

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Ghardaia



Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et des Sciences de la Terre
Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de
MASTER

Filière : Science Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Par : M^{elle} HOUARI Abir et M^{elle} BEHISSA Asma

Thème

**Application de l'activité antiurolithiasique de
certains extraits d'une plante médicinale**

Soutenu publiquement le : 12/06/2023 ,devant le jury composé de :

Mme. ADDOUN N.	Maître de conférences B	Univ. Ghardaia	Présidente
M. KADRI M.	Maître de conférences B	Univ. Ghardaia	Promoteur
Mme. KEBILI Z.	Maître Assistant A	Univ. Ghardaia	Examinatrice

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

*Nous tenons à remercier avant tout **Dieu Tout-Puissant**, pour avoir géré nos affaires et nous avoir donné la force et la bénédiction pour accomplir ce travail.*

*Nos sincères remerciements vont particulièrement à notre superviseur, le **Dr KADRI Mohamed**, Maître de conférences "B" à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre de l'Université de Ghardaïa, pour avoir accepté de nous superviser, et nous le remercions pour sa présence, ses conseils avisés et son assistance tout au long de cet humble travail, et pour ses merveilleuses contributions, ses critiques constructives, sa patience et sa compréhension.*

*Nous tenons également à exprimer nos sincères remerciements aux membres du jury, **Mme. ADDOUN Noura**, Maître de conférences "B" à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre de l'Université de Ghardaïa, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de soutenance, et **Mme. KEBILI Zohra**, Maître Assistant "A" à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre de l'Université de Ghardaïa, qui nous a fait l'immense honneur de sa présence et approbation de l'examen notre mémoire.*

*Nos remerciements vont également aux directeurs du laboratoire **Biochimie** et à tout le personnel du laboratoire pour leur gentillesse et leur soutien.*

*Et un merci spécial à **Mr. FENNICHE Abdel-Razzak** et **Mr. MAHAMEDI Alla Eddine** pour leur aide et leur gentillesse.*

*Nous remercions tous **les professeurs de biochimie appliquée** pour leurs efforts.*

Dédicace

Loué soit Dieu, avec la grâce duquel les bonnes actions sont accomplies, Loué soit Dieu, qui m'a accordé la force, la patience et l'endurance pour accomplir ce travail et conclure ces années académiques avec un grand succès.

Je suis honoré de dédier cet humble travail, qui a été fait par la grâce de Dieu Tout-Puissant.

À ma vie et à mon bonheur, à la source de tendresse, de supplication et de générosité envers ma mère, «Zohra».

À mon père, qui m'a toujours encouragé et soutenu tout au long de mes années scolaires «Aissa ».

Merci pour les prières médicales, l'éducation et le soutien continu qui sont venus de vous, que Dieu vous protège et vous protège.

À mes chères sœurs : « Imane », « Nadia », « Malak », et à ma petite nièce, « Asma ».

À mes chers frères : « Abd el Raouf », « Abd el Hadi », « Haroun ».

À mon aimable ami, « Otmane », merci pour votre soutien.

À mon amie travailleuse "Asma Behissa" avec qui j'ai partagé tous les différents sentiments.

Sans oublier mes proches, notamment : « Zineb DJANI ».

À tous mes amis et à tous ceux qui se souviennent de moi par leurs prières et que je n'ai pas mentionnés, que Dieu vous récompense.

Enfin, Ô Allah, guéris tous les patients qui ont contribué à l'achèvement de ce travail.

Abir

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à:

A ma chère maman : Ton affection me couvre, et ta présence à mes côtés a toujours été ma force pour affronter les différents obstacles.

A mon chère père: Tu a toujours été à mes cotés pour me soutenir et m'encourage.

Que Dieu vous bénisse tous les deux et vous accorde bonne santé et longue vie.

*A mes très chère frères Mohammed El Amine et Choaiibe et mes belle sœurs:
Halima, Khadidja et Sara.*

*A mes petits mes poussins: Meriem Raghad, Zine El Abidine, Abd El Moumen,
Israa et Djinane.*

Je dédie aux maris de mes frères: Moammed, Hamza et Youness.

A tous ma familles BEHISSA et BENKOUMAR mes oncles et mes tantes.

A ma binôme Abir et sa familles HOUARI.

A mes professeurs du primaire, CEM et lycée.

A tous mes Ami.

À tous ceux que j'ai connus durant ma carrière universitaire.

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

À vous tous consacrer ma fatigue et mes efforts.

Asma

Résumé

Le domaine de la phytothérapie est vaste à notre époque, ouvrant de nouveaux horizons thérapeutiques. Nous nous sommes lancés dans ce travail dans le but d'évaluer l'efficacité d'une plante médicinale qui a un effet sur les calculs rénaux (néphrolithiase).

Au travers des expériences des gens, nous sommes venus à choisir la plante *Periploca laevigata* et à étudier son effet sur les calculs rénaux. Les résultats obtenue sont comparés à celle de *Renalof* complément alimentaire, connue pour son action computationnelle. Pour étayer davantage nos recherches, nous avons choisi une plante qui peut aider à augmenter la formation de calculs, Nous *Spinacia oleracea*, car il contient les éléments de base pour la formation de "l'oxalate de calcium".

La plante *Periploca laevigata* contient des tanins, des alcaloïdes, des saponines, des composés réducteurs, des stérols et des triterpènes, ainsi qu'un pourcentage élevé de flavonoïdes, estimé à $28,17 \pm 0,464$ mg EQ/g MS, et un pourcentage de polyphénols totaux estimé à $12,02 \pm 0,15$ mg EAG/g MS.

Les plantes de *Spinacia oleracea* contiennent des alcaloïdes, des composés réducteurs, des stérols et des triterpénoïdes, ainsi que des proportions élevées de flavonoïdes, estimées à $25,6 \pm 0,068$ mg EQ/g MS, contre $5,9 \pm 0,422$ mg EAG/g MS pour les polyphénols.

Sur la base des résultats de notre étude sur l'inhibition de la formation de calculs rénaux, nous avons conclu que le complément alimentaire *Renalof* inhibait de 69%, tandis que l'herbe *Periploca laevigata* inhibait de 26,76%.

Au terme de notre étude, nous avons conclu que *Periploca laevigata* "Hellab" a un effet efficace sur l'inhibition de la formation des calculs rénaux.

Mots clés: Calculs rénaux, *Periploca laevigata*, *Spinacia oleracea*, *Renalof*, Oxalate de calcium.

Abstract

The field of herbal medicine is widespread in our time and opens up new treatment horizons. We set out in this work with **the aim of** evaluating the effectiveness of medicinal plants that have an effect on kidney stones (nephrolithiasis).

Through people's experiences, we came to choose the *Periploca laevigata* plant and study its effect on kidney stones. On the other hand, and to enhance our research, we decided to compare the effectiveness of this plant with *Renalof*, which is known to affect stones. To further support our research, we chose a plant that is able to contribute to increasing the formation of Stones We found *Spinacia oleracea* plant because it contains the basic element for the formation of "calcium oxalate".

Periploca laevigata plant contains tannins, alkaloids, saponins, reducing compounds, sterols, and triterpenes, and a high percentage of flavonoids estimated at 28.17 ± 0.464 mg EAG/g MS compared to nonphenols, which was estimated at 12.02 ± 0.15 mg EAG/g MS.

Spinacia oleracea plant contains alkaloids, reducing compound, sterols, and triterpenes, and a high percentage of flavonoids estimated at 25.6 ± 0.068 mg EQ/g MS, compared to nonphenols, which was estimated at 5.9 ± 0.422 mg EQ/g MS.

Based on the results of our stone formation inhibition study, we concluded that the drug *Renalof* inhibited stone formation by 69% and the plant *Periploca laevigata* by 26,76%.

At the end of the study, we concluded that the 'Hellab', *Periploca laevigata*, had a positive effect on kidney stones.

Keywords: kidney stones, *Periploca laevigata* , *Spinacia oleracea*, *Renalof*, Calcium oxalate.

الملخص

إن لمجال التداوي بالأعشاب الطبية انتشار واسع في وقتنا الحالي و يفتح آفاق علاج جديدة ، انطلقنا في عملنا هذا بهدف تقييم فعالية النباتات الطبية التي لها تأثير على حصوات الكلى (مرض التحص الكلوي).

توصلنا من خلال تجارب الناس إلى اختيار نبات *Periploca laevigata* (الحلاب) و دراسة مدى تأثيره على حصوات الكلى، ومن جانب آخر و لتعزيز أبحاثنا قررنا مقارنة فعالية هذه النبتة مع دواء *Renalof* المعروف بتأثيره على الحصوات، و لتدعيم أبحاثنا أكثر قمنا باختيار نبات قادر على المساهمة في زيادة تشكل الحصوات و توصلنا إلى نبات *Spinacia oleracea* لاحتوائه على العنصر الأساسي لتشكل "أوكسالات الكالسيوم".

يحتوي نبات *Periploca laevigata* على العفص ، الالكالويد ، الصابونين ، مركبات الإرجاع والستيروول و الترايترين ، بالإضافة إلى نسبة عالية من الفلانويد قدرت بـ $EQ/g MS 28.17 \pm 0.464$ مقارنة بالبوليفينول التي قدرت بـ $EAG/g MS 12.02 \pm 0.15$.

ويحتوي نبات *Spinacia oleracea* على الالكالويد ، مركبات الإرجاع والستيروول والترايترين ، بالإضافة إلى نسبة عالية من الفلانويد قدرت بـ $EQ/g MS 25.6 \pm 0.068$ مقارنة بالبوليفينول التي قدرت بـ $EAG/g 5.9 \pm 0.422$.

من نتائج دراستنا لتثبيط تشكل الحصوات توصلنا إلى أن المكمل الغذائي *Renalof* مثبط بنسبة 69%، أما نبات *Periploca laevigata* مثبط بنسبة 26,76%.

توصلنا في نهاية دراستنا إلى أن نبات *Periploca laevigata* "الحلاب" له تأثير فعال على تثبيط تشكل حصوات الكلى.

الكلمات المفتاحية: حصوات الكلى، نبات *Periploca laevigata*، نبات *Spinacia oleracea*، *Renalof*، اوكسالات الكالسيوم.

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
الملخص	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1

Chapitre (I): Revue bibliographique

I.1. Lithiase rénale.....	3
I.1.1. Historique.....	3
I.1.2. Définition.....	4
• Etymologies.....	4
• Clinique.....	4
I.1.3. La lithogénèse.....	4
I.1.3.1. La saturation des urines.....	5
I.1.3.2. La germination cristallin.....	5
I.1.3.3. Croissance des cristaux.....	5
I.1.3.4. Agrégation des cristaux.....	5
I.1.3.5. Agglomération cristallin.....	5
I.1.3.6. Rétention des particules cristallines.....	6
I.1.3.7. Croissance et évolution des calculs.....	6
I.1.4. Les différents types de lithiase.....	7
❖ Calculs de cystine.....	7
❖ Calculs d'acide urique.....	7
❖ Calculs d'oxalate de calcium.....	8

❖	Calculs de phosphocalcique.....	9
❖	Calcul de médicament.....	9
I.1.5.	Méthodes d'évaluation de l'activité antiurolithiasique	10
I.1.5.1.	In vivo.....	10
I.1.5.2.	In vitro.....	11
I.1.6.	Inhibiteur et promoteur de la cristallisation	12
I.1.7.	Facteurs favorisant la formation des calculs	13
✓	Age et sexe	13
✓	Facteurs ethnique	13
✓	Facteurs environnementaux.....	13
✓	Facteurs génétiques.....	13
✓	Facteurs nutritionnels.....	14
✓	Anomalies morpho anatomiques des voies urinaires.....	14
✓	Ph urinaire anormal.....	14
✓	Les facteurs médicamenteux.....	14
I.1.8.	Symptômes des calculs rénaux.....	14
I.1.9.	Diagnostic de la lithiase rénale.....	15
I.1.9.1.	Symptomatologie révélatrice	15
I.1.9.2.	Diagnostic radiologique.....	15
I.1.9.3.	La tomodensitométrie Abdomino-pelvienne (TDM) (uroscanner).....	16
I.1.9.4.	Examen biologique.....	16
I.1.10.	Traitement de la lithiase urinaire.....	17
✓	Traitement préventif.....	17
✓	Traitement pharmacologique.....	17
✓	Traitement médical de la lithiase urique.....	17
✓	Traitement médical de la lithiase calcique.....	17
✓	Traitement chirurgical.....	18
✓	Traitement par phytothérapie.....	18
I.2.	Les plantes médicinales.....	18
I.2.1.	Définition.....	18
I.2.2.	Importance des plantes médicinales.....	19
I.2.3.	Métabolites secondaires des plantes.....	19
I.2.3.1.	Composés phénoliques.....	20

I.2.3.2. Terpénoïdes.....	22
I.2.3.3. Alcaloïdes.....	23
I.2.3.4. Flavonoïdes.....	24
I.3. Les plantes de l'étude.....	25
I.3.1. La plante <i>Periploca laevigata</i>	25
I.3.1.1. Le genre <i>Periploca laevigata</i>	25
I.3.1.2. Distribution géographique.....	25
I.3.1.3. Description botanique.....	25
I.3.1.4. Composition chimique.....	26
I.3.1.5. Utilisations en médecine traditionnelle.....	27
I.3.2. La plante <i>Spinacea oleracea</i>	27
I.3.2.1. Définition.....	27
I.3.2.2. Le genre <i>Spinacea oleracea</i>	27
I.3.2.3. Distribution géographique.....	27
I.3.2.4. Description botanique.....	28
I.3.2.5. Composition chimique et phytochimique de la plante.....	29
I.3.2.6. Utilisations en médecine traditionnelle.....	30
I.4. Complément alimentaire <i>Renalof</i> utilisé dans notre étude.....	30

Chapitre (II): Matériels et méthodes

II. Matériel et méthodes.....	32
II.1. Matériel.....	32
➤ Complément alimentaire.....	32
➤ Matériels végétale.....	32
➤ Récolte.....	32
➤ Préparation de matière végétale.....	33
➤ Calculs rénaux	34
II.2. Méthodes	35
II.2.1. Technique d'extraction.....	35
II.2.1.1. Macération.....	35
II.2.1.2. Elimination l'éthanol (70%).....	35
II.2.2. Screening phytochimique des extraits.....	36
II.2.1. Tanins.....	36
II.2.2. Alcaloïdes.....	37

II.2.3. Anthocyanes.....	37
II.2.4. Flavonoïdes.....	37
II.2.5. Saponines.....	37
II.2.6. Composés réducteurs.....	37
II.2.7. Stérols et térapenoïde.....	37
II.2.3. Evaluation des taux des composés phénoliques et flavonoïdes.....	38
II.2.3.1. Dosage des composés phénoliques.....	38
II.2.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	38
II.2.4. Effet des plantes et le complément alimentaire sur le poids de calculs rénaux (le modèle gravimétrie)	39
II.2.4.1. Décoction.....	39
II.2.4.2. Préparation de solution de complément alimentaire (<i>Renalof</i>)	40
II.2.5. Evaluation de l'activité antilithiasique.....	40
II.2.5.1. Cinétique de la cristallisation d'oxalate de calcium en absence des extraits de la plante <i>P. laevigata</i>	40
II.2.5.2. Cinétique de la cristallisation d'oxalate de calcium en présence des extraits de la plante <i>P. laevigata</i>	41
III.2.5.3. Cinétique de la cristallisation d'oxalate de calcium en présence du complément alimentaire <i>Renalof</i> (contrôle positif)	41
II.2.6. Etude de la cristallisation par microscope optique.....	41

Chapitre (III): Résultats et discussion

III. Résultats et discussion.....	42
III.1. Rendement d'extraction.....	42
III.2. Analyse phytochimique des extraits.....	43
III.3. Teneur en polyphénols totux et flavonoides.....	44
III.3.1. Teneur en polyphénols totux.....	44
III.3.2. Teneur en flavonoides.....	45
III.4. Effet des plantes et le complément alimentaire sur le poids de calculs rénaux (le modèle gravimétrie)	46
III.5. Evaluation de l'activité antilithiasique.....	48
III.5.1. Cinétique de la cristallisation d'oxalate de calcium en absence de l'extrait de la plante <i>P. laevigata</i>	48

III.5.2. Cinétique de la cristallisation d'oxalate de calcium en présence de l'extrait de la plante <i>P. laevigata</i>	49
III.5.3. Cinétique de la cristallisation d'oxalate de calcium en présence de complément alimentaire <i>Renalof</i>	51
III.6. Etude de la cristallisation par microscope optique.....	53
Conclusion	56
Références bibliographiques.....	57

Liste des abréviations

Unités de mesures

%: Pourcentage

< , > : Plus petit, Plus grand

I %: Le pourcentage d'inhibiteur

°C: Degré Celsius

D%: Le pourcentage de dissolution

R%: Rendement en %

g: Gramme

g/l: Gramme par litre

h: Heure

l: Litre

mg: Milligramme

ml: Millilitre

min : Minute

mmol: Millimol

nm: Nanomètre

s: Seconde

tr: Tours

µl: Microlitre

µm: Micro mètre

cm: Centimètre

C: Carbone

kg: kilogramme

Do: Densité optique

mg EQ/ml: Milligramme équivalent de quercétine par millilitre

mg EQ/ gMS: Milligramme équivalent de quercétine par gramme de matière sèche

mg EAG/ gMS: Milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche

Acronymes

Ans: Années

CO: Calculs rénaux de types oxalate de calcium

CA: Calculs rénaux de types acide urique

COM: Oxalate de calcium monohydraté

COD: Oxalate de calcium dihydraté

etc: Et cetera

EAG: Equivalent d'acide gallique

FeCl₃: Chlorure ferrique

GX: Grossissement de X

OxCa: Oxalate de calcium

n°: Nombre

pH: Potentiel en ions Hydrogène

P. laevigata: *Periploca laevigata*

S. oleracea: *Spinacia oleracea*

(+): Présence

(-): Absence

(EP): Extrait de la plante *P. laevigata*

(ES): Extrait de la plante *S. oleracea*

Liste des figures

Figure 01: Évolution historique et géographique de la lithiase urinaire.....	03
Figure 02: Emplacements de calculs rénaux dans le système urinaire.....	04
Figure 03: Principales étapes de la diagenèse lithogénèse.....	06
Figure 04: Photo d'un calcul de cystine.....	07
Figure 05: Photo d'un calcul d'acide urique.....	08
Figure 06: Photo d'un calcul d'oxalates de calcium.....	08
Figure 07: Photo d'un calcul de phosphocalcique.....	09
Figure 08: Photo d'un calcul de médicament.....	10
Figure 09: Squelette de base des polyphénols.....	21
Figure 10: Les principaux types d'alcaloïdes, (a): Alcaloïdes vrais, (b): Pseudo-alcaloïdes, (c): Proto-alcaloïdes.....	23
Figure 11: squelette de base des flavonoïdes.....	24
Figure 12: Quelques photos de la plante <i>Periploca laevigata</i> ((A , B : images réelles), (a , b: (Anonyme, 2017))	26
Figure 13: La plante <i>Spinacia oleracea</i> (d'épinards).....	29
Figure14: Complément alimentaire <i>Renalof</i> 325 mg	31
Figure 15: Situation géographique du lieu du récolte de <i>Periploca laevugata</i> (A: Province de Ghardaïa, B: Région de Qalaban (Mutlaq Qoufelfa))	32
Figure 16: Situation géographique du lieu du récolte de <i>Spinacia oleracea</i> (A: Province de Ghardaïa, B: la zone Dahia Ben Dahwa)	33
Figure 17: Photo de la matière végétale plante de <i>Periploca laevigata</i> (A: sèche, a: broyée) et plante de <i>Spinacia oleracea</i> (B: sèche, b: broyé)	34
Figure 18: Types de calculs rénaux utilisés dans notre recherche (A: Calculs d'acide urique, B: Calculs d'oxalate de calcium)	34
Figure 19: Photo de macération (A: macération pendant 24 heure, B: filtration sur papier Whatman n°1)	35
Figure 20: Evaporateur rotatif	36

Figure 21: Tisane de calculs rénaux (A: type I, à tisane d'al-Hellab, B: type II à tisane épinard)	39
Figure 22: Calculs rénaux de type I et de type II dans la solution du complément alimentaire	40
Figure 23: Rendement d'extraction des extraits obtenues à partir des parties aérienne de <i>P. laevigata</i> et <i>S. oleracea</i>	42
Figure 24: Courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	44
Figure 25: Teneur en polyphénols dans les deux plantes (mg EAG/g MS).....	45
Figure 26: Courbe d'étalonnage de quercétine.....	45
Figure 27: Teneur en flavonoïde dans les deux plantes (mg EQ/g MS).	46
Figure 28: Evolution de la cinétique de cristallisation d'oxalate de calcium sans inhibiteur (Pente: 0,00332659 Do/s).....	48
Figure 29: Evolution de la cinétique de cristallisation d'oxalate de calcium en présence l'extrait de la plante <i>P. laevigata</i> à concentration 0,5 mg/ml (Pente: 0,00303199 Do/s).....	49
Figure 30: Evolution de la cinétique de cristallisation oxalocalcique en présence l'extrait de la plante <i>P. laevigata</i> à concentration 1 mg/ml (Pente: 0,00243624 Do/s).....	49
Figure 31: Evolution de la cinétique de cristallisation oxalocalcique en présence l'extrait de la plante <i>P. laevigata</i> à concentration 1,5 mg/ml (Pente: 0,0013 Do/s).....	50
Figure 32: Evolution de la cinétique de cristallisation oxalocalcique en présence du complément alimentaire (Pente: 0,00103108 Do/s).....	51
Figure 33: Photo des cristaux oxalocalcique en absence de l'extrait de la plante <i>P. laevigata</i> et <i>S. oleracea</i> prise par microscope optique à (GX 40) après 5 minute.....	53
Figure 34: Photos des cristaux oxalocalcique en présence l'extrait de la plante du <i>S. oleracea</i> à différent concentration (A1: 1,5 mg/ml, A2: 1 mg/ml, A3: 0,5 mg/ml) prise par microscope optique à (GX 40) après 5 minute.....	53
Figure 35: Photos des cristaux oxalocalcique en présence l'extrait de la plante du <i>P. laevigata</i> à différent concentration (B1: 1,5 mg/ml, B2: 1 mg/ml, B3: 0,5 mg/ml) prise par microscope optique à (GX40) après 5 minute.....	54
Figure 36: Photos des cristaux oxalocalcique en présence du complément alimentaire <i>Renalof</i> prise par microscope optique à (GX40) après 5 minute.....	54

Liste des tableaux

Tableau 01: Plusieurs modèles in vivo pour évaluer l'activité antiurolithiasique.....	10-11
Tableau 02: Plusieurs modèles in vitro pour évaluer l'activité antiurolithiasique.....	11-12
Tableau 03: Principaux accélérateurs et inhibiteurs de la formation lithogène.....	12
Tableau 04: Effets des inhibiteurs sur la cristallisation.....	13
Tableau 05: Classification des composés phénoliques.....	21-22
Tableau 06: Classification systématique de <i>Peroploca laevigata</i>	25
Tableau 07: Quelques métabolites secondaires existe dans cette plante <i>P. laevigata</i>	26
Tableau 08 : Classification systématique de <i>Spinacia oleracea</i>	27
Tableau 09: La composition biochimique et phytochimique de <i>Spinacia oleracea</i>	29
Tableau 10: Valeurs moyennes (par capsule).....	30
Tableau 11: Informations nutritionnelles et valeur énergétique (pour 100g).....	31
Tableau 12: Résultats de screening phytochimique des plantes étudiées.....	43
Tableau 13: Le pourcentage de dissolution des calculs rénaux en présence du tisane de la plante <i>Peroploca laevigata</i> et complément alimentaire <i>Rénalof</i>	47
Tableau 14: Le pourcentage de agglomération des calculs rénaux en présence du tisane de la plante de <i>Spinacia oleracea</i>	47
Tableau 15: Paramètre turbidimétrique de la cristallisation oxalocalcique en absence d'inhibiteur.....	48
Tableau 16: Paramètre turbidimétrique de la cristallisation oxalocalcique en présence d'extrait de la plante <i>P. laevigata</i>	50
Tableau 17: Paramètre turbidimétrique de la cristallisation oxalocalcique en présence du complément alimentaire <i>Renalof</i>	51

*Introduction
générale*

Introduction

La maladie des calculs est définie comme le résultat de dépôts anormaux dans les voies urinaires. Ce précipité provient généralement des composants normaux de l'urine. C'est assez fréquent chez les travailleurs (**Zenagui, 2015**), la lithiase urinaire est un problème de santé publique. Selon les études et les pays, elle touche entre 4% et 18% de la population en France (**Doré, 2004**). L'oxalate de calcium est le constituant principal de la plupart des calculs (**Khan et al., 2016**).

Les calculs rénaux sont une maladie récurrente avec un impact plus important dans les pays industrialisés. La maladie lithiasique s'affirme de plus en plus comme un marqueur socio-économique révélateur de nos conditions de vie et de nos habitudes alimentaires (**Louafi et Djouhri, 2017**).

L'intérêt de la prévention permanente repose principalement sur des mesures préventives diététiques pour réduire la fréquence des rechutes et ainsi diminuer le recours aux traitements urologiques (**Guadeloupe, 2016**).

Diverses approches thérapeutiques ont été explorées dans la prise en charge de la lithiase urinaire: médecines conventionnelles, chirurgie et lithotripsie. Ces méthodes sont coûteuses et ne sont pas accessibles au grand public. Comme ces procédures se sont révélées inefficaces et que les taux de rechute ont augmenté, une approche préventive est le moyen le plus efficace de traiter cette maladie et ses rechutes. En fait, les plantes médicinales sont un précieux patrimoine de l'humanité, en particulier pour les pays pauvres qui dépendent principalement des plantes médicinales pour les soins de santé (**Banouh et Maiz, 2019**).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, 80% de la population mondiale se soigne uniquement avec des plantes médicinales, sous forme d'utilisation : poudre, extrait sec aqueux, teinture, etc (**Boumizez et al., 2022**).

Certains habitants de la wilaya de Ghardaïa, plus précisément ceux de Métlili el Chaanbeh, utilisent la plante *Periploca laevigata* pour traiter les calculs rénaux.

Connaître la faisabilité d'un traitement populaire pour cette maladie, qui a un taux élevé d'infections, et la douleur et la souffrance qui en résultent pour les personnes atteintes, et ce qui peut se développer avec sa récurrence, ce qui peut entraîner des accidents graves pouvant atteindre l'insuffisance rénale chronique, le sujet valait la peine d'être étudié et d'aborder ce problème.

Le but de ce travail était d'évaluer l'efficacité d'un extrait de la plante médicinale *Periploca laevigata* « El Hellab » qui a un pouvoir anti-lithique selon des essais de la population, en utilisant les paramètres suivants : turbidité, solubilité et observation microscopique.

Le complément alimentaire *Renalof*, connu pour son effet sur les calculs rénaux, a été utilisé afin de comparer son efficacité à celle de la plante *Periploca laevigata*. La plante *Spinacia oleracea* contenant de l'oxalate de calcium, l'élément le plus important pour la formation de calculs, a été étudiée pour enrichir l'étude.

A cet effet, l'étude est organisée comme suit :

Le premier chapitre, « **bibliographiques** », comprend des informations générales sur : les calculs rénaux, les plantes médicinales, les plantes utilisées dans l'étude, leur classification et leur lieu de distribution, ainsi que le complément alimentaire utilisé et ses composants.

Le deuxième chapitre: une partie "**expérimentale**" consacrée à notre travail personnel et comprend les éléments suivants : Préparation d'extraits éthanoliques de plantes sélectionnées. Ensuite, examen phytochimique et dosages des polyphénols totaux et des flavonoïdes. Ensuite, un test de modèle gravimétrique (solubilité) est réalisé pour étudier l'effet des plantes médicinales et du complément alimentaire sur deux types de calculs (oxalate de calcium et acide urique). Enfin, test de la puissance de la plante dans laquelle l'effet des différents extraits examinés sur les cristaux d'oxalate de calcium a été clarifié, mesure de la turbidité et observation microscopique.

Le troisième chapitre: Les résultats obtenus sont discutés.

Le manuscrit est complété par une conclusion générale.

Chapitre (I)

Revue bibliographique

I.1. Lithiase rénale

I.1.1. Historique

La maladie de la pierre est présente depuis l'aube de l'homme, puisque le premier cas de lithiase urinaire a été découvert chez un garçon de 15 à 16 ans dont les restes ont été exhumés de la nécropole d'El Amrah en Haute-Égypte. La **figure 01** retrace certaines des étapes historiques associées à la maladie des calculs aux XIX^e et XX^e siècles. On peut voir que la maladie des calculs reflète le statut socio-économique du pays. Ainsi, au milieu du XX^e siècle, comme au siècle précédent, la maladie des calculs dans les groupes socio-économiques défavorisés était courante et affectait généralement les enfants à prédominance masculine. Le calcul a principalement la position de la vessie. Au niveau chimique, on note que l'urate d'ammonium et les phosphates de calcium et de magnésium prédominent. Ainsi, leur composition reflète à la fois des conditions sanitaires précaires et une alimentation à base de céréales et de plantes, souvent pauvre en phosphore et en protéines animales. Avec l'amélioration du niveau de vie, les caractéristiques physiques et chimiques et l'emplacement des calculs ont changé. L'oxalate de calcium devient souvent le composant principal des calculs et les calculs sont situés dans les reins. De plus, la maladie des calculs affecte désormais principalement les adultes (**Hannache, 2014**).

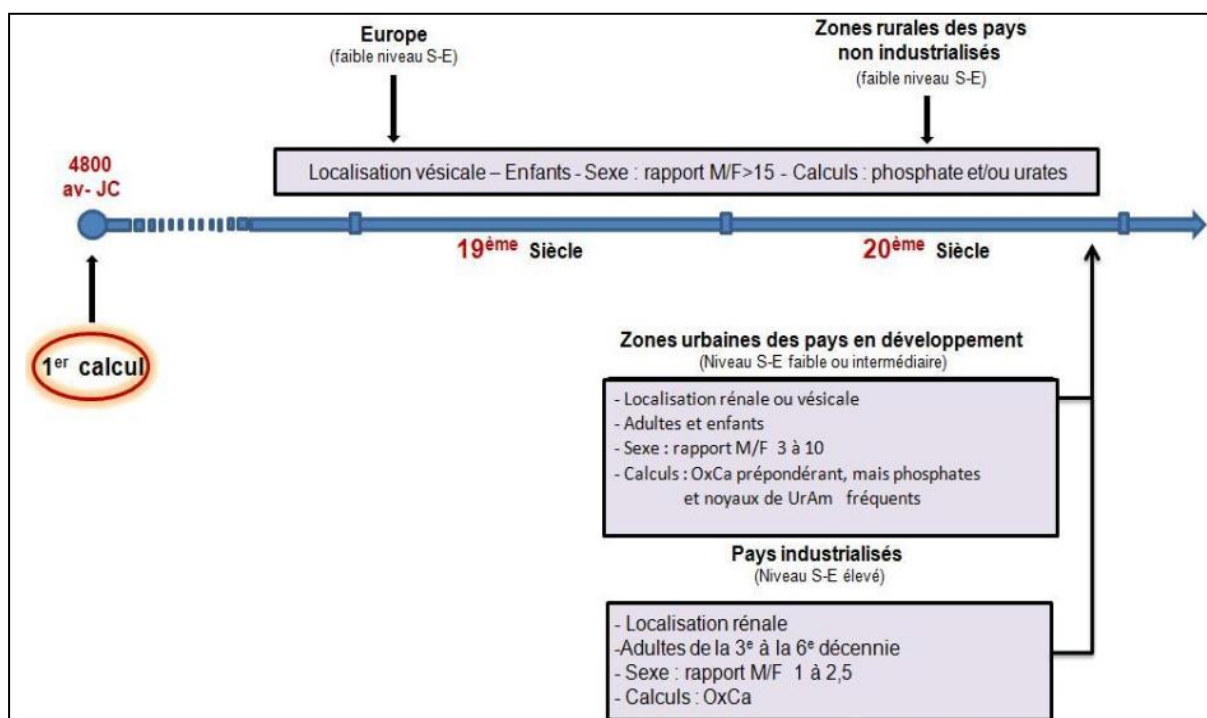


Figure 01: Évolution historique et géographique de la lithiase urinaire (**Hannache, 2014**).

I.1.2. Définition:

- **Etymologies**

Le mot lithiase vient du grec lithos (pierre) et le mot calcul vient du latin calculs, nom d'un petit caillou utilisé par les comptables romains (Traore, 2012 ; Daudon *et al.*, 2012), les pierres sont des agrégats de cristaux liés par une matrice organique (Daudon *et al.*, 2008).

- **Clinique**

La lithiase urinaire, appelée processus de formation de calculs dans le système urinaire (Thenmozhi *et al.*, 2016). A cause d'une précipitation anormale des composants normaux de l'urine dans les voies urinaires (Traore, 2012). Ou bien est un calcul rénal causé par une perturbation de l'équilibre entre la solubilité et la précipitation des sels dans les voies urinaires et les reins (Daudon *et al.*, 2012).

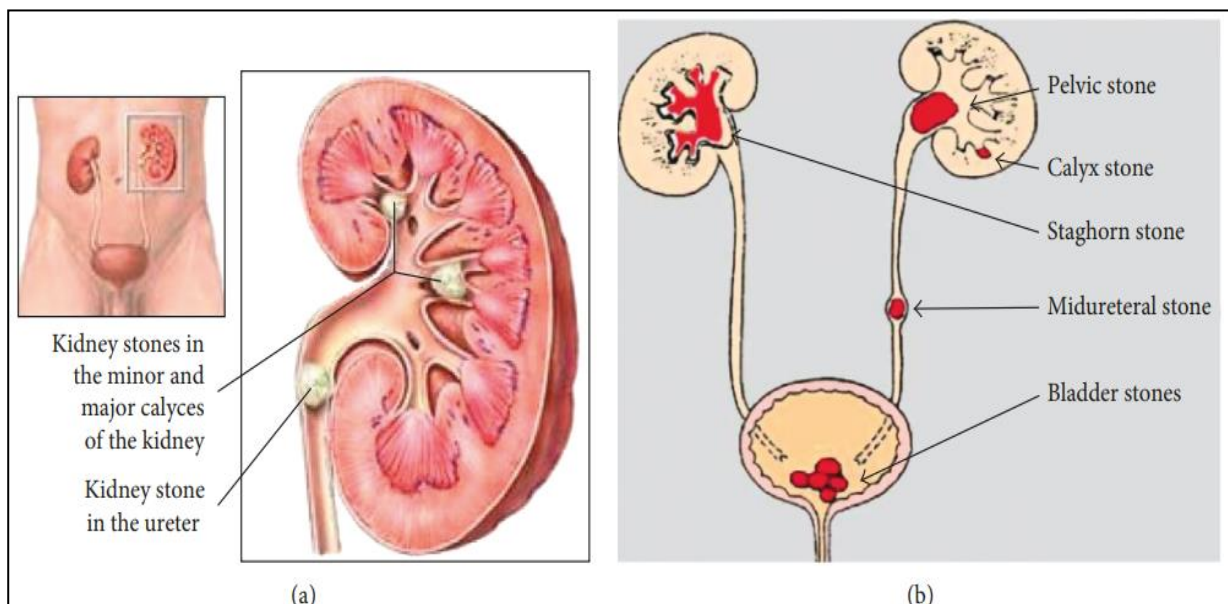


Figure 02: Emplacements de calculs rénaux dans le système urinaire (Alelign et Petros, 2018).

I.1.3. La lithogénèse

Le terme calcul regroupe tous les processus qui conduisent à la formation de calculs urinaires. Le processus de formation de la roche peut être divisé en sept étapes, qui se succèdent ou s'entremêlent lors de la formation de la pierre. Les étapes sont les suivantes (Benalia, 2020):

I.1.2.1. La sursaturation des urines: La première étape dans la formation de calculs rénaux commence par la formation d'un noyau (appelé nidus) à partir d'urine sursaturée retenue à l'intérieur des reins, dépend principalement du pH, qui correspond à la concentration des espèces ioniques susceptibles de précipiter (**Alelign et Petros, 2018**).

I.1.2.2. La germination cristalline: Les cristaux dans l'urine collent ensemble pour former une petite masse dure de pierre appelée croissance cristalline. La croissance des calculs est accomplie par agrégation de cristaux préformés ou nucléation secondaire de cristal sur la surface recouverte de matrice (**Alelign et Petros, 2018**).

I.1.2.3. Croissance des cristaux : Les cristaux d'urine hautement sursaturée sont initialement très petits, <100 nm, et ne présentent donc pas de risque de maladie des calculs. Ils vont alors croître plus ou moins rapidement et former des particules plus grosses, entre 1 et 100 µm, en piégeant de nouvelles molécules de l'espèce sursaturée. Cette croissance prend généralement plus de temps qu'il n'en faut pour que l'urine traverse le néphron. L'urine, en revanche, peut rester dans la vessie pendant des heures. Pendant cette période, la croissance cristalline forme parfois des particules assez grosses, telles que des cristaux d'acide urique dihydraté, qui s'agrègent et produisent un processus de calcul (**Daoud et al., 2020**).

I.1.2.4. Agrégation des cristaux: Le processus par lequel une petite masse dure d'un cristal en solution se colle ensemble pour former une pierre plus grande est appelé agrégation (**Alelign et Petros, 2018**). Les calculs peuvent être retenus dans les microcanaux des reins (**Daudon et al., 2008a**).

I.1.2.5. Agglomération cristalline: Il s'agit de macromolécules dans l'urine qui, par leur forte charge négative, peuvent se fixer à la surface des cristaux et contribuer à la formation de calculs en les organisant les unes avec les autres, facilitant ainsi la fixation de nouveaux cristaux au premier. Les macromolécules impliquées dans ce processus sont essentiellement des protéines. La principale protéine urinaire est la protéine Tamm-Horsfall et lorsqu'elle s'agrège elle perd ses propriétés inhibitrices et semble même favoriser la cristallisation (**Daoud et al., 2020**).

I.1.2.6. Rétention des particules cristallines : Cette étape peut être considérée comme la première étape du processus de lithiase, les particules de cristal formées à différents stades de la croissance cristalline resteront dans les reins ou les voies urinaires et grossiront pour former des calculs (**Daoud et al., 2020**). Trois situations différentes peuvent être envisagées:

(1) Adhérence des cristaux à l'épithélium tubulaire, (2) Rétention obstructive des cristaux dans le néphron, (3) Rétention des cristaux sans adhérence à l'épithélium (**Daoud et al., 2020**).

I.1.2.7. Croissance et évolution des calculs : Lorsqu'un trouble de l'alimentation entraîne la formation de calculs, ses manifestations sont intermittentes, la croissance des calculs se faisant en fonction de la sursaturation des urines. Le point de départ de nouveaux calculs, croissant généralement au même rythme que le premier, ce qui explique la différence de taille observée entre les calculs les plus anciens (généralement les plus importants) et les plus récents. Parfois, en raison de l'anatomie ou du flux urinaire, certaines pierres sont plus susceptibles que d'autres de capturer de nouvelles molécules et de se développer ensuite plus rapidement (**Daoud et al., 2020**).

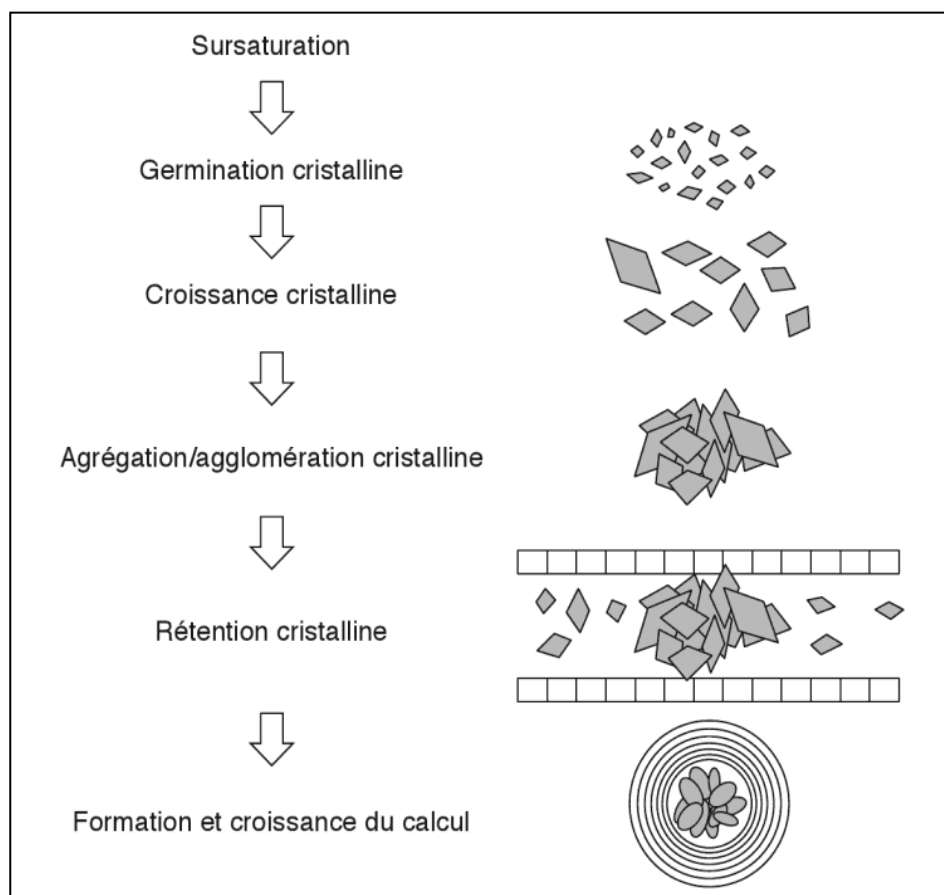


Figure 03: Principales étapes de la diagenèse lithogénèse (**Daoud et al., 2012**).

I.1.4. Les différents types de lithiase

La composition chimique des calculs rénaux dépend des anomalies de la composition urinaire de divers produits chimiques. Les pierres diffèrent par leur taille, leur forme et leur composition chimique, les calculs rénaux sont généralement classés en cinq types comme suit (Alelign et Petros, 2018):

❖ Calculs cystine

Les calculs de cystine représentent moins de 1% de tous les calculs et ils sont généralement constitués de cystine pure (Daudon *et al.*, 2016).

Sa présence marque une anomalie génétique récessive avec un défaut de réabsorption de la cystine, provoquant une cystinurie (Faculté de médecine de Sfax, 2020). Souvent nombreux calculs bilatéraux ou coralliformes (Oliva, 2019), comme type Va (la plus courante) et type Vb (Daudon *et al.*, 2016).



Figure 04: Photo d'un calcul de cystine (Daudon *et al.*, 2016).

❖ Calculs d'acide urique

Ils représentent 10 % du calcul et évoluent dans un PH urinaire acide .Ils sont plus fréquents dans l'hypertension artérielle, le diabète, l'obésité et les personnes âgées (Oliva, 2019). Ils sont très peu solubles dans les urines à $\text{pH} < 5,5$, par contre l'urate de sodium devient plus soluble à $\text{pH} > 6,5$ (Faculté de médecine de Sfax, 2020). Réduire la miction nécessite de réduire la consommation d'aliments riches en purines (charcuterie, abats) et en cas d'échec un traitement par allopurinol peut être initié pour corriger l'hyper uricémie. L'examen endoscopie a révélé qu'ils étaient de couleur jaune chamois avec une texture lisse (Oliva, 2019).

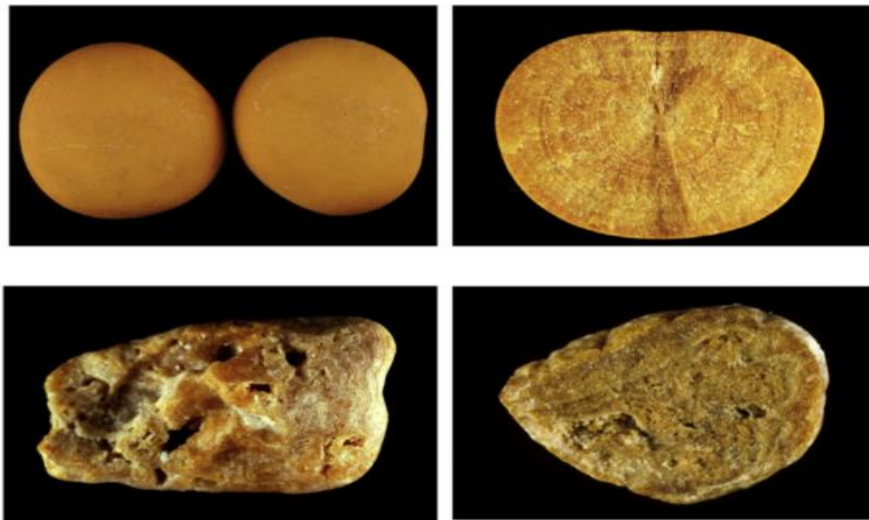


Figure 05: Photo d'un calculs d'acide urique (Daudon *et al.*, 2016).

❖ Calculs d'oxalates de calcium

L'oxalate de calcium était le plus courant avec plus de 70% des calculs analysés (Oliva, 2019). Les calculs CaOx sont divisés en deux types, selon leur forme cristalline prédominante, soit COM (type I) ou COD (type II) (Daudon *et al.*, 2016). Ils comprennent:

- Le facteur pathogène commun des calculs de type I (COM) est une concentration élevée d'ions oxalate dans l'urine sans élévation concomitante du calcium urinaire (Daudon *et al.*, 2016).
- Le facteur pathogène commun des calculs de type II COD est une concentration élevée d'ions calcium dans l'urine sans élévation marquée de l'oxalate urinaire (Daudon *et al.*, 2016).

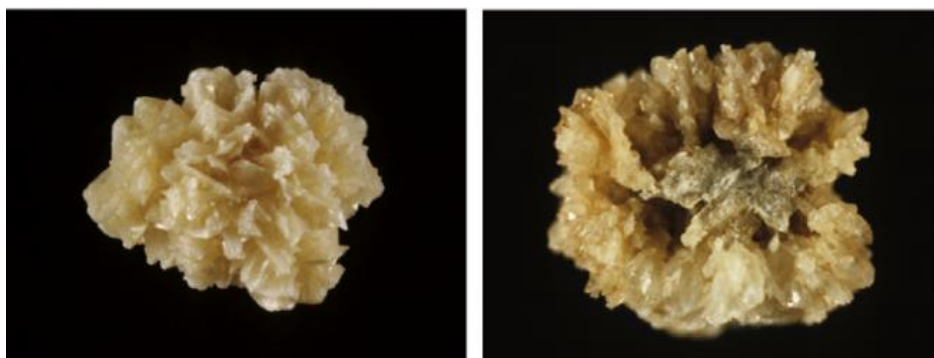


Figure 06: Photo d'un calculs d'oxalates de calcium (Daudon *et al.*, 2016).

❖ Calculs de phosphocalcique

Ils ne représentent que 1,3% des calculs et sont associés à des infections urinaires par bactéries de l'urée (*Proteus mirabilis*...) (**Oliva, 2019**). Les plus courants étant *Proteus mirabilis* et les agents pathogènes moins courants comprennent *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter* (**Alelign et Petros, 2018**). Ils sont très dépendants du pH de l'urine. Ils sont généralement plus gros, plus susceptibles de récidiver et moins susceptibles de passer spontanément (**Faculté de médecine de Sfax, 2020**).



Figure 07: Photo d'un calcul de phosphocalcique (**Daudon et al., 2016**).

❖ Calcul de médicament

Cela représente environ 1% de tous les types de pierres (**Alelign et Petros, 2018**). Un nombre limité de médicaments peut induire la formation de calculs urinaires. Seules les molécules principalement excrétées par les reins, peu solubles dans l'urine et administrées à fortes doses peuvent cristalliser dans l'urine (**Daudon et al., 2016**). Des médicaments tels que la guaifénésine, le triamtérène, l'atazanavir et les sulfamides induisent ces calculs (**Alelign et Petros, 2018**).

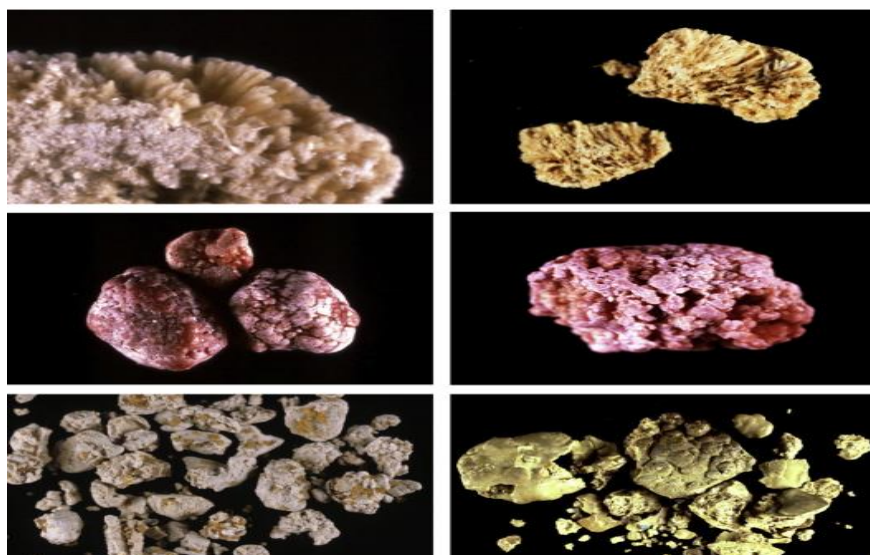


Figure 08: Photo d'un calculs de médicament (Daudon *et al.*, 2016).

I.1.5. Méthodes d'évaluation de l'activité antiurolithiasique

I.1.5.1. In vivo

Un certain nombre de modèles in vivo et in vitro ont été développés pour étudier les mécanismes impliqués dans la formation des calculs urinaires et pour déterminer les effets de différents agents thérapeutiques sur le développement et la progression de la maladie. Les rats sont le modèle animal le plus couramment utilisé pour le dépôt d'OxCa dans le rein, un processus qui imite la pathogenèse de la formation de calculs rénaux chez l'homme. Ces modèles représentent le mieux les effets prophylactiques et thérapeutiques des échantillons de test (Benalia, 2020).

Tableau 01: Plusieurs modèles in vivo pour évaluer l'activité antiurolithiasique (Benalia, 2020).

Modèles in vivo	Références
Urolithiase d'oxalate de calcium induite chez le rat	Hodgkinson, 1970; Atmani <i>et al.</i> , 2004
Lithiase induite par l'éthylène glycol chez le rat	de Water <i>et al.</i> , 1996
Traitement à l'éthylène glycol et le chlorure d'ammonium chez le rat	Fan <i>et al.</i> , 1999
Traitement à l'oxalate de sodium (NaOx) chez le rat	Khan <i>et al.</i> , 1979
Urolithiase induite par l'acide glycolique chez le rat	Ogawa <i>et al.</i> , 1990

Souris invalidées pour le gène de la protéine de Tamm Horsfall	Mo et al., 2004 ; Mo et al., 2007
Urolithiase induite par le disque de zinc chez le rat	Vermeulen et al., 1950
Résection intestinale chez le rat	O'Connor et al., 2005
Carence en vitamine B6 chez le rat	Andrus et al., 1960
Urolithiase d'oxalate de calcium induite par l'hydroxy-l proline chez le rat	Khan et al., 2006
Hypercalciurie induite par la gentamicine chez le rat	Chahwala et Harpur, 1983
Lithiase induite chimiquement chez le rat sevré	Wolkowski et al., 1982

I.1.5.2. In vitro

Les études in vitro fournissent un examen préliminaire avant de mener des études in vivo. Ces études fournissent également des installations plus petites utilisant une petite substance d'essai, ce qui permet de réduire les coûts et d'augmenter le nombre de répétitions. Ainsi, en fournissant une motivation pour minimiser les coûts des médicaments par des procédures d'essai économiques et en donnant une évaluation plus directe de la performance des extraits ou des composés que ne le font les études in vivo conventionnelles, ce qui permet de mieux comprendre les mécanismes fondamentaux des effets biologiques. Les études antiurolithiasiques in vitro permettent une gestion prophylactique en évaluant l'inhibition de la nucléation, de la croissance et de l'agrégation de cristaux spécifiques. Ces modèles peuvent évaluer l'aptitude de l'extrait ou du composé végétal à dissoudre les cristaux préformés (Benalia, 2020).

Tableau 02: Plusieurs modèles in vitro pour évaluer l'activité antiurolithiasique (Benalia, 2020).

Modèles in vitro	Références
✓ Test de nucléation	Hennequin et al., 1993
✓ Test de croissance	Nakagawa et al., 1985
✓ Test d'agrégation	Hess et al., 1989
✓ Test de fuite de lactate déshydrogénase	Wagner et al., 1992
✓ Méthode turbidimétrique mesure la turbidité en termes de formation d'oxalate de calcium dans l'urine à 620 nm	Hennequin et al., 1993

✓ Estimation titrimétrique mesure l'oxalate de calcium non dissous à l'aide de KMnO ₄	Helsen, 1974
✓ Estimation colorimétrique du phosphate de calcium par un colorimètre à 600-750 nm	Michaels <i>et al.</i>, 1949

I.1.6. Inhibiteur et promoteur de la cristallisation

Les inhibiteurs sont les molécules qui augmentent la sursaturation nécessaire pour initier la nucléation, diminuent la croissance et l'agrégation des cristaux et inhibent la nucléation secondaire (dépôt de nouveaux cristaux sur des surfaces cristallines préexistantes de type similaire) tandis que les promoteurs provoquent la réduction du produit de formation de la solution sursaturée. Il a été suggéré que la perte d'équilibre entre les promoteurs et les inhibiteurs urinaires augmente le risque de formation de calculs plus que la perturbation d'une seule substance (**Gupta *et al.*, 2011**).

Tableau 03: Principaux accélérateurs et inhibiteurs de la formation lithogénèse (**Banouh et Maiz, 2019**).

Promoteur	Inhibiteur
Calcium	Inorganique
Sodium	Citrate
Oxalate	Magnésium
Acide urique	Pyrophosphate
Cystine	Organique
ph faible de l'urine	Fragment de prothrombine urinaire 1
protéine Tamm-Horsfall	Glycosaminoglycanes
Faible débit urinaire	Ostéopontine (Uropontin)
	Lithostathine rénale
	Autre Bikunin, Calgranulin

Tableau 04: Effets des inhibiteurs sur la cristallisation (**Gupta et al., 2011**).

Nom de l'inhibiteur	Effet sur la cristallisation
Citrate	Inhibiteur de croissance
Magnésium	Inhibiteur de croissance
Pyrophosphate	Inhibiteur de croissance et d'agrégation
Ostéopontine	Inhibiteur de la nucléation, de la croissance et de l'agrégation
Fragment urinaire de prothrombine1	Inhibiteur de croissance, d'agrégation et d'adhérence
Protéine Tamm-Horsfall (THP)	Promoteur de la nucléation et de la croissance, inhibiteur de l'agrégation
Glycosaminoglycanes (GAG)	Inhibiteur de croissance, d'agrégation et d'adhérence
Lithostathine rénale (RL)	Inhibiteur de croissance
Néphrocalcine (NC)	Inhibiteur de croissance et d'agrégation

I.1.7. Facteurs favorisant la formation du calcul

Plusieurs facteurs de risque de formation de calculs ont été identifiés (**Tahraoui, 2020**):

- ✓ **Âge et sexe:** En général, l'incidence des calculs lithiasiques est plus fréquente chez les personnes âgées de 30 à 50 ans, et la plupart des études montrent une prédominance masculine : trois hommes et une femme (**Tahraoui, 2020**).
- ✓ **Facteurs ethniques:** la lithiase urinaire est moins fréquente chez les Africains noirs et les Asiatiques. L'incidence de la lithiase urinaire augmente avec l'immigration, ce qui prouve souvent l'existence de facteurs extrinsèques (environnement, alimentation) affectant l'incidence de la lithiase urinaire (**Tahraoui, 2020**).
- ✓ **Facteurs environnementaux:** les facteurs climatiques et saisonniers sont impliqués dans l'épidémiologie de la lithiase urinaire induite par la déshydratation ; ainsi, le risque de formation de roches augmente avec les voyages vers des régions plus chaudes en raison d'un ensoleillement plus fort et d'une synthèse accrue de vitamine D liée (**Tahraoui, 2020**).
- ✓ **Facteurs génétiques:** les lithiases urinaires causées par des troubles héréditaires monogéniques sont relativement rares mais souvent graves (**Tahraoui, 2020**).

- ✓ **Facteurs nutritionnels:** un apport élevé en protéines animales réduit l'acide citrique urinaire, un puissant agent anti-tartre, et augmente la calciurie et l'urie, qui précipitent facilement sous forme de cristaux à pH acide (**Banouh et Maiz, 2019**).
Une forte consommation de matières grasses, d'aliments riches en oxalates (rhubarbe, chocolat noir, etc.) favorise l'oxalurie (**Banouh et Maiz, 2019**).
La vitamine C doit être évitée comme complément alimentaire car l'acide ascorbique est converti en oxalate. Pour les patients atteints de calculs lithiasiques, l'apport quotidien en vitamine C ne doit pas dépasser 500 mg, que l'on trouve facilement dans les aliments. De même, le thé et le chocolat riches en oxalates sont à proscrire (**Banouh et Maiz, 2019**).
- ✓ **Anomalies morphoanatomiques des voies urinaires:** au moins 10 % des calculs urinaires sont associés à des anomalies anatomiques des voies urinaires (**Tahraoui, 2020**).
- ✓ **pH urinaire anormal:** Lorsqu'il est inférieur à 5,3, il va favoriser la cristallisation de l'acide urique, de la cystine et de la xanthine. Lorsqu'il est supérieur à 6,5, cela favorise la cristallisation du phosphate de calcium et des complexes phosphore-ammoniac-magnésium (**Tahraoui, 2020**).
- ✓ **Les facteurs médicamenteux** dans 1% des cas "sulfamides, vitamines C et D, suppléments de calcium..." (**Tahraoui, 2020**).

I.1.8. Symptômes des calculs rénaux

La formation de calculs ne provoque aucun symptôme au début (**Aligner et Petros, 2018**).

Les signes et symptômes post-mortem de lithiase biliaire comprennent les coliques néphrétiques (spasmes sévères), la lithiase urinaire (maladie des voies urinaires), les infections des voies urinaires, l'obstruction du flux urinaire et la néphrotoxicité (reins hypertrophiés) (**Aleign et Petros, 2018**), des douleurs dans le dos ou sur le côté, fuite de sang, vomissements, fièvre Miction fréquente/urgence (envie d'uriner bientôt) douleur en urinant (**Flih et Fahem, 2020**).

Ces conditions peuvent entraîner des nausées et des vomissements associés aux souffrances associées aux événements de pierre. Les soins médicaux et l'absentéisme au travail sont associés à des coûts importants pour nous, affectant notre qualité de vie et l'économie de notre pays (**Alelign et Petros, 2018**).

I.1.9. Diagnostic de la lithiase rénale

I.1.9.1. Symptomatologie révélatrice

La présence d'urolithes peut entraîner différents symptômes et complications (**Louafi et Djouhri, 2017**).

La présentation clinique des calculs est commune à tous les types de calculs. L'exposition la plus fréquente était la colique néphrétique. Elle se caractérise par l'apparition soudaine de douleurs intenses, unilatérales lombaires ou lombo-abdominales, irradiant le plus souvent vers l'avant et vers le bas vers la fosse iliaque et les organes génitaux externe (**Louafi et Djouhri, 2017**).

Elle peut aussi se présenter sous la forme de lombalgies isolées moins intenses sans irradiation, ou de douleurs plus antérieures de la fosse iliaque avec signes d'irradiation vésicale, traduisant la proximité du calcul avec la vessie (**Louafi et Djouhri, 2017**).

La maladie lithiasique peut également être détectée en présence de douleurs moins intenses ou d'autres signes, en particulier une hématurie macroscopique ou microscopique ou des troubles de la miction. Dans certains cas, la lithiase n'est découverte qu'au cours de complications majeures telles qu'une pyélonéphrite aiguë ou une anurie calculuse ou lors de la recherche d'une cause d'insuffisance rénale chronique (**Louafi et Djouhri, 2017**).

I.1.9.2. Diagnostic radiologique

✓ La radiographie simple (ASP)

Elle est essentielle et doit être la première étape des investigations radiologiques qui révèlent la plupart des calculs (environ 90%) mais ne sont pas suffisantes pour les calculs radio transparents. Par conséquent, cet examen ne doit pas être mené isolément. Mais combiné avec une autre technique pour augmenter la sensibilité. Il peut être utilisé pour suivre la progression des calculs. De plus, ce test ne fournit que des informations sur la présence de calculs, pas sur d'éventuelles complications (**Louafi et Djouhri, 2017**).

✓ L'Urographie intraveineuse (UIV)

Très simple et facile d'utilisation, centré sur la zone rénale, il renseigne sur la taille, le nombre, la topographie des calculs et estime leur composition chimique (en fonction de l'opacité aux rayons X) (**Louafi et Djouhri., 2017**).

Les facteurs qui limitent la sensibilité sont: la petite taille des calculs (moins de 5 mm), les calculs invisibles, peu ou pas de transmission lumineuse (acide urique, cystine) **(Louafi et Djouhri, 2017)**.

✓ L'échographie

Plus rapide, plus simple et non invasif, mais avec un objectif de diagnostic plus doux.

L'échographie permet de mettre en évidence les calculs, la dilatation de la cavité pelvienne rénale, et l'état du parenchyme rénal. Sa résolution encore faible ne peut que confirmer la présence de pierres de plus de 8 mm de diamètre **(Louafi et Djouhri, 2017)**.

I.1.9.3. La tomодensitométrie abdomino-pelvienne (TDM) (uroscanner)

C'est un test rapide, spécifique et sensible indiqué chez les patients présentant des malformations rénales ou des antécédents de malformations gastro-intestinales, chirurgicales ou de mégacolon, utile pour les malformations orthopédiques et l'obésité. Détecte tous les types de calculs (y compris les calculs radio-opaques, millimétriques et même radioactifs), en particulier les calculs urétéraux invisibles avec d'autres techniques. Ainsi que l'élargissement de la lumière urétrale devant l'obstruction **(Louafi et Djouhri, 2017)**.

Il existe également des informations sur l'emplacement par rapport aux voies urinaires, la forme et la taille de la pierre, et la présence d'anomalies anatomiques associées **(Louafi et Djouhri, 2017)**.

Ceci est effectué lorsqu'il y a des questions diagnostiques sur la PPA et l'échographie rénale. Il permet l'examen de l'anatomie urinaire (uroscanner) et tend à remplacer l'UIV **(Louafi et Djouhri, 2017)**.

I.1.9.4. Examen biologique

Il est nécessaire de mener une étude biologique. Cela permet d'évaluer les éventuels effets sur la fonction rénale (hémocytogrammes : urée, créatinine, potassium, sodium), de rechercher les infections urinaires (ECBU) et, dans ce cadre, de réaliser des bilans métaboliques. Bilan étiologique des lithiases : calcémie, uricémie et bilan préopératoire (ex: NFS, bilan hémostatique) **(Louafi et Djouhri, 2017)**.

I.1.10. Traitement de la lithiase urinaire

Plusieurs traitements peuvent suivis selon les cas (**Tahraoui, 2020**).

✓ Traitement préventif

Le but du traitement préventif est de réduire la concentration de tous les solutés prometteurs, ce qui repose principalement sur le fait que le patient doit adopter une alimentation équilibrée avec du calcium (800 mg à 1 g/jour), du sel (< 9 g/jour standardisé) et protéines animales (< 1,2 g/kg/jour). Les aliments riches en fibres naturelles contiennent de l'acide phytique, qui lie le calcium dans un complexe non absorbable. De plus, la base de tout traitement de la maladie des calculs est la dilution des solutés contenus dans l'urine en raison de l'augmentation de la diurèse et de l'hydratation (**Tahraoui, 2020**).

✓ Traitement pharmacologique

L'objectif du traitement médicamenteux est de réduire la fréquence des récidives et de réduire la morbidité causée par des calculs préexistants. Ce traitement vise à empêcher la formation de nouvelles pierres. Développer une gestion ciblée des médicaments selon le type de pierre (**Tahraoui, 2020**).

✓ Traitement médical de la lithiase urique

Il est nécessaire de maintenir un pH de 6,5 pour éviter la formation de calculs et d'atteindre un pH supérieur à 6,5 pour dissoudre les calculs. Il existe différents acidulants : le bicarbonate de soude, le citrate de sodium ou le citrate de potassium. Le régime alimentaire doit être faible en calories ; les aliments à éviter sont la charcuterie, les abats, les crustacés (**Flih et Fahem, 2020**).

✓ Traitement médical de la lithiase calcique

Les boissons utilisées doivent être faibles en calcium et en oxalate, les aliments riches en calcium doivent être évités et certains médicaments doivent être évités car ils augmentent la calciurie. Le diurétique doit suffire (**Flih et Fahem, 2020**).

✓ **Traitement chirurgical**

Le traitement chirurgical vise à éradiquer les calculs dans le système urinaire. L'urologue tient compte de l'emplacement, de la composition, de la taille, de l'anatomie des voies urinaires et de la morphologie du calcul du patient (**Flih et Fahem, 2020**).

✓ **Traitement par phytothérapie**

Les traitements par phytothérapie utilisent des plantes médicinales aux propriétés d'inhibition de formation des calculs. Plusieurs types de plantes, variant selon les pays et les traditions, sont utilisés pour traiter la maladie des calculs (**Tahraoui, 2020**).

I.2. Les plantes médicinales

I.2.1. Définition

Par plante médicinale, on entend une plante ou une partie de plante possédant des propriétés médicinales par l'action synergique de ses composés actifs sans avoir d'effets nocifs aux doses préconisées. Les médicaments à base de plantes sont précisément définis par un nom scientifique selon le système binominal (genre, variété d'espèce et auteur. L'approche scientifique des plantes médicinales, associée à des études pharmacologiques et toxicologiques, a permis de décrypter leur composition chimique, de mettre en évidence l'intérêt thérapeutique ou pour déterminer les doses thérapeutiques ou toxiques de certaines plantes. Contrairement à un médicament chimique dont l'action est ciblée par la molécule synthétique sur un site récepteur, les propriétés thérapeutiques d'une plante médicinale proviennent de l'action synergique de tous ses différents éléments, l'action de la phytothérapie dépend donc de la composition de la plante. Les plantes médicinales ont des effets curatifs et préventives (**Boumizez et al., 2022**).

L'utilisation de ces plantes est très appréciée dans toutes les traditions médicales, il y a deux cents ans, les moyens thérapeutiques naturels étaient les seuls remèdes à la disposition de l'humanité. Leur utilisation et leurs effets ont donc été soigneusement étudiés, documentés et développés (**Boumizez et al., 2022**).

Une Plante médicinale est toute plante qui dans un ou plusieurs de ses organes, contient des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs pour la synthèse de médicaments utiles. Cette description permet de distinguer les plantes médicinales dont les propriétés thérapeutiques et les constituants ont été établis

scientifiquement, des plantes considérées comme médicinales mais qui n'ont pas encore fait l'objet d'une étude scientifique approfondie (**Sofowora et al., 2013**).

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés bénéfiques particulières pour la santé humaine, En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine ; feuille, fleur. Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle, dont au moins certaines ont des propriétés médicinales. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Boumizez et al., 2022**).

I.2.2. Importance des plantes médicinales

Environ 80% de la population mondiale est traitée exclusivement avec des plantes médicinales, et en Europe 35% des médicaments prescrits par les médecins sont d'origine naturelle (**Kurt, 2023**).

Plus de 50% des médicaments en vente libre sont à base de plantes (**Kurt, 2023**).

Il est considéré comme une ressource précieuse pour la plupart des populations rurales et urbaines en Afrique et constitue le principal moyen d'automédication pour les personnes (**Hamel et al., 2018**).

I.2.3. Métabolites secondaires des plantes

Les métabolites sont les intermédiaires et les produits du métabolisme. Le terme métabolite est généralement limité aux petites molécules. Les métabolites ont diverses fonctions, notamment le carburant, la structure, la signalisation, les effets stimulants et inhibiteurs sur les enzymes, leur propre activité catalytique (généralement en tant que cofacteur d'une enzyme), la défense et les interactions avec d'autres organismes. Les plantes produisent un assortiment vaste et diversifié de composés organiques dont la grande majorité ne semble pas participer directement à la croissance et au développement. Ces substances, traditionnellement appelées métabolites secondaires, sont souvent distribuées de manière différentielle entre des groupes taxonomiques limités au sein du règne végétal. L'importance commerciale croissante des métabolites secondaires a entraîné ces dernières années un grand intérêt particulier pour la possibilité de modifier la production de métabolites végétaux bioactifs au moyen de la technologie de la culture tissulaire (**Tiwari et Rana, 2015**).

Les métabolites secondaires peuvent être classés en fonction de leur structure chimique (par exemple, ayant des cycles, contenant un sucre), leur composition (contenant de l'azote ou non), leur solubilité dans divers solvants ou la voie par laquelle ils sont synthétisés (par exemple, phénylpropanoïde, qui produit des tanins). Et généralement classés selon leurs voies de biosynthèse. Trois grandes familles de molécules sont généralement considérées : Phénoliques, Terpènes et Stéroïdes, et Alcaloïdes, Flavonoïdes. Certaines d'entre elles peuvent avoir des conséquences graves (**Tiwari et Rana, 2015**).

Sur la base de leurs origines biosynthétiques, les métabolites secondaires des plantes peuvent être divisés en trois grands groupes : les composés polyphénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes (**Boucherit et Guettaf temam, 2021**).

I.2.3.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont caractérisés par au moins un cycle aromatique substitué par un ou plusieurs groupements hydroxyle. Plus de 8000 structures de composés phénoliques ont été rapportées dans la littérature et sont largement dispersées dans les plantes (**Samia et Hana, 2021**).

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux (**Labrani, 2022**).

Les composés phénoliques sont parmi les composés les plus importants en raison de leur faible toxicité et de leurs nombreux avantages biologiques. Ces molécules sont à la base des principes actifs présents dans les plantes médicinales, conjuguées à la difficulté de leur production. Chez l'homme, ces molécules traces jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effets antioxydants, antibactériens et anti-inflammatoires, protection contre l'apparition de certains cancers, etc.). Ils sont utilisés notamment en médecine, dans les produits pharmaceutiques pour le traitement des maladies liées au stress oxydatif (par exemple les maladies cardiovasculaires, les maladies cérébrovasculaires, les maladies métaboliques et le cancer), dans les produits cosmétiques (cosmétiques et gommages amincissants) et comme conservateurs et dans les produits agricoles Colorants agricoles (**Benalia, 2020**).

Les polyphénols sont présents partout dans les plantes : racines, tiges, feuilles, fleurs et fruits de toutes les plantes. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin, thé, café, jus), les céréales, les oléagineux et les légumineuses (**Hareb, 2020**).

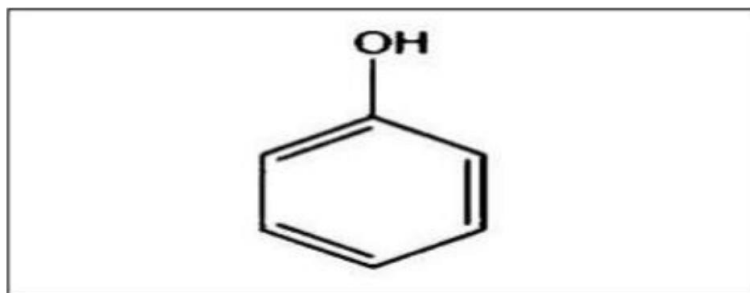

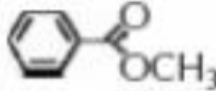
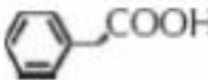

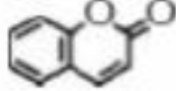
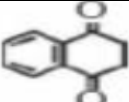
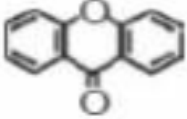
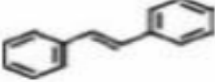
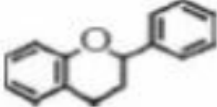
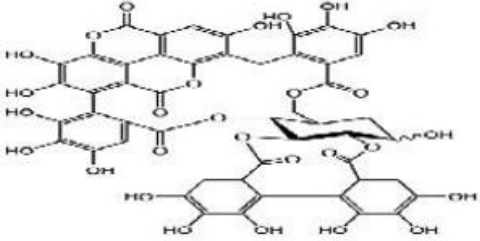
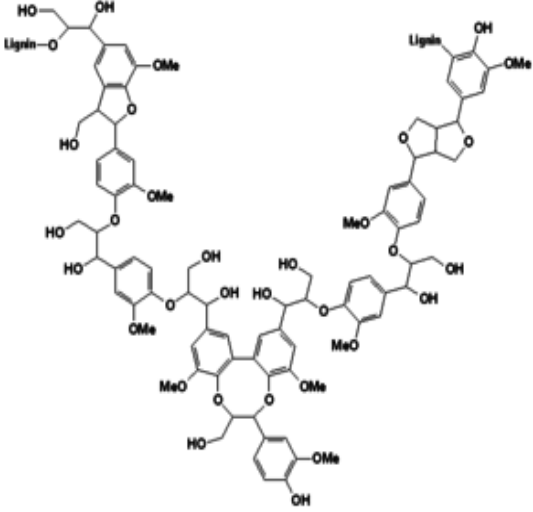


Figure 09: squelette de base des polyphénols (**Vermerris et Nicholson, 2006**).

Les composés phénoliques comprennent différentes classes de molécules. Principalement des acides phénoliques (acides hydroxycinnamiques et hydroxybenzoïques), des flavonoïdes (flavonols, flavanones, flavanols, flavonoïdes et anthocyanes) et des tanins (tanins hydrolysables et condensés), et des lignanes et stilbènes aux effets ostrogéniques bien connus (**Benalia, 2020**).

Tableau 05: classification des composés phénoliques (**Crozier et al., 2006**).

Number des carbons	Squelette	Classification	Structure de base
7	C6-C1	Acidephenols	
8	C6-C2	Acétophénonnes	
8	C6-C2	Acidephénylacétiques	
9	C6-C 3	Acide hydroxycinamiques	
9	C6-C 3	Coumarines	
10	C6-C4	Naphthoquinones	

13	C6-C1-C6	Xanthones	
14	C6-C2-C6	Stilbènes	
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes	
N	(C15) n	Tannins	
N	(C6-C3) n	Lignines	

I.2.3.2. Terpénoïdes

Le terme terpénoïdes désigne tous les composés dont la structure moléculaire est construite à partir d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, principalement d'origine végétale (**Malecky, 2008**).

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels à structure cyclique ou à chaîne ouverte : leur formule moléculaire d'origine est $(C_5H_X)_n$, où x dépend du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs (1-8), sauf pour les polyterpènes à 100 ou plus (caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 (**Malecky, 2008**).

Les terpénoïdes désignent un groupe de substances dont les terpènes sont le squelette et une ou plusieurs fonctions chimiques (alcools, aldéhydes, cétones, acides, lactones, etc.) (Malecky, 2008).

Les rôles des terpénoïdes chez les végétaux sont généralement considérés comme à la fois écologiques et physiologiques: allélopathie, insecticides, insectes pollinisateurs, phytohormones (acide abscissique, gibbérellines) (Tiwari et Rana, 2015).

I.2.3.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés basiques contenant de l'azote qui précipitent avec des réactifs métalliques à base d'iode (réactif de Dragendorff) et sont biologiquement actifs (Sekkoum et Taleb, 2015).

Leur rôle biologique les place également au cœur du phénomène d'interactions de défense contre les agressions biologiques (Sekkoum et Taleb, 2015).

Les alcaloïdes sont extraits de plantes appartenant à quatre grandes familles botaniques : Papaveraceae, Papilionaceae, Ranunculaceae et Solanaceae (Sekkoum et Taleb, 2015).

Les alcaloïdes se répartissent généralement en trois catégories:

Véritables alcaloïdes, dérivés par biosynthèse d'acides aminés et présents avec au moins un hétérocycle (ex: schanthine) (Sekkoum et Taleb, 2015).

Pseudoalcaloïdes, non dérivés d'acides aminés (exemple: acrocyanine) (Sekkoum et Taleb, 2015).

Protoalcaloïdes, dérivés d'acides aminés mais avec l'azote en dehors de la structure cyclique (par exemple : sérotonine) (Sekkoum et Taleb, 2015).

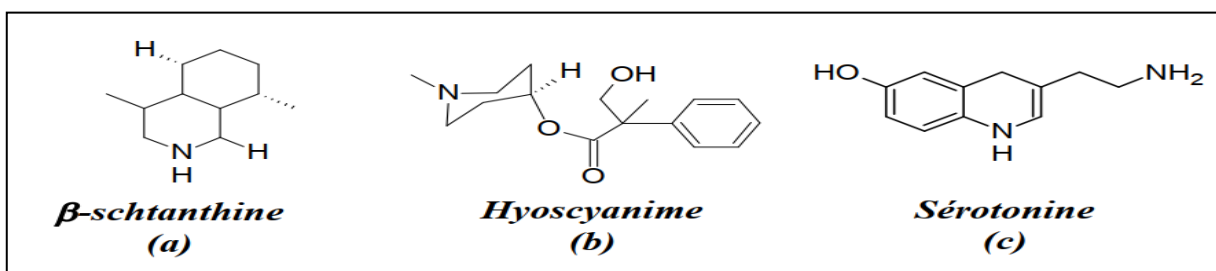


Figure 10: Les principaux types d'alcaloïdes, (a): Alcaloïdes vrais, (b): Pseudo-alcaloïdes, (c): Proto-alcaloïdes (Sekkoum et Taleb, 2015).

I.2.3.4. Flavonoïdes

Les flavonoïdes tirent leur nom du terme flavédo, qui fait référence à la couche externe de la peau d'orange. Cependant, d'autres auteurs pensent que le terme flavonoïde a été emprunté à flavus (latin pour "jaune"). Il désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils forment une importante famille de colorants naturels dominés par le jaune (flavonoïdes), le rouge ou le bleu (**Hareb, 2020**).

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base. Ils ont un squelette carboné de quinze atomes de carbone constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B), qui sont reliés entre eux par une chaîne C3 pour former un hétérocycle (C) (**Hareb, 2020**).

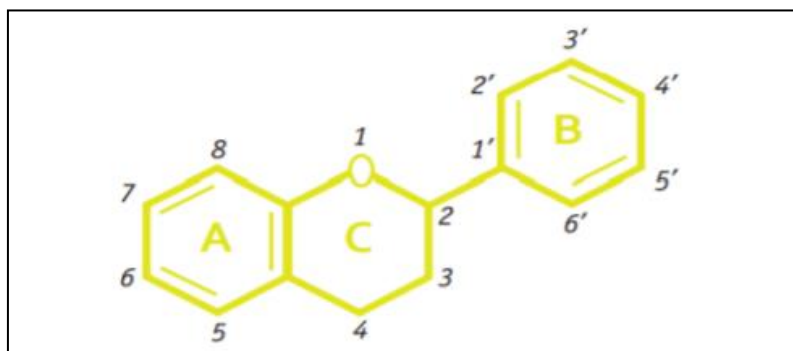


Figure 11: Squelette de base des flavonoïdes (**Labrani, 2022**).

I.3. Plante d'étude

I.3.1. Plante *Periploca laevigata*

I.3.1.1. Genre *Periploca laevigata*

Tableau 06: Classification systématique de *Periploca laevigata* (Benketfi, 2022).

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Spermatophytes</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Angiospermes</i>
Ordre	<i>Gentianales</i>
Famille	<i>Apocynaceae</i>
Genre	<i>Periploca</i>
Espèce	<i>Periploca laevigata</i>
Sous espèce	<i>Periploca laevigata sbsp.laevigata</i>
Nom vernaculaire	<i>Hellab</i>

I.3.1.2. Distribution géographique

Est un élément méditerranéen saharien poussant à l'état sauvage dans le bas et moyen bassin méditerranéen et descendant vers le sud jusqu'au nord et au centre du Sahara. On le trouve en Afrique du Nord (du Maroc à l'Egypte), au sud de l'Espagne,...etc (Zito et Sajevo, 2012)

I.3.1.3. Description botanique

Arbuste feuillu dont toutes les tiges sont ligneuses. Feuilles lancéolées cunéiformes sessiles 5 mm et au moins 5 fois plus long que la largeur. Ombelle subsessile des feuilles. Fleurs jusqu'à 1 cm. Verticille de la corolle à 5 appendices en forme d'arête entre les pétales. Follicules linéaires-lancéolés fourchus 0.5 - 0.8 cm (Quezel et santa, 1963).

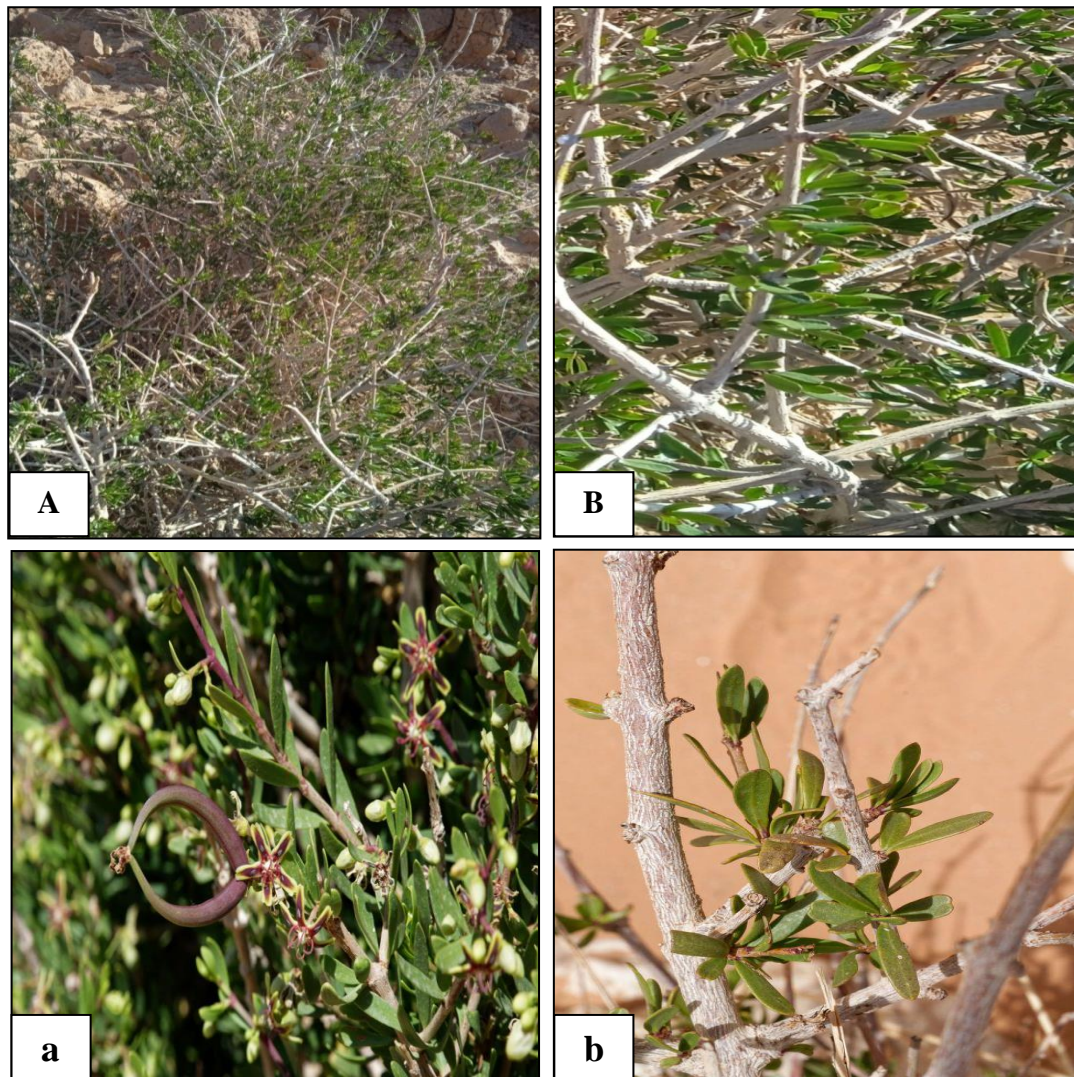


Figure 12: Quelques photos de la plante *Periploca laevigata* ((A , B : photos réelles ; Houari, 2023), (a , b: Anonyme, 2017).

I.3.1.4. Composition chimique

Tableau 07: Quelques métabolites secondaires existe dans cette plante *P. laevigata* (Bouchouka, 2016).

Métabolites secondaire	Alcaloïde	Flavonoïde	Tanin	Saponine	Anthocyanine
Plante <i>Periploca laevigata</i>	-	+++	+++	++	++

I.3.1.5. Utilisations en médecine traditionnelle

La plante *Periploca laevigata* est utilisée en médecine traditionnelle pour la thérapie humaine pour traiter le diabète (Katiri, 2017). Et utilisé dans le traitement des maux de tête et du diabète. Il a été rapporté que les graines, les feuilles et les racines ont diverses activités biologiques telles qu'antiprolifératives, antitumorales et hypotensives (Hajji, 2019).

I.3.2. Plante *Spinacia oleracea*

I.3.2.1. Définition

L'épinard est un légume important car il est riche en minéraux, protéines, vitamines A, B, C, antioxydants et possède le plus haut potentiel d'absorption des radicaux libres d'oxygène. Cette plante a été recommandée en médecine traditionnelle pour le traitement des patients anémiques (Nesrine et Rania, 2022).

I.3.2.2. Genre *Spinacia oleracea*

Tableau 08 : Classification systématique de *Spinacia oleracea* (Boulkroune, 2021).

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	Tracheobionta
Super division	<i>Spermatophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsidé</i>
Sous-classe	<i>Caryophyllidae</i>
Ordre	<i>Caryophyllales</i>
Famille	<i>Amaranthaceae</i>
Genre	<i>Spinacia L.</i>
Espèce	<i>Spinacia oleracea L.</i>
Nom vernaculaire	<i>Selk, épinards</i>

I.3.1.2. Distribution géographique

Les épinards ne sont pas bien connus à l'état sauvage. Il est probablement originaire du nord de l'Iran, de l'Afghanistan et du Turkménistan, où l'on trouve des parents sauvages tels que *Spinacia tetrandra* Steven ex: M. Bieb et *Spinacea turkestanica* Iljin. Il s'est répandu en

Chine au 7^{ème} siècle et en Europe au 12^{ème} siècle. L'épinard est aujourd'hui cultivé partout dans le monde, principalement dans les régions tempérées mais aussi dans les régions plus fraîches des tropiques. En Afrique tropicale, il est cultivé à petite échelle sur les plateaux d'Afrique orientale et australe (**Michel Chauvet, 2018**).

I.3.2.3. Description botanique (Boulkroune, 2021)

Cycle: Tous Les Ans.

Type: Potagèr.

Tige: Erigée de 30 à 60 cm de hauteur, ronde, lisse, sifflante, charnue, parfois rougeâtre.

Feuilles: Alternes, à très longs pétioles dans la partie inférieure, à lobes variables, lobes triangulaires aigus, lisses des deux côtés.

Fleurs:

Fleurs mâles: Sur les longues épines terminales de la pastille et les épines plus courtes du rachis, très nombreuses, sessiles, calice 4-lobé, étamines 4, anthères jumelées, très grandes .

Fleurs femelles: Axillaires, sessiles, denses, calice à 2 pointes avec une corne proéminente de chaque côté, graines devenant épineuses à maturité, effilées, blanches. Capsule 1-loculaire, 1-valvulaire, à bras, à 2 courtes cornes opposées, surmontée d'un ovaire sur un périanthe globuleux à 2-4 dents, avec restes de petits calices.

Fruits: Ils sont constitués de 2 pointes divergentes et lisses.

Graines: Verticales.



Figure 13: La plante *Spinacia oleracea* (épinards) (Nesrine et Rania, 2022).

I.3.2.4. Composition chimique et phytochimique de la plante

Tableau 09: La composition biochimique et phytochimique de *Spinacia oleracea* (Olagoke, 2018 ; Morelock *et al.*, 2008).

La composition biochimique	La composition phytochimique
Vitamine A	Saponins
Vitamine C	Tannins
Calcium	Phénols
Magnésium	Flavonoïdes
Potassium	Glycosides
Phosphore	Stéroïdes
Zinc	Terpènes
Protéines	Cardénolides
Sodium	Phlobatamine
Fer	

I.3.2.5. Utilisations en médecine traditionnelle

Il a été démontré que les extraits d'épinards exercent de nombreux effets bénéfiques, tels que la protection du système chimio et nerveux central et les fonctions anticancéreuses et anti-âge, qui présentent des propriétés antioxydantes, antiprolifératives et anti-inflammatoires dans les systèmes biologiques (Lomnitski *et al.*, 2003).

I.4. Complément alimentaire *Renalof* utilisé dans notre étude

Renalof de *Catalysis*, un complément alimentaire à base de grama. *Renalof* est un complément alimentaire très efficace contre les calculs rénaux. Prendre 3 capsules par jour, une capsule à chaque repas. Ne pas dépasser la dose journalière expressément recommandée. Tenir hors de portée des jeunes enfants. Contient 60 gélules de 325 mg (www.naturitas.fr).

Conservé à température inférieure à 25 C° (Source d'information : sur la boîte).

Marque: *catalysis*.

Catégorie: Vitamines et complément alimentaire.

Fabriquée: en Espagne.

Nouveaux poids: 19,5g.

Tableau 10: Valeurs moyennes (par capsule) (Source d'information : sur la boîte).

Composition	Mg/capsule
Extrait d'agropyron repens (Chinois)	12 mg
Mannitol	88 mg
Fécule de maïs	200 mg
Stéarate de magnésium	25 mg

Tableau 11: Informations nutritionnelles et valeur énergétique (pour 100g) (Source d'information : sur la boîte).

Valeur Energétique	318 Kcal (1330Kj)
Protéine	0,6 g
Glucide	78,0 g
Lipide	0,3 g

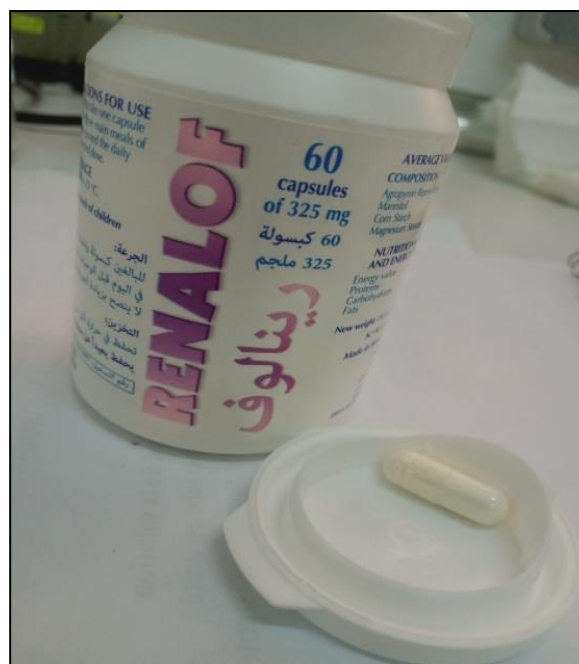


Figure 14: Complément alimentaire *Renalof* 325 mg (Behissa, 2023).

Chapitre (II)

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

Notre travail de recherche a été réalisé au sein de laboratoire de biochimie à l'université Ghardaïa.

II.1. Matériel

- **Complément alimentaire:** *Renalof* de 325 mg.
- **Matériel végétal**

La récolte

✓ La récolte de *Periploca laevigata* ou *Hellab* a été faite le 18 février 2023 dans la wilaya de Ghardaïa, à la région de Galaben (Mutlaq Qoufelfa) située à 32°23'37.28" du nord et 03 °38'29.30" de l'Est, à une distance de 13 km de la commune de Métlili Al Shaanabeh (**Figure 15**).

✓ Le climat de cette région est désertique, caractérisé par une sécheresse estivale sévère et des précipitations minimales en février, mars et avril. Il se compose de plateaux, de sables et de roches clastiques.



Figure 15: Situation géographique du lieu de récolte de *P. laevigata* (**A:** Province de Ghardaïa, **B:** Région de Qalaban (Mutlaq Qoufelfa)) (**Source:** Google Maps).

✓ La récolte de *Spinacia oleracea* ou épinard a été faite le 03 mars 2023 dans la wilaya de Ghardaïa, à la zone Dahia Ben Dahwa située à 32° 32'8.31" N, 03° 36'29.41" E, à une distance de 11 km du siège de l'État (**Figure 16**).

✓ Le climat de cette région est désertique, caractérisé par des étés très secs avec peu de précipitations en février, mars et avril. Il se compose de plateaux, de sable.



Figure 16: Situation géographique du lieu du récolte de *S. oleracea* (**A:** Province de Ghardaïa, **B:** la zone Dahia Ben Dahwa) (**Source :** Google Maps).

Préparation de la matière végétale

✓ Après la récolte, les feuilles des plantes sont nettoyées, lavées à l'eau du robinet pour dépoussiérer, et séchées à température ambiante à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant 7 jours, afin de préserver au maximum l'intégrité de leur composition chimique. Après séchage, les feuilles des deux plantes sont finement broyées et stockées dans des sacs en papier jusqu'à leur utilisation.

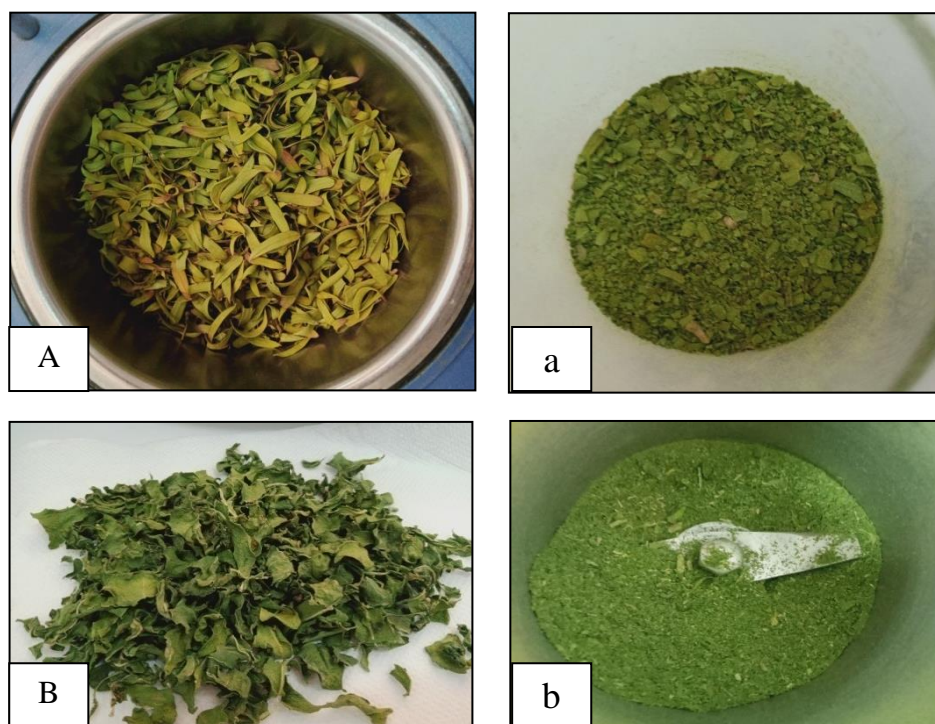


Figure 17: Photo de la matière végétale plante de *P. laevigata* (A: sèche; a: broyée) et plante de *S. oleracea* (B: sèche; b: broyé) (Houari et Behissa, 2023).

➤ **Calculs rénaux**

✓ Les calculs rénaux utilisés dans notre travail sont de deux types. le premier type est: d'oxalate de calcium et le deuxième type est: d'acide urique.

✓ Le premier type de calcul revient à une personne de 32 ans à l'hôpital du 18 février à Metlili Chaanbeh. Pour le deuxième type de calcul il revient à une personne de Laghouat. Puis les deux pierres ont été lavées à l'eau distillée, séchées sur papier filtre pendant une heure et pesées.

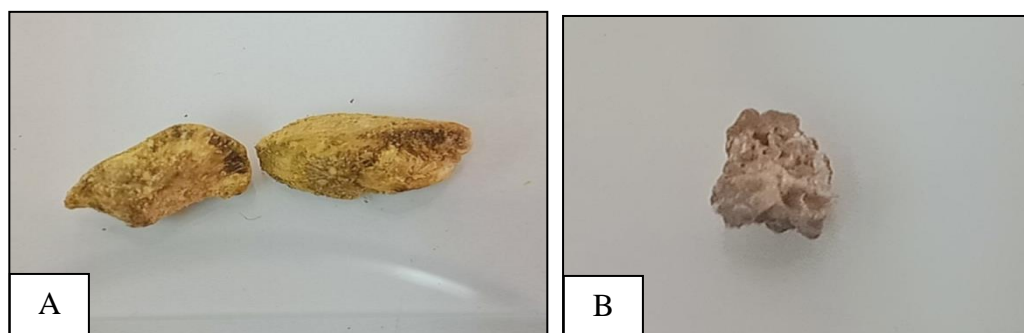


Figure 18: Types de calculs rénaux utilisés dans notre recherche (A: Calculs d'acide urique, B: Calculs d'oxalate de calcium) (Houari, 2023).

II.2. Méthodes

II.2. Technique d'extraction

Dans notre nous avons utilisé deux méthodes d'extraction des ingrédients actifs: l'extraction par macération et décoction.

II.2.1. Macération

Une masse de 6 g de poudre de la plante (feuilles) séchée a été dissous dans 120 ml d'éthanol (70%). La solution obtenue a ensuite d'une macération pendant 24 heure, le mélange hétérogène a été filtré sur papier Whatman n°1 (**Banouh et maiz, 2019**).

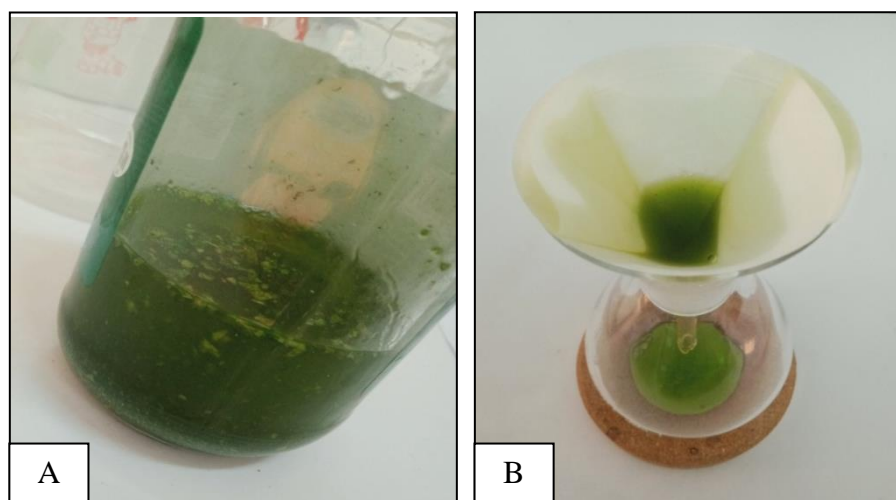


Figure 19: Photo de macération (**A** : macération pendant 24 heure, **B** : filtration sur papier Whatman n°1) (**Houari et Behissa, 2023**).

➤ Après que les 24 heures se soient écoulées et que les solutions aient été filtrées, nous passons par le processus d'évaporation.

II.2.1.1. Elimination de l'éthanol (70%)

La solution obtenue après la filtration est évaporée sous vide pour obtenir l'extrait brut. Cela s'est fait par un appareil retavapeur (**figure 20**) à une température 45 à 50 °C jusqu'à évaporation d'éthanol. En ajoute 30 ml d'éthanol pure pour récupérer les composés qui se colle d'une manière quasi total, sur les parois du ballon, puis chaque extrait a été filtré par papier filtre Wathman pour éliminer les résidus et les lipides (après 24 heures de conservation à température ambiante).

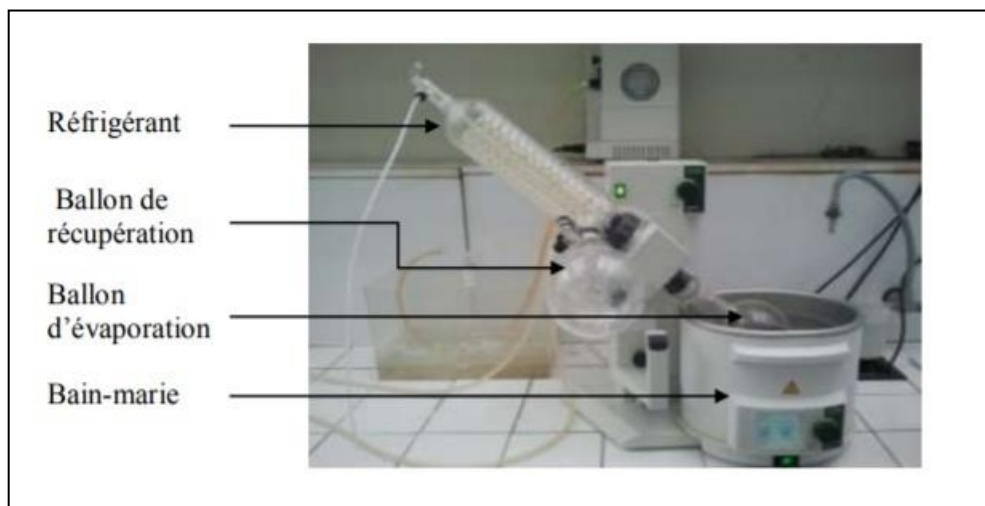


Figure 20: Evaporateur rotatif (Rihane et Benlaharche, 2013).

Le rendement d'extraction a été calculé suivant la formule:

$$R (\%) = (M_1 - M_0 / M) \times 100$$

Avec:

R (%): Rendement en pourcentage.

M₁: Masse du ballon vide en (g).

M₀: Masse du ballon après l'évaporation en (g).

M: Masse de la plante sèche en (g).

II.2.3. Screening phytochimique des extraits:

Celle-ci est basée sur l'analyse qualitative des réactions de coloration et/ou de précipitation des extraits préparés selon (Benalia, 2020):

II.2.3.1. Tanins

2 ml de la solution d'extrait dilué avec une concentration de 1 g/l ont été placés dans le tube à essai. Ajouter ensuite quelques gouttes de chlorure ferrique (1%) à l'extrait dilué. En présence de gallotannins, on observe une couleur noir bleuté, alors qu'en présence de tanins catéchiques, cette couleur est brun verdâtre (Benalia, 2020).

II.2.3.2. Alcaloïdes

Ajouter 1 ml de l'extrait dilué avec une concentration de 1 g/l dans un tube à essai et ajouter 5 gouttes de réactif de Dragendorff. Après agitation, la solution est laissée au repos pendant 24 heures. Après centrifugation à 2000 tr/min pendant 5 minutes, si un précipité jaune-orange apparaît, cela signifie qu'il y a des alcaloïdes dans notre extrait (**Benalia, 2020**).

II.2.3.3. Anthocyanes

Ajouter 2 ml de solution HCl (2 N) à 1 ml d'extrait dilué à une concentration de 1 g/l. Ajoutez ensuite quelques gouttes d'ammoniac concentré. En présence d'anthocyanes, on observe une coloration rose ou rouge suivie d'une coloration bleu-violet (**Benalia, 2020**).

II.2.3.4. Flavonoïdes:

La réaction de détection des flavonoïdes consistait à traiter 1 ml d'extrait dilué (1 g/l) avec 1 ml d'AlCl₃ (2%). Les flavonoïdes sont mis en évidence s'ils apparaissent de couleurs jaunes après 15 minutes d'incubation à température ambiante (**Benalia, 2020**).

II.2.3.5. Saponines

Pour mettre en évidence les saponines, nous avons introduit 2 ml de solutions diluées (1 g/l) de chaque extrait dans des éprouvettes. Agiter chaque tube pendant 15 secondes, puis laisser reposer 15 minutes. Des hauteurs de mousse soutenues supérieures à 1 cm indiquent la présence de saponines (**Benalia, 2020**).

II.2.3.6. Composés réducteurs

Ajouter 20 gouttes de réactif de Fehling à 1ml de la solution à tester avec une concentration de 1g/l, puis chauffer au bain-marie à 100 °C pendant 1 heure. L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs (**Benalia, 2020**).

II.2.3.7. Stérols et terpénoïde

Prélever 1 ml de chaque extrait à une concentration de 1 g/l et mélanger avec 0,5 ml d'anhydride acétique, puis ajouter de l'acide sulfurique. Si une réaction positive se produit, un anneau brun rougeâtre ou violet se formera au niveau de la zone de contact des deux phases (**Benalia, 2020**).

II.2.4. Evaluation des taux des composés phénoliques et flavonoïdes

II.2.4.1. Dosage des polyphénols totaux

Principe

La teneur totale en composés phénoliques a été estimée par la méthode de Folin_Ciocalteu, qui implique l'utilisation de réactifs réduits par des groupes hydroxyles phénoliques, entraînant la formation de produits bleus dans les solutions alcalines (**Hadji et Tarfaya, 2019**).

Mode opératoire

La teneur en composés phénoliques a été déterminée selon la méthode suivant: Mélanger un volume de 500 µl d'extrait éthanolique avec 2,5 ml de réactif de Folin_ciocalteu dilué au 1/10. Le mélange a été incubé à température ambiante pendant 2 minutes, puis 2 ml de bicarbonate de sodium (75 g/l) ont été ajoutés. Incuber le mélange dans un bain-marie à 50 °C pendant 15 min. le blanc c'est pour régler le zéro de l'appareil à 765 nm. La concentration en composés phénoliques totaux a été exprimée en (mg EAG/g) par étalonnage de la courbe obtenue par référence à l'acide gallique (**Hadji et Tarfaya, 2019**).

III.2.4.2. Dosage des flavonoïdes

Principe

La méthode est basée sur la capacité des flavonoïdes à chélater les métaux (fer et aluminium), une propriété propre aux groupes hydroxyles des polyphénols flavonoïdes, qui en présence d'aluminium produit un complexe jaunâtre teinture (**Boucherit et Guettaf temam, 2021**).

La couleur jaune est directement proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présents dans l'extrait (**Boucherit et Guettaf temam, 2021**).

Mode opératoire

Une aliquote de 1 ml de l'extrait est ajoutée à un volume égal de solution d'AlCl₃ à 2%. Agiter vigoureusement le mélange et lire l'absorbance à 430 nm après incubation à température ambiante pendant 10 minutes dans l'obscurité. La quercétine (1–40 mg/l) a été

utilisée comme étalon pour quantifier la teneur de nos extraits en flavonoïdes totaux la courbe d'étalonnage (Hadji et Tarfaya, 2019).

Remarque

Dosage des polyphénols totaux et dosage des flavonoïdes sont répété trois (3) fois.

II.2.5. Effet des plantes et de complément alimentaire sur le poids de calculs rénaux (le modèle gravimétrie)

On utilise la technique d'extraction par décoction pour étudier l'effet du *Renalof* et des extraits des plantes sur les calculs rénaux

II.2.5.1. Décoction

Une décoction consiste à faire bouillir la plante dans l'eau. Ils libèrent peu à peu des substances médicinales dans l'eau pendant le processus de cuisson (Nicolas, 2009).

II.2.5.1.1. Méthode de préparation

Un extrait de chaque plante a été préparé par décoction pendant 30 minutes de 6 g de poudre de la matière végétale dans 120 ml de eau distillée préalablement porté à ébullition à 100 °C. Chaque extrait a été filtré puis mis dans un flacon en présence de calculs d'oxalate de calcium et autre flacon présence de calculs acide urique pendant 15 jours.

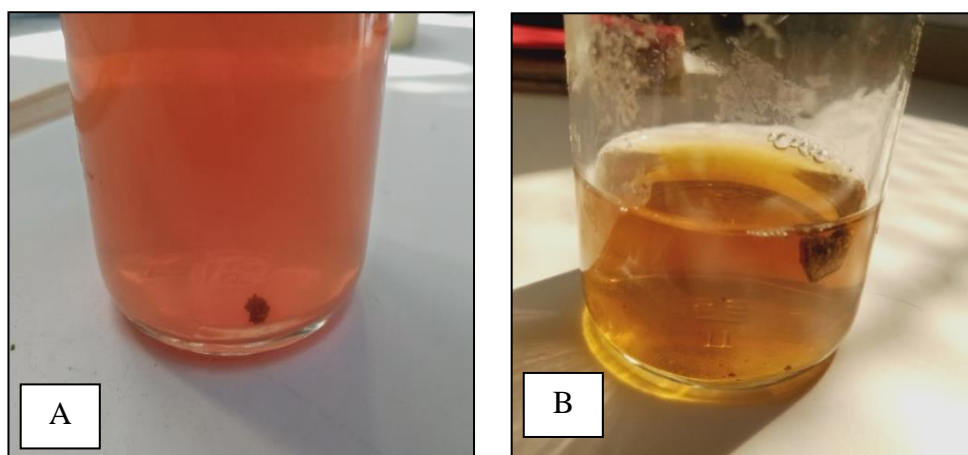


Figure 21: Tisane de calculs rénaux (**A:** type I, à tisane d'al-Hellab, **B:** type II à tisane épinard) (Houari et Behissa, 2023).

II.2.5.2. Préparation de la solution du complément alimentaire (*Renalof*)

La solution du complément alimentaire de *Renalof* est préparé par dissolution d'une capsule dans un bécher qui contient à 120 ml d'eau distillée, et mélanger pour obtenir une solution homogène mis dans un flacon en présence de calculs d'oxalate de calcium et autre flacon présence de calculs acide urique pendant 15 jours.



Figure 22: Calculs rénaux de type I et de type II dans la solution du complément alimentaire (Houari et Behissa, 2023).

II.2.5. Evaluation de l'activité anti lithiasique

II.2.5.1. Cinétique de la cristallisation d'oxalate de calcium en absence des extraits de la plante *P. laevigata*

Préparer des solutions de chlorure de calcium et d'oxalate de sodium avec des concentrations finales de 5 mmol/l et 7,5 mmol/l dans un tampon contenant 0,05 mol/l Tris et 0,15 mol NaCl/l, pH 6,5, respectivement. Mélanger 1 ml de solution de chlorure de calcium avec 1 ml d'eau distillée dans une cuvette pour lire le blanc. La cristallisation a été initiée en ajoutant 1 ml de solution d'oxalate de sodium. La température a été maintenue à 37 °C sous agitation constante. La densité optique de la solution a été mesurée à 620 nm pendant 10 min. Nous avons obtenu la densité optique en fonction du temps (t), puis nous avons calculé la pente de turbidité de la fraction en croissance. Dans tous nos essais, dans les mêmes conditions expérimentales, les mesures ont été répétées trois fois pour calculer la valeur moyenne de la pente de turbidité, du temps d'induction et de l'écart type (Hadji et Tarfaya, 2019).

II.2.5.2. Cinétique de la cristallisation d'oxalate de calcium en présence des extraits de la plante *P. laevigata*

Les recherches se poursuivent pour découvrir l'effet des extraits de plantes sur la formation de calculs (formation d'oxalate de calcium) in vitro. Dans cette expérience, l'effet de l'extrait sur l'inhibition a été réalisé à des concentrations d'extrait (1 mg/ml, 1,5 mg/ml, 0,5 mg/ml). Pour cela, 1 ml de solution de chlorure de calcium a été mélangé avec 1 ml d'extrait à différentes concentrations (1 mg/ml, 1,5 mg/ml, 0,5 mg/ml). Ajouter 1 ml de solution d'oxalate de sodium pour démarrer la cristallisation et maintenir la température à 37 °C. Suivre la densité optique de la solution pendant à 620 nm. Le taux de nucléation a été estimé en comparant les temps d'induction en présence d'extraits et de témoins (**Hadji et Tarfaya, 2019**).

Le pourcentage d'inhibition (I%) est calculé par la formule suivant:

$$I\% = (1 - [P_{pi} / P_{ai}]) \times 100$$

Avec:

I%: Pourcentage d'inhibition.

P_{pi}: La pente turbidimétrique en présence d'extrait de plante.

P_{ai}: La pente turbidimétrique en absence d'extrait de plante.

II.2.6.3. Cinétique de la cristallisation d'oxalate de calcium en présence du complément alimentaire *Renalof* (contrôle positif)

1 ml de solution de chlorure de calcium mélangée avec 1 ml de C+ de *Renalof* a concentration 1 mg/ml. La cristallisation a été démarrée en ajoutant 1 ml de solution d'oxalate de sodium. La température était maintenue à 37 °C. La densité optique de la solution a été mesurée à 620 nm pendant 10 min (**Addou et al., 2011**).

II.2.7. Etude de la cristallisation par microscope optique

Les échantillons obtenus à partir des tests de nucléation et d'agrégation ont été observés sous un microscope inversé équipé d'un appareil photo numérique à un grossissement de 40X pour visualiser la formation et l'inhibition de la formation des cristaux d'oxalate de calcium (**Abu Zarin et al., 2021**).

Chapitre (III)

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1. Rendement d'extraction

Le poids de l'extrait sec a été déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation).

Le rendement d'extraction des deux plantes étudiées par la méthode de macération est présenté dans la **figure 23**.

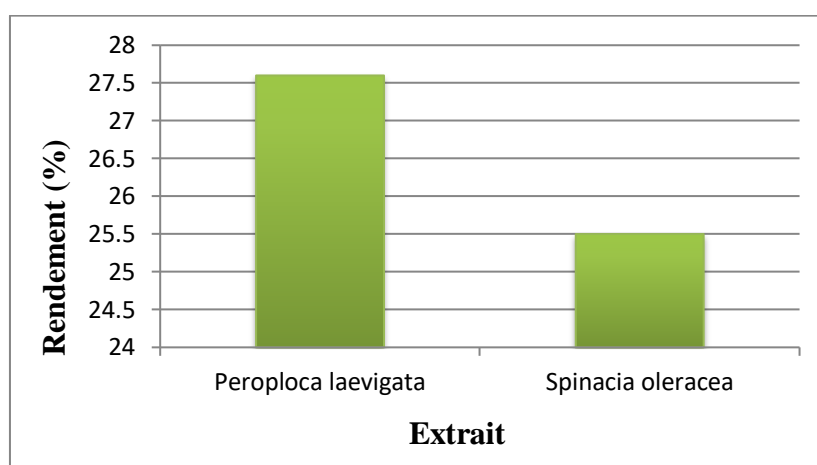


Figure 23: Rendement d'extraction des extraits obtenues à partir des parties aérienne de *P. laevigata* et *S. oleracea*.

On note que le rendement d'extraction à l'éthanol, enregistré un pourcentage, varié entre 27,66% et 25,5%.

(**Bouchouka, 2016**) ont rapporté des résultats sur l'extraction par macération hydrométhanolique de plantes *P. laevigata* avec un rendement de 20,82%.

Pour la plante de *S. oleracea* en a utilisé dans notre étude comme un promoteur de nucléation et d'agrégation pour la comparaison avec le médicament et la plante de *P. laevigata*.

Remarque

Le rendement d'extraction dépend de plusieurs facteurs qui affectent les performances d'extraction, tels que la taille des particules, les propriétés du solvant, la température, le temps d'extraction et le degré d'agitation.

III.2. Analyse phytochimique des extraits

Les plantes ont la capacité de synthétiser un nombre illimité de substances, dans ce **tableau (12)** résume les résultats du screening phytochimique.

Tableau 12: Résultats de screening phytochimique des plantes étudiée.

Métabolite Testé	Extrait	Couleur résulte	Résultats obtenue
Tanins	EP	brune verdâtre	+
	ES	Vert	-
Alcaloïdes	EP	Précipitation rouge-orange	+
	ES	Précipitation rouge-orange	+
Anthocyanes	EP	Transparente	-
	ES	Transparente	-
Flavonoïdes	EP	Coloration jaune	+
	ES	Coloration jaune	+
Saponines	EP	Formation d'une mousse persistante	+
	ES	Aucune mousse	-
Composés réducteurs	EP	Précipitation rouge brique	+
	ES	Précipitation rouge brique	+
Stérols et triterpènes	EP	Formation de deux phases et un couleur marron	+
	ES	Formation de deux phases et un couleur marron	+

La présence de alcaloïdes, de flavonoïdes, de composé réducteurs, stérols et triterpènes, a été découverte dans les deux extraits de la plante *P. laevigata* et *S. oleracea*.

Tanins Les saponines présents dans l'extrait de la plante *P. laevigata* et absence dans l'extrait de *S. oleracea*.

Anthocyanes sont absence dans les deux extraits de *P. laevigata* et *S. oleracea*.

Les saponines présents dans l'extrait de la plante *P. laevigata* et absence dans l'extrait de *S. oleracea*.

Remarque

Cette étude phytochimique qualitative a montré que les groupements chimiques identifiés dans tous les extraits végétaux étudiés (*P. laevigata* et *S. oleracea*) les dotaient de propriétés pharmacologiques remarquables, pouvant justifier leurs multiples indications thérapeutiques et être utilisées en thérapie traditionnelle.

III.3. Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes

III.3.1. Teneurs en polyphénols totaux

La teneur en polyphénols des extraits éthanoliques de *P. laevigata* et *S. oleracea* a été obtenue à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique comme étalon ayant l'équation ($y = 3,3261x$ et $R^2 = 0,9927$). Elle est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g MS).

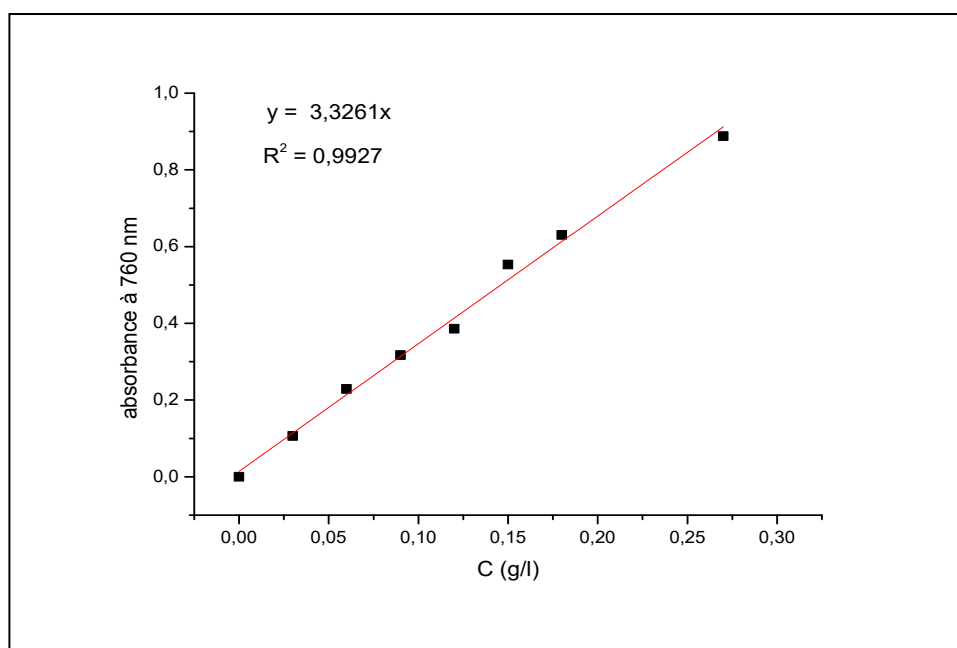


Figure 24: Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

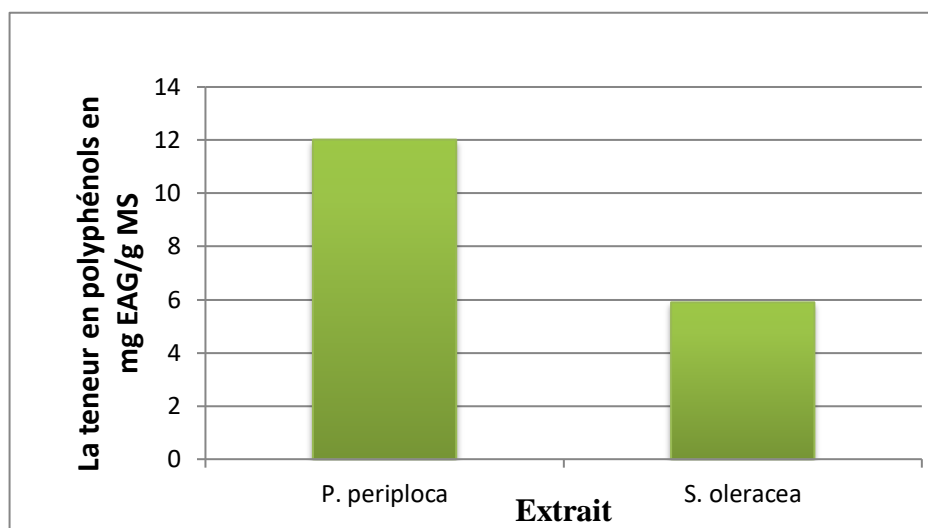


Figure 25: Teneur en polyphénols dans les deux plantes (mg EAG/g MS).

L'extrait éthanolique de la plante *P. laevigata* a enregistré la teneur en polyphénols totaux la plus élevée ($12,02 \pm 0,15$ mg EAG/g MS), tandis que la teneur en polyphénols totaux la plus faible était dans l'extrait de la plante *S. oleracea* ($5,9 \pm 0,422$ mg EAG/g MS).

III.3.2. Teneurs en flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des extraits éthanoliques de *P. laevigata* et *S. oleracea* ont été obtenues à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec la quercétine comme standard avec l'équation ($y = 36,37x$ et $R^2 = 0,999$). Elle est exprimée en milligrammes d'équivalent quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

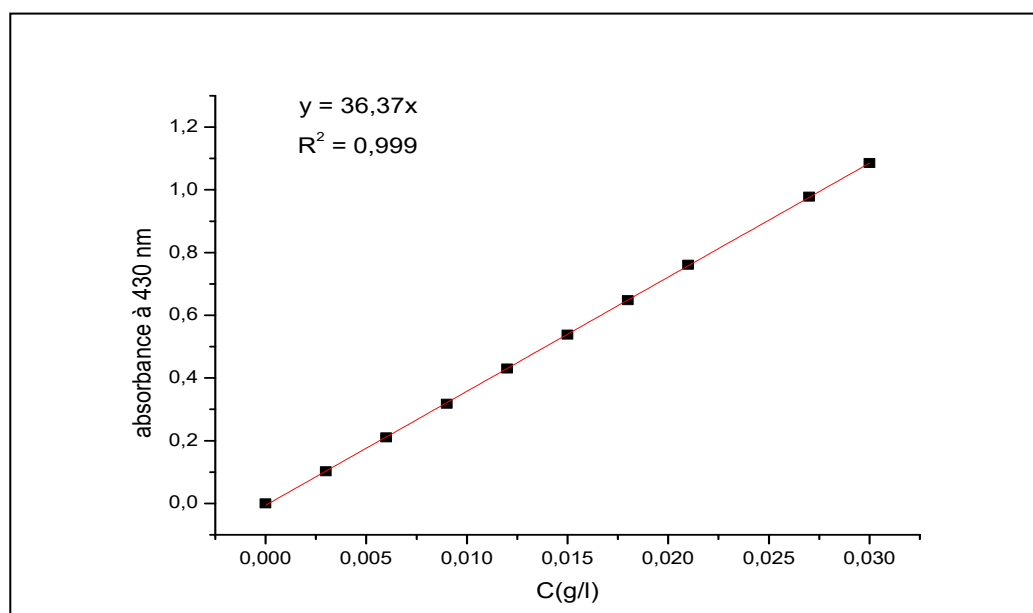


Figure 26: Courbe d'étalonnage de quercétine.

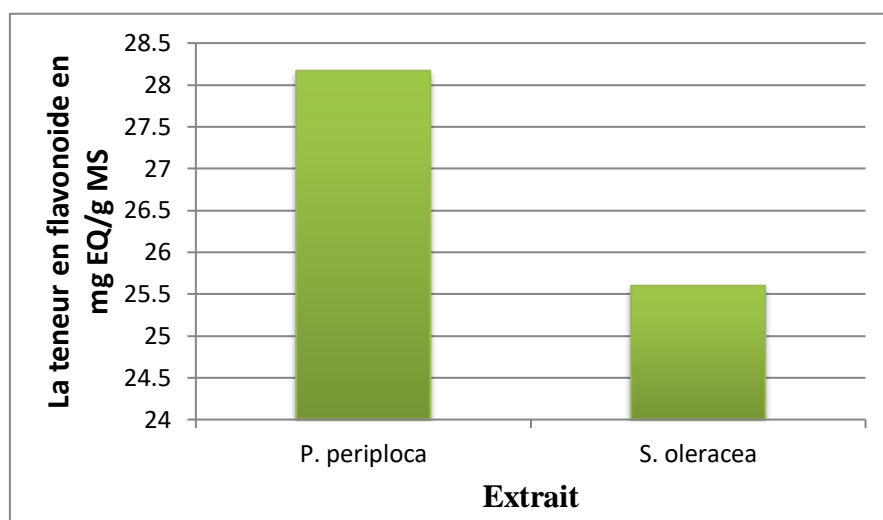


Figure 27: Teneur en flavonoïde dans les deux plantes (mg EQ/g MS).

La grande distinction entre les plantes apparaît au niveau de la richesse de certaines et la pauvreté des autres, la plante de *P. laevigata* enregistre un maximum de flavonoïdes ($28,17 \pm 0,464$ mg EQ/g MS) tandis que la plante de *S. oleracea* renferme des teneurs plus faibles ($25,6 \pm 0,068$ mg EQ/g MS).

Remarque

Ce résultat peut être dû au temps d'extraction. En effet, le temps de macération est si long (24 heures) qu'il peut entraîner la dégradation de certaines substances naturelles comme les flavonoïdes.

III.4. Effet des plantes et de complément alimentaire sur le poids de calculs rénaux (le modèle gravimétrie)

L'effet de l'extrait de plante *P. laevigata* et *S. oleracea* et un C+ *Renalof* sur les deux types de calculs rénaux a été étudié *in vitro* dans un laboratoire biochimique. Les résultats sont comparés au pouvoir de dissolution ou la formation des calculs rénaux sur les deux calculs durant 15 jours, les résultats obtenus sont résumés dans le **tableau 13**.

Tableau 13: Le pourcentage de dissolution des calculs rénaux en présence du tisane de la plante *P. laevigata* et complément alimentaire *Renalof*.

L'extrait	Tisane		Complément alimentaire	
	<i>Peroploca laevigata</i>		<i>Renalof</i>	
Type des calculs urinaire	CO	CA	CO	CA
Le poids initial en g	0,0244	0,2458	0,0174	0,086
Le poids final en g	0,0233	0,2291	0,0169	0,0848
Dissolution %	4,51	6,79	2,87	1,39

L'extrait de *P. laevigata* a montré un pouvoir de solubilisation supérieure en présence des deux types morphologiques des calculs CO et CA avec de pourcentages de dissolution vaux à 4,51% et 6,79% respectivement.

Le complément alimentaire a donné un pourcentage de dissolution vaux à 2,87% et 1,39% des calculs CO et CA respectivement.

Tableau 14: Le pourcentage d'agglomération des calculs rénaux en présence du tisane de la plante de *S. oleracea*.

L'extrait	Tisane	
	<i>Spinacia oleracea</i>	
Type des calculs urinaire	CO	CA
Le poids initial en g	0,188	0,1233
Le poids final en g	0,194	0,1316
Agglomération %	3,19	6,73

S. oleracea a montre un pouvoir d'agglomération des calculs rénaux par un pourcentage 3,19% et 6,73% des calculs CO et du calcul CA respectivement.

IV.5. Evaluation de l'activité antilithiasique

La turbidité ont été mesurée par spectrophotomètre à 620 nm sur l'eau distillée (contrôle négative), *Renalof* (contrôle positive) et le *P. laevigata* (0,5 ; 1 et 1,5 mg/ml) a différent concentration contre la formation de l'oxalate de calcium.

Les changements de turbidité des différentes solutions (contrôle négative, Control positive et à trois concentration d'extraits: 0,5 ; 1 et 1,5 mg/ml) ont été tracés au cours de temps.

III.5.1. Cinétique de la cristallisation d'oxalate de calcium en absence de l'extrait de la plante *P. laevigata*

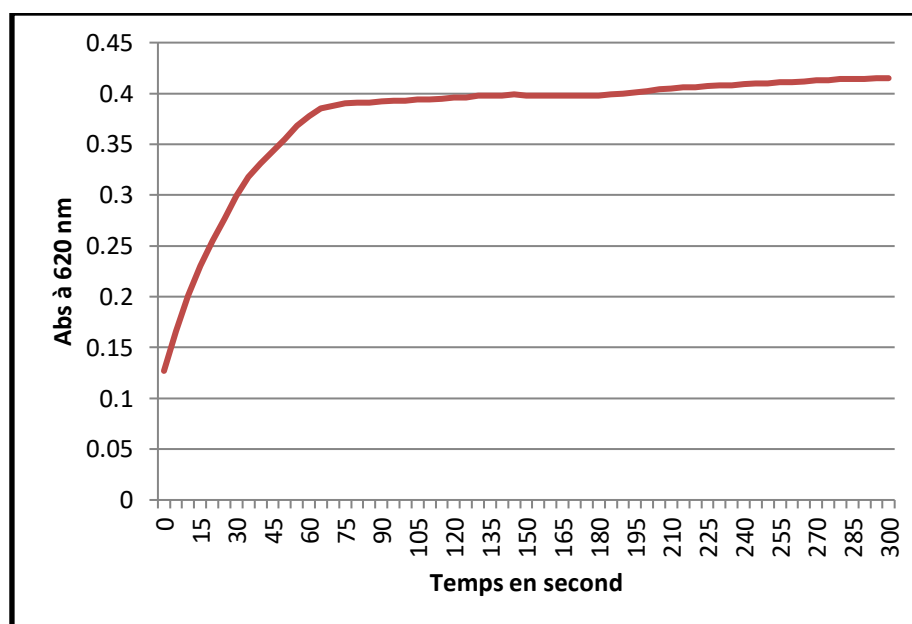


Figure 28: Evolution de la cinétique de cristallisation d'oxalate de calcium sans inhibiteur (Pente: 0,00332659 Do/s).

Tableau 15: Paramètre turbidimétrique de la cristallisation oxalocalcique en absence l'inhibiteur.

Sans inhibiteur	pente (Do/s)	I%
[Ca ²⁺] et [Ox]	0,00332659	---

III.5.2. Cinétique de la cristallisation d'oxalate de calcium en présence de l'extrait de la plante *P. laevigata*

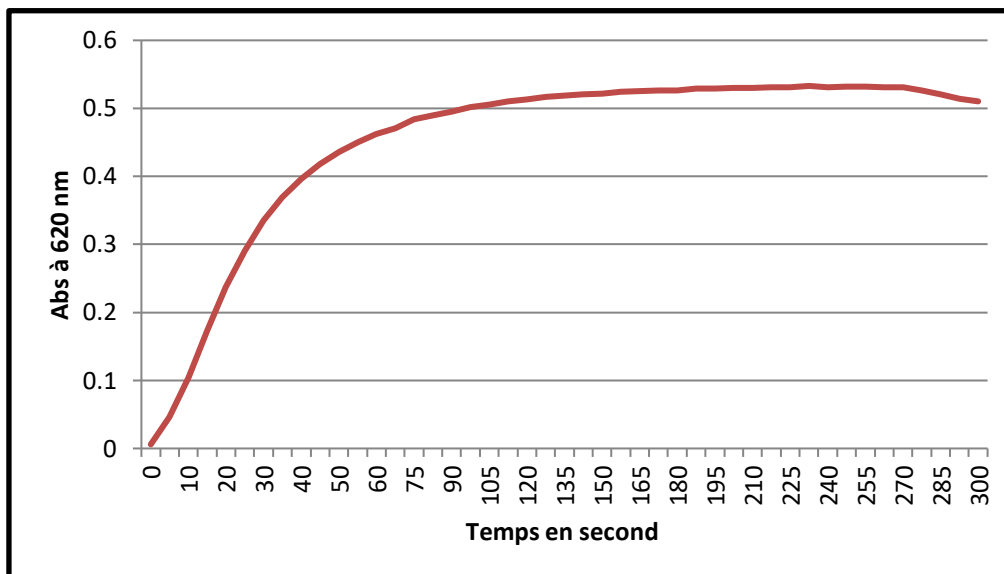


Figure 29: Evolution de la cinétique de cristallisation d'oxalate de calcium en présence de l'extrait de la plante *P. laevigata* à concentration 0,5 mg/ml (**Pente:** 0,00303199 Do/s).

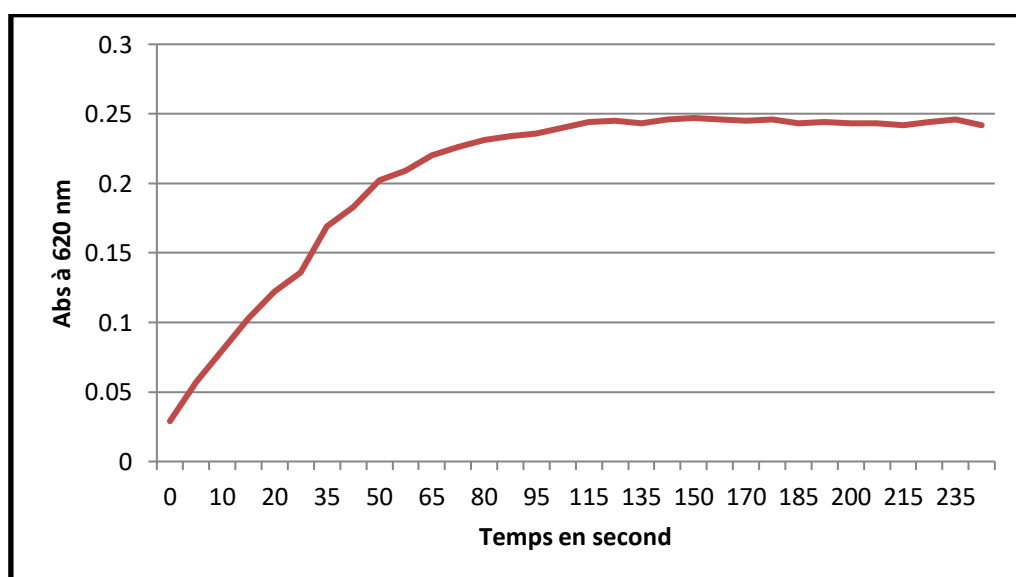


Figure 30: Evolution de la cinétique de cristallisation oxalocalcique en présence de l'extrait de la plante *P. laevigata* à concentration 1 mg/ml (**Pente:** 0,00243624 Do/s)

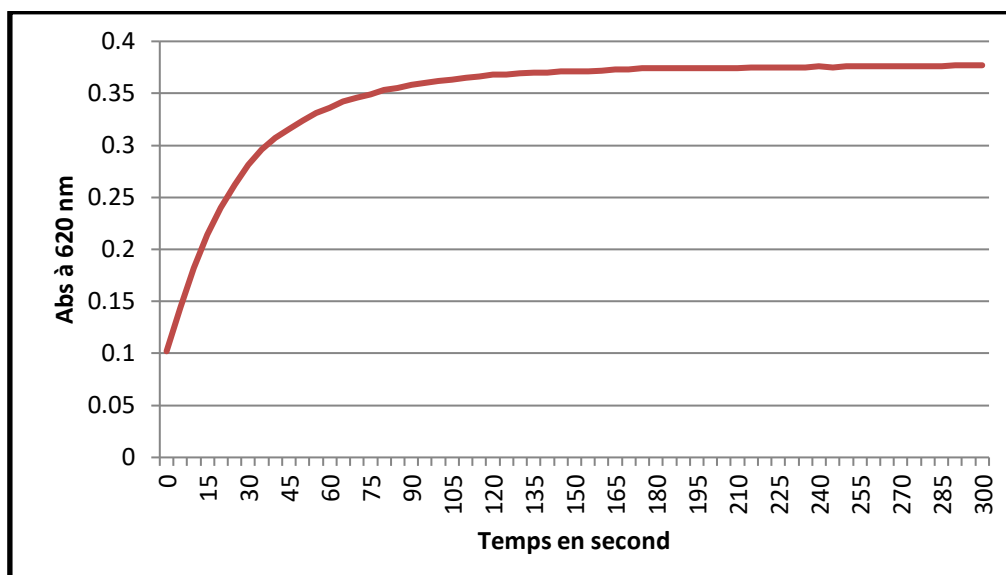


Figure 31: Evolution de la cinétique de cristallisation oxalocalcique en présence de l'extrait de la plante *P. laevigata* à concentration 1,5 mg/ml (**Pente:** 0,0013 Do/s).

Tableau 16: Paramètre turbidimétrique de la cristallisation oxalocalcique en présence d'extrait de la plante *P. laevigata*.

Extrait (mg/ml)	Pente (Do/s)	I %
0,5	0,00303199	8,85
1	0,00243624	26,76
1,5	0,0013	61,56

III.5.3. Cinétique de la cristallisation d'oxalate de calcium en présence de complément alimentaire de *Renalof*

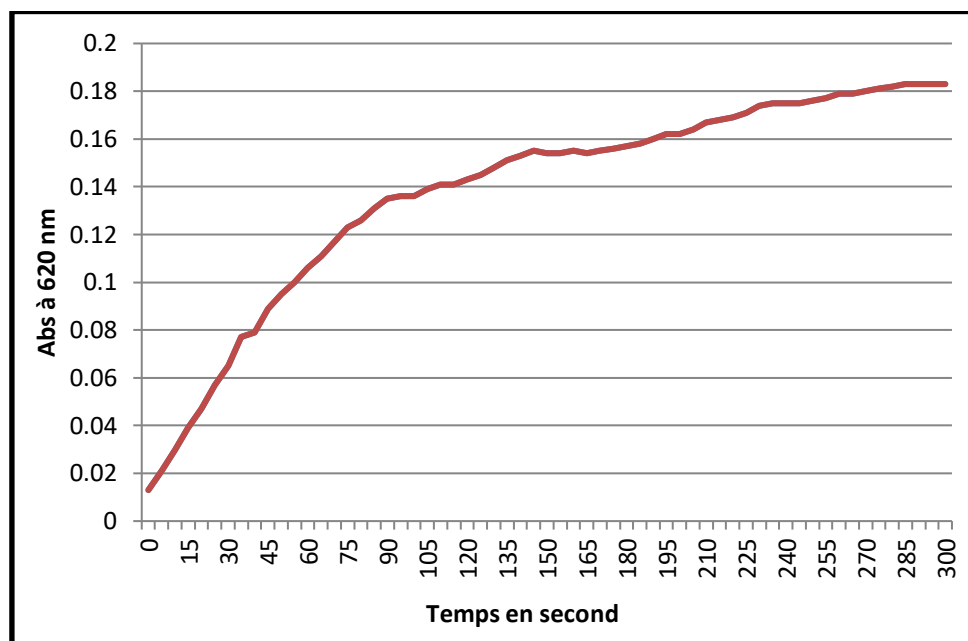


Figure 32: Evolution de la cinétique de cristallisation oxalocalcique en présence du complément alimentaire (**Pente:** 0,00103108 Do/s).

Tableau 17: Paramètre turbidimétrique de la cristallisation oxalocalcique en présence du complément alimentaire *Renalof*.

Complément alimentaire <i>Renalof</i>	Pente (Do/s)	I %
1mg/ml	0,00103108	69

Après avoir étudié l'absorbance et la turbidité de la solution d'oxalate de calcium, nous avons conclu les résultats suivants:

Dans notre étude, il a été observé que la faible dose d'extrait de la plante *P. laevigata* (0,5 mg/ml) a montré 8,85% d'inhibition, alors que la dose plus élevée (1,5 mg/ml) a montré 61,56% d'inhibition (**tableau 16**), et l'extrait de la plante *P. laevigata* a un pourcentage d'inhibition de 26,76% pour la dose moyenne (1 mg/ml), alors que la dose du complément alimentaire (1 mg/ml) a donné la plus inhibition de 69% (**tableau 17** et **figure 32**).

Dans cette étude, *Renalof* a été choisi comme témoin positif pour comparer l'inhibition des activités de nucléation et d'agrégation.

Donc on peut dire sur ce résultats obtenus à partir du test de nucléation ont confirmé que l'extrait contient des agents empêchant la nucléation qui empêcheront la croissance des calculs rénaux.

Les effets inhibiteurs des extraits et le complément alimentaire *Renalof* (contrôle positif) sur la formation d'oxalate de calcium ont été comparés avec autre résultats comme la suite:

Notre résultats sont supérieurs à obtenus par **Banouh et Maiz**, ont été réalisé sur l'extrait de feuille *Paronychia argentea* observé que la faible dose d'extrait des feuilles (0,1mg/ml) a montré 25,87% d'inhibition, alors que la dose la plus élevé (5 mg/ml) a montré 50,56% d'inhibition (**Banouh et Maiz, 2019**).

Notre résultats sont plus proche à ceux obtenus aussi par **Banouh et Maiz**, ont été réalisé sur l'extrait de fleur *Paronychia argentea* observé que la faible dose d'extrait des fleurs (0,1 mg/ml) a montré 46,58% d'inhibition, alors que la dose la plus élevé (5 mg/ml) a montré 70,97% d'inhibition (**Banouh et Maiz, 2019**).

Le COM, un polymorphe de CaOx, se trouve le plus souvent dans la lithiase urinaire, qui est plus stable avec une capacité plus agrégative et adhésive. Ainsi, la COM génère de gros agrégats de cristaux qui se déposent fortement dans le tissu épithélial rénal, provoquant des lésions. Dans cette étude, tous les extraits de plantes ont inhibé l'agrégation de COM, ce qui pourrait être dû à la présence de flavonoïdes, de composés phénoliques, de saponines et de tanins, ce qui a été rapporté comme inhibant de formation de calculs urinaires. De plus, la croissance du polymorphe CaOx est un marqueur de l'événement de dépôt pour les ions formant des cristaux dans la solution sursaturée. Cette incidence de la croissance des cristaux de CaOx a également été surveillée dans la présente étude. Tous les extraits de plante sélectionné ont montré une activité inhibitrice de croissance (**Aryal et al., 2021**).

Remarque

Il a été constaté que l'augmentation de la concentration d'extraits de plantes entraînant l'augmentation du pourcentage d'inhibition de la cristallisation de l'oxalate de calcium.

III.6. Etude de la cristallisation par microscope optique

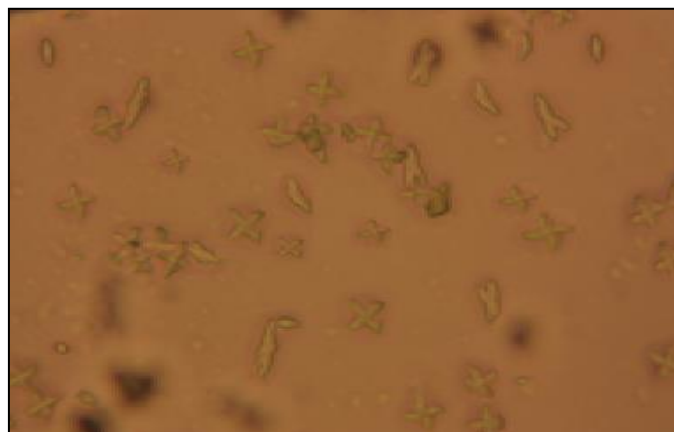


Figure 33: Photo des cristaux oxalocalcique en absence de l'extrait de la plante *P. laevigata* et *S. oleracea* prise par microscope optique à (GX 40) après 5 minute.

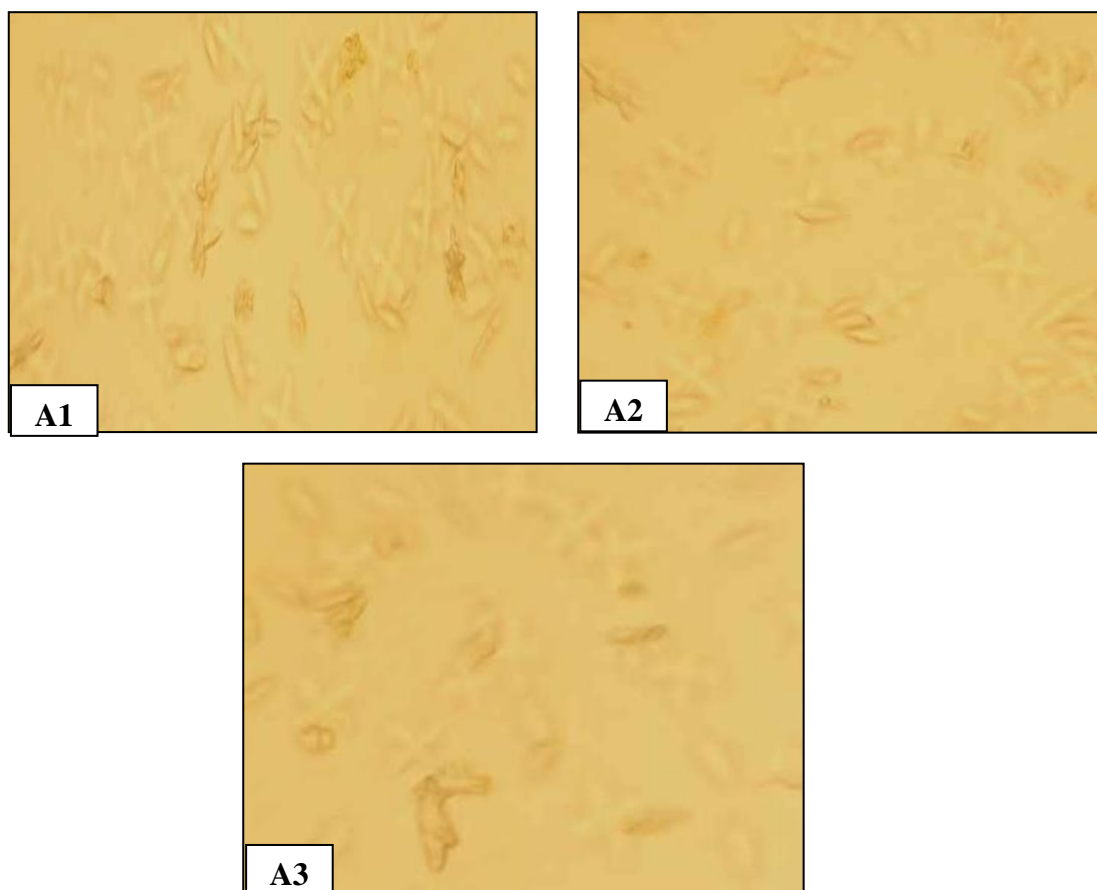


Figure 34: Photos des cristaux oxalocalcique en présence l'extrait de la plante du *S. oleracea* à différent concentration (A1: 1,5 mg/ml, A2: 1 mg/ml, A3: 0,5 mg/ml) prise par microscope optique à (GX 40) après 5 minute.

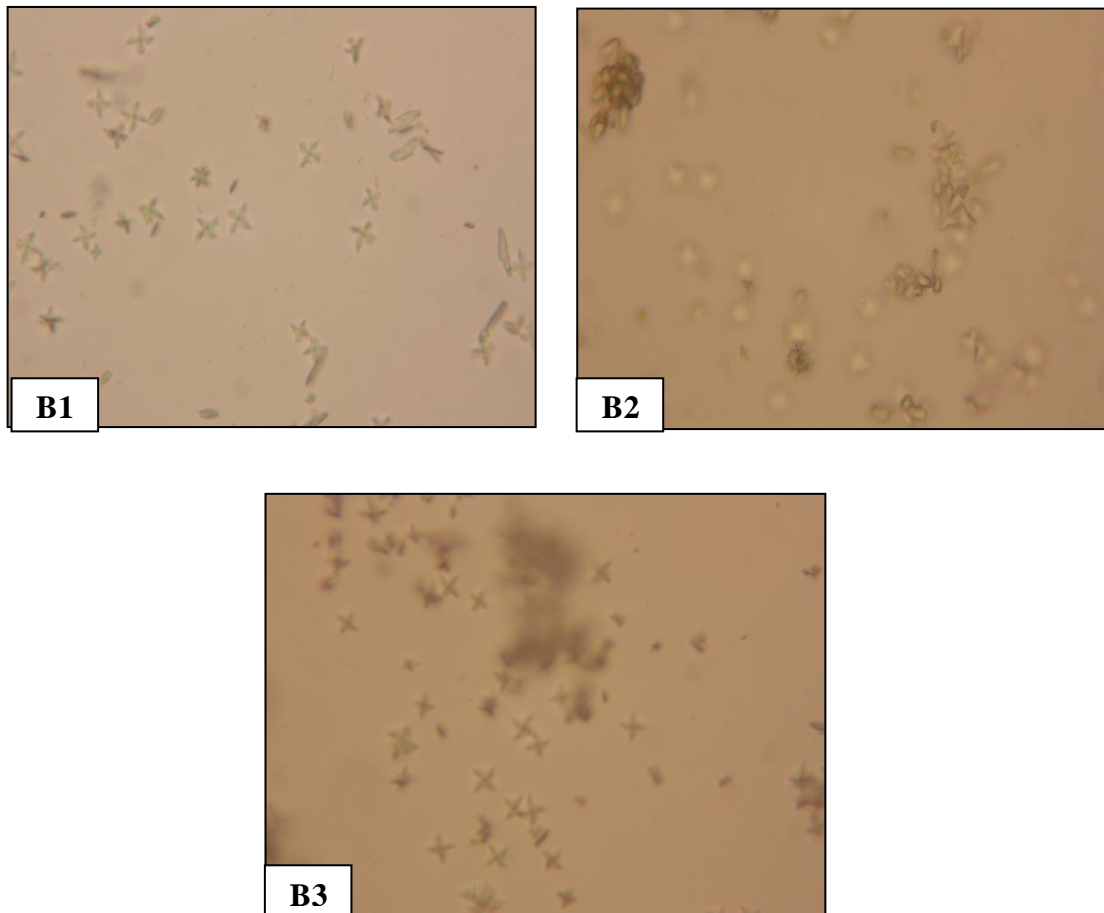


Figure 35: Photos des cristaux oxalocalcique en présence l'extrait de la plante du *P. laevigata* à différent concentration (**B1** : 1,5 mg/ml, **B2** : 1 mg/ml, **B3** : 0,5 mg/ml) prise par microscope optique à (GX40) après 5 minute.



Figure 36: Photos des cristaux oxalocalcique en présence du complément alimentaire *Renalof* prise par microscope optique à (GX40) après 5 minute.

Les activités de nucléation et d'agrégation ont été validées en observant les changements des cristaux de CaOx sous un microscope à un grossissement de 40 X.

La **figure 33** montre le nombre maximal et la plus grande taille de cristaux sans extraits de plantes *P. laevigata* ou le complément alimentaire c'est à dire le blanc (contrôle négative).

La **figure 35** montre les images microscopiques des activités d'inhibition de l'agrégation de l'extrait de *P. laevigata* a différent concentration. Le nombre des cristaux de CaOx ont montré que l'extrait *P. laevigata* à sa concentration la plus élevée (1,5 mg/ml) avait un plus grand potentiel d'inhibition de l'agrégation des cristaux. La réduction de la taille des cristaux a put être observée dans l'extrait de *P. laevigata*, indiquant le potentiel des extraits dans la réduction de la taille des pierres.

La **figure 34** montre les images microscopiques en existe l'extrait de *S. oleracea*, la formation de cristaux ont été déférents concentration (1,5 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml). La quantité des cristaux plus grand à la concentration 1,5 mg/ml et plus petit en 0,5 mg/ml.

Il est évident que l'extrait de *P. laevigata* et la *Renalof* ont provoqué la dissolution de la nucléation des cristaux de CaOx car les cristaux de CaOx étaient moins denses par rapport au contrôle négatif (**figure 36**), révélant que les extraits de *P. laevigata* pouvaient empêcher la réaction de chlorure de calcium et d'oxalate de sodium provenant de la formation de cristaux de CaOx indiquant une activité antilithiatique.

*Conclusion
générale*

Conclusion générale

Afin d'aborder le problème de la lithiase rénale, qui se propage de manière importante chez les personnes, et de réduire ses risques, nous avons décidé dans ce travail d'étudier l'effet de certaines plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle, la plante *Periploca laevigata*, sur les calculs rénaux par rapport au *Renalof* et aux *Spinacia oleracea*, qui agissent pour augmenter les calculs rénaux.

Au laboratoire, nous avons réalisé un screening phytochimique. D'autre part, un modèle de gravimètre pour étudier l'effet des plantes étudiés et de complément alimentaire sur les calculs (oxalate de calcium et acide urique). Ensuite mesurer la turbidité en inhibant la cristallisation oxalocalcique. Puis, l'observation microscopique.

Selon les résultats de screening phytochimique que nous avons réalisé, l'effet efficace de la plante *Periploca laevigata* sur les calculs rénaux est probablement dû à la présence de tanins, d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de composés réducteurs, de stérols et de triterpènes.

Les résultats de la mesure du poids après traitement à la tisane de *Periploca laevigata* montrent une diminution de la masse des calculs d'oxalate de calcium et de l'acide urique par rapport au *Renalof*, qui a donné le même effet, cela indique donc que la plante *Periploca laevigata* et le médicament ont la même propriété (solubilité).

A travers les résultats obtenus, il a été prouvé que l'extrait de plante *Periploca laevigata* a un effet prouvé contre la formation de calculs, similaire à celui de *Renalof*. Par ailleurs, l'observation microscopique a permis de confirmer le même résultat.

En conclusion, notre étude prouve scientifiquement que *Periploca laevigata* a un effet efficace sur la formation des calculs rénaux et que ses feuilles sont une source naturelle biologiquement active pour le traitement des calculs rénaux. Par conséquent, à l'avenir, nous pourrions peut-être identifier les molécules responsables de l'activité anti-lithiasique chez les plantes, étudier leurs effets in vivo et fabriquer un médicament anti-lithiasique. Alors que s'il y a eu une révolution thérapeutique ces dernières années, elle est représentée dans le domaine de la lithose et de la phytothérapie.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

Alelign, T., et Petros, B. (2018). Kidney stone disease: an update on current concepts. *Advances in urology*, Article ID 3068365, 12 pages.

Aldaher, H. S., Kadhim, S. Z., Al-Roub, N. M., Alsadi, A. H., Salam, D. A., et Tillo, E. A. (2021). Evaluating the understanding about kidney stones among adults in the United Arab Emirates. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 16(5), 788-793.

Aryal, S., Kuwar, P., et Thapa, C. (2021). Antiurolithiatic activity of selected plants extracts against calcium oxalate crystals. *Journal of Medicinal Plants Research*, 15(4), 172-177.

B

Bohui, P. S. G., Adima, A. A., Niamké, F. B., et N'Guessan, J. D. (2018). Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales: *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 46, 50-58.

Banouh, H., et Maiz, M. Y. (2019). Evaluation in vitro de l'activité antilithiasique des extraits des feuilles et des fleurs de *Paronychia argentea*, plante utilisée en médecine traditionnelle en Algérie (Thèse de master, université de Bouira). P 01.

Benalia, H., (2020). Etude de l'activité antiurolithiasique de quelques plantes médicinales locales (Thèse de doctorat-LMD, université de Laghouat).

.

Boukroune, S. et Almi, A. (2021). Etude phytochimique et biologique de la plante *spinacia oleracea*. (Thèse de master, Université des frères Mentouri 1 Constantine). P 2.

Boumizez, M., Hamouda, I., et Boudjerda, A. E. (2022). Extraction des huiles essentielles, détermination de la composition chimique et réalisation des tests d'activité biologique à partir d'une plante médicinale de la wilaya de Jijel (Doctoral dissertation, université de Jijel). P 01-05-06.

C

Crozier, A., Jaganath, I. B., et Clifford, M. N. (2006). Phenols, polyphenols and tannins: an overview. *Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet*, (1, 1-25).

D

Doré, B. (2004). Les lithiases rénales. (Illustrée, 416 pages), Springer Science & Business Media. P 01.

Daudon, M., Traxer, O., Lechevallier, E., et Saussine, C. (2008). La lithogénèse. *Progrès en urologie*, 18(12), 815-827.

Daudon, M., Jungers, P., et Traxer, O. (2012). Lithiase urinaire. Lavoisier. Médecine Sciences.

Daudon, M., Dessombz, A., Frochot, V., Letavernier, E., Haymann, J. P., Jungers, P., et Bazin, D. (2016). Comprehensive morpho-constitutional analysis of urinary stones improves etiological diagnosis and therapeutic strategy of nephrolithiasis. *Comptes Rendus Chimie*, 19 (11-12), 1470-1491.

Daoud, F., Farsi, F., et Faked, N. (2020). Contribution à l'étude des paramètres physico-chimiques de la lithiase urinaire. (Thèse de master, Centre Universitaire El-wancharissi de Tissemsilt).

E

Ellington, E., Bastida, J., Viladomat, F., et Codina, C. (2003). Supercritical carbon dioxide extraction of colchicine and related alkaloids from seeds of *Colchicum autumnale* L. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 14(3), 164-169.

F

Flih, A., et Fahem, K. (2020). Etude de la cristallurie des sujets diabétiques (Thèse de master). Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.

G

Gupta, M., Bhayana, S., et Skika, S. (2011). Role of urinary inhibitors and promoters in calcium oxalate crystallization. *Int J Reasearch in Pharmacy and Chemistry*, 1, 793-798.

H

Hannache, B. (2014). La lithiase urinaire: Épidémiologie, rôle des éléments traces et des plantes médicinales (Thèse de doctorat, université paris-sud 11). P 07.

Hamel, T., Sadou, S., Seridi, R., Boukhdir, S., et Boulemtafes, A. (2018). Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'Edough (nord-est algérien). *Ethnopharmacologia*, 59, 65-70.

Hajji, M., Hamdi, M., Sellimi, S., Ksouda, G., Laouer, H., Li, S., et Nasri, M. (2019). Structural characterization, antioxidant and antibacterial activities of a novel polysaccharide from *Periploca laevigata* root barks. *Carbohydrate polymers*, 206, 380-388.

Hadji, O., et tarfaya, F. (2019). Evaluation du pouvoir antioxydant, antilithéasique et antimicrobien du Brassicaspp (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).

Hareb, A. (2020). Approche bibliographique concernant le dosage et l'extraction de composés phénoliques du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri). P 05-08-28.

K

Khan, S. R., Pearle, M. S., Robertson, W. G., Gambaro, G., Canales, B. K., Doizi, S., ... et Tiselius, H. G. (2016). Kidney stones. *Nature reviews. Disease primers*, 2(1), 1-23.

Katiri, A., Barkaoui, M., Msanda, F., et Boubaker, H. (2017). Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes in the Tizi n'Test region (Taroudant Province, Morocco). *J pharmacogn nat prod*, 3(1), 2472-0992.

Kurt. H. (2023). Les plantes médicinales: de l'usage traditionnel aux médicaments modernes., Institut de Pharmacognosie et Phytochimie, Université de Lausanne, Switzerland., PPT. P 02.

L

Lhout, R., et Laib, M., (2015). Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale: *Artemisia herba alba* Asso. Biochimie moléculaire et santé. Algérie: Université de Frère Menturi Constantine, 71.

Louafi, S., et Djouhri, N. (2017). L'effet anti-lithiasique de quelques plantes locales, in vitro. Mémoire master: Université de Bouira.

M

Malecky, M. (2008). Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins (Doctoral dissertation, Paris, AgroParisTech).PP 09-13.

Mohamad, M., Ali, M. W., Ripin, A., et Ahmad, A. (2013). Effect of extraction process parameters on the yield of bioactive compounds from the roots of *Eurycoma longifolia*. *Jurnal Teknologi*, 60(1), 51â-57.

Mahmoudi, S., Khali, M., et Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*, (9), 35.

Merghem. R., (2022). Génie Biochimiques : Valorisation des substances Végétales., Université Constantine 1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie., P 09.

N

Nicolas, J. P. (2009). Plantes médicinales pour le soin de la famille au Burkina Faso. Imprimerie Djiffon. *Président fondateur de l'association Jardins du monde*. P 30.

Nesrine, B. Y., et Rania, B. F. (2022). Phytochimie et Activité anti-Hémolytique des extraits de l'épinard (*Spinacia oleracea*. L). Mémoire de fin d'étude MASTER EN SCIENES BIOLOGIES. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. P 01-32.

O

Oliva, J. (2019). Lithiase urinaire et thermalisme (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

Q

Quezel, P. et Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed. CNRS, Paris.

R

Rihane, K., et Benlaharche, R. (2013). Activité antibactérienne des polyphénols et flavonoïdes d'extraits à partir deux plantes médicinales: artémisia herba alba et ocimum basilicum sur escherichia coli et staphylococcus aureus. Mémoire de master.

S

Boucherit, S., Guettaf temam, H., (2021). Effet phytohormones sur l'accumulation des substances bioactives chez la plante médicinale (*Medicago Sativa L*).

Sofowora, A., Ogunbodede, E., Onayade, A. (2013). The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. *African journal of traditional, complementray and alternative medicines*, 10(5), 210-229.

Sekkoum, K., et Taleb, S. (2015). Composition Phytochimique et effet, in vitro, des extraits de quelques plantes médicinales du sud ouest Algérien sur la cristallisation lithiasique oxalocalcique (Doctoral dissertation).P 39-40.

T

Traore, Y. N. (2012). Etude des lithiases de l'appareil urinaire dans le service d'urologie du CHU du Point «G»: A propos de 100 cas (Doctoral dissertation, Thèse Méd. Bamako). P16-19.

Tiwari, R., et Rana, C. S. (2015). Plant secondary metabolites: a review. *International Journal of Engineering Research and General Science*, 3(5), 661-670.

V

Vermerris, W., Nicholson, R., Vermerris, W., et Nicholson, R. (2006). Families of phenolic compounds and means of classification. *Phenolic compound biochemistry*, 1-34.

Z

Zito, P., et Sajeve, M. (2012). *Periploca laevigata* Aiton subsp. *angustifolia* (Labill.) Markgraf on Lampedusa Island. *Asklepios*, 113, 3-16.

Zenagui, I. (2015). La lithiase urinaire (Doctoral dissertation, Université Abou Bakr Belkaid.Faculté de médecine Tlemcen. Centre hospitalier universitaire. Service de chirurgie urologique). P 01.

Sites Web

(Guadeloupe, 2016): https://www.sentinelles971.com/wp-content/uploads/2015/12/259_lithiase.pdf consulté le 01/06/2023 à 18:35.

(Anonyme, 2017): http://atlas_sahara.org/Apocynaceae/Periploca%20laevigata/Periploca%20laevigata.html?cat=Apocynaceae&fbclid=IwAR12Si0hZ9IsZ3NZujeGALtt5Dot_BFPcEf48vJpSAfbdOB_SgI3LKtjIwiY consulté le 10/04/2023 à 16:46.

(Michel Chauvet, 2018): [https://uses.plantnet-project.org/fr/Spinacia_oleracea_\(PROTA\)](https://uses.plantnet-project.org/fr/Spinacia_oleracea_(PROTA)) consulté le 28/04/2023 à 23:55.

(Faculté de médecine de Sfax, 2020): <https://www.medecinesfax.org/useruploads/files/50%20lithiase%20urinaire-2020.pdf> consulté le 27/03/2023 à 12:36.

