dans le tableau 11 :

Espèces	T_f : Teneur flavonoïdes (mg EQ/mg Ms)		
	Extraits Methanolique	Extraits Ethanologique	Extraits Aqueux
<i>Ajuga iva</i>	11.23 ± 0.064	36.9 ± 0.074	9.74 ± 0.087
<i>Urtica dioïca</i>	10.35 ± 0.094	19.5 ± 0.054	3.2 ± 0.094

Tableau 11 : Résultats de Teneur en flavonoïdes mg EQ/g de matière sèche

Les résultats révèlent pour les trois extraits méthanologique et éthanologique et aqueux les valeurs suivants $11,23 \pm 0.064$ mg EQ/g de matière sèche $36,9 \pm 0.074$ mg EQ/g de matière sèche et $9,74 \pm 0.087$ de mg EQ/g de matière sèche pour *Ajuga iva* (**Tableau 11**) et $10,35 \pm 0.094$ de mg EQ/gde matière sèche et 19.5 ± 0.054 mg EQ/g de matière sèche et $3,2 \pm 0.094$ de mg EQ/g de matière sèche pour *Urtica dioïca* Selon ces résultats la teneur en flavonoïdes dans les extraits éthanologique de notre plantes est la plus élevée.

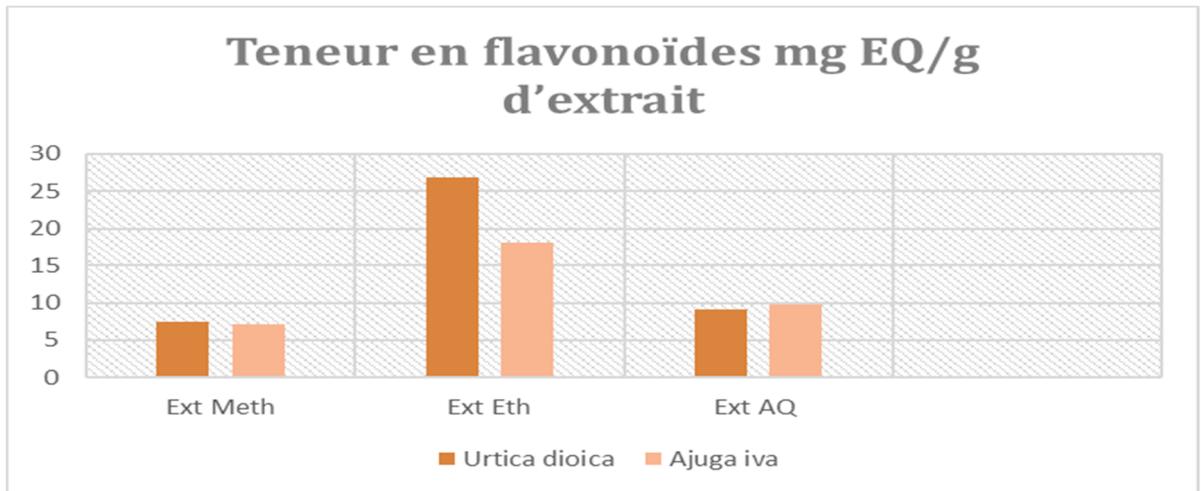


Figure 30 : Résultats de Teneur en flavonoïdes dans des extraits

Des études sur même espèce trouvé que le teneur en flavonoïdes de 132.6 mg REs/g extract) dans *Ajuga*, Nos résultats sont inférieure avec une teneur en flavonoïdes de 19.5 mg EQ/g de matière pour un extrait éthanolique de la partie aérienne de la même variété. [66]. Par contre Nos résultats sont supérieurs à des résultats des recherche qui trouvés une valeur de 1.1 mg QEs/g [62]. Des études sur même espèce de *Ajuga* ont rapporté des résultats similaires à nous étude. [64]

Autre auteure ont rapporté une teneur de flavonoids (11.00 mg CE/g SN) en utilise « eau , 96% ethanol, methylene chloride, ethyl acetate, acetone and n-hexane » comme solvant de extraction, , ce résultat est relativement inférieur à celui de notre extrait mg 19.5 QEs/g pour l'espèce *Urtica dioica* [68]

Des auteures ont rapporté une teneur en flavonoïdes de 20,29 mg EQ/g extrait dans feuilles d'*Urtica dioica* L. en utilisant l'éthanol 80 % comme solvant d'extraction, ce résultat est comparant à notre résultat. [71]

Cette différence dans la quantification des flavonoïdes est probablement liée à leur Diversité structurale [72] .

3.3. Dosage des tanins

Les tanins sont un groupe de polyphénols à haut poids moléculaire et qui existent dans presque chaque partie de la plante. Ces composés sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés [35].

La mise en évidence de la teneur en tanins des extraits a été effectuée selon la méthode réactif vanilline et la catéchine comme étalon. [54]

Les valeurs sont obtenues à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage établi par la catéchine **Fig31**.

Les résultats sont exprimés en mg d'équivalents de l'étalon par g de poids sec de la matière végétale (mg EC/g poudre

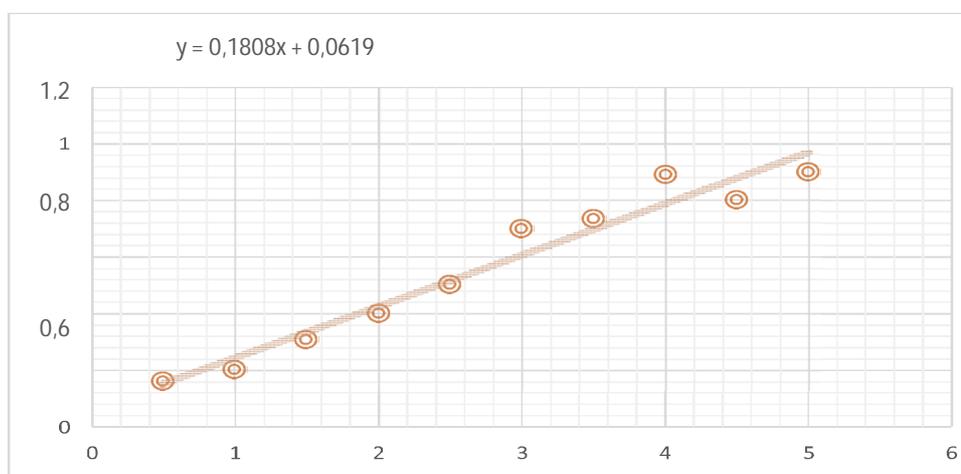


Figure 31 : Courbes d'étalonnages catéchine (Cat)

La quantité des tanins a été rapportée en milligramme d'équivalent de catéchine par gramme de matière sèche de l'extrait (mg eq cat/g MS). [54]. À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des tanins est présente dans le tableau 12 :

Espèces	T_t : Teneur en tanins mg eq cat/g MS d'extrait		
	Extraits Methanolique	Extraits Ethanolique	Extraits Aqueux
<i>Ajuga iva</i>	7.14± 0.074	18.2 ± 0.097	9.07± 0.099
<i>Urtica dioïca</i>	7.41± 0.070	19.8± 0.090	9.17± 0.084

Tableau 12 : Résultats de Teneur en tanins mg eq cat/g MS d'extrait

T_t : Teneur en tanins en milligramme d'équivalent de catéchine par gramme de poids sec de l'extrait (mg Ecat/g MS). [54]

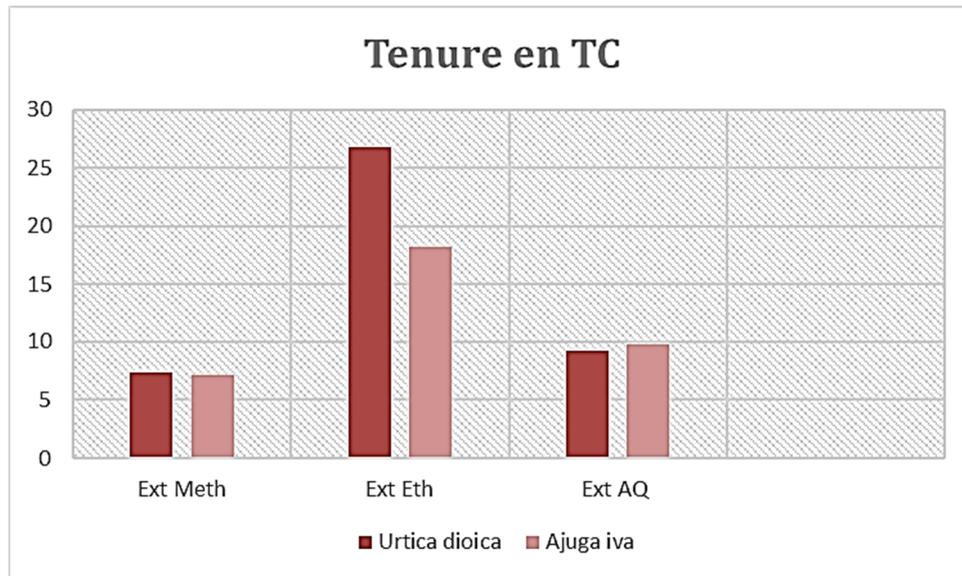


Figure 32 : Résultats de teneur en tanins dans des extraits

Les résultats de dosage de tannins Condensed révèlent pour les extraits méthanolique et éthanolique et aqueux les valeurs suivants 7.14 ± 0.074 mg éq cat/g MS d'extrait de et 18.2 ± 0.097 mg éq cat/g MS d'extrait de matière sèche et $9,74 \pm 0.099$ mg éq cat/g MS d'extrait de matière sèche

Pour *Ajuga iva* en tannins et 7.41 ± 0.070 de mg éq cat/g MS d'extrait de matière sèche et 19.8 ± 0.090 mg éq cat/g MS d'extrait et 9.17 ± 0.084 mg éq cat/g MS d'extrait g de matière sèche pour *Urtica dioica*. Selon ces résultats la teneur en tannins condense dans les extraits éthanolique de *Urtica dioica* est la plus élevée.

4. Résultats d'évaluation des activités biologiques

4.1. Résultats d'évaluation de l'activité antioxydant

La technique du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est l'une des méthodes la plus couramment employée. Elle est rapide, facile à mettre en œuvre et s'effectue à température ambiante ce qui permet l'élimination de tout risque de dégradation thermique des molécules testées [55]

Les radicaux libres (DPPH) sont utilisés pour déterminer la capacité antioxydante. (DPPH) est réduit en DPPH-H et son absorbance spectrophotométrie diminue.

Activité antioxydant exprimée en pourcentage d'inhibition des radicaux libres (DPPH)
 $AA = (\text{absorbance initiale} - \text{absorbance d'extraction} / \text{absorbance initiale}) \times 100$. [55]

Les résultats obtenus pour la méthode DPPH sont exprimés en termes de concentration Inhibitrice de 50% des radicaux (IC50).

Calcul des IC50

L'activité antiradicalaire des extraits de la plante étudiée est déterminée par leur capacité à Réduire le radical libre DPPH exprimée en pourcentage d'inhibition. [55]

Les valeurs des IC50 et par conséquent des pourcentages d'inhibition ont été calculés en vue de déterminer les concentrations qui réduisent 50% des radicaux libres DPPH .

Une valeur faible d'IC50 (valeur élevée de pourcentages d'inhibition) indique une activité antioxydant forte.

À partir des courbes des équations des régressions linéaires des pourcentages d'inhibition

Calculés en fonction de différentes concentrations d'extraits préparés ($y=ax+b$) (Annexe 1) ; Nous pouvons déterminer pour chaque extrait la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical libre DPPH ou IC50.

$y = 50\%$ (pourcentage de réduction de DPPH).

$x = IC50$ (la concentration en extrait et de l'acide ascorbique).

Les valeurs des concentrations efficaces d'IC50 (concentration inhibitrice de 50% de DPPH, et le pourcentage d'inhibition de notre extrait sont rapportés dans le tableau suivant :

La concentration en l'acide ascorbique Vit C =1.25 mg/ml

Espèces	IC ₅₀ : concentration inhibitrice de 50% de DPPH		
	Extraits Méthanolique	Extraits Ethanologique	Extraits Aqueux
<i>Ajuga iva</i>	2.11 mg/ml	2.21mg/ml	3.39 mg/ml
<i>Urtica dioïca</i>	1.50mg/ml	0.20mg/ml	2.27mg/ml

Tableau 13 : Résultats de la concentration inhibitrice de 50% de DPPH

L'activité antiradicalaire à une le pourcentage d'inhibition de 50% DPPH. L'extrait Ethanologiques d'*Ajuga iva* a donné une concentration de 2.21 mg/ml pour ce même pourcentage l'antioxydant d'*Urtica dioïca* à une concentration de 0.2mg/ml. On constate donc que l'activité antiradicalaire de l'extrait éthanologique d'*Ajuga iva* est inférieure à celle de l'extrait éthanoïque *Urtica dioïca*

Nous résultat, montre qu'*Ajuga iva* est doté d'une faible activité antiradicalaire moins importante que celle des *Urtica dioïca*. Une valeur faible d'IC50 indique une activité antioxydant forte.

Les résultats indiquent que la plante étudiée *Urtica dioica* L. est un fort et excellent piègeur du radical DPPH que *Ajuga iva*, La présence des composés phénoliques dans l'extrait éthanolique peut être expliquée la capacité de cette plante à jouer un rôle majeur en tant qu'agent antioxydant

Tous les extraits étudiés ont d'activité antiradicalaire dépendant des concentrations, l'extrait aqueux exerce moins d'activité. A partir de ce résultat, nous On peut déduire que les métabolites secondaires semblent être plus solubles dans le solvant que dans l'eau.

Dans notre étude, on a trouvé une différence hautement significative dans l'activité Antioxydant dans les trois extraits étudiés (F de Fischer = 8.82; $ddl = 2$; Pour le groupement Des groupes homogènes en utilisant le test de Tukey nous avons trouvé deux groupes Différentes le groupe 1 contient l'extrait éthanolique et l'extrait méthanolique et le groupe 2 Contient l'extrait aqueux. (Annexe 03)

à partir d'un extrait méthanolique d'*A. iva*, préparé par macération, récolté à Béjaïa en mars 2008 avec une IC_{50} de 168 $\mu\text{g/ml}$. [73].

L'activité antioxydante testée par la méthode DPPH a montré une CI_{50} de $512 \pm 0,03$ $\mu\text{g/mL}$ pour l'extrait méthanolique de parties aériennes d'*Ajuga iva* (L). [74].

L'extrait Aqueux de l'*Ajuga iva* qui représente la fraction la plus faible en polyphénols, possède l'effet scavenger le plus bas par rapport aux autres extraits.

Pour l'espèce *U. dioica*, sur l'extrait hydroalcoolique d'*Urtica dioica* avait donné des IC_{50} de $88,33 \pm 2,88$ $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait [72]. D'autres études ont signalé une IC_{50} de $31,38 \pm 0,102$ $\mu\text{g/g}$ en travaillant sur l'extrait éthanolique d'*Urtica dioica*, [71].

Les résultats obtenus montrent une corrélation directe entre la teneur totale en phénol des différents extraits et l'activité antioxydant. Plusieurs travaux ont montré une bonne corrélation entre les IC_{50} et la teneur en polyphénols et en flavonoïdes [75].

L'analyse des résultats a permis de démontrer que la différence de l'activité antioxydante des extraits de la même plante est peut-être due à la différence de protocole de la méthode d'extraction utilisée et la polarité du solvant utilisé. Le potentiel réducteur des extraits végétaux peut être dû à la présence de molécules capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits stables, ce qui peut expliquer le potentiel réducteur des extraits végétaux. [77].

4.2. Activité antimicrobienne

L'antibiogramme permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la Croissance bactérienne [53]. A titre de comparaison, nous avons utilisés des disques d'antibiotiques comme standards contenant de la kanamycine et tobramycine, acide fusidique, gentamicine, cefalexine et pénicilline, streptomycin, vancomycine, erythromycine, piperacillin, oxacilline,etracycline

Les résultats montrent que les souches testées ont présenté des zones d'inhibitions varient entre 00 mm à 28 mm.

Antibiotiques	Concentrations (µg/ml)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
KANAMYCINE	30	17mm	20mm	24mm	21mm	20mm
TOBRAMYCINE	10	15mm	16mm	21mm	15mm	08mm
PENICILLIN	30	05mm	00mm	00mm	00mm	00mm
Ceftazidime	30	16mm	00mm	00mm	00mm	00mm
ACIDE FUSIDIQUE	10	12mm	14mm	12mm	10mm	13mm
ERYTHROMYCINE	15	24mm	30mm	27mm	24mm	26mm
TETRACYCLINE	30	20mm	28mm	30mm	08mm	21mm
VANCOMYCINE	30	18mm	20mm	17mm	24mm	20mm
OXACILLINE	5	00mm	17mm	00mm	00mm	00mm
STREPTOMYCIN	300	30mm	32mm	36mm	30mm	30mm
PIPERACILLIN	30	21mm	12mm	30mm	25mm	10mm

Tableau 14 : Diamètres des zones d'inhibition des souches microbiennes vis-à-vis des antibiotiques

Les résultats représentés par le tableau 14, montrent que :

STREPTOMYCIN (S) est l'antibiotique le plus actif présentant des diamètres d'inhibitions de 36 mm pour *Proteus mirabilis* et 30 mm pour *Bacillus cereus*.

ERYTHROMYCINE (E) est aussi actif enregistrant des diamètres d'inhibition de 30 et 27 mm vis-à-vis de *Acinetobacter baumannii* et *Proteus mirabilis* respectivement.

KANAMYCINE (K) et ACIDE FUSIDIQUE (FA) présentent une activité antimicrobienne modérée, enregistrant des diamètres de 21 mm pour *Proteus mirabilis* et 20 mm pour *Acinetobacter baumannii*

L'OXACILLINE (ox) et la ceftazidime (CAZ) et PENICILLIN (P) sont les moins actifs parmi les antibiotiques utilisés. Ils enregistrent des diamètres 05 mm pour prnicillin contre *Pseudomonas aeruginosa*. Par contre *Bacillus cereus* résiste à ces antibiotiques.

D'après nos résultats de l'antibiogramme, on peut dire que, les antibiotiques réagissent différemment selon le type de bactérie, et chaque composé à sa propre efficacité.

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antimicrobien des extraits d'*Ajuga iva* et d'*Urtica dioïca* par la technique de diffusion en puits en utilisant le milieu gélosé solide (Muller-Hinton) [61].

L'activité antimicrobienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits, contenant les extraits à tester vis-à-vis de cinq souches bactériennes qui sont : *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *Acinetobacter baumannii*, et *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*.

Les diamètres des zones d'inhibition des extraits contre les microorganismes testés sont présentés dans le tableau (15).

N°	Souches	Natures	Parois	Activité (zone d'inhibition mm)					
				<i>Ajuga iva</i>			<i>Urtica dioïca</i>		
				l'extrait Mth	l'extrait Eth	l'extrait AQ	l'extrait Mth	l'extrait Eth	l'extrait AQ
01	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram ⁻	Double	12 ± 0,45mm	18 ± 0,55mm	-	15 ± 0,74mm	19 ± 0,45mm	10 ± 0,70mm
02	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Gram ⁻	Double	06 ± 0,52mm	10 ± 0,57mm	-	17 ± 0,66mm	25 ± 0,74mm	5 ± 0,41mm
03	<i>Proteus mirabilis</i>	Gram ⁻	Double	12 ± 0,75mm	19 ± 0,63mm	-	14 ± 0,66mm	35 ± 0,24mm	8 ± 0,45mm
04	<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram ⁺	Simple	15 ± 0,45mm	20 ± 0,56mm	-	21 ± 0,41mm	38 ± 0,34mm	7 ± 0,40mm
05	<i>Bacillus subtilis</i>	Gram ⁺	Simple	18 ± 0,41mm	23 ± 0,36mm	-	18 ± 0,34mm	34 ± 0,41mm	11 ± 0,44mm

- : pas de zone

Tableau 15 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'*Ajuga iva* et d'*Urtica dioïca* par la méthode de diffusion en puits d'agar

L'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanoïques et éthanolique et aqueux de l'*Ajuga iva* et d'*Urtica dioïca* sur différents germes (Gram (+) et Gram (-)) par la méthode de diffusion en puits donne des diamètres qui varient en fonction de la souche testée. D'après nos résultats, nous constatons que les deux plantes présentent un effet inhibiteur efficace contre les cinq espèces bactériennes mais avec des diamètres variables. Nous constatons aussi que pour les deux plantes testées le diamètre d'inhibition le plus élevé est marqué chez la bactérie Gram positif *Staphylococcus aureus* (38mm) ; par contre le plus faible est observé chez la bactérie Gram négatif *Acinetobacter baumannii* (6 mm).

Tous les extraits d'*Urtica dioïca* a réagi positivement sur toutes les souches bactériennes testées, qui confirme que cette dernière est douée de propriétés antibactériennes. Nous remarquons que l'extrait éthanolique d'*Urtica dioïca* un effet remarquable sur l'ensemble des souches. Ceci peut s'expliquer par le fait que cette plante contient des Composants antibactériens actifs extractibles par ce solvant.

Une étude similaire montre que l'extrait brut d'*Urtica dioïca*, était actif contre plusieurs souches bactériennes : *E. coli* 2, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* ATTC 25922, *E. coli* 1 et *Staphylococcus aureus*. [68]

Nos résultats semblent être plus importants que celle apportée par d'autre étude sur l'extrait d'*Urtica dioïca*, qui a donné un diamètre des zones d'inhibition de l'ordre de (9 mm) vis-à-vis d'*Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* 2, *Klebsiella pneumoniae* respectivement [74].

L'évaluation d'activité antibactérienne des extraits d'*A.iva* sur les cinq souches testes a confirmé un pouvoir antibactérien de ces dernières, par une zone d'inhibition de 23 mm pour *Bacillus cereus* et une zone d'inhibition de 20 mm de diamètre pour *Staphylococcus aureus* concernant l'extrait éthanolique. Tandis que l'extrait aqueux d'*A.iva* n'a présenté aucun effet sur les cinq souches testées.

Le témoin (eau distillé) présente des résultats négatifs, ceci implique que l'activité antibactérienne est due uniquement aux substances renfermées dans nos extraits.

Les polyphénols comme les flavonoïdes et les tanins sont des substances antibactériennes importantes [75].

Les faibles niveaux de ces composés dans les extraits aqueux d'*A.iva* par rapport aux extraits éthanolique de la même plante peuvent expliquer l'inefficacité d'un extrait par rapport à l'autre.

Staphylococcus aureus (gram-positif) semble être la bactérie la plus sensible par rapport aux autres souches (gram-négatif); cela peut être attribué aux différences structurales entre les bactéries gram-positives et gram-négatives [80]

On peut conclure que les composants biologiquement actifs des *Ajuga iva* et d'*Urtica dioïca* pourraient représenter une nouvelle source antimicrobienne à exploiter en médecine moderne. Néanmoins, comme cela a été signalé auparavant, d'autres études sont nécessaires pour isoler et caractériser les principes bioactifs et ainsi contribuer au développement de nouveaux médicaments antimicrobiens.

Sur la base de ces résultats, il apparaît que la variabilité de l'activité antibactérienne peut être due à la présence d'une sensibilité relativement différente des bactéries et/ou de la sélectivité aux extraits végétaux. Ceci explique pourquoi l'activité antimicrobienne varie d'une plante à l'autre et d'une bactérie à l'autre [80]. Les composés phénoliques sont connus pour être toxiques et ciblent les enveloppes des micro-organismes, telles que la membrane plasmique et la paroi cellulaire. [81]

Le mécanisme de l'activité antibactérienne des polyphénols est sans aucun doute très complexe. Parmi ces hypothèses, on peut citer : l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques, L'altération de la fonction membranaire cytoplasmique, L'inhibition du métabolisme énergétique. [82]

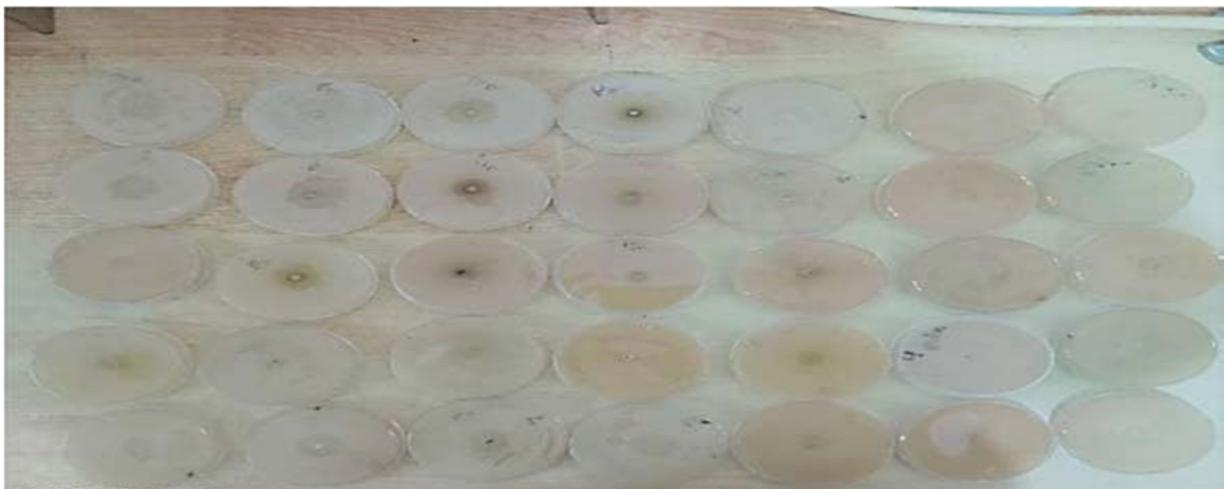


Figure 33: Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits (photo personnel 2022)

4.3. Activité anticoagulante *in vitro*

Le pouvoir anticoagulant de extraits de *Ajuga iva* et d'*Urtica dioïca* a été évalué *in vitro* vis-à-vis la voie exogène de la coagulation à l'aide d'un test chronométriques TQ. [58]

Le TQ normal est compris entre 12 et 13 secondes selon les réactifs utilisés et un allongement par rapport au contrôle négatif traduit une activité anticoagulante du Matériel testé vis-à-vis la voie exogène de la coagulation. Control positif est le SINTROM 4mg TQ = 80.5S

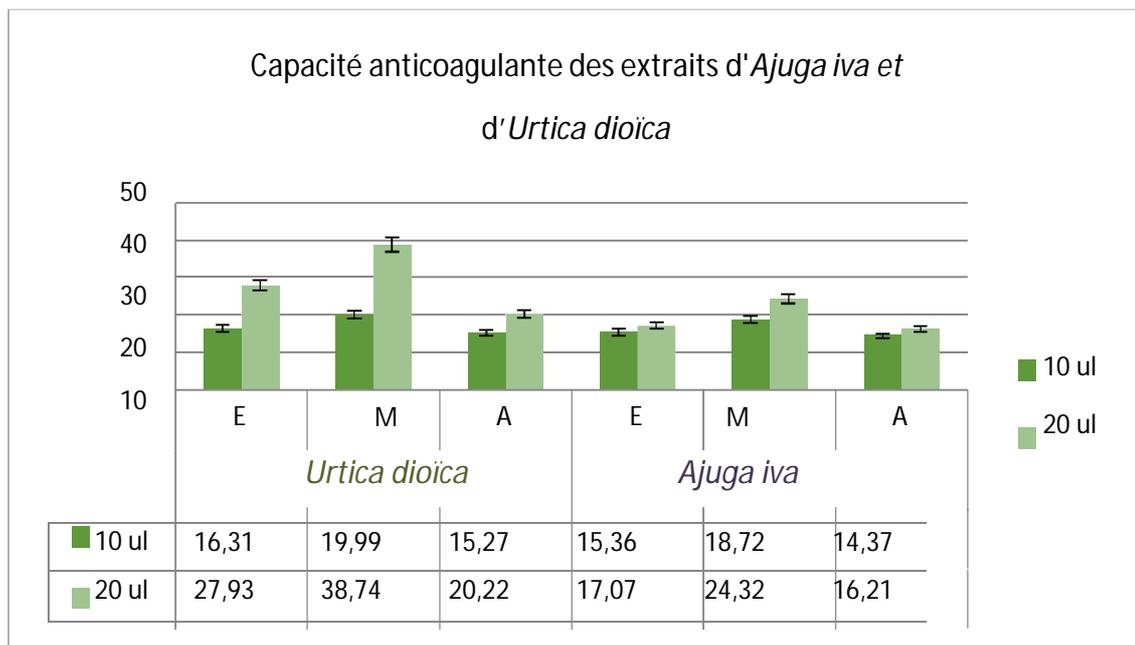


Figure 34 : Résultats de Capacité anticoagulante des extraits de *Ajuga iva* et d'*Urtica dioïca* vis-à-vis de la voie exogène de sang humain.

D'après les résultats obtenus, il ressort que les extraits des plantes (AQ et Meth et Eth) sont capables d'allonger de manière significative le TQ

Le volume 10µL des extraits aqueux et méthanoïques et éthanologiques d'*Urtica dioïca* capable d'allonger le temps de quick avec des valeurs d'ordre de (2.27S et 6.99S et 3.21S) avec un TQ de 15.27S et de 19,99S et 16.31S respectivement. et même volume (10µL) des extraits aqueux et méthanoïques et éthanologiques *Ajuga iva* enregistre un allongement de temps de quick des valeurs d'ordre de 1.37Set 5.72S et 2.37S) avec un TQ de 14 .37S et de 18.74S et 15.36S respectivement.

Cependant, le volume 20 μ L des extraits aqueux et méthanolique et éthanolique d'*Urtica dioïca* a une activité anticoagulante estimée par un TQ de 20.22S et 38.74S et 27.93S par un allongement de 7.22S, et 15.74S et 14.9S respectivement (**Figure 34 et tableaux 16**).

Les extraits des deux plantes à ceux des tubes témoins, indique que nos extraits ont allongé le temps de la coagulation plasmatique. Cette élongation des temps de coagulation du plasma qu'elle soit exprimée en temps est dose dépendante.

Les extraits des plantes sont capable d'exercer une activité anticoagulante significative et plus élevée estimée par un temps de coagulation de 38,74 \pm 0,45S pour extrait méthanoïques D'*Urtica dioïca* et 24,32 \pm 0,06S pour extrait méthanoïques de *Ajuga iva* donc un allongement par 37 s et de 7.9S s. par rapport à celui du contrôle négatif (13,6 \pm 0,09S). Ces volumes d'extraits utilisés dans la procédure suivie l'étude par Athukorala [61].

Les résultats obtenus sont une indication intéressante en faveur d'une activité anticoagulante des extraits (éthanolique, méthanolique, aqueux) des plantes

Globalement, on peut déduire que l'extrait d'*Urtica dioïca* et *Ajuga iva* exerce un effet anticoagulant sur la voie de la coagulation exogène de manière dose-dépendante, et cette activité est plus prononcée dans l'extrait méthanolique d'ortie 38,74 \pm 0,45 S

L'extrait méthanolique (100 %) de *lichen riche* a montré une activité anti thrombotique significative à la fois *in vitro et in vivo* [83].

Une étude récente de la fraction éthanol (70 %) du cotylédon de *Rubus* a montré une activité anticoagulante très importante, avec des temps de recalcification plasmatique de 107,8 et 166,8 S respectivement [84].

Ces résultats paraissent très logiques puisque la teneur de ces extraits en tanins condensés a été trouvée faible et que l'effet coagulant des tanins a été confirmé dans maintes études. Qui montre utilisation des tanins en tant qu'aide coagulant dans le processus de purification de l'eau et ont remarqué que ces molécules ce sont révélées plus efficaces que les aides coagulants synthétiques. [85].

L'activité biologique des tanins est due à leur affinité aux protéines. Cependant, ces molécules ont une affinité élevée pour certaines protéines et une affinité faible pour d'autres [86]. L'effet anticoagulant de ces extraits peut être expliqué par l'inactivation des enzymes impliqués dans le processus de coagulation ou par l'inhibition de l'utilisation du calcium, lui-même indispensable pour cette coagulation [86].

Espece	L'extrait	tp	
		10 ul	20 ul
<i>Ortie</i>	E	16,31 ± 0,07	27,93 ± 0,08
	M	19,99 ± 0,09	38,74 ± 0,45
	A	15,27 ± 0,06	20,22 ± 0,06
<i>Ajuga</i>	E	15,36 ± 0,08	17,07 ± 0,06
	M	18,72 ± 0,21	24,32 ± 0,09
	A	17,37 ± 0,24	16,21 ± 0,6

Tableau 16 : Résultats de l'activité anticoagulante des extraits



Conclusion générale

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie attire beaucoup d'attention ces jours-ci. Dans la recherche biomédicale, cela devient tout aussi important. Une partie de la raison de cet intérêt est que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels biologiquement actifs.

Ce travail a permis l'étude quantitative et qualitative des composés phénoliques des extraits d'*Ajuga iva* et d'*Urtica dioïca* (éthanol, méthanol et eau). Et l'évaluation du pouvoir antibactérienne et de l'activité antioxydante et activiste anticoagulante des extraits éthanologique, méthanoïque et aqueux.

Le screening photochimique basé sur des tests spécifiques a permis de caractériser des polyphénols totaux les flavonoïdes, les tanins condensés. Ces métabolites secondaires possèdent des valeurs thérapeutiques éminentes. Le dosage quantitatif des polyphénols a révélé qu'*Urtica dioïca* sont plus riches en composés polyphénols par rapport à l'*Ajuga iva* qui présentent des teneurs plus faibles, l'extrait éthanologique est l'extrait le plus riche en composés phénoliques.

Les tests du pouvoir antimicrobien des extraits éthanologique, méthanoïque et aqueux, *Ajuga iva* et *Urtica dioïca* vis-à-vis les cinq souches bactériennes montrent que l'effet antimicrobien des extraits varie en fonction de l'espèce, de type d'extrait et de type de souche et sa sensibilité ou sa résistance. Les extraits produisent des zones d'inhibition avec des diamètres entre 5 et 38 mm, étude de l'activité antibactériennes des extraits de l'*Ajuga iva* et *Urtica dioïca* sur plusieurs souches bactériennes (Gram positive et Gram négatif) montre la sensibilité de *Staphylococcus aureus* (Gram positive) vis à vis de ces extraits, les l'extrait éthanologique sont ceux qui ont le pouvoir antimicrobien élevé.

Les résultats de l'activité antioxydante des extraits montrent que l'*Ajuga iva* et *Urtica dioïca* ont un pouvoir antioxydant importance. Aussi, les résultats obtenus confirment que les extraits éthanologique « 2.21mg/ml *Ajuga* et 0.20 mg/ml *Urtica* » sont ceux qui piègent le plus de radicaux libres, suivis par les extraits méthanoliques et en fin les extraits aqueux. Ainsi, une classification spécifique des taxons relative aux.

Les résultats L'évaluation de L'activité anticoagulante des extraits de l'*Ajuga iva* *Urtica dioïca* a été évaluée *in vitro* par le teste (TQ ou TP) a permet d'asseoir que les extraits exerce un effet anticoagulant sur la voie exogène coagulation. Nous avons noté que Les extraits à partir des feuilles des plantes médicinale l'*Ajuga iva*, *Urtica dioïca* procédant une l'activité anticoagulante importante vis-à-vis la voie exogène coagulation.

Conclusion générale |

Ces constatations confirment les pouvoirs biologiques de ces plantes. Ces plantes recèlent de substances biologiquement très actives, ce qui confirme la nécessité de scruter ces voies en vue de leurs utilisations en pharmacologie appliquée.



Références bibliographiques

1. Tani, C. K., Le Bourgeois, T., & Munoz, F. (2010). Aspects floristiques des adventices du domaine phytogéographique oranais (Nord-Ouest Algérien) et persistance d'espèces rares et endémiques. *Fl. Medit*, 20, 29-46.
2. Aires, a. marques, e., Carvalho, r., Rosa, e. A., & Saavedra, m. J. (2013). Evaluation of biological value and appraisal of polyphenols and glucosinolates from organic baby-leaf salads as antioxidants and antimicrobials against important human pathogenic bacteria. *Molecules*, 18(4), 4651-4668.
3. McAloon, C. J., Boylan, L. M., Hamborg, T., Stallard, N., Osman, F., Lim, P. B., & Hayat, S. A. (2016). The changing face of cardiovascular disease 2000–2012: An analysis of the world health organisation global health estimates data. *International journal of cardiology*, 224, 256-264.
4. Conde, E., Cara, C., Moure, A., Ruiz, E., Castro, E., & Domínguez, H. (2009). Antioxidant activity of the phenolic compounds released by hydrothermal treatments of olive tree pruning. *Food Chemistry*, 114(3), 806-812.
5. Jouanna, J. (2004). Médecine égyptienne et médecine grecque. *Publications de l'Académie des Inscriptions et Belles-Lettres*, 15(1), 1-21.
6. Iserin, P., Masson, M., Restellini, J., Ybert, E., De Laage de Meux, A., Moulard, F., & Vican, P. (2001). Larousse des plantes médicinales: identification. *préparation, soins*. 2ième édition Larousse, VUEF, pp13-16, 291-296.
7. Grünwald, J., & Jänicke, C. (2006). *Guide de la phytothérapie*. Marabout.
8. Milpied-Homsi, B. (Ed.). (2009). *Progrès en dermato-allergologie: Bordeaux 2009* (Vol. 15). John Libbey Eurotext.
9. Boukhobza, F., & Goetz, P. (2014). *Phytothérapie en odontologie*-Editions CdP. Initiatives Santé.
10. Bodeker, G., & Ong, C. K. (2005). *WHO global atlas of traditional, complementary and alternative medicine* (Vol. 1). World Health Organization.
11. Baudoux, D. (2017). *Aromathérapie: 100 huiles essentielles*. Dunod.
12. Andriane, P. (2011). *Traité de gemmothérapie: la thérapeutique par les bourgeons*. Éditions Amyris.
13. Kuhn, M. A., & Winston, D. (2000). *Herbal therapy and supplements: a scientific and traditional approach*. Lippincott Williams & Wilkins.
14. Zohoun, T. H., & Flenon, J. (1997). La Médecine traditionnelle et la pharmacopée africaine peuvent-elles constituer une alternative de soins face aux coûts prohibitifs actuels de la Médecine moderne. *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine*, 3-15.
15. Spichiger, R. E., Figeat-Hug, M., & Jeanmonod, D. (2002). *Botanique systématique des plantes à fleurs: une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales*. PPUR presses polytechniques.
16. Roux, D., & Catier, O. (2007). *Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie*, 3e éd. Rueil-Malmaison: Wolters Kluwer France.
17. Laccourreye, O., Werner, A., Laccourreye, L., & Bonfils, P. (2017). La phytothérapie en pratique clinique en otorhinolaryngologie: apport, limites et risques. *Annales françaises d'Oto-rhino-laryngologie et de Pathologie Cervico-faciale*, 134(2), 90-95.
18. Gayet, C. (2018). *Guide de poche de phytothérapie*. Éditions Leduc. S
19. Al-Achi, A. (2008). *An Introduction to Botanical Medicines: History, Science, Uses, and*

Dangers: History, Science, Uses, and Dangers. ABC-CLIO.

20. Duke, J. A. (2002). *The green pharmacy herbal handbook: your everyday reference to the best herbs for healing.* Macmillan.

21. OUADEH, N., BENHISSEN, S., BELKASSAM, A., BENDIF, H., & REBBAS, K. (2021). Ethnobotanical study and inventory of medicinal plants in the Dréat region (M'Sila, Algeria). *Geo-Eco-Trop*, 45(4), 617-633.

22. Capasso, F., Gaginella, T. S., Grandolini, G., & Izzo, A. A. (2003). *Phytotherapy: a quick reference to herbal medicine.* Springer Science & Business Media.

23. Taylor, L. (2005). *The healing power of rainforest herbs: A guide to understanding and using herbal medicinals* (No. 615.321 T243). SquareOne publishers.

24. Roux, D., & Catier, O. (2007). Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, 3e éd. *Rueil-Malmaison: Wolters Kluwer France.*

25. Hartmann, T. (2007). From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68(22-24), 2831-2846.

26. Hopkins, W. G. (2003). Physiologie végétale. 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier SA. *Paris, 514p.*

27. Jean, B. (2008). *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants (2e ed.-retirage broch").* Lavoisier.

28. Mazars, G. (2003). Les phytomédicaments à yurvédiques. *Phytothérapie*, 1(6), 162-168.

29. Edeas, M. (2007). Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*, 5(5), 264-270.

30. Watson, R. R. (Ed.). (2018). *Polyphenols in plants: isolation, purification and extract preparation.* Academic Press.

31. Zhang, L., Han, Z., & Granato, D. (2021). Polyphenols in foods: Classification, methods of identification, and nutritional aspects in human health. *Advances in Food and Nutrition Research*, 98, 1-33.

32. Bouzabata, A. (2016). *Les Polyphénols: Illustrations de cours de pharmacognosie.* Éditions universitaires européennes.

33. Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1), 191-203.

34. Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.

35. Celzard, A., Fierro, V., Amaral-Labat, G., Pizzi, A., & Torero, J. (2011). Flammability assessment of tannin-based cellular materials. *Polymer Degradation and Stability*, 96(4), 477-482

36. Celzard, A., Fierro, V., Amaral-Labat, G., Pizzi, A., & Torero, J. (2011). Flammability assessment of tannin-based cellular materials. *Polymer Degradation and Stability*, 96(4), 477-482..

37. Zhang, X., Guo, X. S., Li, F. H., Usman, S., Zhang, Y. X., & Ding, Z. T. (2022). Antioxidant, flavonoid, α -tocopherol, β -carotene, fatty acids, and fermentation profiles of

alfalfa silage inoculated with novel *Lactiplantibacillus Plantarum* and *Pediococcus acidilactici* strains with high-antioxidant activity. *Animal Feed Science and Technology*, 288, 115301.

38. Wang, F. Y., Ren, Y., Lan, R. T., Fu, W. Q., Chen, Z. J., Huang, S., ... & Li, Z. M. (2021). Controlled bacteriostasis of tea polyphenol loaded ultrahigh molecular weight polyethylene with high crosslink density and oxidation resistance for total joint replacement. *Materials Science and Engineering: C*, 124, 112040.

39. Lucía, B. M., Georgina, O. M., Daniela, D. M., & Raquel, P. N. (2022). Cardiometabolic risk, biomarkers of low-grade subclinical inflammation and flavonoid intake: A cross-sectional study in Argentina. *PharmaNutrition*, 20, 100297.

40. Calzerra, N. T., Melo, M. P., Santos, P. F., Assis, K. S., Maciel, P. M., Vieira, R. L., ... & Medeiros, I. A. (2022). Cardiovascular protection effect of a Northeastern Brazilian lyophilized red wine in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Functional Foods*, 88, 104868.

41. Swanson, H. (2015). *Flavonoids, inflammation and cancer*. World Scientific.

42. Farag, M. A., Shakour, Z. T. A., Elmassry, M. M., & Donia, M. S. (2022). Metabolites profiling reveals gut microbiome-mediated biotransformation of green tea polyphenols in the presence of N-nitrosamine as pro-oxidant. *Food Chemistry*, 371, 131147.

43. Joshi, B. C., Mukhija, M., & Kalia, A. N. (2014). Pharmacognostical review of *Urtica dioica* L. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 8(4).

44. Bouyahya, A., El Omari, N., Elmenyiy, N., Guaouguaou, F. E., Balahbib, A., El-Shazly, M., & Chamkhi, I. (2020). Ethnomedicinal use, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of *Ajuga iva* (L.) schreb. *Journal of ethnopharmacology*, 258, 112875.

45. El Anbassi, S., Bianchi, V., & Duployez, C. (2019). *Bactériologie virologie*. De Boeck Supérieur.

46. Libertucci, J., & Young, V. B. (2019). The role of the microbiota in infectious diseases. *Nature Microbiology*, 4(1), 35-45.

47. Kayser, F. H., Böttger, E. C., Zinkernagel, R. M., Haller, O., Eckert, J., & Deplazes, P. (2008). *Manuel de poche de microbiologie médicale*. Flammarion Médecine-Sciences.

48. Kayser, F. H., Böttger, E. C., Zinkernagel, R. M., Haller, O., Eckert, J., & Deplazes, P. (2009). *Microbiologie Médicale (Übersetzung der 11. Atlas de poche)*.

49. Medjeldi, S., Bouslama, L., Benabdallah, A., Essid, R., Haou, S., & Elkahoui, S. (2018). Biological activities, and phytochemicals of northwest Algeria *Ajuga iva* (L) extracts: Partial identification of the antibacterial fraction. *Microbial pathogenesis*, 121, 173-178.

50. Suryavanshi, A., Kumar, S., Kain, D., & Arya, A. (2021). Chemical composition, antioxidant and enzyme inhibitory properties of *Ajuga parviflora* Benth. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 37, 102191.

51. Hayat, J., Akodad, M., Moumen, A., Baghour, M., Skalli, A., Ezrari, S., & Belmalha, S. (2020). Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L. from 2 different

localities of Northeast of Morocco. *Heliyon*, 6(11), e05609.

52. Jan, R., Gani, A., & Dar, M. M. (2022). Bioactive characterization of ultrasonicated Ginger (*Zingiber officinale*) and Licorice (*Glycyrrhiza Glabra*) freeze dried extracts. *Ultrasonics Sonochemistry*, 106048.

53. Phong, H. X., Viet, N. T., Quyen, N. T. N., Van Thinh, P., Trung, N. M., & Ngan, T. T. K. (2022). Phytochemical screening, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activities of four spices commonly used in Vietnamese traditional medicine. *Materials Today: Proceedings*, 56, A1-A5.

54. Algebaly, A., AlGabbani, Q., Al-Otaibi, W. R., Alotaibi, A. M., Albani, F. G., ALanazi, I. S., ... & Al-Qahtani, W. S. (2021). Aqueous Extract of *Origanum majorana* at Low Temperature (0° C) Promotes Mitochondrial Fusion and Contributes to Induced Apoptosis in Human Breast Cancer Cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 22(9), 2959-2967

55. Sihag, S., Pal, A., & Saharan, V. (2022). Antioxidant properties and free radicals scavenging activities of pomegranate (*Punica granatum L.*) peels: An in-vitro study. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 102368.

56. Bouyahya, A., Et-Touys, A., Bakri, Y., Talbaui, A., Fellah, H., Abrini, J., & Dakka, N. (2017). Chemical composition of *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. *Microbial pathogenesis*, 111, 41-49.

57. Senhaji, S., Lamchouri, F., Boulfia, M., Lachkar, N., Bouabid, K., & Toufik, H. (2022). Mineral composition, content of phenolic compounds and in vitro antioxidant and antibacterial activities of aqueous and organic extracts of the seeds of *Peganum harmala L.* *South African Journal of Botany*, 147, 697-712.

58. Le, H. L., Nguyen, T. M. H., Vu, T. T., Nguyen, T. T. O., Ly, H. D. T., Le, N. T., & Nguyen, T. V. A. (2022). Potent antiplatelet aggregation, anticoagulant and antioxidant activity of aerial *Canna x generalis* LH Bailey & EZ Bailey and its phytoconstituents. *South African Journal of Botany*, 147, 882-893.

59. Li, C. T., Wang, H. B., & Xu, B. J. (2013). A comparative study on anticoagulant activities of three Chinese herbal medicines from the genus *Panax* and anticoagulant activities of ginsenosides Rg1 and Rg2. *Pharmaceutical Biology*, 51(8), 1077-1080.

60. Athukorala, Y., Lee, K. W., Kim, S. K., & Jeon, Y. J. (2007). Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea. *Bioresource technology*, 98(9), 1711-1716.

61. Fanou, B. A., Klotoé, J. R., Dougnon, V., Soha, A., Yovo, M., & Loko, F. (2022). Etude comparative de la composition chimique, de l'activité antiradicalaire et de la toxicité de quatre plantes utilisées dans le traitement traditionnel des candidoses au Bénin. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 20(2), 54-64.

62. Makni, M., Haddar, A., Kriaa, W., & Zeghal, N. (2013). Antioxidant, free radical scavenging, and antimicrobial activities of *Ajuga iva* leaf extracts. *International journal of food properties*, 16(4), 756-765.

- 63. Daoudi, A., Sabiri, M., Bammou, M., Zair, T., Ibijbjen, J., & Nassiri, L. (2015).** Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica*: *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L. *Journal of Applied Biosciences*, *87*, 8094-8104.
- 64. Bouyahya, A., Abrini, J., El-Baabou, A., Bakri, Y., & Dakka, N. (2016).** Determination of phenol content and antibacterial activity of five medicinal plants ethanolic extracts from North-West of Morocco. *J Plant Pathol Microbiol*, *7*(342), 2.
- 65. Senhaji, S., Lamchouri, F., Bouabid, K., Assem, N., El Haouari, M., Bargach, K., & Toufik, H. (2020).** Phenolic contents and antioxidant properties of aqueous and organic extracts of a Moroccan *Ajuga iva* subsp. *pseudoiva*. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, *26*(3), 248-266.
- 66. Fettach, S., Mrabti, H. N., Sayah, K., Bouyahya, A., Salhi, N., Cherrah, Y., & El Abbes, F. M. (2019).** Phenolic content, acute toxicity of *Ajuga iva* extracts and assessment of their antioxidant and carbohydrate digestive enzyme inhibitory effects. *South African Journal of Botany*, *125*, 381-385.
- 67. Kalajahi, S. E. M., & Ghandiha, S. (2022).** Optimization of spray drying parameters for encapsulation of Nettle (*Urtica dioica* L.) extract. *LWT*, *158*, 113149.
- 68. Ghaima, K. K., Hashim, N. M., & Ali, S. A. (2013).** Antibacterial and antioxidant activities of ethyl acetate extract of nettle (*Urtica dioica*) and dandelion (*Taraxacum officinale*). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *3*(5), 96.
- 69. Yesil-Celiktas, O., Nartop, P., Gurel, A., Bedir, E., & Vardar-Sukan, F. (2007).** Determination of phenolic content and antioxidant activity of extracts obtained from *Rosmarinus officinalis* 'calli'. *Journal of plant physiology*, *164*(11), 1536-1542.
- 70. Morais, M., Moreira, L., Feás, X., & Estevinho, L. M. (2011).** Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Food and Chemical Toxicology*, *49*(5), 1096-1101.
- 71. Kukrić, Z. Z., Topalić-Trivunović, L. N., Kukavica, B. M., Matoš, S. B., Pavičić, S. S., Boroja, M. M., & Savić, A. V. (2012).** Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L.). *Acta periodica technologica*, *(43)*, 257-272.
- 72. Bahorun, T., Luximon-Ramma, A., Crozier, A., & Aruoma, O. I. (2004).** Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *84*(12), 1553-1561.
- 73. Khaled-Khodja, N., Boulekbache-Makhlouf, L., & Madani, K. (2014).** Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae. *Industrial crops and products*, *61*, 41-48.
- 74. Ahmed, H., & Nawel, O. (2015).** Phytochemical studies and antioxidant activities of *Adiantum Capillus-Veneris*, *Lavandula stoechas* and *Ajuga iva*
- 75. Salazar, R., Pozos, M. E., Cordero, P., Perez, J., Salinas, M. C., & Waksman, N. (2008).** Determination of the antioxidant activity of plants from Northeast Mexico. *Pharmaceutical Biology*, *46*(3), 166-170..
- 76. Khare, V., Kushwaha, P., Verma, S., Gupta, A., Srivastava, S., & Rawat, A. K. S.**

(2012). Pharmacognostic Evaluation and Antioxidant Activity of *Urtica dioica* L.

77. Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., & Sokmen, A. (2007). Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food chemistry*, *100*(2), 584-589.

78. Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., & Albayrak, S. (2012). Antioxidant and antimicrobial activities of different extracts of some medicinal herbs consumed as tea and spices in Turkey. *Journal of Food Biochemistry*, *36*(5), 547-554.

79. Abeysinghe, D. T., Kumara, K. A. H., Kaushalya, K. A. D., Chandrika, U. G., & Alwis, D. D. D. H. (2021). Phytochemical screening, total polyphenol, flavonoid content, in vitro antioxidant and antibacterial activities of Sri Lankan varieties of *Murraya koenigii* and *Micromelum minutum* leaves. *Heliyon*, *7*(7), e07449.

80. David, B. C., & Sudarsanam, G. (2013). Antimicrobial activity of *Gymnema sylvestre* (Asclepiadaceae). *Journal of Acute Disease*, *2*(3), 222-225.

81. Marchel, M., Cieśliński, H., & Boczkaj, G. (2022). Deep eutectic solvents microbial toxicity: Current state of art and critical evaluation of testing methods. *Journal of Hazardous Materials*, *425*, 127963.

82. Videira-Quintela, D., Guillen, F., Martin, O., Cumbal, L., & Montalvo, G. (2022). Antibacterial and antioxidant triple-side filler composed of fumed silica, iron, and tea polyphenols for active food packaging. *Food Control*, *138*, 109036.

83. Kim, M. S., & Lee, K. A. (2006). Antithrombotic activity of methanolic extract of *Umbilicaria esculenta*. *Journal of ethnopharmacology*, *105*(3), 342-345.

84. Han, N., Gu, Y., Ye, C., Cao, Y., Liu, Z., & Yin, J. (2012). Antithrombotic activity of fractions and components obtained from raspberry leaves (*Rubus chingii*). *Food Chemistry*, *132*(1), 181-185.

85. Bello, A., Virtanen, V., Salminen, J. P., & Leiviskä, T. (2020). Aminomethylation of spruce tannins and their application as coagulants for water clarification. *Separation and Purification Technology*, *242*, 116765.

86. Hameed, Y. T., Idris, A., Hussain, S. A., Abdullah, N., & Man, H. C. (2020). Effect of pre-treatment with a tannin-based coagulant and flocculant on a biofilm bacterial community and the nitrification process in a municipal wastewater biofilm treatment unit. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *8*(2), 103679.



Annexes

ANNEXES - 01-

Listes des Réactifs utilisés :

a-Dichloro méthane : -Formule générale : CH_2Cl_2 -Masse molaire : $M=84,933 \text{ g/mol}$ -Point de fusion : $-95,1 \text{ }^\circ\text{C}$ -Point d'ébullition : $40 \text{ }^\circ\text{C}$ -Densité : $d = 1,33 \text{ g/cm}^3$ b-

Ethanol : -Formule générale : $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ -Masse molaire : $M=46,0684 \text{ g/mole}$ -Point de fusion :

$-114 \text{ }^\circ\text{C}$ -Point d'ébullition : $79 \text{ }^\circ\text{C}$ -Densité : $d = 789 \text{ kg/m}^3$ c- **Eau** : -Formule générale : H_2O

-Masse molaire : $M=18 \text{ g/mole}$ -Point de fusion : $0 \text{ }^\circ\text{C}$ -Point d'ébullition : $100,02 \text{ }^\circ\text{C}$ - Densité: $d = 1000 \text{ kg/m}^3$ d

-**Acide chlorhydrique**: -Formule générale : HCl -Masse molaire : $M= 36,46 \text{ g/mole}$ -Point de fusion : $-30 \text{ }^\circ\text{C}$, solution à 37% -Point d'ébullition : 48°C , 38% HCl -Densité: $d = 1,19 \text{ g/cm}^3$, solution à 37% e

-**Chlorure ferrique** : -Formule générale : FeCl_3 -Masse molaire : $M=162,204 \text{ g/mole}$ -Point de fusion : $306 \text{ }^\circ\text{C}$ -Point d'ébullition $315 \text{ }^\circ\text{C}$ -Densité : $d = 1,4 \text{ g/ml}$ g

h- **Ammoniaque** -Formule générale : NH_4OH -Masse molaire : $M=35,04 \text{ g/mole}$ -Point de fusion : $-58 \text{ }^\circ\text{C}$ -Point d'ébullition : $38 \text{ }^\circ\text{C}$ -Densité : $d = 880 \text{ kg/m}^3$ i-

acide sulfurique Formule générale : H_2SO_4 -Masse molaire : $M=98,79 \text{ g/mol}$ -Point de fusion : $10 \text{ }^\circ\text{C}$ -Point d'ébullition : $337 \text{ }^\circ\text{C}$ -Densité : $d = 1,38 \text{ g/cm}^3$ k-

Liqueur de Fehling -Nom de la substance : Cuivre (II) Sulfate pentahydraté -Point d'ébullition : 100°C -Densité : $d = 1,42 \text{ g/cm}^3$ l-

réactif de Folin constitué d'un mélange de : **Acide phosphotungstique** - Formule générale : $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ -Masse molaire : $M=2880,2 \text{ g/mol}$ -Point de fusion : 90°C - $\text{PH}=1,8$ **Acide phosphomolybdique** - Formule générale : $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ -Masse molaire : $M=1,825 \text{ g/mol}$ - Point de fusion : $78-98^\circ\text{C}$ -Densité : $d = 2,52 \text{ g/cm}^3$ m-

Carbonate de Sodium : -Formule générale : Na_2CO_3 -Masse molaire : $M=286,1416 \text{ g/mole}$

-Point de fusion : $851 \text{ }^\circ\text{C}$ -Densité : $d = 1,92 \text{ g/cm}^3$ (856°) n-

Acide gallique : -Formule molaire : $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ -Masse molaire : $M=170,1195 \text{ g/mole}$ -Point de fusion : 210°C -Densité : $d = 1,694 \text{ g/cm}^3$

o- **DPPH** : -Formule générale : $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$ -Masse molaire : $M=394,32 \text{ g/mole}$ -Point de fusion : 135°C -Densité : $d = 1,4 \text{ g/cm}^3$ p-

Acide ascorbique (vitamine C) : -Formule générale : $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ -Masse molaire : $M=176,12 \text{ g/mole}$ - Point de fusion : 190°C -Point d'ébullition : $553 \text{ }^\circ\text{C}$ -Densité : $d = 1,694 \text{ g/cm}^3$

ANNEXES - 02-



PHOTO 01 : Dosage de la quercétine (photo 2022

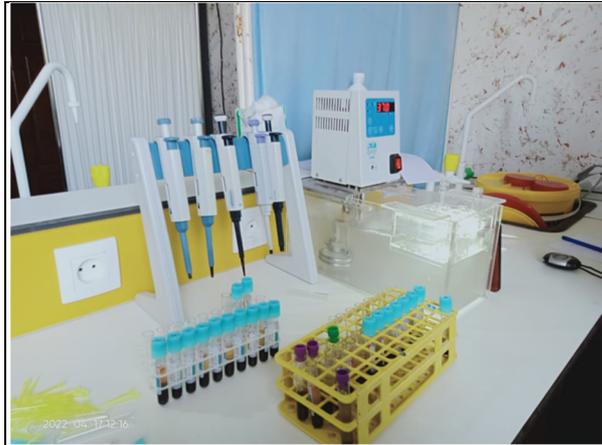


PHOTO 02 : Matériel préparé pour l'évaluation de TQ [56



PHOTO 03 ; distributeur des disque

PHOTO 04 : test d antibiogramme

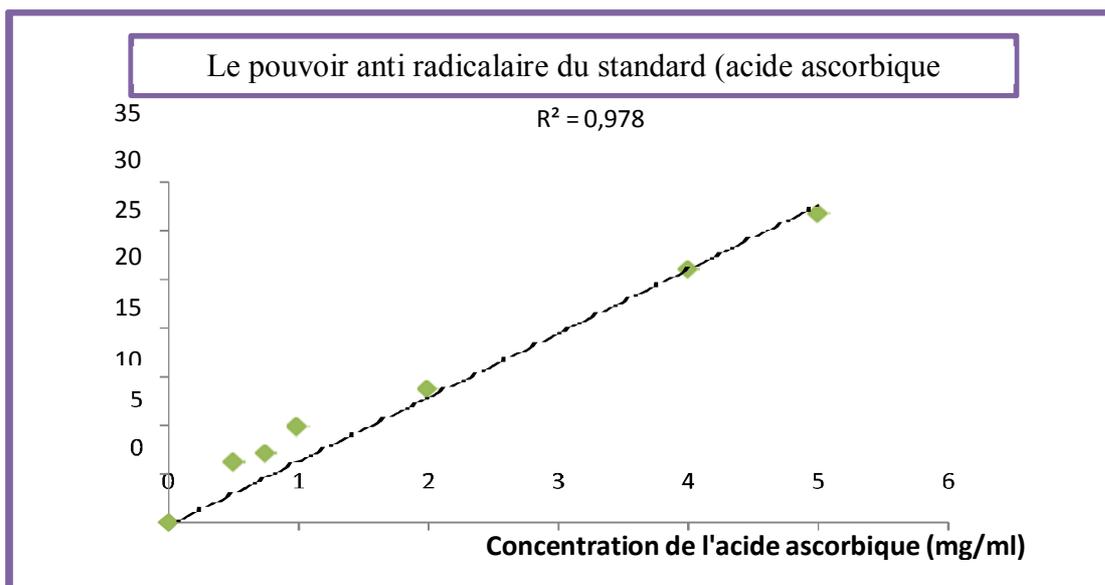
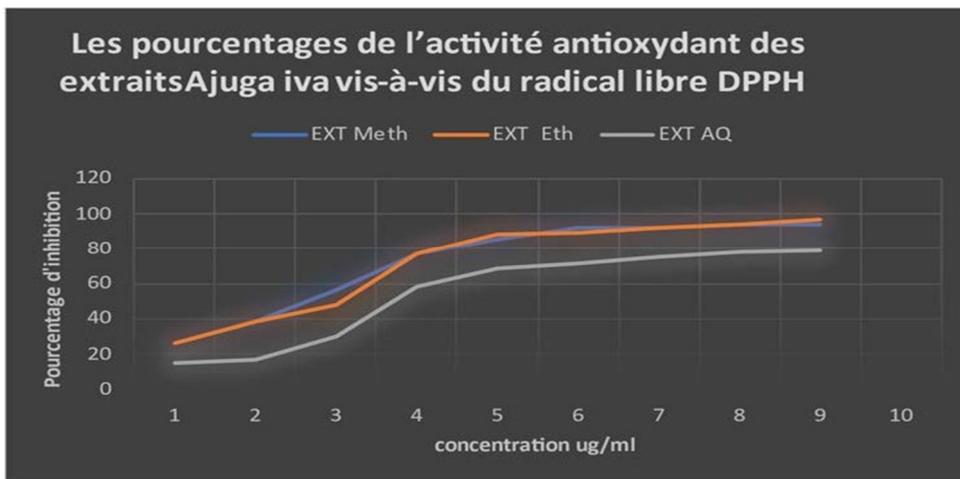
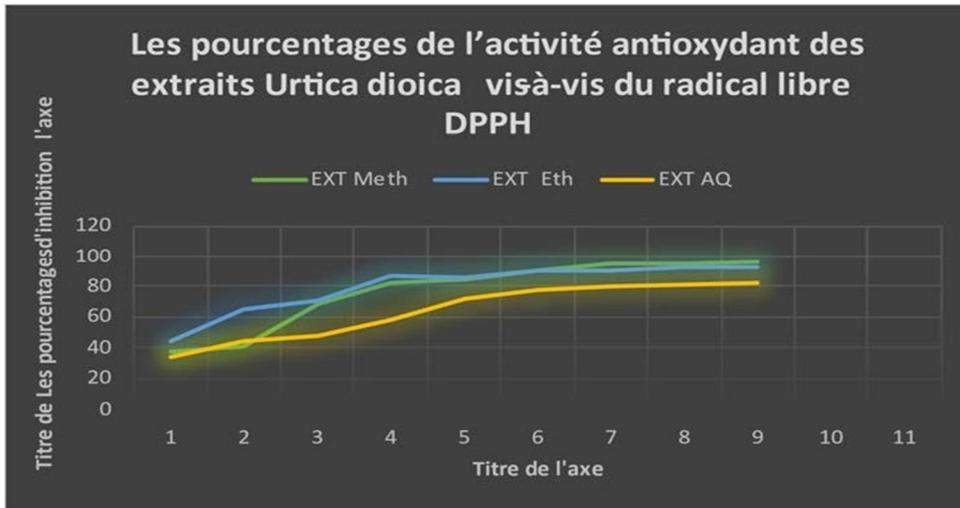


PHOTO 06 :PPP



PHOTO 07 : Matériel préparé de test TQ

ANNEXES - 03-



ANNEXES - 04-



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANT :
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

BIO-TP LI (LOW ISI) Taux de Prothrombine (TP)

Pour la détermination du Taux de Prothrombine (INR) des plasmas humains

REF	13702	R1	10 x 2 mL	R2	1 x 25 mL
REF	13704	R1	6 x 4 mL	R2	1 x 25 mL
REF	13712	R1	6 x 12 mL	R2	1 x 80 mL

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50

Fax : (33) 03 23 256 256



USAGE IN VITRO

INTERET CLINIQUE (1) (6) (7)

Le Temps de Quick (TQ) permet une exploration de la voie extrinsèque de la coagulation. Le TQ, converti en "taux de prothrombine" (TP) permet d'évaluer l'activité des facteurs du complexe prothrombinique en référence à un plasma normal à 100%. Le déficit de l'activité prothrombinique est associé à diverses causes :

- Maladie hémorragique du nouveau-né.
- Insuffisance hépatique (cirrhoses, hépatites...).
- Avitaminose K ou administration d'antivitamines K (AVK).
- Déficiences congénitales en un des facteurs associés au complexe prothrombinique : prothrombine vraie (facteur II), proaccélélerine (facteur V), proconvertine (facteur VII) et facteur Stuart (facteur X).
- Anticoagulants circulants.
- Fibrinolyse
- CIVD (coagulation intravasculaire disséminée)

Surveillance des traitements AVK :

La conversion du TQ en INR (International Normalised Ratio) permet de s'affranchir de l'incidence de la thromboplastine utilisée sur la détermination des valeurs usuelles. Un consensus international sur les intervalles de référence en INR a été établi dans le cadre du traitement et de la prophylaxie des thromboembolismes veineux et artériels. L'expression sous forme d'INR est à éviter dans le cadre du bilan préopératoire ou de l'exploration hépatique.

PRINCIPE (4)

Cette technique est basée sur les travaux de Quick et Al. On détermine le temps de coagulation à 37°C en présence de Thromboplastine tissulaire et de calcium. Le TQ ainsi mesuré pourra être converti en taux de prothrombine (TP) ou en INR.

REACTIFS

R1 **BIO-TP LI** Réactif Lyophilisé
Thromboplastine (Tissu cérébral de lapin)

Ce réactif n'est pas classé comme dangereux selon le règlement 1272/2008/CE

R2 **BIO-TP LI** Tampon **ATTENTION**

Hepes, Conservateur

Skin Sens.1 : H317 - Peut provoquer une allergie cutanée

P261 : éviter de respirer les aérosols, P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage, P302+352 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment à l'eau et au savon. P333+313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: Consulter un médecin, P501 : éliminer le contenu et le récipient conformément à la réglementation sur les déchets dangereux. Substance à l'origine de la classification : Sulfate de Nickel < 1%. Pour plus de détails, consulter la Fiche de données de Sécurité (FDS)

Après reconstitution: Le Réactif de travail (R1+R2) est classé comme le tampon (R2).

PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro (ne pas pipeter avec la bouche).

- Consulter la FDS en vigueur disponible sur demande ou sur www.biolabo.fr
- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.

Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen ou réactif d'origine biologique comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

PREPARATION DES REACTIFS

- **Réactif** (flacon R1)
Utiliser un objet non coupant (pointe de spatule) pour soulever la capsule aluminium et la déchirer.
- **Tampon** (flacon R2) : Prêt à l'emploi.
- **Réactif de travail** : Ajouter sans délai au contenu du flacon R1 la quantité de tampon (flacon R2) indiquée sur l'étiquette. Mélanger doucement jusqu'à dissolution complète.

STABILITE ET CONSERVATION

Stocker à l'abri de la lumière, dans le flacon d'origine bien bouché à 2-8°C, les réactifs sont stables, s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées :

Avant ouverture :

- Jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

Après reconstitution :

- Transvaser la quantité nécessaire, bien reboucher et stocker à 2-8°C.
- Le réactif de travail (R1+R2) est stable :
 - ✓ 8 h à température ambiante
 - ✓ 7 jours de 2 à 8°C.

Ne pas utiliser le réactif de travail après la date de péremption.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2) (8)

Prélever par ponction veineuse franche.

- Anticoagulant (0,5 mL de citrate trisodique 2 H₂O 0,109 M pour 4,5 mL de sang). Eviter les prélèvements à la seringue qui favorisent la formation de micro-caillots. Centrifuger 5 minutes à 2500 g.
- Exécuter le test dans les 4 heures qui suivent le prélèvement en gardant le plasma à température ambiante (15-25°C).
- Le prélèvement sur tube "citrate HEPES", permet de prolonger le délai d'exécution jusqu'à 8 heures.

LIMITES (2) (3)

Des spécimens contaminés par la thromboplastine ou hémolysés peuvent aussi conduire à un raccourcissement du Temps de Quick. Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales.
2. Analyseur de coagulation automatique ou semi-automatique
3. Tampon Owren Koller pour l'établissement de la droite de Thivolle (résultats en %) REF 13883 non fourni.
4. Papier millimétré.



CALIBRATION

INR à partir du MNPT et ISI (toutes méthodes) :

L'ISI du réactif est déterminé par une étude sur plasmas humains avec cette Thromboplastine et la Thromboplastine de référence interne traçable sur RBT16 (WHO International Reference Thromboplastin, Rabbit plain). Les temps obtenus avec les 2 Thromboplastines sont reportés sur un graphe (Log to Log) et la pente est calculée.

L'ISI du réactif est calculé en multipliant la pente ainsi obtenue par l'ISI de la Thromboplastine de référence interne.

MNPT (Temps moyen d'un plasma normal) : Préparer un pool de plasmas frais, mesurer le temps de coagulation en triplicate et calculer la moyenne.

Déterminer les résultats en INR à partir du MNPT et de l'ISI du réactif (Index de Sensibilité International) indiqué dans le tableau spécifique du lot (§ CALCULS)

INR et PT% avec TP-CALSET **REF 13965** :

- **Automate SOLEA 100** : Calibrer avec le set de calibration (3 Taux)
- **Technique manuelle sur Semi-automate BIO SOLEA 2, BIO SOLEA 4** : Mesurer en triplicate le temps de coagulation de chacun des 3 taux de TP-CALSET.

CONTRÔLE DE QUALITE

REF 13961	PLASMA CONTRÔLE Taux 1	6 x 1 mL
REF 13962	PLASMA CONTRÔLE Taux 2	6 x 1 mL
REF 13963	PLASMA CONTRÔLE Taux 3	6 x 1 mL

Ou

REF 13971	Coatrol 1	6 x 1 mL
REF 13972	Coatrol 2	6 x 1 mL

- programme externe de contrôle de la qualité.

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

- Au moins un contrôle par série.
- Au moins un contrôle par 24 heures.
- Changement de flacon de réactif.
- Après opération de maintenance sur l'analyseur.

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance recommandées, appliquer les actions correctives suivantes :

1. Refaire une mesure en utilisant le même contrôle.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, préparer un plasma de contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, calibrer à nouveau en utilisant un autre flacon de réactif et répéter le test.
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un plasma de référence fraîchement reconstitué pour calibrer et répéter le test.
5. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

PERFORMANCES à 37°C SUR SOLEA 100

Etudes réalisées avec plasmas normaux et pathologiques

Intra-série N = 20	Taux 1	Taux 2	Taux 3	Inter-série N = 20	Taux 1	Taux 2	Taux 3
Moy (%)	97	32	17	Moy (%)	96	30	16,7
S.D. (%)	1,87	0,81	0,41	S.D. (%)	1,89	0,59	0,47
C.V. %:	1,92	2,53	2,44	C.V. %:	2,0	2,0	2,8

Comparaison avec réactif du commerce :

Etude sur 163 plasmas humains situés entre 14% et 123% :

$$Y = 1,1027 X + 0,1699 \quad r = 0,9963$$

Interférences sur TP (sec, INR) :

Turbidité	Pas d'interférence jusqu'à 0,404 abs
Héparine Bas Poids Moléculaire	Interférence positive à partir de 0,114 IU anti Xa
Bilirubine	Interférence positive à partir de 238 µmol/L
Hémoglobine	Interférence positive à partir de 209 µmol/L

D'autres substances peuvent interférer (voir § Limites)

Stabilité à bords : au moins 7 jours (8h par jour à bords)

Stabilité de la calibration : 6 semaines

Effectuer une nouvelle calibration en cas de changement de lot de réactif, si les résultats des contrôles sont hors critères, et après opération de maintenance

INTERVALLES DE REFERENCE (2) (6)

Temps de Quick (TQ):

- ✓ Entre 11 et 16 secondes en général (selon le réactif utilisé).

Taux de Prothrombine :

- ✓ Entre 70 et 100 %.
- ✓ Des taux supérieurs à 100% sont considérés comme normaux.

INR : Traitement anticoagulant oraux (AVK)

Indications	Zone thérapeutique (INR)		PT (%) Thromboplastine de lapin
	Cible	Limites	
Pré-opératoire et per opératoire :			
*Chirurgie de la hanche	2.5	2.0 – 3.0	35 %
*Autres chirurgies	2.0	1.5 – 2.5	40 %
Prophylaxie de la thrombose veineuse	2.5	2.0 – 3.0	35 %
Phlébite évolutive, embolie pulmonaire, phlébite récidivante	3.0	2.0 – 4.0	27 %
Prophylaxie artérielle, valve cardiaque artificielle	3.5	3.0 – 4.5	25 %

MODE OPÉRATOIRE

Méthode automatique sur SOLEA 100 : Application détaillée disponible sur demande

Méthode manuelle sur semi automate BIO SOLEA2, BIOSOLEA 4 : Pré incuber la Thromboplastine au moins 15 min à 37° et homogénéiser.

Plasma :	0,1 mL
Incuber 2 minutes à 37°C.	
Réactif de travail homogénéisé (R1+R2) à 37°C :	0,2 mL

Le décompte automatique du temps démarre à l'ajout du réactif de travail et s'arrête lors de la formation du caillot.

Note :

- Performances et stabilité ont été validés sur SOLEA100 et Thrombolyzer Compact X (disponibles sur demande).
 - En méthode manuelle et sur autres analyseurs de coagulation, performances et stabilité doivent être validés par l'utilisateur.
- D'autres applications ou propositions sont disponibles

CALCUL (6)

INR à partir du MNPT et ISI (toutes méthodes) :

$$\text{Calcul de INR} = \left(\frac{\text{Temps Patient}}{\text{Temps moyen normal}} \right)^{\text{ISI}}$$

- **Automate SOLEA 100 et Semi-automate BIO SOLEA 2, BIO SOLEA 4** : Les résultats INR seront calculés automatiquement après paramétrage de la méthode dans l'instrument.

- **Méthode manuelle** : Se référer au tableau spécifique du lot et sélectionner la colonne correspondant au MNPT, identifier la ligne correspondant au temps du plasma de patient et se reporter au résultat indiqué dans la colonne % ou INR correspondante. ou tracer la droite de Thivolle (dilutions du pool de plasmas normaux en tampon Owren Koller **REF** 13883). Sur papier millimétré, porter en abscisse les inverses de chaque dilution (1/d) et en ordonnée les temps de coagulation obtenus (en sec).

INR et PT% avec TP-CALSET **REF 13965** :

- **Automate SOLEA 100** : INR et % seront calculés automatiquement selon les courbes de calibration.
- **Méthode manuelle sur Semi automate BIO SOLEA 2 et 4** : Entrer les temps moyens trouvés de chaque taux de TP-CALSET et les valeurs TP% correspondants dans le système. Les résultats % seront calculés automatiquement d'après la courbe de calibration.

REFERENCES

- (1) Caen J., Larrieu MJ, Samama M : « L'hémostase. Méthodes d'exploration et diagnostic pratique » Paris : L'Expansion Scientifique, p.344-347, (1975).
- (2) Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p.928-929
- (3) YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p.3-513 à 3-517
- (4) Quick A. J.- J. Am. Assoc., (1938), **110**,p. 1658-1662
- (5) Duckert F., Marbet G.A. - Méd., et Hyg., (1977), **35**, p. 911
- (6) Goguel A.F. et Samama M.M. Feuillet de Biologie, (1985), vol.XXVI, (146) p. 25-28.
- (7) Houbouyan-Reveillard et al. Spectra biologie (2003) vol.22, n°132 p.33-37
- (8) Neofotistos D, Oropeza M., Ts'ao C-H : « Stability of plasma for add-on PT and PTT tests » Am. J. Clin. Pathol. 109, 6, 758-763, (1998)

Urtica dioica

- **Identité botanique :**
- Famille : Urticaceae
- Genre : Urtica
- Espèce : Urtica dioica L
- **Identité vernaculaire :**
- Arabe : القراص
- Français : GRANDE ORTIE
- **Partie utilisée : FEUILLES**



- **Description :**
- **Taille plante :** 60 cm -150 cm
- **Type végétatif :** annuelle
- **Floraison :** Juin à Septembre
- **Couleur des fleurs :** vert.

Utilisation

Urtica dioica est notamment utilisée pour traiter :

- les douleurs musculaires (crampes, courbatures...) et articulaires ;
- l'eczéma ;
- l'arthrite, la goutte ;
- l'anémie ;
- l'hypertrophie bénigne de la prostate ;
- les problèmes urinaires ;

les piqûres d'insectes

Précautions à prendre lors de l'utilisation d'*Urtica dioica*

Toute automédication peut s'avérer dangereuse et nécessite au préalable l'avis d'un médecin.

Si vous cueillez vos orties vous-même, attention à ne pas les choisir dans les zones polluées ou traitées car elles pourraient avoir accumulé des substances nocives.

Quelques effets indésirables ont été notés pour l'utilisation d'*Urtica dioica* : rétention d'eau, irritations de l'estomac, nausées, diarrhée, ballonnement, modification du cycle menstruel.

Annexe 06

Ajuga iva

Identité botanique :

Famille : Lamiaceae

Genre : Ajuga

Espèce : *Ajuga iva* (L.) Schreb., 1774

Identité vernaculaire :

Arabe : العجوقة ، الشندقورة

Français : bugle musquée, Ivette musquée

Partie utilisée : feuillies



- **Description :**
- **Taille plante :** 20-30 cm
- **Type végétatif :** annuel
- **Floraison :** Février à Juin
- **Couleur des fleurs :** Violettes

Utilisation

Utilisation de l' Ajuga iva L

Les propriétés médicinales l' *Ajuga iva L* sont très nombreuses. Parmi celles-ci on peut citer les propriétés suivantes

- traiter le diabète et l' hypertension.
- Elle est aussi consommée en poudre sec ou avec du miel pour surmonter son goût amer, traiter les troubles gastro-intestinales et contre l' ulcère de l' estomac.
- L' infusion de 20 à 30g de Chendgoura dans un litre d' eau; 2 ou 3 tasses par jour est indiquée contre la fièvre, la diarrhée et les gaz.
- L' ivette est efficace contre les maux de tête et les maux de dents (mâcher une feuille fraîche). En usage externe, elle est souvent employée en applications locales contre les rhumatismes,
- comme antiseptique et cicatrisante sur les plaies.
- D' autre part, la macération ou l' infusion serait utile pour débarrasser le cuir chevelu des parasites. En plus, elle a un effet antifongique et antimicrobien. Généralement, *Ajuga iva* possède toutes les propriétés de *Artemisia herba*

alba et *Thymus vulgaris*.

Résumé

L'Ajuga iva et *d'Urtica dioica* Sont des plantes utilisées en médecine et pharmacopée traditionnelles.

En vue de la valorisation de ces espèces, nous avons tout d'abord procédé aux criblage phytochimique a permis de mettre en évidence la présence de substances ayant de grandes valeurs thérapeutiques (des phénols totaux, flavonoïdes, tanins,). La quantification des composés polyphénoliques a montré que le taux des phénols totaux est varié de 13.96 à 78.4 mg EAG/g de matière sèche pour *L'Ajuga iva* et de 36.80 à 80.09 mg EAG/g de matière sèche pour *L'Urtica dioica* , Le Teneur en tanins condensés est varié de 7.14 à 18.2 mg éq cat/g de matière sèche pour *L'Ajuga iva*, et les 7.41 à 19.8 mg éq cat/g de matière sèche pour *L'Urtica dioica*.

L'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques, méthanolique et aqueux dès *L'Ajuga Iva* et *L'Urtica dioica* vis-à-vis de cinq souches bactériennes (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 , *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ,*Bacillus cereus* ATCC 14579 et *Proteus mirabilis* ATCC 35659) montre un effet antibactérien modéré sur les bactéries.

Les diamètres d'inhibition enregistrés dépassent souvent ceux induit par les antibiotiques commercialisés. D'autre part, le potentiel antimicrobien des extraits obtenus des feuilles des espèces étudiées varie en fonction du taxon, de l'extrait testé et du type de la souche. Parmi les espèces étudiées, *Staphylococcus aureus* (gram-positif) semble être la bactérie la plus sensible par rapport aux autres souches (gram-négatif), l'extrait éthanolique de *L'Urtica dioica* présente le pouvoir antimicrobien le plus élevé.

Le test de piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) montre que les pourcentages de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques, méthanolique et aqueux obtenues des plantes choisis varient en fonction de l'espèce et du type de l'extrait testé. Les extraits éthanoliques et méthanolique enregistrent les pourcentages d'inhibition les plus élevés contrairement aux extraits aqueux. Concernant les espèces, Les résultats montrent que les extraits de *L'Urtica dioica* les activités antioxydantes les plus importantes. Les concentrations inhibitrices 50% (IC50) variant de 0,20 à 2.27 mg/ml sont plus faibles que celle enregistrée par *Ajuga iva* variant de 2.11 à 3.39mg/ml

L'activité anticoagulante in vitro a été estimée en utilisant le test TQ. Nous avons utilisé les différentes extraites des *Ajuga iva* et *L'Urtica dioica* dans du plasma humain. Les temps de coagulation observés ont montré que les extraites avaient une activité anticoagulante efficace sur la voie exogène. L'activité augmente en augmentant les concentrations à travers les résultats précédents peuvent suggérer des extraites comme une alternative naturelle à l'anticoagulant a été estimée.

Mots clés: *Ajuga iva* et *L'Urtica dioica*, Polyphénols, Criblage phytochimique, Activité antimicrobienne, Activité antioxydante, Activité anticoagulante.

ملخص

أجوجا إيفا وأورتিকা ديويكا من النباتات المستخدمة في الطب التقليدي ودستور الأدوية. في ضوء تثمان هذه الأنواع ، شرعنا أولا في الفحص الكيميائي النباتي الذي سمح بتسليط الضوء على وجود مواد ذات قيم علاجية كبيرة (مجموع الفينولات ، الفلافونويد ، التانينات).

المقاييس الكمية من مجموع الفينولات ، وكذلك الفلافونويد والعفص المكثف. أظهر القياس الكمي لمركبات البوليفينوليك أن معدل الفينولات الكلية يتراوح من 13.96 إلى 78.4 مجم/جم من المادة الجافة لأجوجا إيفا ومن 36.80 إلى 80.09 مجم/جم من المادة الجافة لأورتিকা ديويكا ، في حين أن معدل الفلافونويد يتراوح من 9.74 إلى 36.9 مجم/جم من المادة الجافة لأجوجا إيفا ومن 3.2 إلى 19.5 مجم/جم من المادة الجافة لأورتিকা ديويكا.

تراوح محتوى التانين المكثف من 7.14 إلى 18.2 مجم مكافئ القط / غرام من المادة الجافة لأجوجا إيفا ، و 7.41 إلى 19.8 مجم مكافئ القط/غرام من المادة الجافة لأورتিকা ديويكا

النشاط المضاد للميكروبات من إيثانوليك ، ميثانوليك ومستخلصات مائية من أجوجا إيفا و أورتিকা ديويكا ضد خمس سلالات بكتيرية (الزائفة الزنجارية أتك 27853 ، أسينيتوباكتر بوماني أتك 19606 ، المكورات العنقودية الذهبية أتك 6538 ، عصبية سيربوس أتك 14579 وبروتوس ميرابيليس أتك 35659) أظهرت تأثير مضاد للجراثيم معتدل على البكتيريا.

غالبا ما تتجاوز أقطار التثبيط المسجلة تلك التي تسببها المضادات الحيوية التجارية. من ناحية أخرى ، تختلف الإمكانيات المضادة للميكروبات للمستخلصات التي تم الحصول عليها من أوراق الأنواع المدروسة وفقا للتصنيف والمستخلص الذي تم اختباره ونوع السلالة. من بين الأنواع التي تمت دراستها ، يبدو أن المكورات العنقودية الذهبية (موجبة الجرام) هي البكتيريا الأكثر حساسية مقارنة بالسلالات الأخرى (سالبة الجرام) ، ويعرض المستخلص الإيثانولي لأورتিকা ديويكا أعلى قوة مضادة للميكروبات.

يظهر اختبار مسح الجذور الحرة 2 ، 2-ثنائي فينيل-1-بيكريليدرازيل أن النسب المئوية للنشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الإيثانولية والميثانولية والمائية التي تم الحصول عليها من النباتات المختارة تختلف باختلاف نوع ونوع المستخلص الذي تم اختباره. سجلت المستخلصات الإيثانولية والميثانولية أعلى نسب تثبيط على عكس المستخلصات المائية. فيما يتعلق بالأنواع ، أظهرت النتائج أن مستخلصات أورتিকা ديويكا لديها أعلى الأنشطة المضادة للأكسدة. التركيزات المثبطة 50٪ (أي سي 50) تتراوح من 0.20 إلى 2.27 مجم/مل أقل من تلك التي سجلتها أجوجا إيفا تتراوح من 11.2 إلى 3.39 مجم / مل

تم تقدير النشاط المضاد للتخثر في المختبر باستخدام اختبار تك. استخدمنا مقتطفات مختلفة من أجوجا إيفا وأورتিকা ديويكا في البلازما البشرية. أظهرت أوقات التخثر الملحوظة أن المستخلصات لها نشاط فعال مضاد للتخثر على المسار الخارجي. يزيد النشاط عن طريق زيادة التركيزات من خلال النتائج السابقة قد تشير إلى مقتطفات كبديل طبيعي لمضادات التخثر قدرت.

الكلمات المفتاحية: أجوجا إيفا ولورتিকা ديويكا ، بوليفينول ، فحص كيميائي نباتي ، نشاط مضاد للميكروبات ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للتخثر.

Abstract:

Ajuga iva and *Urtica dioica* are plants used in traditional medicine and pharmacopoeia.

In view of the valorization of these species, we first proceeded to phytochemical screening allowed to highlight the presence of substances having great therapeutic values (total phenols, flavonoids, tannins). The quantification of polyphenolic compounds showed that the rate of total phenols is varied from 13.96 to 78.4 mg GAE/g dry matter for *Ajuga iva* and 36.80 to 80.09 mg GAE/g dry matter for *Urtica dioica*, the content of condensed tannins ranged from 7.14 to 18.2 mg cat eq/g dry matter for *Ajuga iva*, and 7.41 to 19.8 mg cat eq/g dry matter for *Urtica dioica*.

The antimicrobial activity of ethanolic, methanolic and aqueous extracts from *Ajuga Iva* and *Urtica dioica* against five bacterial strains (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus cereus* ATCC 14579 and *Proteus mirabilis* ATCC 35659) showed a moderate antibacterial effect on bacteria.

The inhibition diameters recorded often exceed those induced by commercialized antibiotics. On the other hand, the antimicrobial potential of the extracts obtained from the leaves of the species studied varies according to the taxon, the extract tested and the type of strain. Among the species studied, *Staphylococcus aureus* (gram-positive) seems to be the most sensitive bacterium compared to the other strains (gram-negative), the ethanolic extract of *Urtica dioica* presents the highest antimicrobial power.

The 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging test shows that the percentages of antioxidant activity of ethanolic, methanolic and aqueous extracts obtained from the selected plants vary depending on the species and type of extract tested. The ethanolic and methanolic extracts recorded the highest percentages of inhibition in contrast to the aqueous extracts. Concerning the species, the results show that the extracts of *Urtica dioica* have the highest antioxidant activities. The inhibitory concentrations 50% (IC₅₀) ranging from 0.20 to 2.27 mg/ml are lower than that recorded by *Ajuga iva* ranging from 2.11 to 3.39 mg/ml.

The in vitro anticoagulant activity was estimated using the TQ test. We used the different extracts of *Ajuga iva* and *Urtica dioica* in human plasma. The observed clotting times showed that the extracts had an effective anticoagulant activity on the exogenous pathway. The activity increases by increasing the concentrations through the previous results may suggest extracts as a natural alternative to anticoagulant was estimated.

Key words: *Ajuga iva* and *L'Urtica dioica*, Polyphenols, Phytochemical screening, Antimicrobial activity, Antioxidant activity, Anticoagulant activity.