

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ahmed DRAÏA - Adrar

Code :



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

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en :
Filière : Sciences Biologique
Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Screening phytochimique et évaluation de l'activité
antioxydante et antilitiasique d'extrait aqueux de la
partie aérienne du plante *Paronychia capitata L.***

Préparé par :

Mlle. DRIS Charifa

Mlle. DIFALLAH Oum Keltoum

Mme. BAAFOU Zoulikha

Membres de jury d'évaluation :

Mme. HADEF Khawla Zahra	Présidente	MCA	Univ. Adrar
M. ABISMAIL Youcef	Encadreur	MAA	Univ. Adrar
Mme. BOUCHOUL Djemâa	Examinatrice	MAA	Univ. Adrar

Année Universitaire : 2021/2022



Nous remercions tout d'abord ALLAH tout puissant qui nous a donné : la santé, le courage et la patience afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

*Nous exprimons nos remerciements Mr. **Abismaïl Youcef** l'encadreur de cette recherche pour avoir dirigé ce travail, ses conseils, ses encouragements et à finir ce travail.*

Nous remercions les membres de jury d'avoir accepté de juger ce travail :

*M. **HADF Khawla Zahra** d'avoir présidé ce jury*

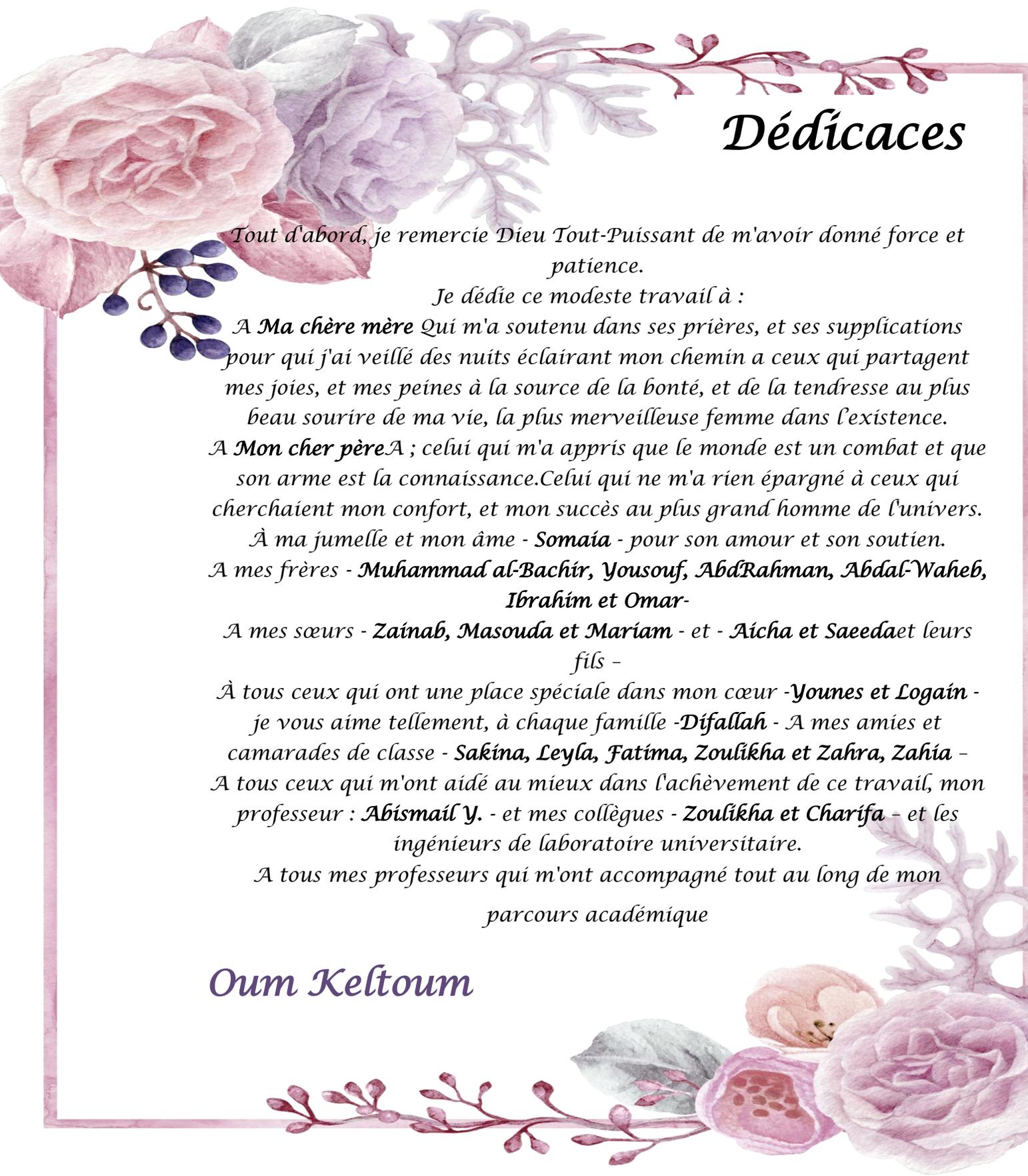
*M. **BOUCHOU L Djemâa** d'avoir examiné ce travail*

*Nous remercions également tous les enseignants de département **SNV** université Adrar.*

*Nous tenons à remercier tous les ingénieurs de laboratoire de département **SNV** pour avoir facilité notre travail en mettant à notre disposition tous les moyens logistiques disponibles.*

Nous remercions également tous ceux qui ont participé de loin à l'élaboration de ce travail.





Dédicaces

Tout d'abord, je remercie Dieu Tout-Puissant de m'avoir donné force et patience.

Je dédie ce modeste travail à :

*A **Ma chère mère** Qui m'a soutenu dans ses prières, et ses supplications pour qui j'ai veillé des nuits éclairant mon chemin a ceux qui partagent mes joies, et mes peines à la source de la bonté, et de la tendresse au plus beau sourire de ma vie, la plus merveilleuse femme dans l'existence.*

*A **Mon cher père** ; celui qui m'a appris que le monde est un combat et que son arme est la connaissance. Celui qui ne m'a rien épargné à ceux qui cherchaient mon confort, et mon succès au plus grand homme de l'univers.*

*À ma jumelle et mon âme - **Somaia** - pour son amour et son soutien.*

*A mes frères - **Muhammad al-Bachir, Yousouf, AbdRahman, Abdal-Waheb, Ibrahim et Omar**-*

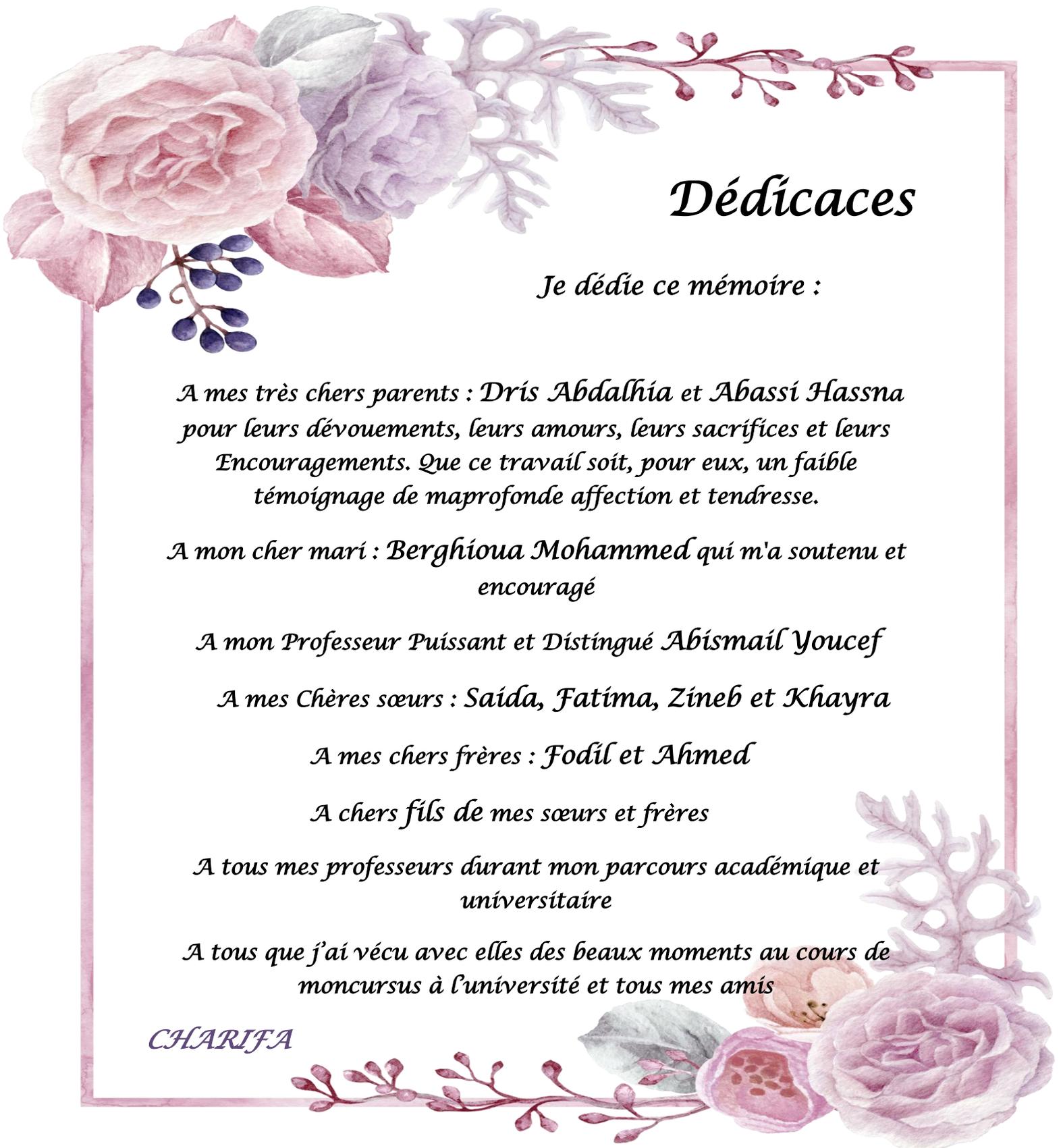
*A mes sœurs - **Zainab, Masouda et Mariam** - et - **Aicha et Saeda** et leurs fils -*

*À tous ceux qui ont une place spéciale dans mon cœur -**Younes et Logain** - je vous aime tellement, à chaque famille -**Difallah** - A mes amies et camarades de classe - **Sakina, Leyla, Fatima, Zoulikha et Zahra, Zahia** -*

*A tous ceux qui m'ont aidé au mieux dans l'achèvement de ce travail, mon professeur : **Abismail Y.** - et mes collègues - **Zoulikha et Charifa** - et les ingénieurs de laboratoire universitaire.*

A tous mes professeurs qui m'ont accompagné tout au long de mon parcours académique

Oum Keltoum



Dédicaces

Je dédie ce mémoire :

*A mes très chers parents : Dris Abdalhia et Abassi Hassna
pour leurs dévouements, leurs amours, leurs sacrifices et leurs
Encouragements. Que ce travail soit, pour eux, un faible
témoignage de ma profonde affection et tendresse.*

*A mon cher mari : Berghioua Mohammed qui m'a soutenu et
encouragé*

A mon Professeur Puissant et Distingué Abismaïl Youcef

A mes Chères sœurs : Saïda, Fatima, Zineb et Khayra

A mes chers frères : Fodil et Ahmed

A chers fils de mes sœurs et frères

*A tous mes professeurs durant mon parcours académique et
universitaire*

*A tous que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de
mon cursus à l'université et tous mes amis*

CHARIFA



Dédicaces

*Dieu soit loué, cela suffit, et que les prières soient sur le
Prophète, Plus grand merci à Dieu, qui nous a permis
d'apprécier cette étape de notre cheminement d'étude avec
notre mémorandum, fruit d'efforts et de succès.*

Je dédie cette recherche

*A ma source de bonheur et ma force, **ma mère***

A lumière de ma vie, ma fierté, mon père dieu le portage

*A mon cher mari (Mohammed Lamine) et à ma belle-famille qui
et aient de mestres pour que je réalise ce petite réisme (Zahia,*

Fatna, Hafsa, Abdallah, Zaid)

*A ma meilleure belle copine (Oum Keltoum), qui sait le vrai sens
de l'aimé*

ZOULIKHA



الملخص

Paronychia capitata L هو نبات معروف بين المعالجين بالأعشاب في الجزائر تحت اسم "بساط الملوك". في الجزائر، يتم استخدامه لعلاج الحصوات البولية ونظرًا لانتشار هذا المرض على نطاق واسع، فإن التبلور أكسالو-كلسي هو الشكل الأكثر شيوعًا للبلورات في البول البشري. فنحن مهتمون في هذه الدراسة بتقييم النشاط المضاد للأوكسدة والنشاط المضاد لتشكيل الحصوات للمستخلص المائي للجزء الجوي من هذا النبات.

لهذا الغرض، تم استخدام الأجزاء الهوائية من النبتة التي تم حصادها من عين الترك - وهران - وتم استخراج موادها الفعالة عن طريق التسخين بالإرجاع. لقد تبع ذلك بالتحليل النباتي الكيميائي وتحليل نسبة البوليفينول والفلافونويد وتقييم الأنشطة المضادة للأوكسدة والنشاط ضد تشكل الحصوات.

أعطى الاستخلاص عائدًا منخفضًا قدره 6% من المادة الجافة وأظهرت الاختبارات الكيميائية النباتية وجود عدة عائلات كيميائية مثل: القلويات، الصمغ، الفلافونويد، البوليفينول، الصابونوسيدات، الترينويدات، المركبات المختزلة. محتوى المستخلص المائي (ExAq) من البوليفينول والفلافونويد هو 0.227 ± 24.18 مكافئ لحمض الغاليك /ميكروغرام من المستخلص و 0.074 ± 5.01 مكافئ للكرستين /ميكروغرام من المستخلص على التوالي. ثم يوضح النشاط المضاد للأوكسدة أن المستخلص المائي له قوة مضادة للأوكسدة قوية مع التركيز المثبط ل 50 من نسبة الجذور الحرة هو 1.4 ميكروغرام / مل. أظهر تقييم قوة الفعالية ضد مرض الحصوات للمستخلص المائي عن طريق اختبار قياس التعكر كفاءة أقل مقارنة بالمثبط المرجعي (حمض الستريك) في تثبيط تبلور أكسالات الكالسيوم بنسبة 65.95%. لتركيز المستخلص 0.5 مجم / مل. تم تأكيد هذه الفعالية من خلال طريقة المراقبة المجهرية للتبلور في البول الاصطناعي.

في ضوء هذه النتائج، نقترح استخدام هذا النبات كعلاج مضاد للأوكسدة، ولكن لا يزال يتعين تأكيد فعالية المستخلص المائي لهذا النبات في علاج مرض تشكل الحصوات البولية من خلال الاختبارات داخل العضوية.

الكلمات المفتاحية: المستخلص المائي، مرض الحصوات البولية، *Paronychia capitata* L، أكسالات الكالسيوم، نشاط مضاد للأوكسدة، اختبار قياس العكر.

Résumé

Paronychia capitata L. est une plante connue chez les herboristes en Algérie sous le nom « Bessat-EL-Moulouk ». En Algérie, Il est utilisé pour traiter la lithiase urinaire et vu la large propagation de cette maladie dont La cristallisation oxalocalcique est la forme de cristallerie la plus fréquente dans les urines humaines. Nous sommes intéressés dans cette étude d'évaluer l'activité antioxydante et l'activité antilithiasique d'extrait aqueux de la partie aérienne de cette plante.

A cet effet, les parties aériennes de *P. capitata* a été récoltées à partir Ain-Türck -Oran- sont extraites par décoction sous un montage à reflux. Il s'en est suivi le screening phytochimique, le dosage des polyphénols, des flavonoïdes et l'évaluation de l'activités antioxydante et antilithiasique.

L'extraction a donné un rendement faible de 6 % en matière sèche et les tests phytochimiques ont montré la présence de plusieurs familles chimiques comme : alcaloïdes, mucilage, flavonoïdes, polyphénols, saponosides, terénoïdes, composés réducteurs. La teneur de l'extrait aqueux (ExAq) en polyphénols et flavonoïde est de $24,18 \pm 0,227 \mu\text{g EQAG/mg}$ d'extrait et $5,01 \pm 0,074 \mu\text{g EQCa/mg}$ d'extrait respectivement. Ensuite l'activité antioxydante montre que l'extrait aqueux possède un pouvoir antioxydant puissant avec un $\text{IC } 50 = 1.4 \mu\text{g/ml}$. L'évaluation du pouvoir antilithiasique par test turbidimétrie a révélé moins d'efficace d'ExAq de cette plante que l'inhibiteur de référence (acide citrique) sur l'inhibition de cristallisation l'oxalate de calcium qui est de l'ordre 65.95% pour une concentration d'extrait de 0.5 mg/ml. Cette efficacité a été confirmée par la méthode de suivi par microscopie.

A la lumière de ces résultats, nous suggérons d'utiliser cette plante comme remède antioxydante, par contre l'efficacité de l'extrait aqueux de cette plante dans le traitement de la lithiase reste à confirmer par des tests in vivo.

Mots clés : Extrait aqueux, lithiase urinaire, *Paronychia capitata* L, oxalate de calcium, activité antioxydante, test turbidimétrie.

Abstract

Paronychia capitata L. is a plant known among herbalists in Algeria under the name "Bessat-EL-Moulouk". In Algeria, it is used to treat urinary lithiasis and given the wide spread of this disease whose oxalocalcic crystallization is the most frequent form of crystallization in human urine. We are interested in this study to evaluate the antioxidant activity and the antilithiasis activity of aqueous extract of the aerial part of this plant.

For this purpose, the aerial parts of *P. capitata* harvested from Ain-Türck -Oran- are extracted by decoction under a reflux assembly. The phytochemical screening, the dosage of polyphenols, flavonoids and the evaluation of the antioxidant and antilithiasic activities followed.

The extraction gave a low yield of 6% in dry matter and the phytochemical tests showed the presence of several chemical families such as: alkaloids, mucilage, flavonoids, polyphenols, saponosides, terenoids, reducing compounds. The content of polyphenols and flavonoid in Aqueous Extract (AqEx) is 24.18 ± 0.227 $\mu\text{g EQAG/mg}$ extract and 5.01 ± 0.074 $\mu\text{g EQCa/mg}$ extract respectively. Then the antioxidant activity shows that the aqueous extract has a potent antioxidant power with an $\text{IC}_{50} = 1.4$ $\mu\text{g/ml}$. The evaluation of the antilithiasis power by turbidimetry test revealed less efficiency of AqEx of this plant than the reference inhibitor (citric acid) on the inhibition of crystallization of calcium oxalate which is of the order of 65.95% for an extract concentration of 0.5 mg/ml. This efficiency was confirmed by the follow-up microscopy method.

In the light of these results, we suggest to use this plant as an antioxidant remedy, but the effectiveness of the aqueous extract of this plant in the treatment of lithiasis remains to be confirmed by in vivo tests.

Key words: Aqueous extract, urinary lithiasis, *Paronychia capitata* L., calcium oxalate, antioxidant activity, turbidimetry test

Table de matière

Remerciements	
Dédicace	
الملخص- Résumé - Abstract	I
Table de matière	IV
Liste des figures	VIII
Liste des tableaux	X
Liste des abréviations	XI

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale	1
-----------------------	---

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Généralité sur les plantes médicinales et les métabolites secondaires

I.1. Définition des plantes médicinales	3
I.2. Historique	3
I.2.1. En Afrique	3
I.2.2. En Algérie	3
I.2.3. En Maroc	4
I.3. Modes de préparation et d'utilisation des plantes médicinales	4
I.3.1. L'infusion	4
I.3.2. La décoction	5
I.3.3. La macération	5
I.4. La phytothérapie	5
I.4.1. Les types de phytothérapies	6
I.4.1.1. La phytothérapie traditionnelle	6
I.4.1.2. La phytothérapie clinique	6
I.4.2. Les avantages de la phytothérapie	6
I.5. Les métabolites secondaires	6
I.6. Présentation de la plante <i>Paronychia capitata</i> L	10
I.6.1. La famille des Caryophyllaceae	10
I.6.1.1. Généralité	10
I.6.1.2. Description botanique	10
I.6.2. Le genre <i>Paronychia</i>	11
I.6.2.1. Généralité	11
I.6.2.2. Description botanique	11
I.6.3. L'espèce <i>Paronychia capitata</i> L.	11
I.6.3.1. Origine de nom	11
I.6.3.2. Description botanique	11
I.6.3.3. Systématique de la plante	12
I.6.3.4. Nomenclature de la plante	12
I.6.3.5. La composition chimique	12
I.6.3.6. Utilisation médicinale	14

CHAPITRE II : Les antioxydants et l'activité antioxydant

II. 1. Généralité	14
II. 2. Le stress oxydant	14
II. 2-1. Définition	14
II. 2-2. Origine de stress oxydatif	15
II. 3. Les radicaux libres	15
II. 3-1. Définition des radicaux libres	15
II. 3-2. Classification des radicaux libres	15
II. 3-3. Origine de production de radicaux libres	16
II. 3-3-1. Sources de production endogène	16
II. 3-3-2. Sources de production exogènes	16
II. 3-4. Les pathologies liées aux radicaux libres	17
II. 3-5. Intérêts biologiques des radicaux libres dans la physiologie cellulaire	17
II. 4. Les antioxydants	18
II. 4-1. Définition des antioxydants	18
II. 4-2. Différents types d'antioxydants	18
II. 4-2-1. Systèmes antioxydants enzymatiques	18
II. 4-2-2. Systèmes antioxydants non enzymatiques	19
II. 4-3. Mécanisme d'action des antioxydants	21
II. 5. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant	21

CHAPITRE III : la lithiase urinaire

III. 1. Généralités sur la lithiase urinaire	23
III. 2. Définition de la lithiase urinaire	23
III. 3. Historique	23
III. 4. Epidémiologie	23
III. 5. Types de lithiases urinaires	23
III. 5-1. Lithiases calciques	24
III. 5-2. Lithiase d'acide urique	25
III. 5-3. Calculs de struvite (phosphate ammoniaco-magnésienne)	26
III. 5-4. Calcul de cystine	27
III. 5-5. Lithiase médicamenteuse	27
III. 6. Facteurs de risques lithogènes généraux	28
III. 7. Rôle du pH dans la formation des calculs	28
III. 8. Symptômes des lithiases urinaires	28
III. 9. Physiopathologie de la lithogénèse	28
III. 9-1. Les étapes de la lithogénèse	29
III. 9-1.1. Saturation des urines	29
III. 9-1.2. Nucléation cristalline	29
III. 9-1.3. Croissance des cristaux	29
III. 9-1.4. Agrégation des cristaux	29
III. 9-1.5. Agglomération cristalline	30
III. 9-1.6. Rétention des particules cristallines	30
III. 9-1.7. Croissance du calcul	30
III. 9-2. Promoteurs et inhibiteurs de la lithogénèse	30
III. 9-2.1. Les promoteurs	30
III. 9-2.2. Les inhibiteurs	31

III. 10. Traitement de la lithiase urinaire	32
III. 10.1. Traitement pharmacologique	32
III. 10.2. Traitement chirurgicale	32
III. 10.3. Traitement préventif	32

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : Matériels et méthodes

I. 1. Matériel végétal	33
I. 1.1. Origine géographique et période de récolte	33
I. 1.2. Les coordonnées géographiques de la zone de récolté	33
I. 2. Taux d'humidité (teneur en eau)	34
I. 3. Préparation de matériel végétal	34
I. 3.1. Séchage et broyage	34
I. 3.2. Conservation	35
I. 4. Préparation d'extrait aqueux	35
I. 5. Le rendement d'extraction	37
I. 6. Le screening Phytochimique	37
I. 6.1. Test des flavonoïdes	37
I. 6.2. Test des polyphénols	37
I. 6.3. Test des alcaloïdes	38
I. 6.4. Test des tanins	38
I. 6.5. Test des saponoside	38
I. 6.6. Test de mucilage	38
I. 6.7. Test des quinones libres	38
I. 6.8. Test des composés réducteurs	38
I. 7. Dosage des polyphénols totaux	38
I. 7.1. Principe	39
I. 7.2. Mode opératoire	39
I. 8. Dosage de flavonoïdes totaux	40
I. 8.1. Principe	40
I. 8.2. Mode opératoire	40
I. 9. Evaluation de l'activité anti-oxydante (pouvoir anti-radicalaire DPPH)	41
I. 9.1. Principe	41
I. 9.2. Mode opératoire	41
I. 9.3. Expression des résultats et paramètre à calculée	42
I. 10. Evaluation du pouvoir anti-lithiasique	42
I. 10-1. Cristallisation d'oxalate de calcium	42
I. 10-2. La turbidimétrie et le taux d'inhibition	43
I. 10-2-1. L'allure générale de la courbe de turbidimétrie sans inhibiteur	43
I. 10-2-2. Etude de la cristallisation oxalocalcique par méthode turbidimétrique	43
I. 10-2-2-1. Test en absence d'inhibiteur	44
I. 10-2-2-2. Test avec inhibiteur	44
I. 10.3. Le suivi microscopique de la cristallisation de l'oxalate de calcium	44
I. 10-3-1. La cristallisation en absence d'inhibiteur	45
I. 10-3-2. La cristallisation en présence d'inhibiteur	45
I. 11. Présentation et Analyse statistique des résultats	46

CHAPITRE II : Résultats et discussion

II. 1. Caractérisation et le rendement d'extraction	47
II. 2. Test d'humidité et séchage	47
II. 3. Résultats de screening Phytochimique	48
II. 4. Teneur en polyphénols totaux	52
II. 5. Dosage des flavonoïdes totaux	53
II. 6. Résultats sur pouvoir anti-radicalaire par le test DPPH	55
II. 7. Pouvoir anti lithiasique	56
II. 7.1. Suivi la cinétique de la cristallisation oxalocalcique par turbidimétrie	56
II. 7.1.1. Test en absence d'inhibiteurs	57
II. 7.1.2. Test avec l'acide citrique	58
II. 7.1.3. Test avec inhibiteurs (En présence des extraits de la plante)	58
II. 7.2. Suivi microscopique de cinétique de la cristallisation de l'oxalate de calcium	62
II. 7.2.1. En absence de l'extrait de <i>Paronychia capitata L</i>	62
II. 7.2.2. En présence de l'extrait PC	62

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale	65
---------------------	----

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques	70
-----------------------------	----

ANNEXE

Annexe	79
--------	----

Liste des figures

Figure 1	Préparation traditionnelle d'une plante médicinale par infusion	4
Figure 2	Préparation traditionnelle d'une plante médicinale par décoction	5
Figure 3	Préparation traditionnelle d'une plante médicinale par macération	5
Figure 4	Structure de base des acides benzoïques et p -coumarique	7
Figure 5	Structure de base des classes les plus répandues des flavonoïdes	8
Figure 6	La structure chimique d'une coumarine	8
Figure 7	La Structure chimique des acides gallique et ellagique	9
Figure 8	La structure chimique des tannins	9
Figure 9	La structure chimique de terpène	10
Figure 10	Exemple de La structure d'une saponine	10
Figure 11	La structure d'un alcaloïde	11
Figure 12	L'espèce <i>Paronychia capitata</i> L.	14
Figure 13	1- <i>O</i> -myristoyl-3- <i>O</i> -(6-sulfo- α -D-quinovopyranosyl)-glycérol	15
Figure 14	3- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl Stigmastérol	15
Figure 15	3- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl Sitostérol	15
Figure 16	Saccharose	15
Figure 17	Origine des radicaux libre et espace réactive oxygéné	18
Figure 18	Source de production des radicaux libre	20
Figure 19	Le mécanisme réactionnel invoqué dans la détoxification active	22
Figure 20	Réaction d'élimination des radicaux lipidique par les vitamines E et C	23
Figure 21	Les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques	24
Figure 22	Calcul de type Whewellite : (b) Calcul de type Weddellite ; (c) Calcul de type phosphocalcique	26
Figure 23	Calculs d'acide urique	27
Figure 24	Calcul de type struvite	28
Figure 25	Calcul de cystine	29
Figure 26	Calcul de métabolites du triamtérène + Calcul d'amoxicilline + cristaux d'amoxicilline	29
Figure 27	Principales étapes de la lithogénèse	32
Figure 28	Promoteurs, substances cristallisables et espèces cristallines	33
Figure 29	Image satellitaire de la localisation de la région de récolte	36
Figure 30	Nettoyage et broyage la plante	38
Figure 31	Le montage d'extraction de la plante sous reflux (Décoction)	39
Figure 32	Filtration sous vide d'extrait	39
Figure 33	Séchage d'extrait dans l'étuve à 60°C	39
Figure 34	Obtention d'extrait aqueux après séchage	39
Figure 35	Organigramme de protocole d'extraction sous reflux par décoction	41
Figure 36	Organigramme des étapes du dosage de polyphénol	43
Figure 37	Organigramme des étapes du dosage des flavonoïdes	44
Figure 38	La réaction de réduction de DPPH par la présence d'un antioxydant	45
Figure 39	Organigramme de mesure de l'activité anti-DPPH des extraits d'une plante	46
Figure 40	Allure générale de la courbe turbidimétrique	47
Figure 41	Model d'étude d'inhibition de cristallisation oxalate de calcium par méthode turbidimétrique	47

Figure 42	La procédure de préparation de l'urine synthétique	48
Figure 43	Model expérimental de suivi de cristallisation oxalate de calcium par microscope optique (X 40)	49
Figure 44	Taux d'humidité (%) de la partie aérienne de <i>Paronychia capitata L</i>	52
Figure 45	La courbe étalonnage d'acide gallique	57
Figure 46	La courbe étalonnage de la catéchine	58
Figure 47	La courbe étalonnage de la catéchine	58
Figure 48	Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique	59
Figure 49	Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux	59
Figure 50	Le taux d'IC50 de l'acide ascorbique et de l'extrait aqueux de la plante <i>Paronychia capitata L.</i>	60
Figure 51	Cristallisation oxalo-calcique en absence d'inhibiteur	61
Figure 52	Cinétique de l'effet de l'acide citrique sur la cristallisation oxalo-calcique	62
Figure 53	Courbe de cristallisation oxalocalcique en présence d'extrait aqueux de pc à 0.05 mg/ml	62
Figure 54	Courbe de cristallisation oxalocalcique en présence d'extrait aqueux de pc à 0.1 mg/ml	63
Figure 55	Courbe de cristallisation oxalocalcique en présence d'extrait aqueux de pc à 0.2 mg/ml	63
Figure 56	Courbe de cristallisation oxalocalcique en présence d'extrait aqueux de pc à 0.5 mg/ml	64
Figure 57	Cinétique de l'effet de l'extrait aqueux sur la cristallisation oxalo-calcique	65
Figure 58	Pourcentage d'inhibition de l'acide citrique et de l'extrait PC à différentes concentrations	66

Liste des tableaux

Tableau 1	Espèces réactives de l'oxygène	18
Tableau 2	Les constituantes de lithiase calcique	29
Tableau 3	Caractéristiques et morphologie de lithiase urique	30
Tableau 4	Caractéristiques et morphologie de lithiase ammoniaco-magnésien	30
Tableau 5	Caractéristiques et morphologie de lithiase cystinique	31
Tableau 6	Les différents types de cristallisation	32
Tableau 7	Les principaux inhibiteurs de la cristallisation	36
Tableau 8	Matériel de laboratoire et appareillage et produits utilisés dans nos expériences	36
Tableau 9	Réactifs (produits et solvants) utilisés dans nos expériences	37
Tableau 10	Les caractéristiques organoleptiques des extraits de la plante <i>P. capitata L</i>	51
Tableau 11	Le rendement d'extraction des extraits	51
Tableau 12	Résultats des tests phytochimiques d'extrait aqueux de <i>Paronychia capitata L</i>	53
Tableau 13	Paramètre turbidimétrique de la cristallisation oxalocalcique en absence d'inhibiteur	61
Tableau 14	Paramètres turbidimétrique de la cristallisation oxalo-calcique en présence d'inhibiteur (Acide citrique, Extrait aqueux PC)	64
Tableau 15	Evolution du taux d'agrégation et du pourcentage d'inhibition <i>Paronychia capitata L</i>	67
Tableau 16	Photo de la cristallisation d'oxalate de calcium en absence et en présence de l'inhibiteur sous microscope optique (X 40) (<i>Paronychia capitata L.</i>)	67

Liste des abréviations

ERO	Espèces réactive d'oxygène
SO	Stress oxydant
H₂O	Eau
O₂	Oxygène
H₂O₂	Hydrogen peroxide
XO	Xanthine oxydase
XOR	Xanthine oxydoréductase
XDH	Xanthine déshydrogénase
SO₂	Sulfur dioxide
NO	Monoxyde d'azote ou oxyde nitrique ou oxyde azotique
AGPI	Acide gras polyinsaturés
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
SOD	Superoxyde dismutase
NOS	Oxyde nitrique synthase
HOCL	Acide hypochlorous
CuZnSOD	Copper-Zinc-superoxyde dismutase
MnSOD	Manganèse superoxyde dismutase
GSH	Glutathion réduite
GPx	Glutathion peroxydase
GSSG	Glutathion oxydiez
CCM	Chromatographie sur couche mince
DPPH	1,1-Diphényl-2-Picryl-Hydrazyl
PLC	Photochemiluminescence
TBA-MA	Complexe thiobarbiturique malonaldéhyde
LU	Lithiase urinaire
C1	Whewellite
C2	Weddellite
Å	Angström

HCl	Acide hydrochlorure
Mg	Magnésium
FeCl₃	Perchlorure ferrique
HgCl₂	Chlorure de Mercure
KI	Iodure de potassium
NaOH	Hydroxyde de sodium
Na₂CO₃	Carbonate de sodium saturé
OH	Hydroxyde
(AlCl₃	Chlorure d'aluminium
NaNO₂	Nitrite de sodium
IC	Concentration inhibitrice
CaC₂O₄	Oxalate de sodium
CaCl₂	Chlorure de calcium
KCl	Chlorure de potassium
AI	Absorbance avec inhibiteur
SI	Absorbance sans inhibiteur
ExAq D	Extrait Aqueux décoction
EAG	Equivalent d'acide gallique

**INTRODUCTION
GÉNÉRALE**

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances. Elles utilisent la plupart des espèces végétales, tant ligneuses qu'herbacées, comme médicaments. Une croyance bien répandue est que toute plante soigne (**Salhi S. et al., 2010**).

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne, saharienne et une flore paléo tropicale estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques. Ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable. Les objectifs fixés sont l'inventaire ainsi que l'évaluation chimique et pharmaceutique des plantes médicinales algériennes dans le double but de valoriser et de rationaliser leur usage traditionnel et d'isoler des composés d'intérêt thérapeutique potentiel dont les antioxydants. (**Hadjer, B. N. E. R., 2021**). Des milliers de plantes médicinales recensées à ce jour sont utilisées par 80% de la population mondiale pour lutter contre diverses maladies. Malgré cette diversité, les potentialités thérapeutiques de la plupart des plantes médicinales restent à découvrir (**Djaroud, S., & Harrache, D. 2013**).

Les antioxydants constituent une famille de substances susceptibles de neutraliser les radicaux libres et prévenir ainsi la survenue des maladies associées au stress oxydant. Parmi les antioxydants naturels les plus connus, nous pouvons citer l' α -tocophérol (vitamine E), l'acide ascorbique (vitamine C) et les composés phénoliques (**Kulawik et al., 2013**). Les principales méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant d'un produit pur ou de mélanges ont été examinées et regroupées selon leurs principes. Elles sont fondées sur la détermination de produits résultant de l'oxydation ou, au contraire, mesurent l'efficacité d'une substance à piéger des radicaux, souvent en donnant une forme H \cdot . (**Marc, F., et al., 2004**).

La lithiase urinaire une maladie très fréquente, multifactorielle, non infectieuse et récidivante dont certaines formes peuvent conduire à l'insuffisance rénale et par conséquent la perte de la fonction rénale Cette maladie se définit par la formation des calculs ou concrétions minérales ou des cristaux dans les reins suite à un processus de lithogénèse. Ces cristaux seront dans la majorité des cas spontanément éliminés sans qu'aucun symptôme ne les relève. Dans les formes sévères ou négligées, la manifestation clinique de cette pathologie est la colique néphrétique qui peut causer une insuffisance rénale terminale chronique définitive (**Sekkoum et al., 2015**).

Les limites des thérapies médicamenteuses contre la lithiase et le cout qui relativement élevé ont poussé des chercheurs à découvrir d'autres thérapies alternatives telle que les plantes médicinales (Sadki et Atmani, 2017). En Algérie, les plantes antilithiasiques sont très utilisées beaucoup plus sous forme de tisanes et de décoctions (Daudon et al., 2012).

Des études sur l'utilisation des plantes médicinales dans le traitement de la lithiase urinaire ont montré que la famille des Caryophyllaceae est la plus citée, avec une représentation importante des espèces suivantes : *Herniaria hirsuta*, *Petroselinum crispum*, *Zizyphus lotus* et *Citrus limon* (Khouchlaa, A., et al. 2017). Parmi les plantes qui appartiennent à la famille des Caryophyllaceae : la plante *Paronychia capitata L.* connue en Algérie sous le nom *Atai el djabel* ou *Bissat El Moulouk*, utilisée dans la prévention de la formation des calculs urinaire.

Dans ce contexte, notre étude est pour objectif d'identifier qualitativement la composition en métabolites secondaire par screening phytochimique et d'étudier l'activité anti-oxydants et anti-lithiasique de l'extrait aqueuse de la partie aérienne de la plante *Paronychia capitata L.* Afin de réaliser ces objectifs, Nous avons faits ces principales expériences :

- Réalisation d'un screening phytochimique pour rechercher certains groupes phytochimiques.
- Détermination des taux en polyphénols et flavonoïdes totaux contenus dans l'extrait aqueuse.
- Étude de l'activité antioxydante in vitro (test DPPH) de cette plante.
- Étude de l'activité antilithiasique in vitro (test de turbidimétrie) de l'extrait aqueux de cette plante.

Nos objectifs se réalisent dans ce mémoire qui est subdivisé en deux parties :

1) **Une partie bibliographique**, qui contient trois chapitres :

- **Chapitre I** : généralités sur les plantes médicinales et les métabolites secondaires ;
- **Chapitre II** : l'activité antioxydante ;
- **Chapitre III** : la lithiase urinaire.

2) **Une partie expérimentale** qui inclus le matériel et méthodes suivi par les résultats et discussion. Enfin, on termine avec conclusion générale et un résumé.

CHAPITRE I :

GÉNÉRALITÉS SUR LES PLANTES MÉDICINALES ET LES METABOLITES SECONDAIRES

Chapitre I : Généralité sur les plantes médicinales et les métabolites secondaires

I.1 Définition des plantes médicinales :

Une plante médicinale est une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. On peut le définir aussi comme un végétal doué d'un effet thérapeutique sur l'organisme sans être toxique à dose normale. Ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisée par les êtres humains (**Elqaj, M. et al. 2007**).

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et la synthèse des médicaments non seulement, lorsque leurs constituants sont utilisés directement comme agent thérapeutique, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou modèle pour les composés pharmaco-logiquement actifs (**Amenah, G-F. 2006**).

Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques (**Zeghad, N. 2009**).

I.2 Historique :

Dans le monde, environ 20000 espèces végétales sont utilisées à des fins thérapeutiques. Selon l'OMS, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique, l'Algérie fait partie des pays riches en ressources phylogénétiques à intérêt médicinales et aromatiques. On dénombre plus de 300 espèces à usage aromatique et médicinale (**Bruneton, J. 2009**).

I.2.1 En Afrique :

Le continent africain est doté d'une biodiversité parmi les plantes riches dans le monde, avec un nombre très élevé de plantes utilisées comme herbes, comme aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles différentes ont été identifiées et beaucoup d'entre elles se sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies, malgré la nature hétérogène d'une biodiversité immense du continent africain en général (**Zeghad, N. 2009**).

I.2.2 En Algérie :

Les premiers écrits sur les plantes médicinales ont été fait aux IX^{ème} siècles par **Ishà-Ben-Amran** et **Abdallah Ben- Lounès**, mais la plus grande production de livres a été réalisée au XVII^{ème} et au XVIII^{ème} siècle (**Benhouhou, S. 2015**). Même pendant le colonialisme français de 1830 à 1962, les botanistes ont réussi à cataloguer un grand nombre d'espèces médicinales.

En 1942, *Fourment et Roque* ont publiés un livre de 200 espèces végétales d'intérêt médicinales, la plupart d'entre elles sont du Nord d'Algérie et seulement 6 espèces sont localisées au Sahara (**Benhouhou, S. 2015**).

L'Algérie comprenait plus de 600 espèces de plantes médicinales et aromatique (**Mokkadem, A. 1999**). En effet, l'Algérie constitue aujourd'hui un importateur net de plantes aromatique et médicinales, elle importe presque la totalité de ses besoins en plantes aromatique, médicinales et huiles essentielles (**Algérie Press Service. 2015**).

I.2.3 En Maroc :

Les plantes médicinales occupent une place importante dans la médecine traditionnelle et jouent un grand rôle dans l'économie nationale (**Bellakhdar, J. 1997**).

Au Maroc, la phytothérapie avec d'autres médecines alternatives est considérée comme particulièrement attractive.

Le Maroc possédant une grande richesse en plantes (près de 42000 espèces dont près de 600 utilisées en médecine traditionnelle) (**Zekkour, M. 2008**)

I.3 Modes de préparation et d'utilisation des plantes médicinales :

I.3.1 L'infusion

Une infusion se fait généralement avec les fleurs et les feuilles des plantes, mais dans certains cas, il est possible de faire également infuser des racines et des écorces. Le principe est simple versez de l'eau bouillante sur la plante (il faut compter une cuillerée à café de plante par tasse), et vous laissez infuser entre dix et vingt minutes. Une infusion peut se conserver au réfrigérateur pendant 48 heures maximum. En principe, il est préférable de ne pas sucrer les tisanes(**Nogaret, A. 2003**).



Figure 1 : Préparation traditionnelle d'une plante médicinale par infusion (**Nogaret, A. 2003**).

I.3.2 La décoction

Cette méthode s'applique essentiellement aux parties souterraines de la plante, comme les racines, et aux écorces, qui libèrent difficilement leurs principes actifs lors d'une infusion. Par exemple : la réglisse, les racines de ginseng, sont fréquemment utilisées en décoction. Cette méthode consiste à extraire les propriétés des plantes en les laissant « infuser » dans de l'eau portée ensuite à ébullition. Comptez une cuillerée à soupe de plantes par tasse. Il faut déposer les plantes dans une

casserole, Portez ensuite à ébullition, et laissez le tout sur le feu pendant une vingtaine de minutes jusqu'à ce que le liquide ait réduit d'un tiers. Retirez du feu, puis laissez infuser et refroidir pendant une heure, avant de filtrer. Vous pouvez conserver une décoction pendant trois jours au réfrigérateur (Nogaret, A. 2003).



Figure 2 : Préparation traditionnelle d'une plante médicinale par décoction (Nogaret, A. 2003).

I.3.3 La macération:

La macération consiste à faire tremper les plantes dans de l'eau froide pendant plusieurs heures. Il faut prévoir une cuillère à café de plantes pour une tasse d'eau, une cuillerée à soupe pour un bol, et trois cuillerées à soupe pour un litre. Les plantes peuvent également macérer dans l'alcool, dans la glycérine, ou dans un autre solvant. Ce solvant est un liquide qui retient les principes actifs de la plante. Il convient de bien sélectionner le solvant en fonction de la plante que l'on utilise (Ehrhart, A. 2003).



Figure 3 : Préparation traditionnelle d'une plante médicinale par macération (Ehrhart, A. 2003).

I.4 La phytothérapie :

Le terme « **Phytothérapie** », provient du grec « *phyton* » qui signifie « *plante* » et « *therapein* » qui signifie « soigner » (Vacheron, S. 2010).

La Phytothérapie peut se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes (Wichtl, M. et al. 2003).

Les plantes peuvent être présentées de diverses façons : fraîches ou séchées pour faire des infusions, en gélules, en huile essentielle ou en ampoule buvable. Toutefois, il est conseillé d'avoir recours à la phytothérapie sur avis médical (**Dambri, C. et al. 2014**).

I.4.1 Les types de phytothérapies :

On distingue deux types de phytothérapies :

I.4.1.1 La phytothérapie traditionnelle :

C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une affection. Ses origines peuvent parfois être très anciennes et elle se base sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Elles concernent notamment les pathologies saisonnières depuis les troubles psychosomatiques légers jusqu'aux symptômes hépatobiliaires, en passant par les atteintes digestives ou dermatologiques (**Elqaj, M. 2007**)

I.4.1.2 La phytothérapie clinique :

C'est une approche globale du patient et de son environnement est nécessaire pour déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet. Son mode d'action est basé sur un traitement à long terme agissant sur le système neuro-végétatif. Dans ce type les indications sont liées à une thérapie de complémentarité. Elles viennent afin de compléter ou renforcer l'efficacité d'un traitement allopathique classique pour certaines pathologies (**Moreau, B. 2003**).

I.4.2 Les avantages de la phytothérapie :

La phytothérapie offre de multiples avantages, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'ils s'agissent sur de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus.

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques (**Iserin, P et al. 2001**).

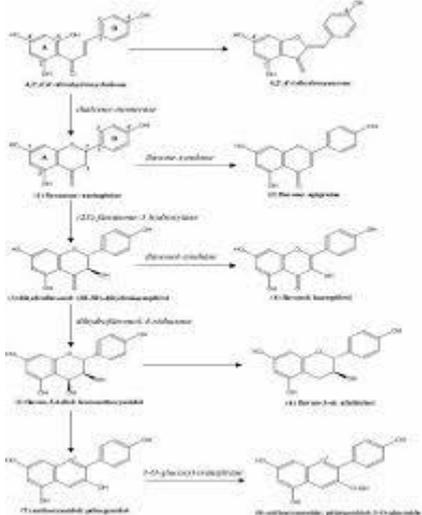
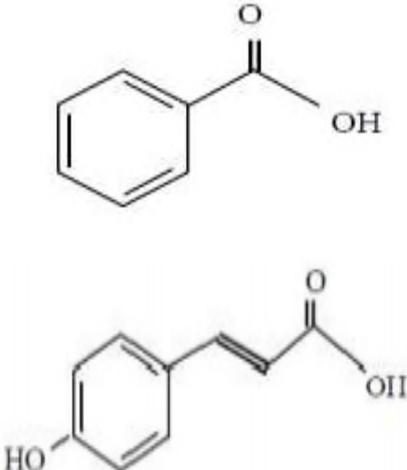
I.5 Les métabolites secondaires:

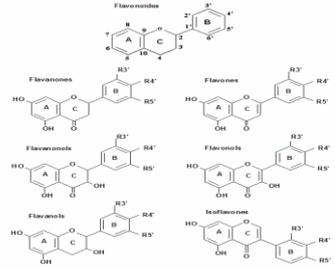
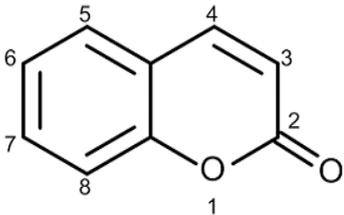
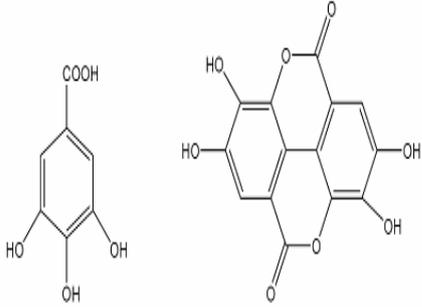
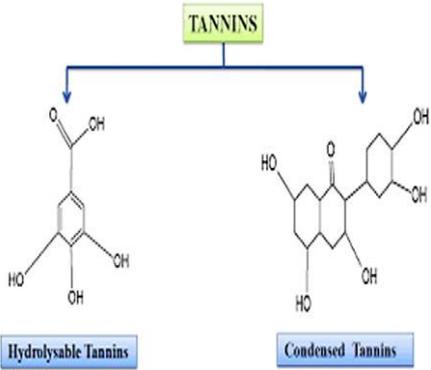
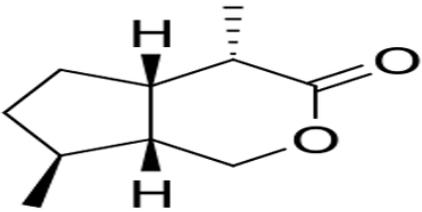
Les métabolites sont les produits intermédiaires du métabolisme. Le terme métabolite est généralement, par définition, limité à de petites molécules. Les métabolites ont diverses fonctions, y compris l'énergie, la structure, la signalisation, un stimulant et des effets inhibiteurs sur les enzymes. Chez les plantes, les métabolites secondaires sont importants à la survie et à la propagation de

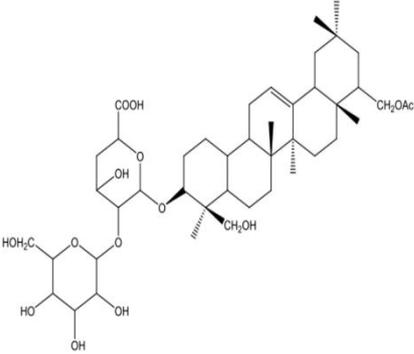
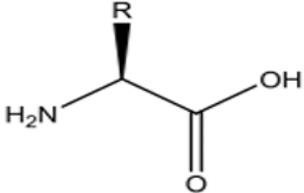
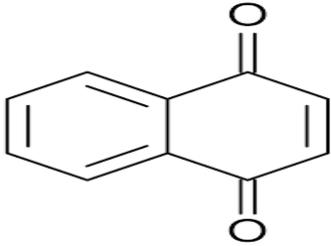
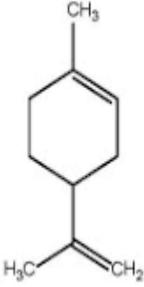
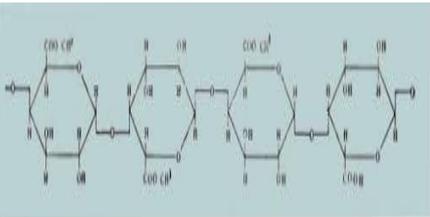
l'espèce. Il joue chez celles-ci différents rôles, comme des phéromones ou des signaux chimiques permettant à la plante de s'adapter à l'environnement (Marouf, A. et al.2007).

Ces métabolites secondaires sont classés en plusieurs types comme il est affiché dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1 : Classification et propriétés des différents classe des métabolites secondaires

Classe	Définition	Structure
<p>Les composés phénoliques</p>	<p>Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une fonction ester, éther ou hétéroside (Bruneton, J. 999).</p>	
<p>Les acides phénoliques</p>	<p>Les phénols simples sont rares dans la nature (catéchol, phloroglucinol ...). Les acides phénols sont des dérivés de l'acide benzoïque (Acides hydroxybenzoïques) ont une structure générale de base de type (C6-C1). Ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides et liées à des sucres ou de l'acide cinnamique (Acides hydroxycinnamiques) (Sarni-Manchado, P. et al. 2006).</p>	

<p>Les flavonoïdes</p>	<p>Les flavonoïdes sont des pigments incolores ou colorés qui sont constitués d'un grand groupe de composés polyphénoliques ayant une structure benzo-γ-pyroneet de façon ubiquitaire dans les végétaux (Kumar, S. et al. 2013)</p>	
<p>Les coumarines</p>	<p>Les coumarines sont des substances naturelles dont la structure comporte le noyau benzo-α pyroneet sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, lactonesdes acides ortho-hydroxyZ-cinnamiques (Cowan, M. M. 1999)</p>	
<p>Les tannins hydrolysables</p>	<p>Ils sont des esters d'acide gallique qui se lient aux molécules de glucose. Plus précisément, un glucose se lie à plusieurs molécules d'acide gallique (Conrad, J. et al. 1998).</p>	
<p>tanins condensés (proanthocyanidines)</p>	<p>Ils sont des composés phénoliques hétérogènes. Ils se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères de flavanes, flavan-3-ols, 5 désoxy-3 flavanols et flavan-3-4-diols, liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) (Wollgast, J. et al. 2000)</p>	
<p>Les terpènes</p>	<p>Les terpènes forment une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Ils sont des composants majeurs de la résine et de l'essence de térébenthine produite à partir de résine (Munada, F. N. 2010).</p>	

<p>Les saponines</p>	<p>Les saponosides sont une classe d'hétérosides très répandue chez les plantes et les animaux marins (Efsa. 2009).</p>	
<p>Les alcaloïdes</p>	<p>Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés de nature basique qui doivent leur activité pharmacologique au groupe aminé qu'ils contiennent en permanence (Ali-Delille, L. 2013).</p>	
<p>Les huiles essentielles</p>	<p>Les huiles essentielles n'existent quasiment que dans les végétaux, elles sont obtenues à partir de diverses parties des plantes, telles que les graines, les bourgeons, les feuilles, les racines, les fruits, les rhizomes, les écorces et les fleurs (Ourari, N. et al. 2017).</p>	
<p>Les quinones</p>	<p>Les quinones sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques (Bruneton, J. 1993).</p>	
<p>Les mucilages</p>	<p>Ils forment des solutions à l'aspect visqueux et colloïdal qui calment les irritations de la toux et les bronchites.</p>	

I.6 Présentation botanique de la plante *Paronychia capitata* L :

I.6.1 La famille des Caryophyllaceae:

I.6.1.1 Généralité:

Les Caryophyllaceae (Caryophyllales) forment un clade d'environ 2200 espèces d'herbes et de sous-arbustes traditionnellement répartis dans quelque 70 à 86 genres (**Greenberg, K. 2011**).

Plusieurs espèces de la famille des Caryophyllaceae sont largement utilisées par de nombreuses communautés ethniques que la médecine traditionnelle à travers le monde. Le plus grand nombre de plantes de la famille sont utilisés dans la médecine traditionnelle chinoise.

Les études ethno-pharmacologiques de cette famille indiquent que les plantes de la famille possèdent des propriétés anticancéreuses, antibactériennes, antifongiques, antivirales, propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. D'autres propriétés diverses signalées sont propriétés d'inactivation des ribosomes, inhibition de l'hypertrophie prostatique chez le rat et inhibition de l'enzyme intestinale carboxyélastérase chez le rat, activité cérébro-protectrice et anti-obésité chez le rat. Peu de revues ont été publiées à ce jour, fournissant des informations sur les médicaments plantes de la famille et leurs propriétés biomédicales. Le présent examen est axé sur la tradition utilisations médicinales des plantes de la famille des Caryophyllacées ainsi que phytochimiques et études pharmacologiques de la famille. Principaux constituants chimiques des Caryophyllaceae sont des saponines, des phytoecdystéroïdes, des benzénoïdes, des phényl propanoïdes et de l'azote contenant composés. La propriété la plus importante des plantes de la famille est l'activité anticancéreuse et est démontré par le grand nombre d'espèces végétales étudiées (**Chandra, R. 2015**).

I.6.1.2 Description botanique :

Les Caryophyllaceae sont des plantes herbacées en général ; avec des tiges parfois à anneaux concentriques de xylème et de phloème. Elles ont des poils variables et des feuilles opposées, simples, entières, souvent étroites, à nervation pennée, les nervures secondaires souvent fugaces et la nervation paraissant ± parallèle, les paires de feuilles reliées par une crête transversale aux nœuds, les nœuds généralement renflés ; stipules absentes ou présentes. Leurs inflorescences sont déterminées, parfois réduites à une fleur solitaire, terminales. Les fleurs sont généralement hermaphrodites, actinomorphes, parfois munies d'un androgynophore. Les tépales 4-5 sont libres à soudés, imbriqués, souvent sépaloïdes. Les pétales sont véritablement absents, mais un verticille externe de 4-5 étamines très souvent pétaloïdes et dénommées ici « pétales », ceux-ci sont fréquemment bilobés et parfois différenciés en une longue et mince partie basale (l'onglet) et une partie apicale élargie (le limbe) séparées par un appendice articulé. Quant aux étamines 4-10 ; à filets libres ou légèrement soudés, parfois adnés aux « pétales » ; grains de pollen tricolpés ou polyporés et les carpelles 2-5, soudés ; à

ovaire supère et placentation centrale libre ou rarement basale ; stigmate réduit à linéaire. Les ovules sont généralement nombreux, rarement en petit nombre ou solitaires, plus ou moins campylotropes. Le nectar est produit par un disque ou à la base des étamines. Le fruit est généralement forme d'une capsule loculicide, s'ouvrant par des valves ou par des dents apicales, mais parfois un utricule ; l'embryon est généralement courbé tandis que l'albumen absent est remplacé par un péricarpe (Bouzidi, S. 2018).

I.6.2 Le genre *Paronychia* :

I.6.2.1 Généralité :

Le genre *Paronychia* appartient à la famille Caryophyllaceae et comprend environ 109 espèces. Il est le plus présent dans les zones tempérées des Amériques, d'Eurasie et aussi le plus fourni de toute la flore Africaine (Hartman, R. L. 1974).

En Algérie, il y a environ 40 espèces distribués dans les régions tempérées et subtropicales. On rencontre principalement les espèces suivantes : *Paronychia argentea*, *P. kapela*, *P. arabica*, *P. echinata*, *P. capitata*, *P. chlorothursa*... (Ozenda, P. 1991).

I.6.2.2 Description botanique :

Il s'agit des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou vivaces, parfois suffrutescentes. Les feuilles opposées sont simples et entières, et munies de petites stipules connées. Les fleurs actinomorphes et bisexuées ou plus rarement unisexuées, sont groupées en cymes plus ou moins condensées, axillaires ou terminales et quelque fois, elles peuvent être solitaires ou apétales, elles se composent de 5 sépales soudés à la base de 5 étamines libres et d'un ovaire supère et uniloculaire. Les fruits sont des utricules ovoïdes à globuleuses (Quezel, P. et Santa, S. 1962).

I.6.3 L'espèce *Paronychia capitata* L. :

I.6.3.1 Origine de nom :

Le nom de *Paronychia*, dérivé d'un mot grec désignant un panaris (une infection aiguë des ongles des doigts) Para "à côté de" et onyx, onychos "ongle", la plante supposée le guérir. Ce nom est apparu pour la première fois dans la littérature moderne en 1763, alors qu'il était utilisé par Adanson, *Capitata* du latin *Capitatus* (*capitado*) ; sous la forme d'une tête (Quattrocchi, U. 2013).

I.6.3.2 Description botanique :

Paronychia capitata (Figure 12) est une plante vivace formant des touffes denses et possède les caractères suivants (Alluola, Z. 2016).

- ✓ Les fleurs blanchâtres sont regroupées en têtes terminales d'un calice long de 3,5-5 mm.
- ✓ Les sépales inégaux bien plus longs que la capsule, incurvés à l'apex.
- ✓ Les bractées ovales-aiguës.

- ✓ Les feuilles linéaires lancéolées-aiguës

I.6.3.3 Systématique de la plante :

La plante est classée selon la taxonomie suivante :

Ordre : Caryophyllaceae

Famille : Caryophyllaceae

Sous-famille : Paronychioideae

Tribu : Paronychieae

Genre : *Paronychia*

Espèce : *Paronychia capitata* Lamarck.

I.6.3.4 Nomenclature de la plante :

Français : Paronyque en tête

Anglais : Algeriantea

Italien : Tèalgerino

Espagnol : Nevadilla, Hierba de la sangre

Arabe : بساط الملوك ، بساط الأرض en algérien, رجل الحمام en Syrie

Elle est distribuée dans la région Méditerranéenne et les Aurès à niveau des secteurs montagneux (Alluola, Z .2016).



Figure 4 : L'espèce *Paronychia capitata* L. (Tison J-M et al., 2014)

I.6.3.5 La composition chimique -

La plante *P. capitata* L. se caractérise par la présence de quatre produits naturels constitués de :

- ❖ **Un glycolipide** : 1-*O*-myristoyl-3-*O*-(6-sulfo- α -D-quinovopyranosyl)-glycérol.

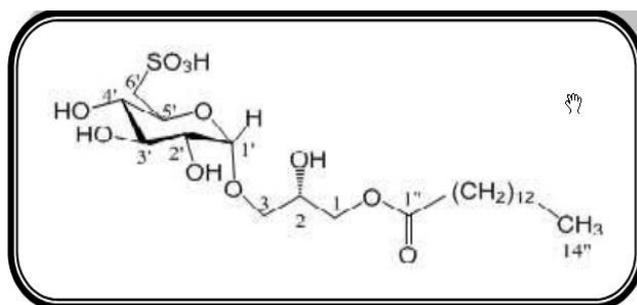


Figure 5: 1-*O*-myristoyl-3-*O*-(6-sulfo- α -D-quinovopyranosyl)-glycérol (Bouffous, M. et al. 2012)

❖ Deux phytostérols: Daucostérol (3-*O*- β -D-glucopyranosyl Sitostérol) ; 3-*O*- β -D-glucopyranosyl Stigmastérol.

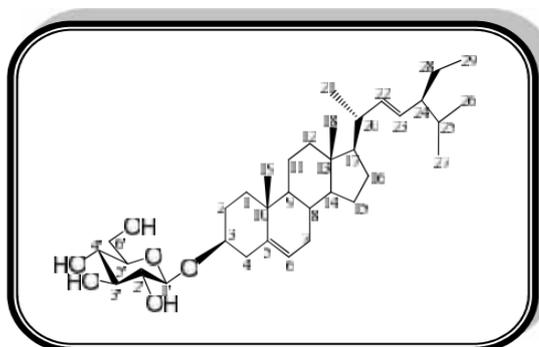


Figure 6 : 3-*O*- β -D-glucopyranosyl Stigmastérol (Bouffous, M et al. 2012)

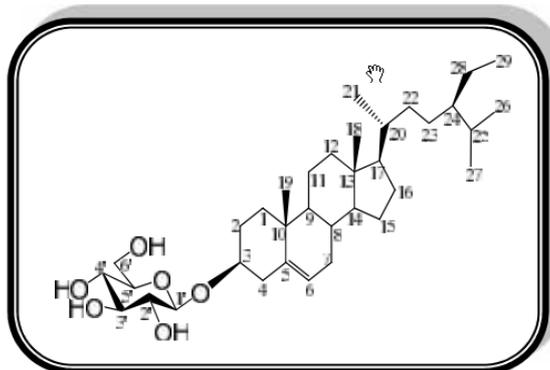


Figure 7 : 3-*O*- β -D-glucopyranosyl Sitostérol (Bouffous, M et al. 2012)

❖ Un disaccharide: Saccharose.

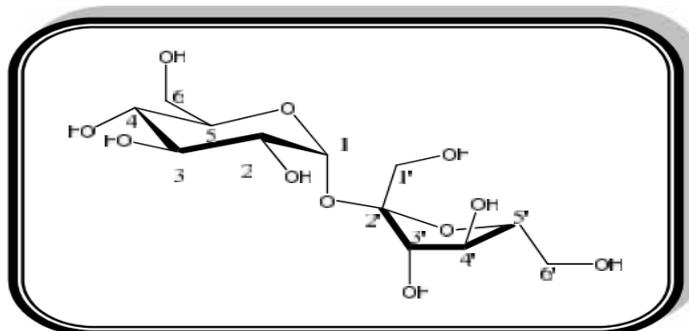


Figure 8 : Saccharose (Bouffous, M. et al. 2012)

I.6.3.6 Utilisation médicinale:

L'infusion des feuilles est aphrodisiaque et diurétique. Elle est également employée dans le traitement de Tuberculose (**Abismail, Y.2014**).

Partie bibliographique

Chapitre II

LES ANTIOXYDANTS ET L'ACTIVITÉ ANTI-
OXYDANTE

Chapitre II : les antioxydants et l'activité antioxydante

II- 1. Généralité :

L'oxygène est la source de vie pour les organismes aérobies, en utilisant des réactions d'oxydo-réduction, mais il peut être également une source d'agression pour ces organismes lorsqu'il est dévié pour former des radicaux libres ou des espèces dérivées hautement réactifs. Ces entités oxydantes sont physiologiquement maintenues en équilibre par de nombreux systèmes antioxydants, si un déséquilibre apparaît ce qui est un stress oxydant, il peut être la cause de système antioxydant défectueux ou d'une quantité d'entités oxydantes produites trop importante dont les conséquences au niveau de l'organisme se font ressentir sur l'ADN, les lipides et les protéines (Sies, H. 1991).

Des activités antioxydants liées aux saponines, aux triterpènes aux esters gras dérivant tous des plantes ont été reportées. Mais l'activité antioxydant des extraits de plante est essentiellement attribuée aux composés phénoliques en particulier aux flavonoïdes. Ainsi dans la détermination de l'activité antioxydant d'extraits de plantes, la teneur en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes totaux est aussi déterminée afin d'établir une corrélation essentielle entre teneurs en composés phénoliques et activité antioxydant et ou entre teneurs en flavonoïdes et activité antioxydant (Djeridane, A et al. 2006).

II- 2. Stress oxydatif :

II-2-1. Définition :

Stress oxydatif est un état de déséquilibre entre la génération d'espèces réactives oxygénées (ERO) et les défenses antioxydants de l'organisme, en faveur des premières (Haleng, J. et al. 2007). En situation normale, la balance antioxydant/pro-oxydant est équilibrée, mais l'organisme peut être confronté à une surexposition à des composés oxydants lorsque la production endogène d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) devient excessive ou suite à l'exposition à un phénomène toxique exogène. Lorsqu'un tel déséquilibre intervient, on parle de stress oxydatif ou stress oxydant (SO) (Favier, A. et al. 2003). Actuellement, il est bien admis que même si un stress oxydant n'est pas une maladie en soi, il est potentiellement impliqué dans de nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évaluation comme dans le cas de diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénérative. Ces dommages sont réalisés par l'attaque des radicaux libres sur de diverses biomolécules, en particulier les protéines, les lipides et l'ADN, ayant finalement comme conséquence la dégradation et la mort de cellules (Moon, M. et al. 2009).

II-2-2. Origine de stress oxydatif :

Le stress oxydatif peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale a des facteurs pro oxydants (Tabac, alcool, médicaments, rayons ultraviolets, pesticides, ozone, amiante, métaux toxiques) (Magder, S. 2006).

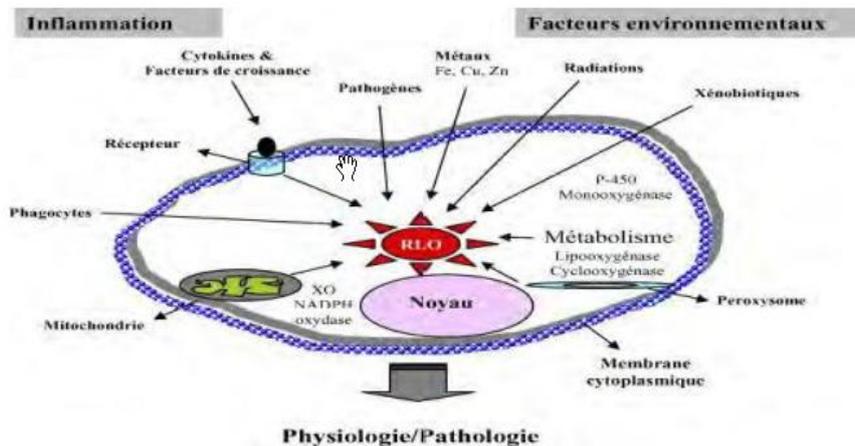


Figure 17 : Origine des radicaux libre et espace réactive oxygéné (Magder S., 2006).

II- 3. Les radicaux libres :

II- 3-1. Définition :

Un radical libre se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés dits célibataires sur l'orbitale externe (Midoun, T. 2011). Ces molécules une grande instabilité, et réagie rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité (Martinez-Cayuela, M. 1995).

II- 3-2. Classification des radicaux libres :

La classification des radicaux libre est donnée dans le tableau 1.

Tableau 1 : Espèces réactives de l'oxygène (Kohen, R. et al. 2002).

Espèces radicalaires	
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet-}$
Radical hydroxyle	OH^{\bullet}
Radical peroxyde	ROO^{\bullet}
Radical alkoxyde	RO^{\bullet}
Monoxyde d'azote	NO^{\bullet}
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Peroxyde organique	$ROOH$
Acide hypochlorique	$HOCl$
Oxygène singulet	O_2
Peroxynitrite	$ONOO^-$

II-3-3. Origine de production de radicaux libre :

La production des espèces oxydantes est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin d'O₂ pour produire de l'énergie au cours des réactions dites la respiration oxydative, cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau au niveau de la mitochondrie, elle peut alors être à l'origine de la production de radicaux libres oxygénés (**Chu, W. et al. 2010**). Les autres sources de production de radicaux libres sont classées en deux catégories ; Les sources endogènes et les sources exogènes (**Pastre, J. et al. 2005**).

II-3-3-1. Sources de production endogène :

- ✓ Chaîne mitochondrial de transport d'électron : nécessite l'utilisation de 4 complexe, l'oxygène est converti par le su peroxyde discutasse dans la matrice mitochondriale en H₂O₂, ce dernier est réduit en H₂O et O₂ le H₂O₂ réagit avec les métaux pour former le radical hydroxyle OH (**Kevin, L. G. et al. 2005**).
- ✓ **Oxydases** : La xanthine oxydase est une des principales sources de ces radicaux libres (**Kelley, E. 2010**). Il est issu de l'oxydation et/ou de la conversion protéolytique de la xanthine déshydrogénase. La xanthine oxydase est exprimée dans les cellules vasculaires et elle peut circuler dans le plasma et se lier à la matrice extracellulaire des cellules endothéliales (**Wichtl, M. et al. 2003**).
- ✓ **La xanthine oxydase (XO)** est une des deux formes de la xanthine oxydoréductase (XOR), l'autre étant la xanthine déshydrogénase (XDH) chez l'homme. La XOR est chez l'homme la principale enzyme responsable de la dégradation des bases puriques (**Harrison, R. 2002**). Elle catalyse les deux dernières étapes, c'est à dire l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine et catalyse la xanthine en acide urique (**Nishino, T et al. 2008**).
- ✓ Des enzymes du métabolisme de l'acide arachidique : Ce dernier peut être oxydé soit par les cyclooxygénases, soit par le ipooxygénases (métallo-enzymes à fer), pour former entre eux des hydroperoxydes qui sont des précurseurs de leucotriènes, puissants médiateurs de l'inflammation (**Argolo, A. et al. 2004**).

II-3-3-2. Sources de production exogènes :

- ✓ L'alimentation (antibiotiques, alcool, aliments riches en protéines et/ou en lipides et/ou à indice glycémique élevé, faible consommation d'antioxydants) ;
- ✓ Le CO₂ atmosphérique ;
- ✓ Les polluants (fumée de cigarette, pollution atmosphérique (SO₂, NO, O₂, hydrocarbures) métaux occupationnels (métaux de transition tels le mercure, le fer, le cadmium et le nickel, arsenic, amiante) ;
- ✓ Les métaux lourds ayant une grande affinité avec les groupements sulfhydryles (-SH), ils inactivent facilement les antioxydants contenant du soufre ;
- ✓ Les médicaments (traitements contre le cancer, psoralène) ;
- ✓ Les radiations (ionisantes, ultraviolets, micro-ondes) (**Valko, M. et al., 2007**).



Figure 18 : Source de production des radicaux libre (Bourouis, N et al. 2020)

II- 3-4. Les pathologies liées aux radicaux libres :

Le principal danger des ROS vient de leur capacité à oxyder et endommager les composants de la cellule. Dans le cas où les systèmes de défense sont dépassés, les radicaux libres attaquent les molécules biologiques situées dans la région de leur production. Ces radicaux libres étant très réactifs et ayant une courte durée de vie alors, toutes les molécules biologiques possédant des doubles liaisons sont susceptibles d'être touchées, notamment les lipides, les protéines et les acides nucléiques (Favier, A. 2003).

- ✓ **ADN** : les radicaux libres peuvent induire des effets mutagènes ou l'arrêt des réplifications de l'ADN. Ils agissent en provoquant des altérations de bases, des pontages ADN-protéine ou des ruptures de brins (Samuni, A. et al. 1983).
- ✓ **Les macromolécules** : les radicaux libres sont également responsables d'inactivation enzymatique en particulier des sérine-protéases, d'une fragmentation des macromolécules (collagène, protéoglycannes, acide hyaluronique), de formation de dimères ou d'agrégats protéiniques dans les membranes cytoplasmiques. Les acides aminés les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, la phénylalanine, la méthionine la cystéine.
- ✓ **Les lipides** : ils sont une cible privilégiée des radicaux libres qui provoquent l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) des phospholipides membranaires. Le phénomène d'auto-oxydation ou peroxydation lipidique consiste en attaque par un radical libre, d'origine exogène ou endogène, de dérivés lipidiques (Luc, G. et al. 1991).

II- 3-5. Intérêts biologiques des radicaux libres dans la physiologie cellulaire :

✓ La phagocytose :

Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire. La phagocytose des bactéries et des parasites par les macrophages ou les polynucléaires s'accompagne d'une production d'espèces réactives de l'oxygène si brutale et intense qu'elle est connue sous le nom « Bouffée respiratoire » puis qu'elle s'accompagne d'une augmentation transitoire de la consommation d'oxygène. Au sein de phagosome, l'activation de la NADPH oxydase, l'action des superoxydes dismutases (SOD) et la NO

synthase (NOS) aboutissent à un mélange très corrosif de O₂, H₂O₂, OH, ONOOH, l'eau oxygénée (H) en présence de chlore et sous l'effet de la myeloperoxydase donnera naissance à l'acide hypochlorique HOCl, c'est l'oxydant microbicide le plus puissant (**Favier, A. 2003**).

✓ La signalisation cellulaire :

En dehors de leurs actions délétères, les ERO peuvent agir en tant que molécule de signal et intervenir dans la communication intracellulaire et intercellulaire. Ils participent à l'expression de certains gènes et à leur régulation. Cela leur confère un rôle important dans les phénomènes de croissance et de mort cellulaire.

Les mécanismes de communication cellulaire faisant intervenir les radicaux libres ne sont pas encore élucidés. En résumé :

- Les radicaux libres joueraient un rôle dans la régulation de l'expression des gènes.
- La présence de radicaux libres dans le milieu extracellulaire est à l'origine de l'activation de certains facteurs de transcription par des mécanismes encore mal compris. Il en résulte ensuite l'expression des gènes correspondants (**Delattre, J. et al. 2005**).
- Les radicaux libres peuvent intervenir dans la prolifération, la différenciation, l'adhésion et la migration (**Jacques R. 2010**).
- Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires ;
- Les radicaux libres jouent un rôle dans la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire (**Favier A. 2003**).

II- 4. Les antioxydants :

II- 4-1. Définition :

D'après **Halliwell (1994)**, un antioxydant est toute molécule endogène ou exogène présente en faible concentration qui est capable de prévenir, de retarder et de réduire l'ampleur de la destruction oxydante des biomolécules. Il capte les radicaux libres et les rendent inoffensifs en interagissant directement avec les composés réactifs de l'oxygène (**Fu R. et al. 2014 ; Léophonte P. 2006**).

II- 4.2. Différents types d'antioxydants :

II-4-2-1. Systèmes antioxydants enzymatiques :

L'organisme se défend contre les radicaux libres en synthétisant des enzymes qui les neutralisent. Les principales enzymes antioxydantes sont la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase (**Li, S. et al. 2009 ; Vincent, A. et al. 2004**).

❖ La superoxyde dismutase SOD:

La superoxyde dismutase (SOD), est une enzyme qui élimine l'anion superoxyde par une réaction de dismutation, elle produit de l'oxygène et du peroxyde d'hydrogène. Cette enzyme existe sous deux formes : une cytoplasmique nécessite comme cofacteur les ions de cuivre et de zinc (CuZnSOD) et l'autre mitochondriale utilise le manganèse comme cofacteur (MnSOD) (**Jacques B. et al. 2004**).



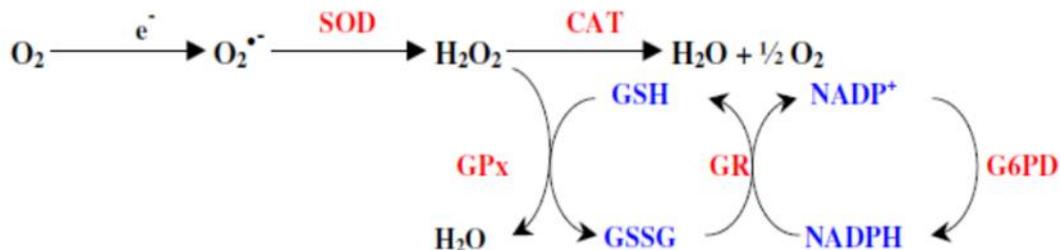
❖ **La catalase :**

Le peroxyde d'hydrogène produit par la réaction de dismutation peut subir une réaction de Fenton. Il ne faut pas donc qu'il s'accumule, c'est le rôle de la catalase, elle transforme deux molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui sont des composés stables (**Jacques, B. et al. 2004**).



❖ **La glutathion peroxydase**

La glutathion peroxydase est une enzyme qui constitue l'un des plus importants systèmes enzymatiques de protection car elle est capable non seulement de détoxifier le peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres hydroperoxydes résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras (**Ganther, H. E. 1999**). La glutathion peroxydase se trouve dans le cytoplasme et dans les mitochondries, elle nécessite la présence de deux cofacteurs importants : le glutathion réduit et le sélénium. En présence de deux molécules de glutathion sous forme réduites, la glutathion peroxydase catalyse la transformation de peroxyde d'hydrogène en deux molécules d'eau. Au fur et à mesure de sa consommation par la glutathion peroxydase, le glutathion doit être régénéré, cela est rendu possible par une glutathion réductase qui consomme une molécule de NADPH fourni par la voie des pentoses phosphates (**Jacques, B et al. 2004**). Au total, le mécanisme réactionnel invoqué dans la détoxification active peut être résumé dans le schéma suivant :



Figures 19 : Le mécanisme réactionnel invoqué dans la détoxification active (**Jacques, B et al. 2004**).

II-4-2-2. Systèmes antioxydants non enzymatiques :

Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), l'ubiquinone, le cytochrome c et les vitamines E et C.

❖ **Oligoéléments :**

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium. Cependant, certains oligoéléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite, peuvent avoir une action pro-oxydante (réaction de Fenton, d'Haber-Weiss).

❖ Glutathion :

Le glutathion réduit (GSH), réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GPx). Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C, baissant ainsi les niveaux de peroxydation lipidique (**Power, S. K. et Lennon, S. L. 1999**). Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car plus le flux d' H_2O_2 est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté (**Ji L. L., F. et al. 1992**).

❖ Ubiquinones et cytochrome :

Il a été décrit précédemment que les Ubiquinone, sous leur forme semi-radicalaire, jouaient un rôle fondamental dans la production de ROS. Inversement, il a pu être défini que la forme "ubiquinol" agissait comme antioxydant (**Power, S. K. et Lennon, S. L. 1999**). L'ubiquinol protège les membranes de la peroxydation lipidique par une diminution de la formation et de la propagation de radicaux peroxylys. L'ubiquinone est également impliquée dans la régénération de la vitamine E ce qui amplifie son rôle protecteur contre les ROS (**Packer, L. et al. 1997**). Le cytochrome c présent dans l'espace inter membranaire a un rôle de détoxification en captant l'électron libre d' $O_2^{\cdot-}$ produit au niveau de la chaîne respiratoire. Ainsi réduit, il cède cet électron au complexe IV formant du cytochrome c oxydé et de l' H_2O (**Skulachev, V. P., 1998**).

❖ Vitamine E et vitamine C :

Les vitamines E (α -tocophérol) et C (acide ascorbique) semblent être des plus importants dans la lutte contre le stress oxydant. La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique (**Evans, W. J. 2000**). La vitamine C, hydrosoluble, se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire ; elle peut capter directement l' $O_2^{\cdot-}$ et l' OH^{\cdot} . Elle peut aussi réduire le radical α -tocophérol et ainsi permettre une meilleure efficacité de la vitamine E (**figure 20**) (**Evans, W. J. 2000**)

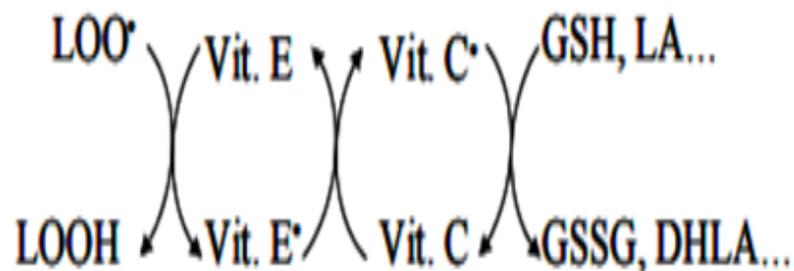


Figure 20 : Réaction d'élimination des radicaux lipidiqes par les vitamines E et C (**Evans, W. J. 2000**)

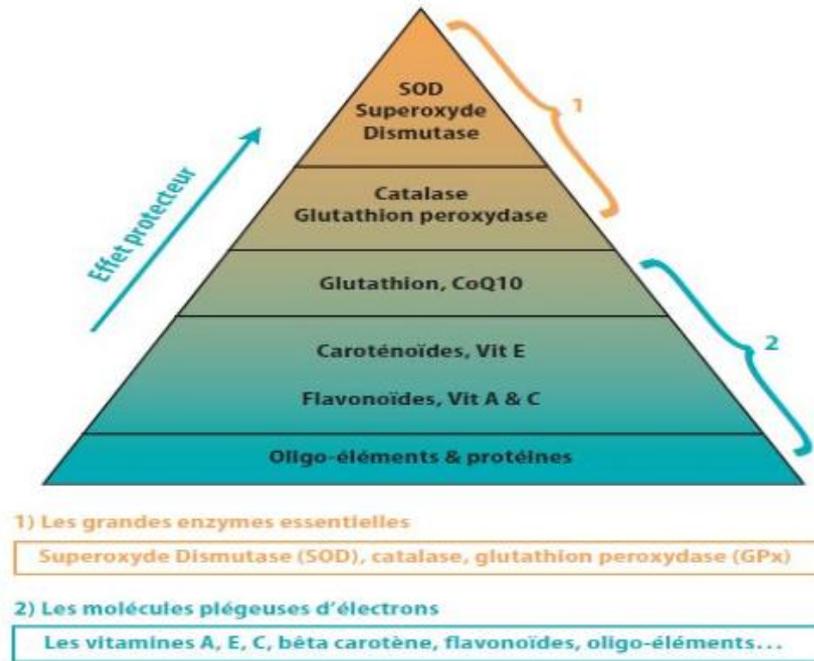


Figure 21 : Les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Menvielle-Bourg, 2005).

II-4-3. Mécanisme d'action des antioxydants :

L'action des antioxydants repose sur leur capacité à inactiver les radicaux libres. Ils inhibent la propagation des réactions radicalaires en fournissant des hydrogènes aux radicaux libres présents. Un antioxydant prévient la formation des radicaux libres et peut intervenir par différents mécanismes. Les flavonoïdes (un énorme potentiel antioxydant naturel) rentrent dans cette catégorie d'antioxydants. Ils agissent en piégeant les radicaux libres et en complexant les métaux pro-oxydants. Antioxydants action sur le potentiel redox du milieu, la température, la pression en oxygène, la lumière (Kerbouche, L. 2010).

II- 5. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant :

Les méthodes d'évaluation du caractère antioxydant peuvent être qualitatives ou quantitatives. Les méthodes qualitatives, utilisées pour repérer l'activité antioxydant de composés, sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général, la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants. Une des méthodes les plus utilisées pour la détection d'antioxydants est la chromatographie sur couche mince (CCM), qui donne naissance à des réactions colorées en présence de tels composés (Li, p. et al. 1999).

D'autres méthodes, moins pratiques, nécessitent la pulvérisation successive de deux solutions différentes. Une phase inversée de chromatographie (chromatographie sur couche mince), a été proposée par Glavind et Holmer. Combinée avec la détection visuelle pour l'évaluation de l'activité de balayage de radical libre des fractions antioxydantes en employant 1,1-Diphényl-2-Picryl -Hydrazyl (DPPH) (Glavind, J. et Holmer, G. 1967).

En ce qui concerne l'évaluation quantitative de l'activité antioxydante, beaucoup des méthodes peuvent être appliquées pour estimer directement l'activité antioxydant. La génération de radical libre est

directement reliée avec l'oxydation dans les nourritures et les systèmes biologiques. Les méthodes principales comportent le balayage des radicaux de superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le balayage de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le balayage d'acide hypochloreux (HOCl) (Sanchez, M. Y. Wang et al. 2002). Le balayage du radical d'hydroxyle (OH^{\cdot}), ou le balayage du radical de peroxyde (ROO^{\cdot}).

Parmi ces méthodes, nous citons ceux qui emploient l'azote composant pour produire des radicaux de peroxydes, tels que la méthode de PIEGE (paramètre total d'antioxydant de radical piégeage) ; la méthode ORAC (capacité d'absorbance du radical de l'oxygène) ; La méthode d'ABTS (le balayage du radical cation 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). Le balayage du radical stable 1,1-Diphényl-2-Picryl – Hydrazyl (la méthode DPPH) (Molyneux, P. 2004). La méthode de DMPD (le balayage du radical cation N, N'-p-di-méthyl-quinolé-diamine, ou la méthode photochemiluminescence (PLC).

Actuellement, une des méthodes analytiques les plus communes pour déterminer l'oxydation des lipides est l'analyse de TBA qui mesure un complexe thiobarbiturique-malonaldéhyde (TBA-MA) avec un maximum d'absorbance à 593 nm. La méthode TBA a certaines limitations dans des systèmes de nourriture. Le TBA réagit non spécifiquement avec des composés tels que les sucres, l'acide ascorbique, et les produits non enzymatiques de brunissement souvent actuels en nourritures (Magin, D. et al. 2002).

Partie bibliographique

Chapitre III

LA LITHIASE URINAIRE

CHAPITRE III : LA LITHIASE URINAIRE

III- 1. Généralités sur la lithiase urinaire :

La lithiase urinaire est connue depuis les temps les plus reculés et s'avère indissociable de l'histoire de l'humanité. C'est une pathologie fréquente, hautement récidivante, reflétant des conditions sanitaires, des habitudes alimentaires et le niveau de vie des populations.

La lithiase évolue sans cesse tant du point de vue de ses caractéristiques épidémiologiques que de ses facteurs étiologiques, sa fréquence atteint 5 à 10 % de la population, essentiellement entre 20 et 60 ans, avec une sex-ratio de 3 hommes pour 1 femme (Ryall, R. L. et al. 2005).

III- 2. Définition de la lithiase urinaire :

Le terme lithiase urinaire anciennement appelé « maladie de la pierre » désigne la maladie qui est caractérisée par la formation des calculs dans les reins ou dans les voies excrétrices urinaires (cavités rénales, uretères, vessie). Le mot lithiase vient du grec *lithos* qui signifie pierre (Daudon, M. et al. 2008).

III- 3. Historique :

La lithiase urinaire est connue depuis les temps les plus reculés et s'avère indissociable de l'histoire de l'humanité (El Lekhlifi, Z. et al., 2014). Sa connaissance remonte à l'haute antiquité. Elliot Smith, il y a environ 5000 ans, en décrivait le premier cas chez un jeune égyptien de 15 ans au décours de 9000 autopsies pratiquées sur des momies (Benaamar, S. 2018).

III- 4. Epidémiologie :

Jusqu'à la fin du XIX siècle, la lithiase urinaire (LU) était essentiellement vésicale, constituée de purines et de phosphate de calcium et touchait principalement les jeunes garçons (Traxer, O. 2007). La prévalence est d'environ 5 à 10 % dans la tranche d'âge des 20-60 ans, la lithiase urinaire reste une pathologie souvent épisodique. Le risque de récurrence après la découverte d'un premier calcul est de l'ordre de 50 % à 5-10 ans dans la population des 20 à 60 ans (Dalibon, P. 2015).

Les études épidémiologiques européennes, américaines et asiatiques montrent que la prévalence de la LU a progressivement augmenté au cours des 50 dernières années, notamment des modifications alimentaires davantage tournées vers un régime salé et carné (Castiglione, V. et al. 2014).

III- 5. Types des lithiases urinaires :

Plusieurs types de calculs existent qui diffèrent par leur composition chimique qui sont les calculs calciques représentent la majorité des pathologies lithiasiques et englobent notamment les calculs à base d'oxalate de calcium (75 %) et de phosphate de calcium ; ainsi les calculs d'acide

urique sont communs alors que les magnésien (Struvite) sont moins fréquents. Les calculs de cystine sont plus rares (Battu, C. 2016).

III- 5 -1. La lithiase calcique :

Environ 75 à 80 % de tous les calculs rénaux contiennent du calcium. La plupart sont composés d'oxalate de calcium, seul ou en combinaison avec du phosphate de calcium (Denu Ciocca, C. *et al.* 2011).

Les calculs d'oxalate de calcium (figure 22 a et b) sont bruns ou gris, petits, et bien circonscrits sur les radiographies. Les cristaux d'oxalate de calcium peuvent apparaître comme des haltères ou des pyramides. Il existe deux types de calculs oxalate de calcium.

- **Les calculs d'oxalate de calcium mono-hydratés (whewellite):** sont connue sous le nom minéralogique de *whewellite* (C1) de formule chimique $\text{Ca}(\text{COO})_2 (\text{H}_2\text{O})$. C'est la forme cristalline la plus couramment observé (77,98%). Elle a pour principale étiologie une hyperoxalurie
- **Les calculs d'oxalate de calcium dihydratés (weddellite) :** sont moins radios, de couleur jaune et spiculés), connue sous le nom minéralogique de *weddellite* (C2) de formule chimique $\text{Ca}(\text{COO})_2 (2\text{H}_2\text{O})$ (Traxer, O 2007).

Les calculs de phosphate de calcium (Figure 22 c) sont de couleur beige ou blanche et cristaux d'apatite et de brushite (Cynthia, J. *et al.* 2011).



Figure 22 : (a) Calcul de type Whewellite. (b) Calcul de type Weddellite ; (c) Calcul de type phosphocalcique (Fazil Marickar *et al.*, 2009 ; Daudon *et al.* 2018)

Tableau 2 : Les constituantes de lithiase calcique (Cotton *et al.*, 2014 ; Denu- Ciocca *et al.*, 2011).

Type	Sous type	Dénomination chimique	Nom cristallin	Morphologie	Caractéristiques
Lithiase calcique	Oxalate de calcium	Oxalate de calcium monohydrate	Whewellite		Bruns ou jaune pâle, petits, et bien circonscrits sur les radiographies. Elles peuvent apparaître comme des haltères ou des pyramides.
		Oxalate de calcium dihydrate	Whewellite		
	Phosphate de calcium		Carbatite ou brushite		Couleur beige ou blanche

III- 5 -2. Lithiase urique :

Les calculs d'acide urique (**Figure 23**) comptent pour 5 à 10 % des lithiases mais dans les pays méditerranéens, ils interviendraient dans près de 30 % des cas. De couleur jaune ou orange (Cynthia, J. *et al.* 2011). L'acide urique est le produit du métabolisme des bases puriques dont la solubilité urinaire dépend du pH. Lorsque le pH urinaire est acide (5-6) on note la cristallisation de l'acide urique (Traxer, O. 2007).



Figure 23 : Calculs d'acide urique (Dominique, S. 2014)

Tableau 3 : Caractéristiques et morphologie de lithiase urique (Denu-Ciocca, C.J *et al.*, 2011).

Type	Caractéristique	Morphologie
Lithiase urique	Jaune ou orange, transparents sur les radiographies standard. Elles prennent plusieurs formes, losanges, rosettes, aiguilles.	

III- 5 -3. Calculs de struvite (phosphate ammoniaco-magnésienne)

Dans la lithiase phospho-ammoniaco-magnésienne, les calculs se forment au cours d’infections urinaires à germe uréasique en pH alcalin (Dalibon, P. 2015). Les calculs de struvite (Figure 24). Ces calculs représentent 10 à 15 % de tous les calculs, causes principales des calculs coralliformes, sont plus fréquentes chez les femmes. Leur coloration est brune claire (Cynthiaet, J. *et al.* 2011).



Figure 24 : Calcul de type struvite (Sekkoume, K. 2011)

Tableau 4 : Caractéristiques et morphologie de lithiase ammoniacomagnésien (Denu-Ciocca, C. J. *et al.* 2011).

Type	Nom cristallin	Morphologie	Caractéristiques
Lithiase de phosphate ammoniac magnésien	Struvite		Brun clair à la radiographie, feuilletée. Ils sont associés à des infections des voies urinaires par des bactéries productrices d’uréase.

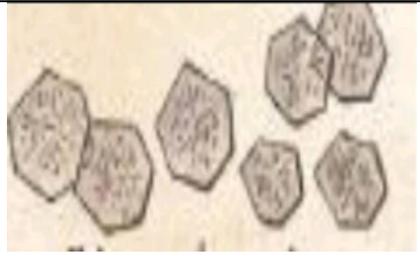
III- 5 -4. Calcul de cystine :

La lithiase cystinique résulte d’une anomalie héréditaire du transport maline héréditaire du transport transépithélial rénal et intestinal de la cystine et des acides aminés dibasiques. L’excrétion urinaire excessive de cystine, le moins soluble de tous les acides aminés, entraîne la formation répétée de calculs de cystine (**Figure 25**) La lithiase cystinique représente environ 1% des lithiases (**Jungers, P. et al. 2001**).



Figure 25 : Calcul de cystine (**Cochat, P. et al.2012**)

Tableau 5 : Caractéristiques et morphologie de lithiase cystinique (**Denu-Ciocca, C. J. et al. 2011**)

Type	Caractéristiques	Morphologie
Lithiase cystinique	Jaune-vert et homogènes à la radiographie. Les cristaux de cystine prennent une forme hexagonale ; les lithiases sont souvent bilatérales et peuvent être coralliformes.	

III- 5 -5. La lithiase médicamenteuse :

Ils représentent 1 à 2% des lithiases rénales. Dans certains cas, le médicament ou ses métabolites entrent dans la composition du calcul. Dans les deux cas, la substance lithogène peut provoquer le processus lithiasique ou se fixer sur un calcul déjà présent (**Servais et al., 2006**).



Figure 26 : Calcul de métabolites du triamtèrene + Calcul d’amoxiciline + cristaux d’amoxiciline (**Servais, A. et al. 2006**).

III- 6. Facteurs favorisant la formation de calcul :

Plusieurs facteurs de risque lithogènes ont été identifiés (**Dalibon, P. 2015**).

- Antécédents familiaux dans 40 % des cas;
- Apports alimentaires accrus en produits laitiers, protéines animales, sel, aliments riches en oxalate, purines (favorise l'hyper calciurie) ou sucres rapides (fructose notamment);
- Consommation faible en fibres alimentaires;
- La teneur de calcium dans l'eau de boisson est élevée;
- Infection urinaire;
- Anomalies du pH urinaire (normal à 5,8), acide (calculs d'acide urique, de cystine et d'oxalate de calcium) ou encore alcalin (calculs de phosphate de calcium);
- Anomalies anatomiques favorisant la stase urinaire, donc la formation des calculs;
- Iatrogénie médicamenteuse dans 1 % des cas (sulfamides, vitamine C...);

D'autres sont identifiés telle que le voyage prolongé récent, l'activité sportive, le séjour en pays chaud, le travail en ambiance surchauffée et la modification du régime alimentaire (**Dalibon, P. 2015**).

- Certaines maladies (cancer, hyperthyroïdie, cancers métastatique...). Les calculs rénaux apparaissent souvent sans raison particulière. Toutefois, une consommation d'eau insuffisante joue un rôle clé dans leur formation, de même que de mauvaises habitudes alimentaires.

III- 6. Rôle du pH dans la formation des calculs :

L'importance du pH urinaire ne doit pas être négligée, car il conditionne souvent le risque lithiasique. Ainsi, lorsqu'il est inférieur à 5.3, cela favorise la cristallisation de l'acide urique, de la cystine, de la xanthine. Lorsqu'il est supérieur à 6.5, cela favorise la cristallisation du phosphate de calcium et du complexe phospho-ammoniac-magnésien (**Cochat, P. et al. 2012**).

III- 7. Symptômes des lithiases urinaires :

Dans la plupart des cas, un calcul urinaire est totalement asymptomatique, découvert de façon fortuite sur un ASP ou une échographie demandés pour un autre motif. Les manifestations cliniques sont multiples, indépendantes de sa nature physico-chimique (Traxer, O.2007).

Il peut se révéler par un syndrome douloureux, une hématurie, une infection urinaire avec risque de septicémie et de choc septique ou une insuffisance rénale aiguë ou chronique (Zoung-Kanyi, J .et al 1990).

III- 8. Physiopathologie de la lithogénèse :

La lithogénèse regroupe l'ensemble des processus qui conduisent à la formation d'un calcul dans les voies urinaires (**Daudon, M. et al. 2008**).

III- 8-1. Les étapes de la lithogénèse :

III- 8-1.1. Sursaturation des urines :

La sursaturation urinaire est le moteur de la formation de cristaux dans les reins. Depuis la formation de particules cristallines doit évidemment à partir de la sursaturation, la sursaturation est sans aucun doute essentielle pour formation de pierre (**Tsujihata, M. 2008**).

III- 8-1.2. Nucléation cristalline :

Lorsque le niveau de sursaturation est suffisant, les molécules dissoutes se rassemblent pour constituer des germes cristallins, premier stade des particules solides conduisant à la formation des calculs (**Daudon, M. et al. 2008**).

III- 8-1.3. La croissance des cristaux :

Cette étape assure la transformation des germes cristallins initiaux mesurant quelques centaines d'angström Å° en cristaux de plusieurs microns. Les cristaux possèdent au niveau de la couche externe des électrons libres qui peuvent attirer des cations présents dans l'urine. Il en résulte des sites de croissance à la surface de chaque face du cristal où s'effectue l'incorporation de nouvelles entités. Cette croissance peut être stoppée par le blocage par des substances présentes dans le milieu (inhibiteur) (**Basavaraj, D. et al. 2007**).

III- 8-1.4. L'agrégation des cristaux :

Contrairement à la croissance, l'agrégation cristalline, qui met en jeu des phénomènes d'attraction électrostatique en fonction de la charge superficielle des cristaux, est un processus rapide. Elle peut, de ce fait, engendrer des particules volumineuses dans un délai court, inférieur au temps de transit de l'urine à travers le rein.

A cause de leur taille, mais aussi de leur forme très irrégulière et de la présence de nombreuses aspérités (cristaux anguleux), les agrégats ainsi formés sont susceptibles d'être retenus dans les segments terminaux des néphrons, sur l'épithélium papillaire ou dans les cavités excrétrices du rein. L'agrégation cristalline est considérée aujourd'hui comme une étape importante de la lithogénèse et plusieurs travaux ont montré que les urines des sujets lithiasiques avaient une moindre aptitude à réduire l'agrégation des cristaux que les urines des sujets normaux (**Basavaraj, D. et al. 2007**).

Parfois, l'accumulation des cristaux plus petits en amont d'un agrégat retenu dans le tube collecteur en raison de sa grande taille peut entraîner une obstruction qui peut, lui aussi, être le point de départ d'un processus lithiasique (**Laube, N. et al. 2004**).

III- 8-1.5. Agglomération cristalline :

L'agglomération des cristaux implique des macromolécules urinaires protéiques chargées négativement, pouvant se fixer à la surface des cristaux et servant de point d'ancrage à de nouveaux cristaux (Dalibon, P. 2015).

III- 8-1.6. La rétention des particules cristallines :

Des particules cristallines formées au cours des différentes phases de la cristallogénèse vont être retenues dans le rein ou les voies urinaires et vont croître pour former un calcul (Daudon, M. et al. 2008).

III- 8-1.7. La croissance du calcul :

La vitesse de croissance du calcul initié par la rétention cristalline est ensuite très variable, dépendant du niveau de sursaturation des urines et donc de la nature des anomalies métaboliques présentes (Daudon, M. et al. 2008).

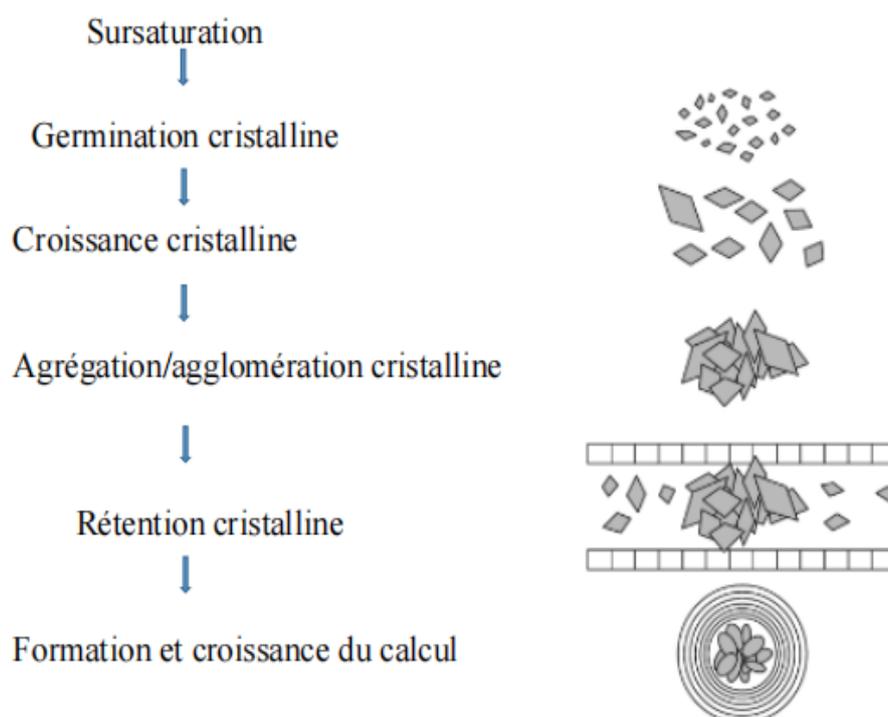


Figure 27 : Principales étapes de la lithogénèse (Daudon, M. et al. 2008)

III- 9. Promoteurs et inhibiteurs de la lithogénèse :

III- 9-1. Les Promoteurs :

Les ions qui participent à la formation des espèces insolubles sont appelés promoteurs de la cristallisation. Ils s'associent très souvent par deux ou par trois pour former une substance cristallisable qui, elle-même, peut se présenter sous plusieurs espèces cristallines (Daudon, M. et al 2008).

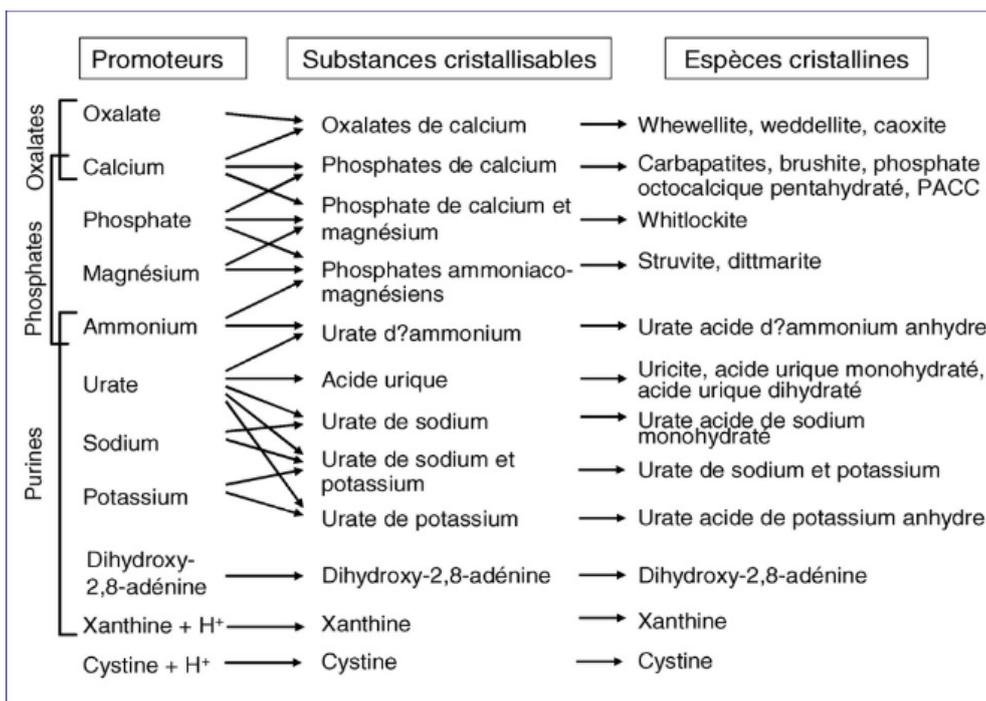


Figure 28 : Promoteurs, substances cristallisables et espèces cristallines (Daudon, M. et al. 2008).

III- 9-2. Les Inhibiteurs :

Les inhibiteurs peuvent, selon leur nature, intervenir à toutes les étapes de la cristallogénèse. Ils sont présents aussi bien chez les sujets normaux que chez les patients lithiasiques, mais sont globalement moins efficaces chez ces derniers pour s'opposer à la formation des cristaux, soit parce que leur quantité est insuffisante par rapport à celle des promoteurs de la cristallisation, soit parce qu'ils présentent des modifications structurales qui altèrent leur efficacité (Jaggi, M. et al. 2007).

Tableau 6 : Les principaux inhibiteurs la cristallisation (Gupta, M. et al. 2011).

Nature	Inhibiteurs	Effets sur la cristallisation
Inorganique (micromoléculaire)	Citrate	Agissent sur la phase de croissance en formant des complexes solubles avec les substances cristallisables et diminuant ainsi la sursaturation.
	Magnésium	Agit sur la croissance et l'agrégation
Organique (macromoléculaire)	Pyrophosphate	Agissent sur la nucléation, la croissance, et agrégation et ils exercent leur action directement sur les cristaux en bloquant les sites de croissances situés à leur surface.
	Osteopontine	
	Tamm-Horsfall (TPH)	
	Glycosaminoglycans	
	Lithostathine	
	Nephrocalcine	

III- 10. Traitement de la lithiase urinaire :**III- 10-1. Traitement pharmacologique :**

La prise en charge, multidisciplinaire est faite essentiellement par des médicaments spécifiques selon le type de lithiase (**Dalibon, P. 2015**). Ce traitement a pour but de diminuer la fréquence des récurrences et de réduire la morbidité due aux calculs (**Benhlila, A. 2017**).

III- 10-2. Traitement chirurgical :

Le traitement chirurgical vise à éradiquer tout calcul dans l'arbre urinaire. L'urologue prend en compte la localisation du calcul, sa taille, sa composition, l'anatomie des voies urinaires et la morphologie du patient (**Dalibon, P. 2015**).

III- 10-3. Traitement préventif :

Le patient doit adopter un régime alimentaire équilibré, normalisé en calcium (800 mg à 1 g/jour), en sel (< 9 g/jour) et en protéines animales (< 1,2 g/kg/jour). Les aliments riches en fibres naturelles contiennent de l'acide phytique ayant la capacité à se lier au calcium pour former des complexes inabsorbables (**Dalibon, P. 2015**). De plus la base du traitement de toute lithiase est la dilution des solutés contenus dans l'urine grâce à l'augmentation de la diurèse, et donc de l'hydratation (**Cochat, P. et al. 2012**).

PARTIE EXPERIMENTALE
CHAPITRE I
MATÉRIEL ET MÉTHODE

Chapitre I : Matériel et méthodes

Introduction et objectifs d'étude :

Notre étude expérimentale est réalisée au niveau de laboratoire pédagogique au sein de département SNV dont l'objectif est d'identifier qualitativement la présence de certains métabolites secondaires par des tests de screening Phytochimique et d'étudier l'activité antioxydant et anti-lithiasique de l'extrait aqueux de la partie aérienne de la plante *Paronychia capitata L.* (tige, feuille et fleurs) dont la partie la plus abondante dans la plante est les fleurs.

I- Matériel et méthodes :

I- 1. Matériel végétal

La plante médicinale de notre étude appartient à la famille de Caryophyllacée sous le nom scientifique : *Paronychia capitata L.* qui est connue en Algérie par le nom vernaculaire : *Bessat El Moulouk* ou *Tai El-Djabel*.

I- 1.1. Origine géographique et période de récolte :

La récolte de la plante s'effectue par un arboriste au niveau d'Oran dans une pâturage floristique pierreux à côté des plages de la région Ain-Türck -Oran-(Ouest d'Algérie) au moi Avril-Mai (la période de floraison) 2021 (**figure 29**).

I- 1.2. Les coordonnées géographiques de la zone de récolté :

La zone de récolte se caractérise par les coordonnées géographiques suivants :

- ✓ **Latitude:** 35.73
- ✓ **Longitude:** 0.75 35° 43' 48" Nord; 0° 45' 0" Ouest
- ✓ **L'Altitude à la surface de la mer :** 66 m



Figure 29: Localisation de la région de récolte par image satellitaire (Google Maps, 2022)

I- 2. Taux d'humidité (teneur en eau) :

La détermination de la matière sèche a été réalisée selon la méthode proposée par (Benkhaled, 2018) avec quelques modifications. Juste à l'arrivée des échantillons au laboratoire, la dessiccation est réalisée par évaporation à l'étuve à 104-110°C de 1 g de matière végétale jusqu'à ce que le poids devienne pratiquement constant. La teneur en eau est définie comme étant la perte de poids subi lors de la dessiccation.

La détermination de teneur en eau se fait par le calcul de la différence de poids avant et après la dessiccation selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = [(M1 - M2) / M1] \times 100$$

M1 : masse en g de l'échantillon avant séchage.

M2 : masse en g de l'échantillon après séchage.

I- 3. Préparation de matériel végétal :

I- 3.1. Séchage et broyage :

La plante fraîchement récoltée, a été lavée afin de la débarrasser de poussière et d'autres particules. La partie aérienne est séchée dans un endroit aéré à l'abri de la lumière pendant 10-15 jours. Après le séchage de matériel végétal récolté, il est ensuite broyé à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et homogène permettant d'améliorer le rendement d'extractions (Anonyme, A. 2018).

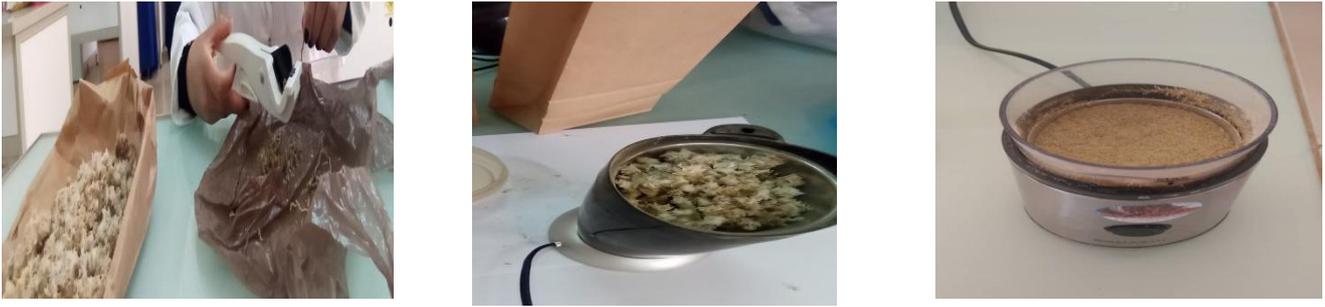


Figure 30 : Nettoyage et broyage la plante

I- 3.2. Conservation :

Avant de stocker les plantes, vérifier qu'elles sont parfaitement sèches. La moindre humidité déclencherait un processus de moisissure qui rendrait le produit inutilisable. Les plantes sont suffisamment sèches lorsqu'elles se brisent et se cassent avec un bruit sec (Delille, L. 2007). Une fois la plante bien séchée, on peut les conserver, à l'abri de la lumière, de l'air, de l'humidité et de la poussière dans des sacs de papier fort fermes grâce à une bande adhésive. L'emballage portera une étiquette visible avec le nom de la plante et la date de récolte (Delaveau, D. *et al.* 1985).

I- 4. Préparation d'extrait aqueux :

➤ Par décoction sous reflux :

La décoction s'opère en faisant bouillir les plantes, le plus souvent dans de l'eau. Elle convient surtout aux écorces, aux racines, aux tiges et aux fruits. On laisse bouillir pendant un temps plus ou moins long selon les espèces, en général de 10 à 30 minutes. Pour extraire le maximum des principes actifs, il faut avoir soin de couper les plantes en menus morceaux (Debuigne, G et Couplan, H. 2009).

On pèse 20 g de poudre séchée, on l'inverse dans un ballon (1000 ml) puis on verse 500 ml de l'eau distillée ; on met le tout sous un montage à reflux porté à l'ébullition pendant 20 min (**figure 31**).



Figure 31 : Le montage d'extraction de la plante sous reflux (Décoction)



Figure 32 : Filtration sous vide d'extract



Figure 33 : Séchage d'extract dans l'étuve à 60°C

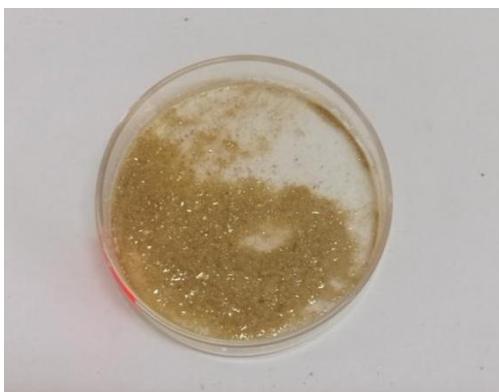


Figure 34 : Obtention d'extract aqueux après séchage

I- 5. Le rendement d'extraction :

Le rendement est exprimé en pourcentage de la matière sèche (% ms) calculé selon l'équation suivante (Benkhaled,A et Sinator,A. 2015) :

$$R\% = (m/M) * 100$$

R% : rendement exprimé en % ms

m : masse de l'extrait sec (après séchage)

M : masse de la poudre végétale séchée

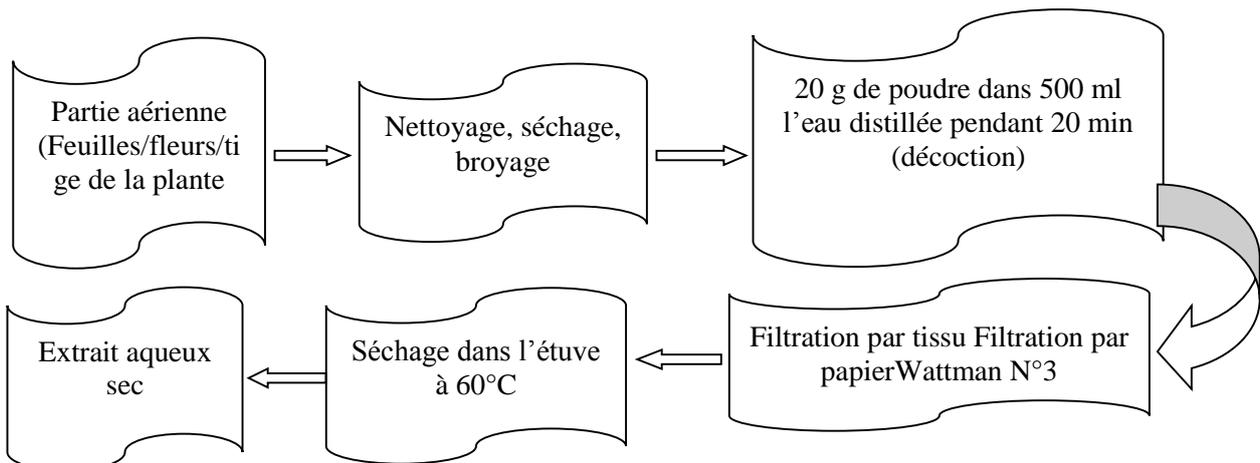


Figure 35: Organigramme de protocole d'extraction sous reflux par décoction

I- 6. Le screening Phytochimique :

Il s'agit d'une étude qualitative visant la recherche des principaux groupes chimiques (alcaloïdes ; polyphénols ; flavonoïdes ; tanins ; saponosides ; composé réducteurs ...). Les tests de caractérisation sont basés sur des réactions de précipitation et de complexations avec formation de complexes insolubles et colorés. La coloration observée est provoquée par l'utilisation d'un réactif appropriée qu'est due généralement à la formation d'une conjugaison ou d'une instauration dans une molécule.

I- 6.1. Test des flavonoïdes :

2 ml de l'extrait est traité avec quelques gouttes d'HCL 37%, et avec 0.5 g de tournure de magnésium (Mg). Le test positif qui caractérise les flavonoïdes est marqué par l'apparition d'une couleur rouge ou orange (Karumi,F. et al. 2004).

I- 6.2. Test des polyphénols :

Quelques gouttes de Perchlorure ferrique (FeCl₃) (10%) sont ajoutées à 2 ml d'extrait, la formation d'une précipité noir-vert intense fut le signe de la présence des polyphénols (Rajeshwari,P.Rajeshwari, G 2013).

I- 6.3. Test des alcaloïdes :

2.5 ml d'HCl à 1 %, sont ajoutés à 0.1 ml d'extrait, et incubés au bain marie pendant 10 min. La solution obtenue est divisée en deux parties. On ajoute à l'une le réactif de Mayer et à l'autre le réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes.

- ❖ **Réactif de Mayer :** Dissoudre 1.358 g d'HgCl₂ dans 60 ml d'eau distillée puis 5 g de KI dans 10 ml d'eau distillée. Mélanger les deux solutions et ajuster le volume total à 100 ml.
- ❖ **Réactif de Wagner :** Dans 75 ml d'eau distillée, dissoudre 2 g de KI et 127 g de I₂. Le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée (**Majob, G. 2003**).

I- 6.4. Test des tanins :

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de chaque extrait, 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl₃ diluée à 1%. L'apparition d'une coloration vert foncé ou bleue verte indique la présence des tanins (**EL-Haou, H. et al. 2018**).

I- 6.5. Test des saponoside :

On ajoute 1 ml d'eau distillée à 2 ml de l'extrait, puis la solution est agitée pendant 1 minute. La présence des saponosides est confirmée par l'apparition d'une mousse qui persiste durant 15 minutes. Le test est considéré comme positif si l'épaisseur de la mousse dépasse 1cm (**N'Guessan, T. et al. 2009**).

I- 6.6. Test de mucilage :

La poudre végétale est mélangée avec l'éthanol 10 %, puis porter à l'ébullition pendant 15 minutes-Le mélange est ensuite filtré. A 1 ml de l'extrait, on a ajouté 5 ml d'éthanol absolu. L'apparition d'un précipité floconneux indique la présence du mucilage (**Majob, G. 2003**).

I- 6.7. Test des quinones libres :

A un volume de 1 ml de l'extrait, on ajoute quelques gouttes de NaOH à 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (**Oloyede, O. 2005**).

I- 6.8. Test des composés réducteurs :

On ajoute à 1 ml d'extrait à 0.5 ml de Liqueur de Fehling A et B puis on chauffe le tube au bain marie à 100°C. Un test positif est indiqué par l'apparition d'un précipité de couleur rouge brique (**Trease, GE. et al., 1989**).

I- 7. Dosage des polyphénols totaux :

L'estimation de la teneur en phénol totaux contenue dans l'extrait de *Paronychia capitata L.* est réalisée par dosage spectrophotométrique. Cette méthode repose sur l'utilisation du réactif de Folin-Ciocalteu (**Tigrine, N. 2016**).

I- 7.1. Principe :

La teneur totale en composés phénoliques a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu, qui consiste à utiliser ce réactif qui est réduit par les groupes hydroxyles phénoliques, conduisant à la formation d'un produit bleu en solution alcaline (Aouachria, S. 2017).

I- 7.2. Mode opératoire :

En bref, 200µl de dilution d'extrait aqueux par décoction ont été ajoutés à 1 ml de solution de Folin-Ciocalteu diluée au 1/10. Après l'incubation pendant 4 min, le mélange réactionnel a été neutralisé avec 800µl de carbonate de sodium saturé Na₂CO₃ (10%). Par la suite, on laisse le mélange incuber à l'obscurité et à la température ambiante pendant 2 h. Après incubation, l'absorbance est mesurée à 765 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible.

La catéchine (200–1,56 µg/ml) a été utilisé comme standard pour la courbe d'étalonnage. Les résultats ont été exprimés en µg équivalent de catéchine par milligramme de matière sèche du plante (µg EC/ mg de matière sèche de la plante (Aouachria, S. 2017).

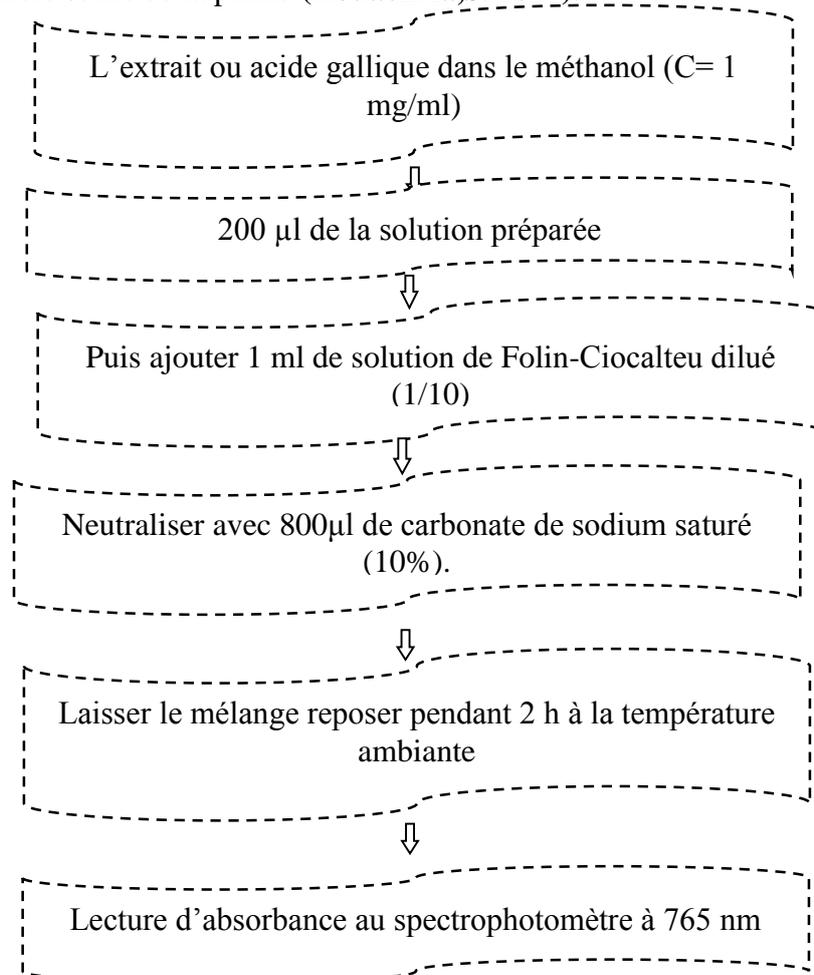


Figure 36 : Organigramme des étapes du dosage de polyphénols

I- 8. Dosage de flavonoïdes totaux :

I- 8.1. Principe :

Les flavonoïdes sont le type de polyphénol possédant un groupement OH libre en position 5, susceptible de donner, en présence de chlorure d'aluminium, un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{+3} , l'intensité de la coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (**Tigrine, N. 2016**).

I- 8.2. Mode opératoire :

La quantification de contenu flavonoids a été estimée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) et la soude (NaOH). Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaun avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm.

On prend 250 μl de l'extrait préparé dans le méthanol ($C= 1 \text{ mg/ml}$) a été mélangé avec 1250 μl d'eau distillée dans un tube à essai, puis on ajoute 75 μl d'une solution de nitrite de sodium $NaNO_2$ à 5%. Six minutes d'incubation, 150 μl d'une solution de chlorure d'aluminium $AlCl_3$ à 10% a été ajoutée et reposer pendant 5 minutes avant d'ajouter 500 μl de solution NaOH à 1 M. le mélange a été porté à 2,5 ml avec l'eau distillée et bien mélangé par vortex. L'absorbance a été lu immédiatement à 510 nm par spectrophotomètre UV-Visible (**Wong,F. et al .2006**).

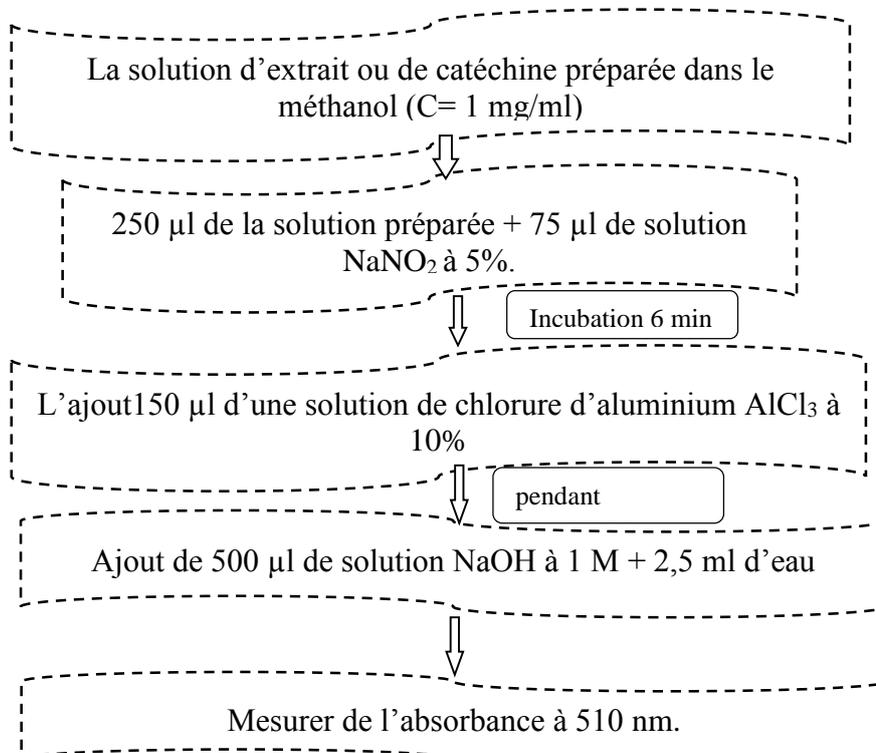


Figure 37 : Organigramme des étapes du dosage des flavonoïdes

I- 9. Evaluation de l'activité anti-oxydante (pouvoir anti-radicalaire DPPH) :

I- 9.1. Principe :

Le test DPPH est basé sur la mesure de l'aptitude d'un antioxydant à exercer un effet Scavenger sur le radical libre DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl). Le radical DPPH est réduit en hydrazine lorsqu'il réagit avec un donneur d'hydrogène. La réduction du DPPH s'accompagne par le passage de la solution d'une couleur violette à une couleur jaune.

L'absorbance est mesurée par spectrophotomètre à 517 nm. Une faible absorbance indique une meilleure activité anti-radicalaire (**Tigrine, N. 2016**).

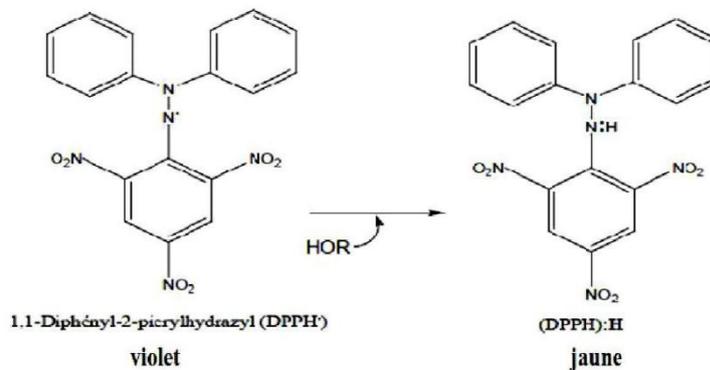


Figure 38 : La réaction de réduction de DPPH par la présence d'un antioxydant.

I- 9.2. Mode opératoire :

On prépare une solution DPPH de 2,4 mg dans 100 ml de méthanol à 90%. On prépare la solution mère de l'extrait dans le méthanol et par la réalisation des dilutions successives, différentes concentrations sont préparés (2, 1, 0.5, 2.5, 1.25, 0.062 mg/ml). On prend 50 µl de l'extrait de chaque concentration puis on ajoute 1950 µl de la solution de DPPH et chaque échantillon avec son blanc spécifique, dans le blanc spécifique, dans le blanc on remplace le DPPH par le méthanol. En plus le standard contient 50µl de méthanol + 1950 µl de DPPH Après agitation au vortex, les tubes sont incubés dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 min.

La mesure de l'absorbance a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis à 517 nm. Dans les mêmes conditions et le même mode opératoire, on remplace l'extrait par l'acide ascorbique qui est considéré comme standard (**Tigrine, N. 2016**).

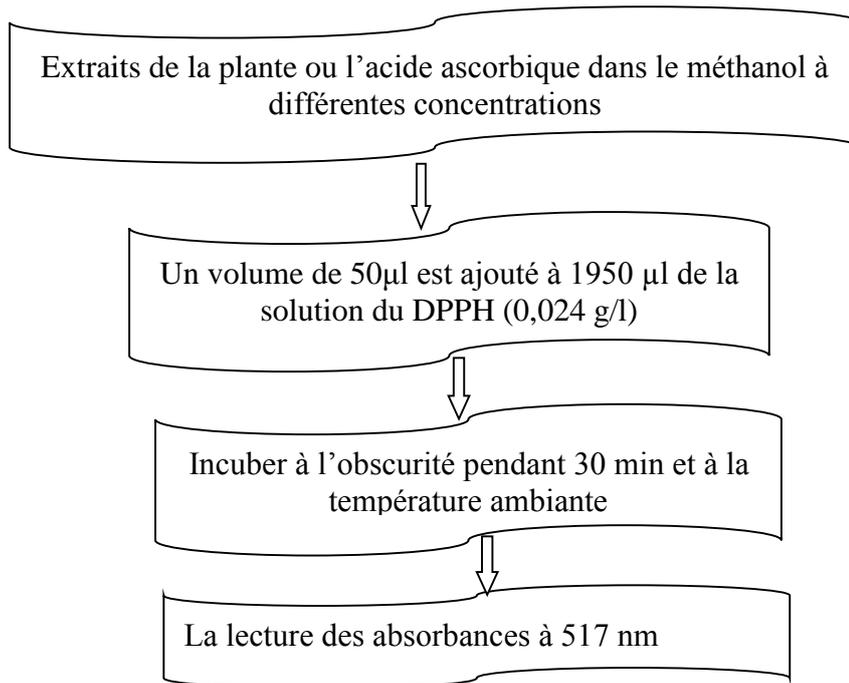


Figure 39 : Organigramme de mesure de l'activité anti-DPPH des extraits d'une plante

I- 9.3.Expression des résultats et paramètre à calculée :

L'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$A. A\% = [(Abs (Standard) - Abs (échantillon) / Abs (Standard)] \times 100$$

A.A% : l'activité anti-radicalaire %

Abs (Standard) : Absorbance de standard

Abs (échantillon) : Absorbance d'échantillon.

Des valeurs IC50 ont été calculées d'extrait et d'acide ascorbique pour déterminer l'inhibition de 50% des radicaux DPPH (**Tigrine, N. 2016**).

I- 10. Evaluation du pouvoir anti-lithiasique :

Dans notre travail, on s'intéresse à évaluer le pouvoir inhibiteur de l'extrait aqueux de partie aérienne de *Paronychia capitata L.* sur la cristallisation oxalocalcique *in vitro*, en reposant sur le principe de turbidimétrie, suivi par étude microscopiques.

I- 10.1. Cristallisation d'oxalate de calcium :

L'oxalate de calcium (CaC_2O_4) est un cristal ionique insoluble dans l'eau. Il est le principal composant des calculs urinaires. La cristallisation ou la formation des calculs d'oxalate de calcium se fait par précipitation selon l'équation suivante :



I- 10.2. La turbidimétrie et le taux d'inhibition :

La turbidimétrie est une méthode optique qui mesure l'absorbance de la solution, et assure le suivi de la cinétique de cristallisation d'une façon continue (Abdelmalek,F.*et al.*2001).

I- 10.2.1. L'allure générale de la courbe de turbidimétrie sans inhibiteur :

La courbe peut être divisée en trois parties (figure \$).

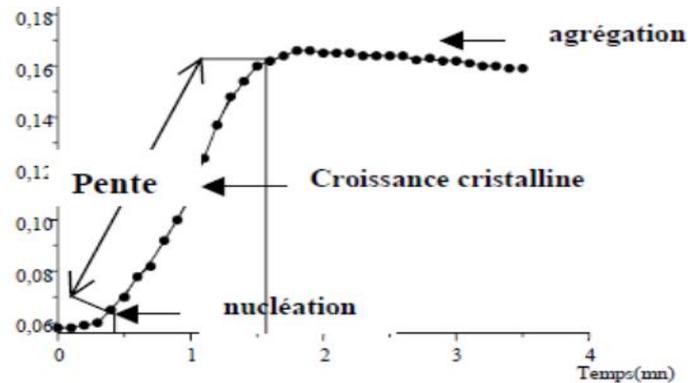


Figure 40 : Allure générale de la courbe turbidimétrique (Abdelmalek,F.*et al.*2001)

La première partie : correspond à l'étape de nucléation (germination).

La 2^{ème} partie : correspond à l'étape de croissance cristalline (caractérisée par la penteturbidimétrique).

La 3^{ème} partie : correspond à l'étape d'agrégation cristalline.

I- 10.2.2. Etude de la cristallisation oxalocalcique par méthode turbidimétrique :

La cristallisation oxalocalcique a été induit au mélange de deux solutions ; une solution de CaCl_2 (20 mM), et de l'oxalate de sodium $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (2 mM). Les dilutions ont été préparées avec une solution de NaCl (0.15 M)

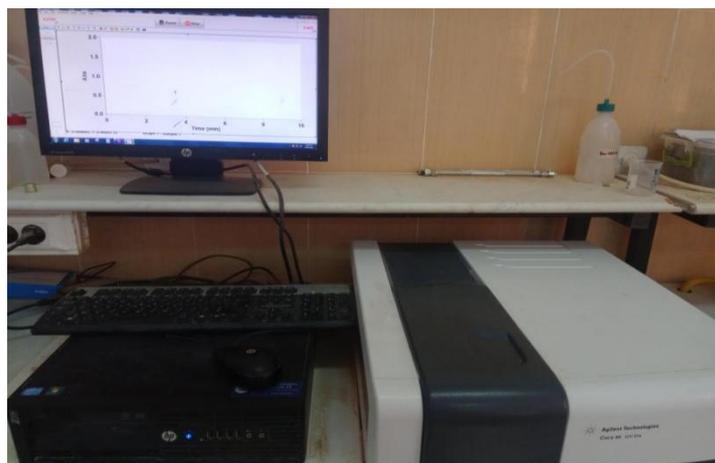


Figure 41 : Model d'étude d'inhibition de cristallisation oxalate de calcium par méthode turbidimétrique

I- 10.2.2.1. Test en absence d'inhibiteur :

Un volume de 1,5 ml de CaCl_2 est placé dans un cuve, placé dans un spectrophotomètre et tarer au zéro, aussi tôt 1,5 ml de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ est versé rapidement sur la solution de CaCl_2 . La mesure de l'absorbance est déclenche immédiatement chaque 6 s pendant 10 min (Abdelmalek, F. *et al.* 2001).

I- 10.2.2.2. Test avec inhibiteur :

L'évolution de la cristallisation oxalocalcique en présence de l'extrait aqueux de *Paronychia capitata L.* est la même que celle utilisée en absence d'inhibiteur.

On ajoute 1 ml de la solution inhibitrice de différentes concentrations (0.5 mg/ml, 0.2 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.05 mg/ml) à 1 ml de CaCl_2 (20 mM). Tarer le spectrophotomètre au zéro aussitôt 1 ml de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (2 mM) est versé rapidement. La mesure de l'absorbance est déclenche immédiatement chaque 6 s pendant 10 min (Abdelmalek, F. *et al.* 2001). La manipulation se fait contre un inhibiteur de référence est l'acide citrique avec les concentrations (1 mg/ml, 0.5 mg/ml).

➤ Le pourcentage d'inhibition :

Les pourcentages d'inhibition déterminés à partir des pentes turbidimétrie en présence et en absence d'inhibiteur sont calculés par la formule suivante :

$$\text{PI \%} = [1 - (\text{A}_{\text{SI}} / \text{A}_{\text{AI}})] \times 100$$

A_{SI} : Absorbance sans d'inhibiteur.

A_{AI} : Absorbance avec d'inhibiteur.

I- 10.3. Le suivi microscopique de la cristallisation de l'oxalate de calcium :

Le développement et l'agrégation des cristaux de l'oxalate de calcium sont effectués par la préparation de l'urine synthétique à partir des solutions aqueuses : KCl (0.2 M), CaCl_2 (0.1 M) et d'oxalate de sodium (0.1 M). La procédure de préparation est comme suite :

Dans un erlenmeyer de 100 ml sont introduits : 75 ml de solution de KCl, 15 ml de tampon phosphate (pH=6.0) et 1.5 ml de solution aqueux de CaCl_2 . La solution est portée sous agitation magnétique (150 tpm), ensuite 5 ml de l'eau distillée sont ajouté pour l'étude sans inhibiteur. Un volume de 1.5 ml de la solution d'oxalate de sodium est introduit. Le volume de solution est ajusté à 100 ml avec la solution de KCl (Sbahi, K. 2017)

Dans un erlenmeyer de 100 ml on introduit 75 ml de KCl (0.2 M) + 15 ml de tampon phosphate (pH=6.0) et 1.5ml de solution aqueux de CaCl_2 .

Figure 42 : La procédure de préparation de l'urine synthétique.



Figure 43 : Model expérimental de suivi de cristallisation oxalate de calcium par microscope optique (X 40)

I- 10.3.1. La cristallisation en absence d'inhibiteur :

L'urine synthétique est maintenue sous agitation magnétique (150 tpm) à 37°C. Après l'agitation, on pose une goutte de la suspension entre cellule de Malassez et lamelle à l'aide d'une pipette pasteur et grâce au microscope optique (l'objectif X 40), on détermine le nombre des cristaux et d'agrégats d'oxalate de calcium di-hydraté. La cinétique est suivie 10 min pendant 55 minutes (Sbahi, K. 2017).

I- 10.3.2. La cristallisation en présence d'inhibiteur :

Nous avons Observés le développement des cristaux d'oxalate de calcium dans la solution aqueuse en présence de d'extrait aqueux de *P. capitata L.* avec ces concentrations : 5 mg/ml, 0.2 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.05 mg/ml. Le volume d'eau distillée (5 ml) est remplacé par 5 ml de l'extrait

aqueux. De la même façon précédente on suivit la cinétique de cristallisation pendant 55 minutes (Sbahi,K. 2017).

❖ **Pourcentage d'inhibition (I %) et le taux d'agrégation :**

Le pourcentage d'inhibition (%) est calculé pour évaluer le développement du nombre de cristaux. Il se calcule comme suit :

$$PI\% = 1 - (AI / SI) \times 100$$

AI : Absorbance avec inhibiteur.

SI : Absorbance sans inhibiteur.

Le taux d'agrégats (**TA**) représente le pourcentage d'agrégats par rapport au nombre total de cristaux et qui est déterminée par la formule suivante :

$$TA = \frac{(\text{Nombre d'agrégats} \times 100)}{(\text{Nombre de cristaux isolés} + \text{Nombre d'agrégats})}$$

I- 11. Présentation et Analyse statistique des résultats :

Les courbes et les histogrammes sont traces par le Microsoft Excel 2016. Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm écart-type (n= 3). Les valeurs d'IC 50 (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [inhibition% = f (concentration)].

PARTIE EXPERIMENTALE
CHAPITRE II
RESULTATS ET DISCUSSION

II- RESULTATS ET DISCUSSION :

II- 1. Caractérisation et le rendement d'extraction :

Les caractéristiques de l'extrait aqueux de décoction (ExAq D) sont affichées dans le (tableau 10).

Tableau 7 : Les caractéristiques organoleptiques des extraits de la plante *P. capitata L.*

Extrait	Aspect	Couleur
ExAq D	Liquide (non visqueuse)	Jaune clair

Le rendement de chaque extrait a été calculé selon la relation suivante :

$$R \text{ d'extraction (\%)} = (m_1 \text{ extrait séché} / m_0 \text{ plante}) \times 100$$

R : Le rendement.

m₁ extrait : La masse d'extrait après le séchage (g).

m₀ plante : La masse de la plante au départ (g).

Le rendement d'extraction de chaque extrait est figuré dans le (tableau 11).

Tableau 8 : Le rendement d'extraction des extraits

Extrait	ExAq D
Masse de la plante (g)	20 g
Volume de solvant d'extraction	500 ml
Masse de l'extrait après séchage	1.2
Rendement %	6

L'opération de l'extraction par décoction de la partie aérienne de *Paronychia capitata L.* a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brute avec un rendement faible d'ordre 6 % dont l'extrait obtenue est sous forme poudre et de couleur jaune clair.

I- 2. Test d'humidité et séchage :

L'appréciation de la matière sèche repose sur la détermination de la teneur en eau des échantillons à analyser qui ont été récoltés au mois Avril-Mai 2021.

L'analyse de notre échantillon montre un taux d'humidité très élevé équivalent à 91 %. Ce résultat montre que plus de ¾ du poids de la plante fraîche est constitué par l'eau, le reste (9 %) étant de la matière sèche (figure 44).

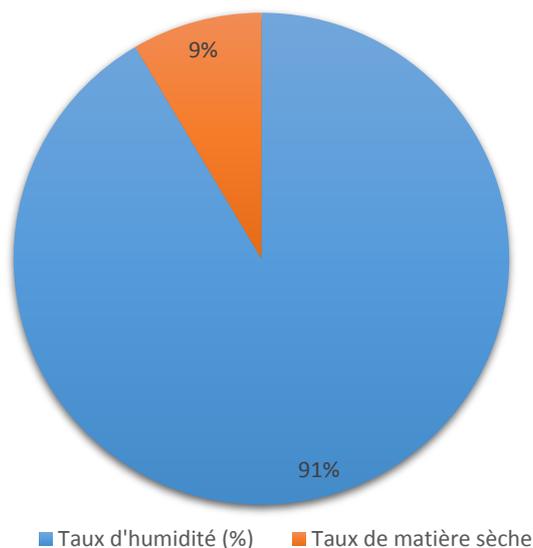


Figure 36 : Taux d'humidité (%) de la partie aérienne de *Paronychia capitata* L.

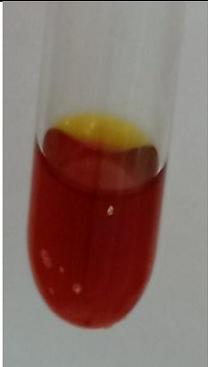
Il est difficile de comparer notre résultat avec ceux de la littérature, car l'extraction est influencée par la nature chimique de solvant utilisée, la méthode d'extraction employée, la taille des particules de l'échantillon, ainsi que la présence des substances interférentes (Stalikas, P. 2007).

I- 3. Résultats de screening Phytochimique :

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur l'extrait aqueux préparé à partir de la partie aérienne de *Paronychia capitata* L. Ces tests consistent à détecter les différentes familles des composés existant dans la partie étudiée.

Dans notre étude, les résultats de caractérisation de certains métabolites secondaire de la plante étudiée par les tests phytochimiques sont affichée dans le (tableau 12). Ces réactions de caractérisation sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés (Hagerman, M et al. 2000).

Tableau 9 : Résultats des tests phytochimiques d'extrait aqueux de *Paronychia capitata L.*

Métabolite secondaire	Test (Méthode)	Résultats observés	Test positive	Présence ou absence
Alcaloïdes	Test de Wagner		La formation d'un précipité orange ou coloration rouge oronge.	+++
	Test de Mayer		Apparition d'un précipité rouge orangé	-
Tanins	Tanins galliques		Le chlorure ferrique développe une coloration bleu-noirâtre	+
	Tanins catéchiques		Formation d'un précipité	-

<p>Mucilage</p>			<p>Apparition d'un précipité floconneux</p>	<p>+++</p>
<p>Flavonoïdes</p>			<p>Décoloration</p>	<p>+++</p>
<p>Polyphénols</p>			<p>La formation d'une précipité noir-vert intense</p>	<p>++</p>
<p>Saponosides</p>			<p>Une hauteur de mousse persistante supérieure à 1cm</p>	<p>+++</p>

<p>Coumarines</p>			<p>L'apparition d'une fluorescence intense</p>	<p>—</p>
<p>Quinone libre</p>			<p>La réaction positive donne une coloration rouge.</p>	<p>—</p>
<p>Stérols et triterpènes</p>			<p>Formation d'une anneau</p>	<p>—</p>
<p>Terpénoïdes</p>			<p>Apparition de deux phases et un couleur marron en interphase</p>	<p>+++</p>

Composés réducteur			Apparition d'une précipitation marron	+++
--------------------	--	---	---------------------------------------	-----

Lecture des résultats de screening Phytochimique (analyse qualitatif) :

- : Test négatif

± : Trace

+ : Test faiblement positif

++ : Test positif

+++ : Test fortement positif

D'après le (tableau 12), l'extrait aqueux de *P. capitata* en décoction contient comme métabolites secondaires : les alcaloïdes, les mucilages, les flavonoïdes, les polyphénols, les saponosides, les terpénoïdes et les composés réducteur, tandis les alcaloïdes, les tanins, les coumarines, les quinones, les stérols et les triterpènes sont absents.

Parmi les études précédents sur cette plante, l'étude de *Alloua Z. (2016)* qui ont trouvé la présence de six classes des métabolites secondaires les extraits acétate d'éthyle et *n*-butanolique de cette plante : quatre glycolipides comportant un glycocérébroside et trois sulfoglycolipides ; un lignane a squelette furofuranuïde, trois flavonoïdes comportant deux aglycone et un C-glycosylés, six phytostérols ; un triterpène et un disaccharide ; qui ont montré leur présence par des tests phytochimiques préliminaires.

II- 4. La teneur en polyphénols totaux :

Pour la détermination de la teneur totale des polyphénols de l'extrait aqueux, on a utilisé le dosage spectrophotométrique via le test Folin-Ciocalteu où les concentrations sont établis par l'utilisation d'une courbe d'étalonnage de standard : l'acide gallique à différents concentrations (figure 45).

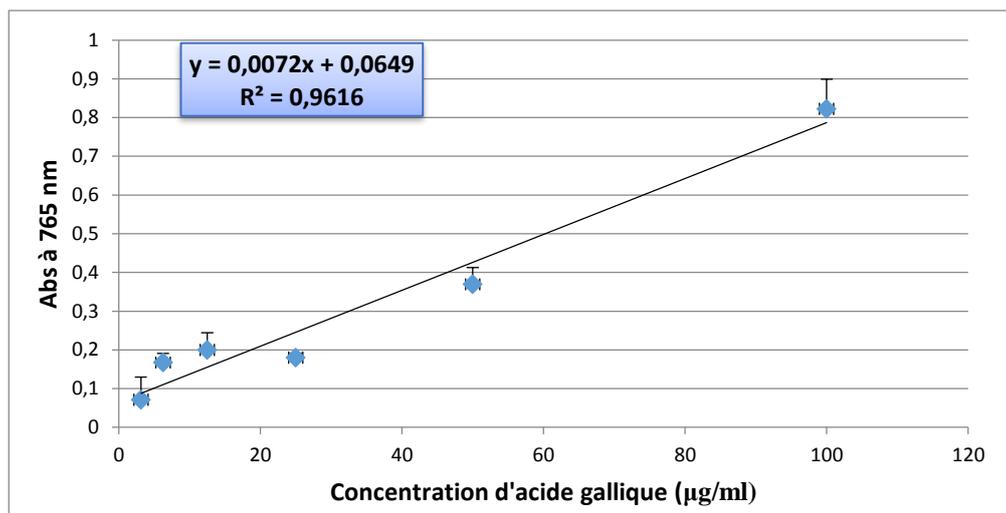


Figure 37 : La courbe étalonnage d'acide gallique

Les quantités en polyphénols correspondantes ont été rapportées en mg équivalent acide gallique par mg d'extrait, sont déterminées par une équation ($y = 0,007 x + 0,064$) avec un coefficient de corrélation ($R^2 = 0,961$), donc la teneur en polyphénols dans l'extrait aqueux de la plante = $24,18 \pm 0,227 \mu\text{g EQAG/mg d'extrait}$. En comparaison aux études précédentes, **Alloua Z (2016)** ont trouvé une valeur $10,199 \pm 2,24 \mu\text{g EAG/mg d'extrait}$, ce valeur est inférieur à notre résultat, mais notre teneur en polyphénols est très élevé par rapport aux résultats de **Bouzidi S. (2018)** qui est de l'ordre $1,000 \mu\text{g EAG/ mg d'extrait}$.

Les teneurs et la composition en polyphénols des extraits préparés diffèrent d'un auteur à un autre, cela est probablement dû à différents facteurs comme le type d'extraction utilisé, la complexité de ces composés, le type du solvant et la différence de la période et de la région de récolte. De plus la méthode d'extraction et technique du dosage influencent sur les teneurs en composés phénoliques (**Boukroune, F. 2012**).

II- 5. Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait aqueux de *Paronychia capitata L.* est dosé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) basée sur la courbe d'étalonnage de la catéchine (figure 46)

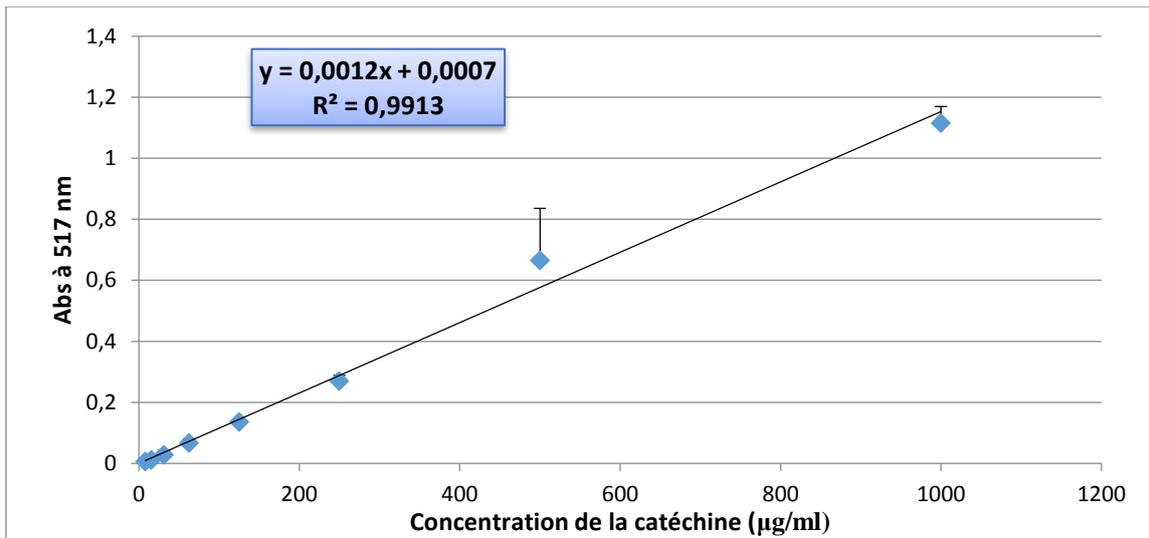


Figure 38 : La courbe étalonnage de la catéchine

Les quantités des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en mg équivalent catéchine par mg d'extrait, sont déterminées par une équation : $y = 0,0012 x + 0,0007$ avec un coefficient de corrélation ($R^2 = 0,9913$). Donc la quantité en flavonoïdes dans l'extrait aqueux de la partie aérienne de *Paronychia capitata L.* est d'ordre $5,01 \pm 0,074 \mu\text{g EQCA/mg d'extrait}$.

Comparativement à d'autres études, notre résultat presque conforme avec celui obtenu par **Allaoua Z (2016)** qui ont trouvé $6.077 \pm 0.443 \mu\text{g EQCA/mg d'extrait}$, et notre résultat est supérieur à ceux de **Bouzidi S (2018)** qui ont trouvé $1,000 \mu\text{g EQCA/ mg d'extrait}$. Cette différence trouve probablement son explication dans la différence du standard utilisé pour le dosage des flavonoïdes.

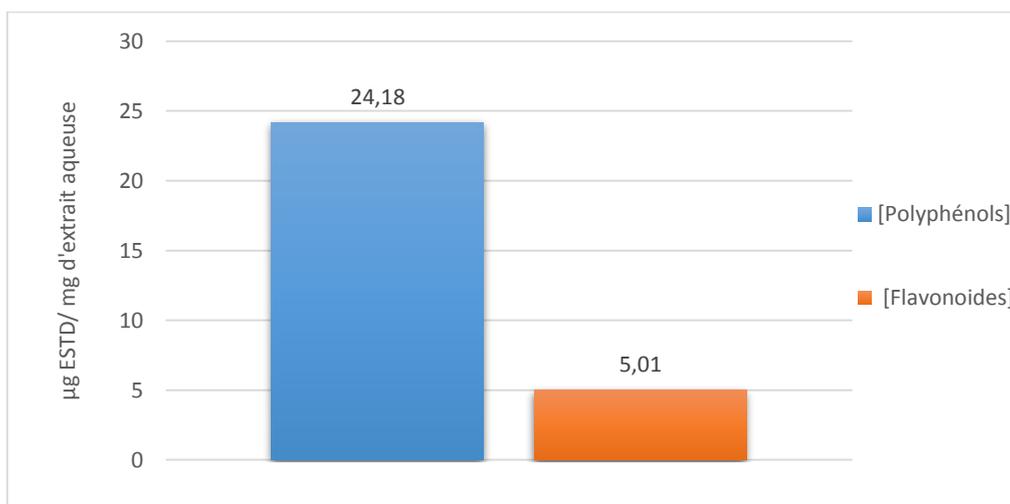


Figure 39 : Comparaison de la teneur en flavonoïdes et polyphénols totaux d'extrait aqueux de *Paronychia capitata L.*

D'après les résultats précédents, on constate que la teneur en polyphénols de *Paronychia capitata L.* est supérieure à celle des flavonoïdes (**figure 47**)

II- 6. Résultats sur pouvoir anti-radicalaire par le test DPPH :

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons introduit le paramètre IC50 qui la concentration efficace du substrat qui cause la réduction de 50% du DPPH en solution.

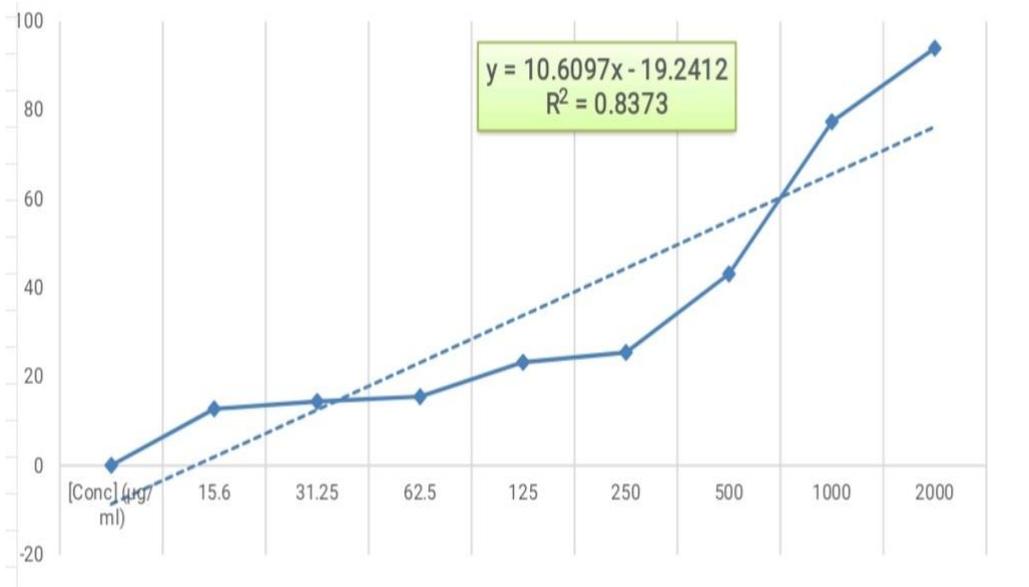


Figure 40 : Pourcentage d’inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l’acide ascorbique.

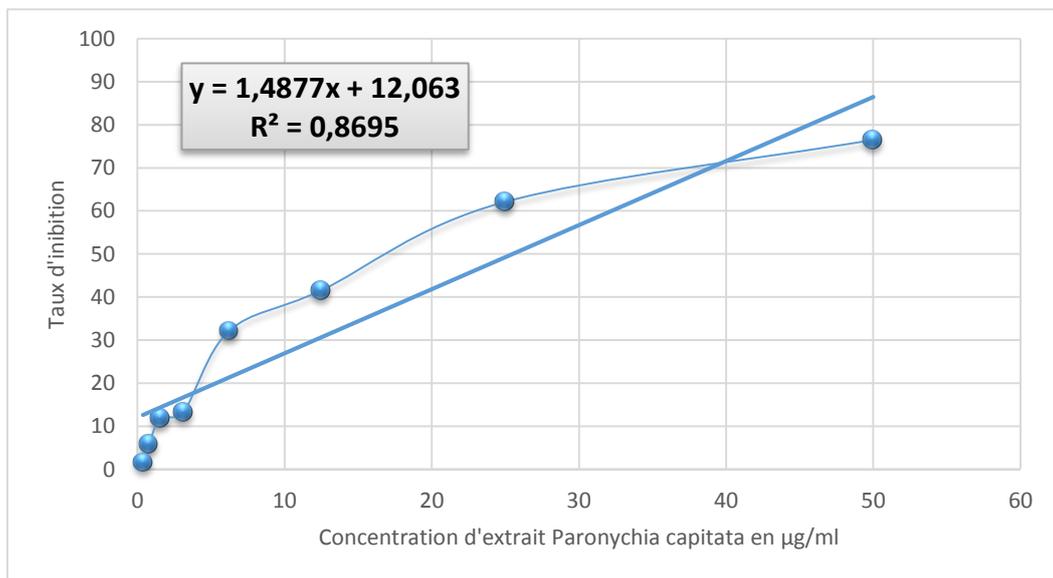


Figure 41 : Pourcentage d’inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l’extrait aqueux

Les valeurs d’IC50 de notre extrait (**Figure 49**) et de standard l’acide ascorbique (**Figure 48**), ont été estimées en utilisant la courbe de régression linéaire : $y = 1,4877 x + 12,063$ qui donne une valeur d’IC50 (Extrait) = 1.4 µg/ml et la courbe de régression linéaire : $y = 10.6097 x - 19.2412$ qui donne une valeur d’IC50 (acide ascorbique) = 6.56 µg/ml

La (figure 50) représente la capacité antioxydante, exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH, de l'extrait aqueux et de l'acide ascorbique.

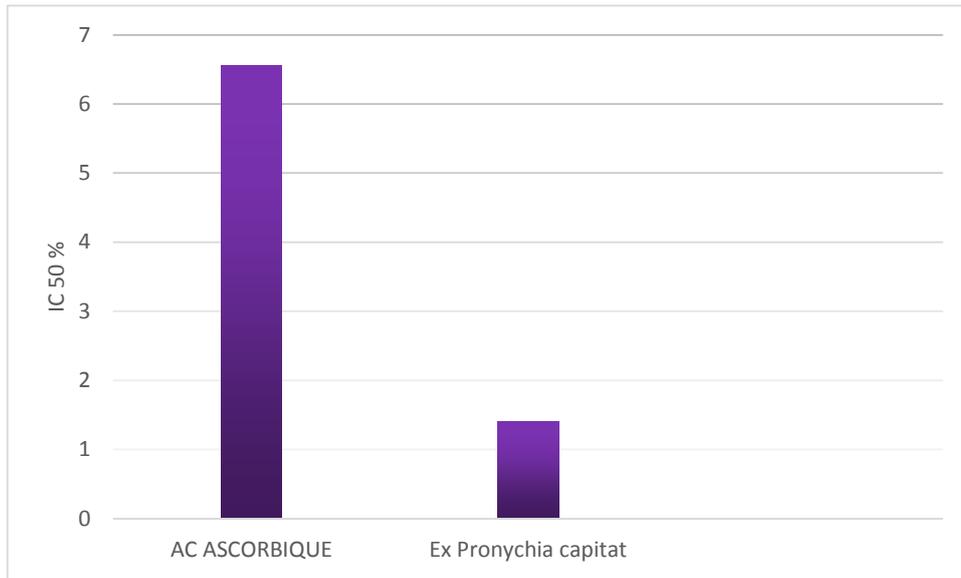


Figure 42 : le taux d'IC50 de l'acide ascorbique et de l'extrait aqueux de la plante *Paronychia capitata* L.

Ces résultats montrent que cet extrait possède une bonne capacité de piégeage du radical libre DPPH par rapport à l'acide ascorbique, qui a un bon pouvoir antioxydant.

II- 7. Pouvoir anti lithiasique :

Depuis toujours, les plantes ont constitué la source majeure de médicaments grâce à leur richesse en métabolismes secondaires. Dans la plupart de cas, les patients utilisent les plantes médicinales comme un remède alternatif pour traiter lithiases urinaires. Dans notre travail on a testé l'effet inhibiteur de l'extrait aqueux de la partie aérienne de *Paronychia capitata* L sur la cristallisation oxalo-calcique qui représente un modèle d'étude de l'activité anti-lithiase urinaire in vitro.

II- 7.1. Suivi la cinétique de la cristallisation oxalocalcique par turbidimétrie :

Le suivi de la cinétique de cristallisation oxalocalcique permet d'évaluer l'activité inhibitrice de l'extrait aqueux de *Paronychia capitata* L. Plusieurs tests ont été réalisés afin de déterminer les paramètres caractérisant l'évaluation de la cristallisation à savoir : la pente turbidimétrique et le coefficient de régression linéaire (R²).

II- 7.1.1. Test en absence d'inhibiteurs :

Les valeurs de la pente et la régression linéaire (R^2) de la courbe de la cristallisation sans inhibiteur sont ressemblent dans le tableau suivant :

Tableau 10 : Paramètre turbidimétrique de la cristallisation oxalocalcique en absence d'inhibiteur.

Concentration (mmol/l)	Pente	R^2
CaCl ₂ (20 mM) Na ₂ C ₂ O ₄ (2 mM)	0.349854	0.8317

En général, la courbe turbidimétrique sans inhibiteur est divisée en trois phases : nucléation, croissance et agrégation (Abdelmalek, F. *et al.* 2001). Par contre, notre courbe possède seulement deux phases : la croissance et l'agrégation. La phase de nucléation cristalline n'apparaît pas, puisque cette étape est caractérisée par un temps de latence durant lequel l'absorbance est pratiquement nulle.

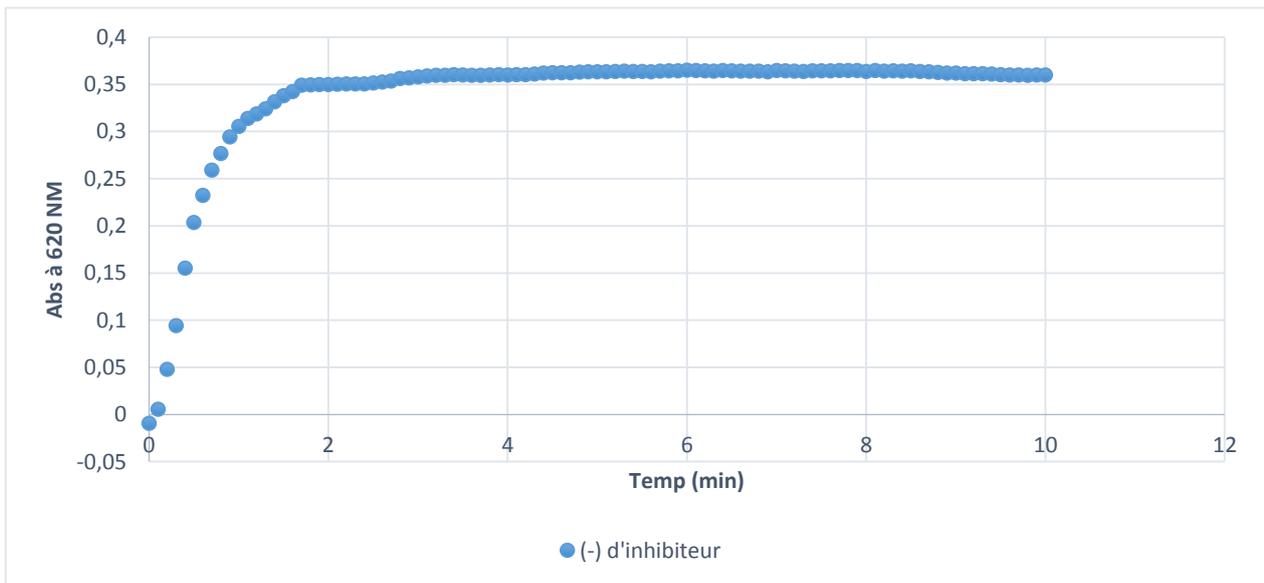


Figure 43 : Cristallisation oxalo-calcique en absence d'inhibiteurs

II- 7.1.2 Test avec l'acide citrique :

La cristallisation oxalocalcique en présence de l'acide citrique a été testée avec des concentrations de 0.5 et 1 mg/ml. L'évolution de la cristallisation pour les différentes concentrations de l'acide citrique est donnée par la (figure 52)

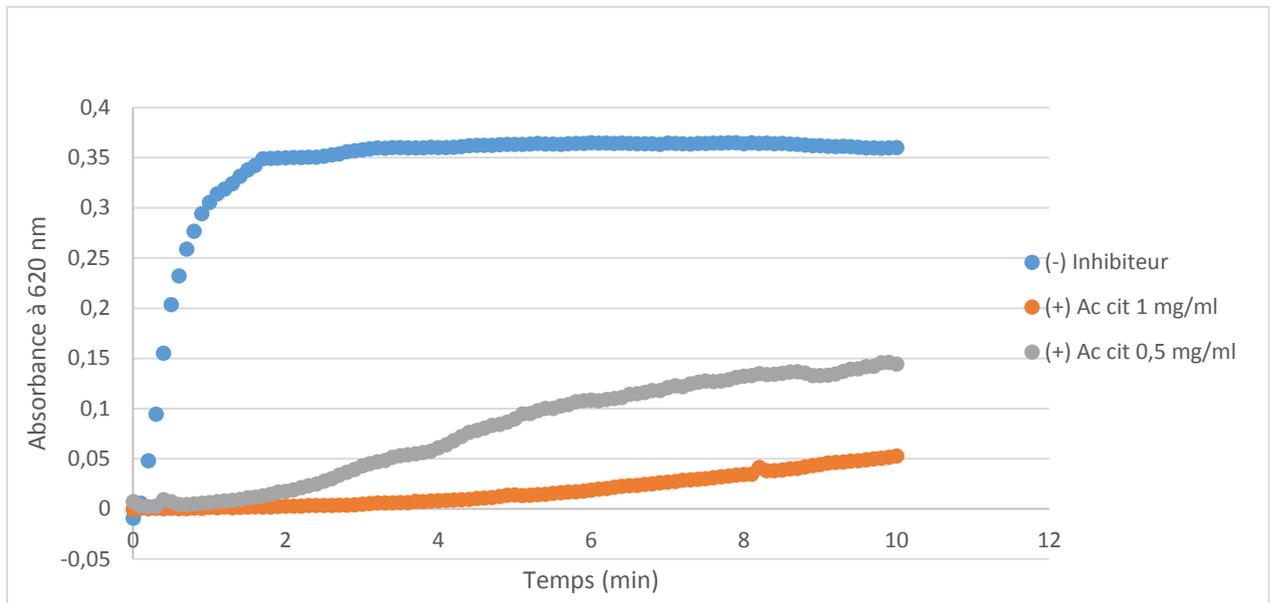


Figure 44 : Cinétique de l'effet de l'acide citrique sur la cristallisation oxalo-calcique.

II- 7.1.3 Test avec inhibiteurs (En présence des extraits de la plante) :

L'activité antilithiasiques in vitro des extraits a été évaluée par la méthode de turbidimétrie. Dans cette méthode l'inhibition de la formation d'oxalate de calcium a été mesurée en termes de trouble turbidimétrique en utilisant un spectrophotomètre. Plus la turbidimétrie est faible, plus l'inhibition est forte et moins l'absorbance sera observée dans le spectrophotomètre. L'inhibition de la formation d'oxalate de calcium en présence de l'extrait a été comparée à un contrôle positif (acide citrique). L'étude a été réalisée à 37 ° C avec une agitation constante à pH 6.

Les figures 44 au 48 présentent les courbes de cristallisation oxalocalcique en présence d'extraits aqueux de PC à différentes concentrations (0.5 mg/ml, 0.2 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.05 mg/ml), et (tableau 14) regroupent les paramètres turbidimétrique dans la présence d'extrait de la plant et d'acide citrique.

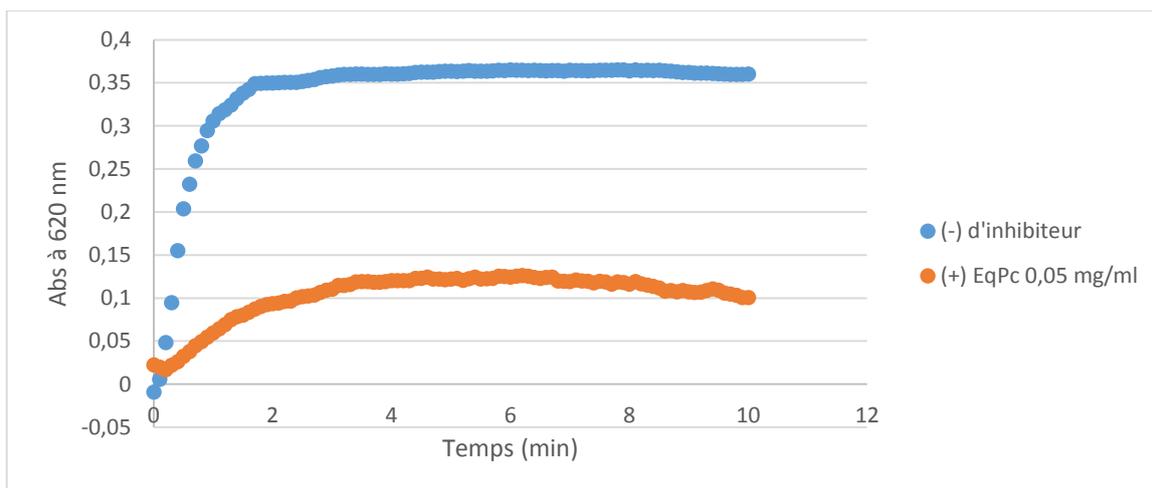


Figure 45 : Courbe de cristallisation oxalocalcique en présence d'extrait aqueux de pc à 0.05 mg/ml

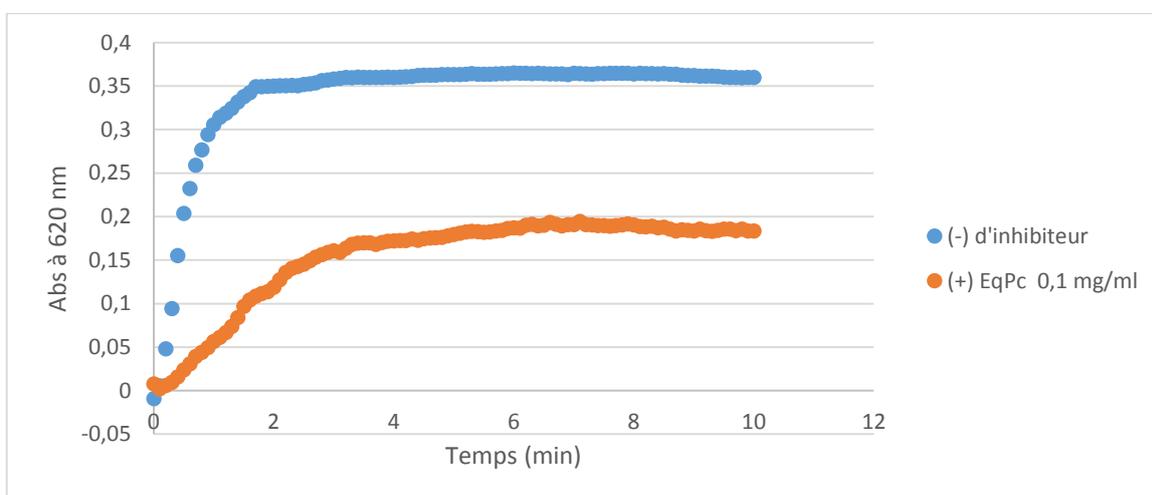


Figure 46 : Courbe de cristallisation oxalocalcique en présence d'extrait aqueux de pc à 0.1 mg/ml

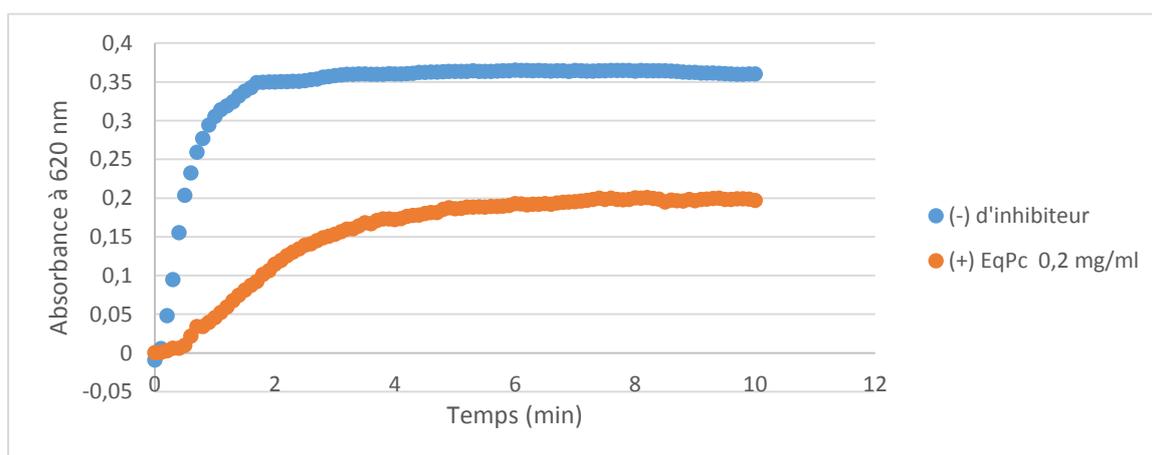


Figure 47 : Courbe de cristallisation oxalocalcique en présence d'extrait aqueux de pc à 0.2 mg/ml

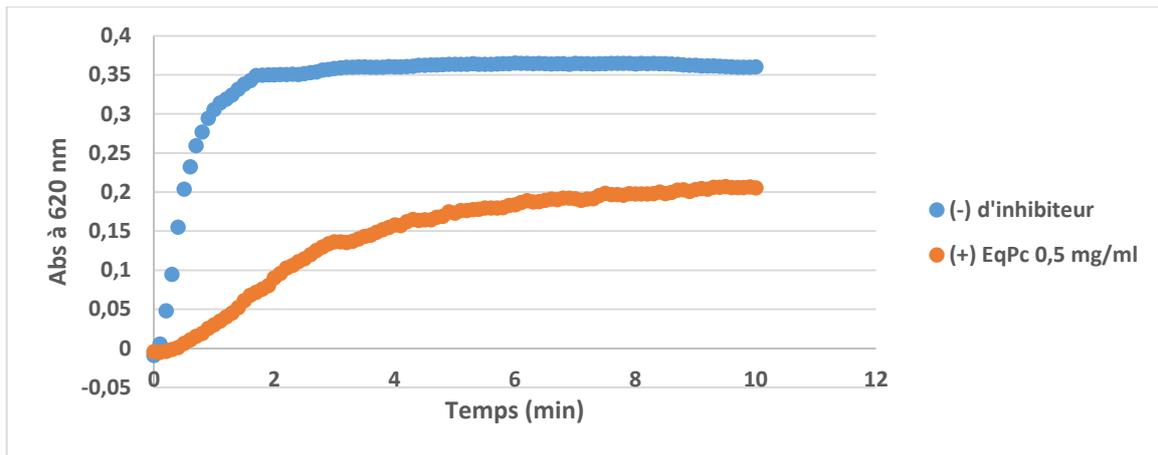


Figure 48 : Courbe de cristallisation oxalocalcique en présence d'extrait aqueux de pc à 0.5 mg/ml

Tableau 11 : Paramètres turbidimétrique de la cristallisation oxalo-calcique en présence d'inhibiteur (Acide citrique, Extrait aqueux PC)

Inhibiteur	Concentration mg/ml	Pente	R ²	Pourcentage d'Inhibition PI (%)
Ac citrique	1	0,0054494	0,9296	94,75 ± 0,0140
Ac citrique	0,5	0,0140813	0,9669	46,87 ± 0,0448
ExAq PC	0,5	0,0420197	0,9805	56,95 ± 0,0180
ExAq PC	0,2	0,0723094	0,9586	54,14 ± 0,0374
ExAq PC	0,1	0,0645348	0,9865	54,70 ± 0,0437
ExAq PC	0,05	0,0420197	0,9794	69,57 ± 0,0498

La figure 57 montre que les extraits de la plante exercent leurs effets d'inhibition dans les deux faces : la face de cristallisation qui se présente par le changement dans les pentes des courbes d'extrait par rapport au courbe sans inhibiteur et aussi il y a une inhibition dans la face d'agrégation par la diminution dans les absorbances qui signifie que le taux d'agrégation est diminué par la diminution de nombre des agrégats en présence d'extrait.

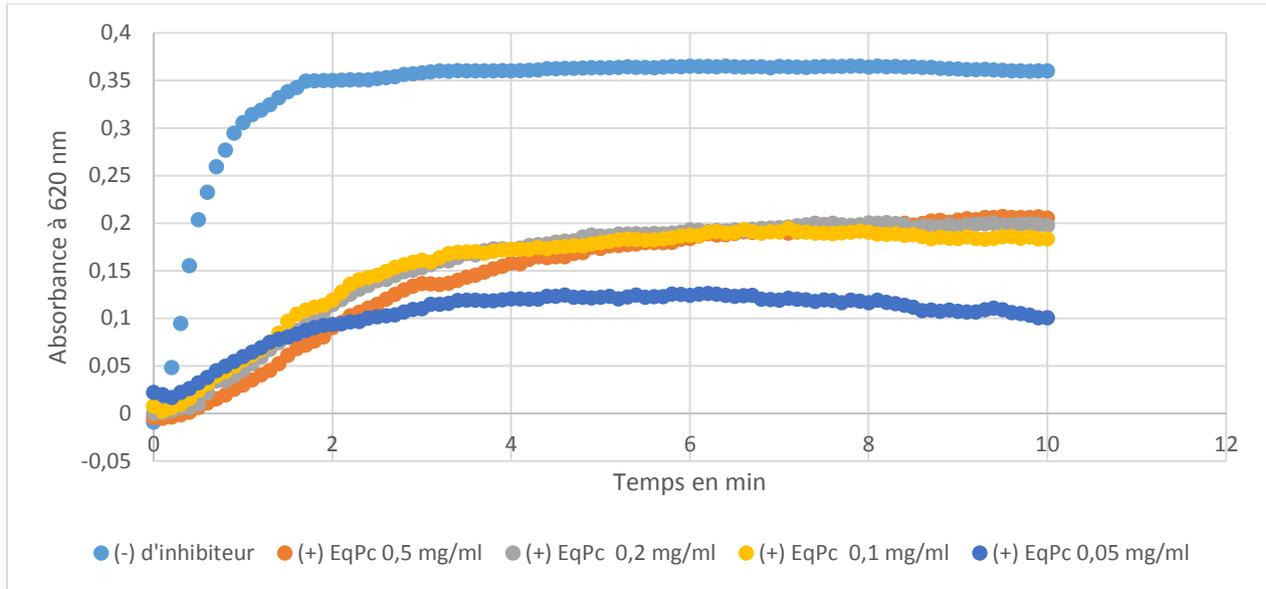


Figure 49 : Cinétique de l’effet de l’extrait aqueux sur la cristallisation oxalo-calcique.

La **figure 58** montrent que la variation de l'absorbance décroît progressivement avec l'augmentation de la concentration d'extrait, et on observe que la dose plus élevée d'extrait aqueux (0.5 mg/ml) a moins d'inhibition (56.95 %) par rapport à l'acide citrique (94.75%) à la dose (1 mg/ml); l'inhibition d'extrait a concentration (0.5 mg/ml) élevée que l'inhibition d'extrait a concentration (0.1 mg/ml).

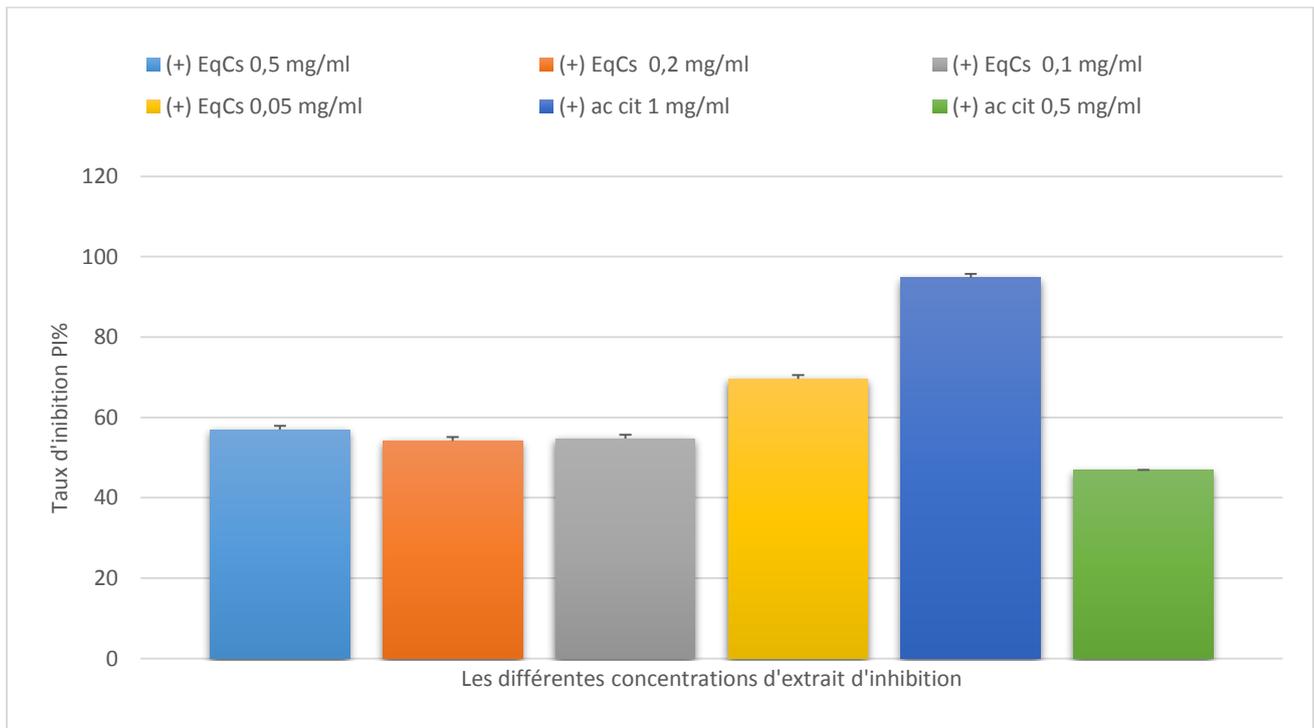


Figure 50: Pourcentage d’inhibition de l’acide citrique et de l’extrait PC à différentes concentrations.

L'analyse des différents graphes avec inhibiteur nous permet de l'extrait à différentes concentrations montre un pouvoir inhibiteur dose-dépendante.

II- 7.2 Suivi microscopique de cinétique de la cristallisation de l'oxalate de calcium :

Afin de valider les résultats obtenus par le modèle turbidimétrique, et de déterminer à quelle étape de cristallisation (nucléation, croissance, agrégation) il agit notre extrait, nous avons suivi la cinétique de formation des cristaux et des agrégats d'oxalate de calcium par microscope optique en absence et en présence de l'extrait aqueux. Le taux d'inhibition est calculé à partir de nombre moyen des cristaux et des agrégats.

II- 7.2.1 En absence de l'extrait de *Paronychia capitata L* :

D'après les résultats obtenus on remarque que le taux d'agrégation augmente au cours du temps (**tableau 16**), en parallèle les photographies obtenues montrent la diminution du nombre des cristaux d'oxalate de calcium et l'augmentation de nombre et le volume des agrégats (**tableau 17**).

II- 7.2.2 En présence de l'extrait PC :

L'étude microscopique de la cristallisation oxalocalcique en présence de l'extrait aqueux de *Paronychia capitata L*, à différents concentrations montre une diminution remarquable du nombre des cristaux et des agrégats oxalocalcique, avec ceux formés en absence de l'extrait. (**Tableaux 15 et 16**).

L'extrait à la concentration de 0.05 mg/ml engendre une diminution du nombre des cristaux à partir de la 20^{ème} minute (63,74 %), cette inhibition atteint une valeur maximale à la 10^{ème} minute (72,03%) ce qui à retarder l'apparition des agrégats. Ce temps correspond à la phase de croissance. A partir de 45^{ème} minute ce pourcentage diminue progressivement pour atteindre une valeur minimale (59,18 %) à la 55^{ème} minute.

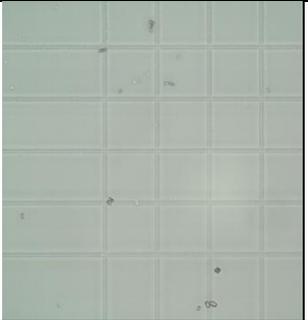
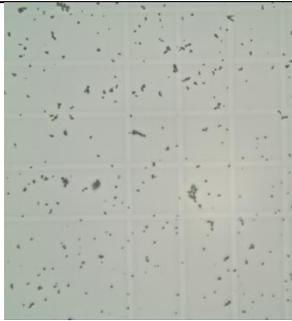
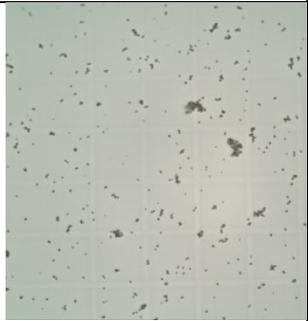
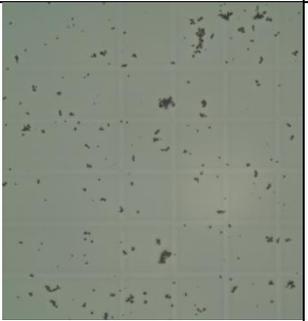
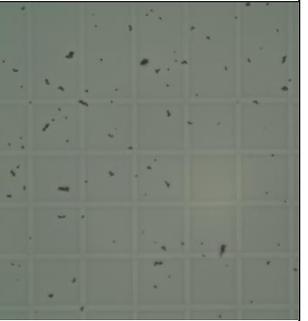
L'extrait aux concentrations 0.1 ; 0.2 et 0.5 présentent respectivement des pourcentages d'inhibition maximale 49.07%, 45.26% et 43% entre l'intervalle 10 et 20^{ème} minutes.

Ces résultats peuvent être interprétés par la présence de substances inhibitrices qui peuvent bloquer la croissance de certaines faces cristallines, et engendrer la modification de la forme du cristal par l'extrait de *Paronychia capitata L*.

Tableau 12 : Evolution du taux d'agrégation et du pourcentage d'inhibition *Paronychia capitata* L.

		10 min	20 min	30 min	45 min	55 min
SI	C + A	12300	10500	7800	4800	2400
	TA	17,88	25,71	24,36	18,75	20,83
0,05 mg/ml	C + A	55200	44800	39400	32600	20200
	TA	32,97	26,78	31,47	34,97	41,58
	PI %	72,03	63,74	61,80	59,99	59,18
0,1 mg/ml	C + A	20900	21700	12200	20600	11500
	TA	10,04	10,14	17,21	15,53	23,48
	PI %	49,07	29,90	21,47	13,62	10,11
0,2 mg/ml	C + A	20100	20600	11100	8800	15700
	TA	6,96	14,56	11,71	13,63	17,83
	PI %	45,26	21,92	10,99	0,80	3,75
0,5 mg/ml	C + A	142500	107500	87500	68000	88000
	TA	5,47	5,39	9,37	13,82	20,90
	PI %	43,00	6,94	2,27	48,13	16,43

Tableau 13: Photo de la cristallisation d'oxalate de calcium en absence et en présence de l'inhibiteur sous microscope optique (X 40)

		Temps (min)			
		10	20	45	55
Sans I					
	0,05 mg/ml				



D'après les résultats de la méthode turbidimétrique et de la méthode microscopique, on peut confirmer que l'extrait aqueux de *Paronychia capitata L.*, montre un pouvoir anti-lithiasique vis-à-vis la cristallisation oxalocalcique.

L'effet inhibiteur de l'extrait aqueux pourrait être lié à sa richesse aux molécules bioactives telles que les polyphénols et les flavonoïdes qui agissent probablement par leur capacité à former des espèces solubles (complexe : principe active-calcium) ce qui diminue la formation des cristaux d'oxalate de calcium. De ce fait il peut être utilisé comme agent inhibiteur pour la prévention et/ou le traitement des calculs urinaires.

CONCLUSION

GÉNÉRALE

GÉNÉRALE

CONCLUSION GENERALE :

Les plantes médicinales restent toujours une source finale des principes actifs d'intérêt thérapeutiques, ils représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs qualifiés de métabolites secondaires comme les plantes médicinales anti-lithiasique peuvent offrir des avantages pour une meilleure prise en charge de la lithiase rénale et ouvrent des perspectives thérapeutiques.

Dans ce travail, nous avons tenté à extraire les métabolites secondaires de la plante *Paronychia capitata L.* récolté de la région Ain- Türck (Oran) par chauffage à reflux dont le but de connaître la nature de ces métabolites par le screening phytochimique, ainsi que d'évaluer l'effet antioxydant de cette extrait aqueux par le test DPPH et son activité antilithiasique avec le test turbidimétrique (test d'inhibition de la cristallisation d'oxalate de calcium in vitro).

Le screening phytochimique de *Paronychia capitata L.* à révèle la présence de ces métabolites : alcaloïdes, mucilage, flavonoïdes, polyphénols, saponosides, terénoïdes, composés réducteurs. Concernant l'évaluation de l'activité antioxydante, le dosage spectrophotométrique des substances à effets antioxydante montre que la teneur en polyphénols dans l'extrait aqueux de cette plante ($24,18 \pm 0,227 \mu\text{g EqAG/mg}$ d'extrait) est supérieure à celle de flavonoïdes ($5,01 \pm 0,074 \mu\text{g EqCa/mg}$ d'extrait). L'évaluation de l'activité antioxydante de cette l'extrait aqueux, par le test au DPPH révèle que l'extrait possède un pouvoir antioxydant puissant avec un $\text{IC } 50 = 1.4 \mu\text{g/ml}$ en comparant avec l'IC 50 de standard (Acide ascorbique) = $6.56 \mu\text{g/ml}$.

L'activité antilithiasique par la méthode turbidimétrique nous a permis de suivre la cinétique de cristallisation oxalocalcique en présence de l'extrait étudié comme un inhibiteur. Ce test montre que l'extrait à une concentration de $0,5 \text{ mg/ml}$ à un taux d'inhibition moyenne (56,95%) qui correspond à un taux d'agrégation faible = 20,9 % en comparaison avec un inhibiteur de référence (l'acide citrique) qui ayant un taux d'inhibition de 94,75. La confirmation de ces résultats s'effectue par le suivi de la cristallisation et l'agrégation de l'oxalate de calcium d'urines synthétique par microscopie qui montre une diminution faible de nombre des cristaux et le taux d'agrégation.

Ce résultat prometteur est un grand pas vers la recherche d'un remède efficace contre la formation de lithiases urinaires dans l'avenir et ceci par la caractérisation et la détermination des substances bioactive responsables de cette activité.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques :

- Abdelmalek, F., Harrache, D., Addoum, S., Semmoud, A., (2001).** Etude par turbidimétrie de la cristallisation oxalo-calcique en présence de quelques inhibiteurs. *Phys. Chem. News* ,496-107.
- Abismail, Y., (2014).** Contribution à l'étude de l'effet des extraits aqueux de *Paronychia argentea L.* et *Paronychia capitata L.* in vitro sur la dissolution des calculs rénaux : Approche théorique
- ALI-DELLILE L., (2013)** _ Les plantes médicinales d'Algérie. Berti Edition Alger 6_11
- Alkurd, A.R., Takruri, H.R., Al-Sayyed H. (2008).** Tannin contents of selected plants used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences* 4(3), 265 – 274.
- Allaoua, Z., (2016).** Etude phytochimique des espèces : *Pteranthus dichotomus* et *Paronychia capitata*. UNIVERSITE DE BATNA I.
- Amar, A ; Harrache, D ; Atmani, F ; Bassou ; G ; et Grillon, F. (2010).** Effet de *Parietaria officinalis* Sur la cristallisation de l'oxalate de calcium, dans l'urine. *Phytothérapie*, 8(6), 342- 347.
- Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, Barl, B., Weil, J. A., (2004).** Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food chemistry* 84, 551-562.
- Ameenah, G.F. (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*; 27, 1–93
- Aouachriaa, S., Boumerfegb, S., Benslamaa, A., Benbachac, F., Guemmeza, T., Khennoufd, S., Arrara, L., Baghiania, A. (2017).** Acute sub-acute toxicity and antioxidant activities (in vitro and in vivo) of Reichard iapicroide crude extract. *Journal Enthopharmacology*, 208, 105-116
- Argolo A.C.C., SantAna A.E.G., Pletsch M. & Coelho L.C.B.B. (2004).** Antioxidant activity of leaf extracts from *Bauhinia monandra*. *Journal of Bioresources Technology*. 95: 229– 233
- Basavaraj, D. R., Biyani, C. S., Browning, A. J., & Cartledge, J. J. (2007).** The role of urinary kidney stone inhibitors and promoters in the pathogenesis of calcium containing renal stones. *EAU-EBU update series*, 5(3): 126-136.
- Battu, C., (2016).** L'accompagnement nutritionnel d'un patient présentant une lithiase urinaire. *Actualités Pharmaceutiques*, 55(561):53–56.
- Bekaert, A.C., Cavalier, E., Gadisseur, R., (2014).** Epidemiology of urolithiasis in Belgium on the basis of a morpho-constitutional classification. *Nephrol Ther* ,11(1): 42-49.
- Bellakhdar, J. (1997).** Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle au Maroc : la situation actuelle, les produits, les sources du savoir (Enquête ethnopharmacologique de terrain réalisé de 1969 à 1992) (Doctoral dissertation, Université Paul Verlaine-Metz).

- Benaamar, S. (2018).** L'effet du Ramadane sur la lithogénèse : expérience de service.
- Benhelima, A., (2017).** Etude chimique et biologique des substances naturelles extraites par phytochimie et leurs effets sur les germes et cristaux oxalo-calciques. Thèse pour obtention le diplôme de Doctorat en chimie. Mostaganem, université abdelhamid ibn badis 173p.
- Benhouhou S. (2015).** A brief over view on the historical use of medicinal aromatic plantd'Algeria consult. Université Mohamed Khider-Biskra Faculté des Sciences de la Nature et dela vie. Exacts et de la vie. Département des sciences Agronomique, Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région médicinale des Aurès.
- Benkhaled, A. (2018).** Activités anti-inflammatoire, anti-oxydante et antimicrobienne de l'extrait aqueux de *Limoniastrum guyonianum*. Thèse pour obtention le diplôme de Doctorat en Biochimie. Université Ferhat Abbas Sétif 1.124 p.
- Benkhaled, A., Senator, A., (2015).** Effects of Aqueous Leaf Extract of *Limoniastrum guyonianum* Pretreatment on Nickel Induced Acute Heamato-toxicity in Male Mice. *Global Veterinaria* ,15 (5): 493-497
- Bouvier, F., Rahier, A., Camara, B. (2005).** Biogenesis, molecular regulation and function of plant isoprenoids. *Progress in Lipid Research* 44(6), 357-429.
- Bouzidi, S., (2018).** Evaluation des activités biologiques des extraits de deux plantes : *Eryngium campestre* L. et *Paronychiacapitata* L
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosy: phytochemistry, medicinal plants.
- Castiglione, V., Jouret, F., Bruyère, O., Dubois, B., Thomas, A., Waltregny, D., Bekaert, A.C., Cavalier, E., Gadisseur, R., (2014).** Epidemiology of urolithiasis in Belgium on the basis of a morpho-constitutional classification. *Nephrol Ther* ,11(1): 42-49.
- Chandra, S., Rawat, D.S., (2015).** Medicinal plants of the family Caryophyllaceae: a review of ethno-medicinal uses and pharmacological properties. *Integr. Med. Res.* 1–9.
- Chu W.L., Lim Y.W, Radhakrishnan A. K. & Lim P. E. (2010).** Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10 (53): 2-8
- Cochat, P., Bacchetta, J., Sabot, J. F., Bertholet-Thomas, A., & Demède, D. (2012).** Lithiase urinaire de l'enfant. *Journal de pédiatrie et de puériculture*, 25(5), 255-268.
- Cochat, P., Bacchetta, J., Sabot, J. F., Bertholet-Thomas, A., Demède, D., (2012).**
- Conrad, J., Vogler, B., Klaiber, I., Roos, G., Walter, U., Kraus, W. (1998).** Two triterpene estersfrom *Terminalia macropterabark*. *Phytochemistry* 48(4), 647 – 650.
- Cowan, M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents, *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.

- Cynthia, J., Denu-Ciocca, Romulo E., Colindres., (2011).** Calculs urinaires (néphrolithiase), Elsevier Masson S.A.S, 1059-1065.
- Cynthia, J., Denu-Ciocca, Romulo E., Colindres., (2011).** Calculs urinaires (néphrolithiase), Elsevier Masson S.A.S, 1059-1065.
- D'urologie à l'Hôpital monétaire Moulay Ismail de Meknès. Thèse pour obtention le diplôme de Doctorat en Médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdallah. N ° 260-18.
- Dalibon, P., (2015).** La lithiase urinaire, une affection sous surveillance. *Actualités*
- Dambri et Chamekh (2014).** Publication officielle du Centre Anti Poison d'Alger Ministère de la santé.
- Daudon, M., Traxer, O., Lechevallier, E., & Saussine, C. (2008).** La lithogénèse. *Progrès en urologie*, 18(12), 815-827. doi : 10.1016 /j. purol.2008.09 .032.
- Debigue G. (1984)** - Larousse des plantes qui guérissent, librairie Larousse, pp 5 - 6.
- Dehakk, K. (2013).** Méthode d'extraction et de séparation des substances naturelles. Doctorat de chimie : analyse physicochimique et réactivité des espèces moléculaires. Université d'Ouargla.
- Delattre, J., Beaudoux, J. L., & Bonnefont-Rousselot. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Edition *Lavoisier TEC & DOC éditions Médicales Internationales, Paris*, p 14, 93, 94.
- DelilleL. (2007)** Les plantes médicinales d'Algérie. Ed. BERTI, Alger 122 P.
- Denu-Ciocca, C. J., & Colindres, R. E. (2011).** Calculs urinaires (néphrolithiase). *Médecine Interne de Netter*, 1059–1065.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 97(4), 654-660
- Dominique, S. (2014).** Medical treatment of uric acid stone. *Prog Urol* ,24(14): 915-917.
- Efsa, N, (2009).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 79(5), 727 – 747.
- El Lekhlifi, Z., Laziri, F., Boumzaoued, H., Maouloua, M., & Louktibi, M. (2014).** Etude épidémiologique rétrospective sur la lithiase urinaire chez l'enfant dans la région de Meknès au Maroc (2000–2012). *Journal de pédiatrie et de puériculture* : 27(1), 23-28.
- EL-Haoud, H., Boufellous, M., Berrani, A., Tazougart, H., Bengueddour, R., (2018).** Scring phytochimique d'une plante medcinal: *Mentha Spicata L. American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 226-233.
- Elqaj, M., Ahami, A., &Belghyti, D. (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique" ressources naturelles et antibiotiques". Maroc. *Ethnopharmacol.* 108: 31–37.

- Evans WJ (2000)** Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am J Clin Nutr* 72, 647S-652S.
- Favier A (2003)**. Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actual Chim.* 108 -115.
- Favier, A. (2003)**. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108 – 115.
- Fu, R., Zhang, Y, Guo, Y., Chen, F., (2014)**. Antioxidant and tyrosinase inhibition activities of the ethanol-insoluble fraction of water extract of *Sapiumsebiferum* (L.) Roxb. Leaves. *South African Journal of Botany* 93, 98–104.
- Fulbert, J., Bouaoun.D, Elyafi-Elzahri,G, (1992)**. Etude quantitative des coumarines d'une plante sauvage *Prangos asperula* Boissier, Phytothérapie, Université de Damas, faculté des sciences, Syrie2 Université libanaise.
- Gani, A., Wani, S.M., Masoodi, F.A., Gousia, H. (2012)**. Whole-Grain Cereal Bioactive Compounds and Their Health Benefits: A Review. Department of Food Science and Technology, University of Kashmir, India.
- Ganther H.E. (1999)**. Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxin reductase. *Carcinogenesis*.20 (19) : 1657- 1666.
- Ghedira, K. (2005)**. Caractérisation photochimique et évaluation des activités biologiques de *Cleome arabica*- Université des frères Mentouri Constantine 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biologie et Ecologie Végétale, 30p.
- Google Maps, 2022**. <https://www.google.com/maps/place/A%C3%AFn+El+Turk/@35.7393169,-0.7638468,13z/data=!3m1!4b1!4m5!3m4!1s0xd7e8555bea13835:0xae8bdfc4bbb10c!8m2!3d35.7427397!4d-0.7731498>
- Greenberg, A.K., Donoghue, M.J., (2011)**. Molecular systematics and character evolution in Caryophyllaceae. *Taxon* 60, 1637–1652.
- Gupta, M., Bhayana, S., & Sikka, S. K. (2011)**. Role of urinary inhibitors and promoters in calcium oxalate crystallisation. *Int J Research in Pharmacy and Chemistry*, 1, 793-798.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., Chapelle, J. P. (2007)**. *Med liège*, 62 (10), 628-638.
- Harrison R. (2002)**. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? *Free Radic Biol Med*; 33: 774-797
- Hartman R. L. (1974)**. Rocky Mountain species of *Paronychia* (Caryophyllaceae): A morphological, cytological, and chemical study. *Brittonia*. 26 : 256-263
- Hennebelle, T. et al. (2004)**. *Physiologie végétale*. 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris: 514

- Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deelesalle –Féat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J. et Botrel A. (2001).** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse. 10-12
- Jacques B, and André R. (2004).** Biochimie métabolique Ed ellipses. Paris. pp: 217-219- 220-223-225.
- Jacques, R. (2010).** Signalisation cellulaire et cancer un manuel pour les étudiants et les oncologues. Edition Springer- Verlag France, Paris, p, 195.
- Jaggi, M., Nakagawa Y., Zipperle L., Hess B., (2007).** Tamm–Horsfall Protein in recurrent calcium kidney stone formers with positive family history: abnormalities in urinary excretion, molecular structure and function. *Urol Res*, 35:55–62
- Ji LL, Fu R and Mitchell EW (1992)** Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity. *J Appl Physiol* 73, 1854-1859.
- Jungers, P., Marie-France Gagnadoux D. J., Daudon M., (2001).** Lithiase cystinique physiopathologie et traitement médical. *Progrès en Urologie*, 11 : 122-126.
- Kanyi J., Sow, M., (1990).** La Lithiase urinaire au cameroun considération Etiopathogeniques, Clinique et therapeutique. A propos de 118 cas. *Médecine d'Afrique Noire*, 37 (4):176-182.
- Kelley. E. E, Khoo. N. H, Hunley. N.J, Malik. U.Z, Freeman. B.A, Tarpey. M. M., (2010).** Hydrogen Peroxide is the Major Oxidant Product of Xanthine Oxidase, *Free Radic BiolMed*; 48 (4): 493-498
- Kevin, L.G.; Fcarcsi; Novalija, E; Stowe, D.F. (2005).** Reactive oxygen species asmediatorsofcardiac injury and protection: The relevance to anesthesia practice. *Anesthesia and Analgesia*. 101:1275–1287
- Khan, S. R., Hackett, R. L. (1993).** Role of Organic Matrix in Urinary Stone Formation: An Ltra structural Study of Crystal Matrix Interface of Calcium Oxalate Monohydrate Stones. *The Journal of urology*, 150(1): 239-245.
- Kohen R and Nyska A (2002).** Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicol Pathol*. 30, 620 – 650
- Kok, D. J., Papapoulos, S. E., & Bijvoet, O. L. (1990).** Crystal agglomeration is a major element in calcium oxalate urinary stone formation. *Kidney international*, 37(1): 51-56.
- Kumar, S., Pandey, A.K. (2013).** Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*. 16.
- Kumazawa, Y. (2004).** A citrus flavonoid hesperidin suppresses infection. Induced endotoxin shock in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(5): 679-683.

- KUNKELE U et LOBMEYER T.R., (2007)** _ Plantes médicinales, Identification, Récolte, Propriétés et emplois. Edition parragon Books L tol :33 _ 318.
- Lamamra, M. (2018).** Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarrasicula (L.) Parl.* et de *Filipendula hexapetala Gibb.* Mémoire de magister, Biologie et Physiologie Végétale, faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université de Ferhat Abbas-Sétif, Algérie : 24- 54.
- Laube, N., Hergarten, S., Hoppe, B., Schmidt, M., & Hesse, A. (2004).** Determination of the calcium oxalate crystallization risk from urine samples: the BONN Risk Index in comparison to other risk formulas. *The Journal of urology*, 172(1): 355-359.
- Léophonte, P., (2006).** Stress oxydatif et BPCO. Rôle des infections. Prévention. Médecine et maladies infectieuses 36 (5), 245–252.
- Li, S.W., Xue, L., Xu, S., Feng, H., Lizhe, A., (2009).** IBA-induced changes in antioxidant enzymes during adventitious rooting in mung bean seedlings: The role of H₂O₂ *Environmental and Experimental Botany* 66, 442–450.
- Litamine, K (2019).** Nouveau découpage administratif : Les arguments de l'exécutif <https://www.algerie-eco.com/2019/11/27/nouveau-decoupage-administratif-arguments-> Lithiase urinaire de l'enfant. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, 25(5): 255-268.
- Luc, G., Lecerf, J.M., Bard, J.M., Hachulla, E., Fruchart, J.C., Devulder, B. (1991).** Cholestérol et athérosclérose. Masson, collection Abrégés,
- Magder, S. (2006).** Reactive oxygen species: Toxic molecules or spark of life? *Critical Care Med Journal*, Vol 10, pp. 208-216
- Marouf A., Rone J., Brut M. (2007).** Les métabolites secondaires, 3^{ème} édition
- Martinez-Cayuela M. (1995).** Oxygen free radicals and human disease. *Biochem.* 77: 147-161.
- Midoun, T (2011) :** Extraction des composés phénoliques et étude leur activité antioxydant par le comportement électrochimique. Mémoire fin d'étude université kasdi merbah ouargla.
- Mohammedi, Z. (2013).** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorant, substance naturelles activités biologiques et synthèses, Faculté des Science de la Nature et de la Vie, Abou-Beker Belkaid- Tlemcen, Algérie. 23-44.
- Mokkadem A. (1999).** Cause dégradations des plantes médicinales aromatique d'Algérie. *Revue vie et Nature* n°7, 24,26
- Moon, J.k et Shibamoto, T. (2009).** Antioydan assays for plant components. *J Agr food Chem*, 57, 1655_1666

- Moreau, B. (2003).** Maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie.
- Muanda, F. N. (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat, Université Paul Verlaine-Metz, 55-86).
- Nishino T, Okamoto K, Eger BT (2008).** Mammalian xanthine oxidoreductase mechanism of transition from xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase. *Febs J*; 275: 3278-3289.
- NOGARET A.S., (2003) -** La phytothérapie : Se soigner par les plantes. Ed.Groupe
- Oloyed,O. (2005).** Chemical profile of Unripe pulp of *Carica papaya*, Pakistan. *Journal of Nutrition*,4(6):3 79-381.
- Ourari, N. et Ider, S. (2017).** Extraction des composés phénoliques et des huiles essentielles de l'espèce *Juniperus oxycedrus* et évaluation de ses activités antioxydante et antibactérienne.Mémoire de master, Biochimie appliquée, Faculté des Science de la Nature et de la Vie, Université Abderrahmane Mira - Bejaïa, Algérie. 24 p.
- Ozenda P. (1991).** Flore et végétation du Sahara. 3 ème éd. Paris: CNRS.
- Packer L, Tritschler HJ and Wessel K (1997).** Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radic Biol Med* 22, 359-378.
- Paronyque en tête :** <https://inpn.mnhn.fr>
- Pastre, J. (2005).** Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 120p
- Powers SK and Lennon SL (1999).** Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc* 58, 1025-1033.
- Quezel P. et Santa S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales Ed C.N.R.S. Tome I. 565 p.
- Quyous, A. (2003).** Mise au point d'une base de données sur les plantes médicinales. Exemple d'utilisation pratique de cette base. Thèse de Doct.Univ. Ibn Tofail. Fac. Sci. Kénitra, Maroc.110p.
- Rajeshwari, P., Rajeswari, G. (2013).** Evaluation of in vitro anti-urolithiasis activity of *Convolvulus arvensis*.5 (3):599-601.
- Rédaction, P. (2007).** Bien utiliser les plantes en situation de soins. *Rev Prescrire*, 27, 288.
- Ribéreau-Gayon, P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Paris, France: Dunod.

- Ryall R.L., Chauvet M.C., Grover P.K. (2005).** Intracrystalline proteins and urolithiasis: a comparison of the protein content and ultrastructure of urinary calcium oxalate monohydrate and dihydrate crystals. *BJU Int*;96:654-663. .
- Samuni A., Aronovitch J., Godinger D., Chevion M., Czapski G. Eur. (1983).** J. Biochem. **137(1-2)**, 119-124
- Sarni-Manchado, P., Cheynier, V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec &Doc, Paris, p. 2-10.
- Sbahi, K. (2017).** Etude épidémiologique, paramétrique et phytothérapeutique de la lithiase. Thèse pour obtention du doctorat en Sciences. Mostaganem, Université Abdelhamid Ibn badis, 189p.
- Sekkoum, K., (2011).** Composition phytochimique et effet, in vitro, des extraits de quelques plantes médicinales du Sud-Ouest Algérien sur la cristallisation lithiasique oxalocalcique. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat en Sciences. Sidi Bela-Abbes, université Djillali Liabes de Sidi Bela-Abbes, 108p.
- Servais, A., Daudon, M., Knebelman, B., (2006).** Lithiases médicamenteuses. *Annales d'Urologie*, 40(2) : 57-68.
- Sies, H. (1991).** Role of reactive oxygen species in biological processes. *Klinische Wochenschrift* 69(21), 965-968
- Skulachev VP (1998).** Cytochrome c in the apoptotic and antioxidant cascades. *FEBS Lett* 423, 275-280.
- Tabuti, J. R. S. Lye, K. A. et Dhillion, S. (2003).** Traditional herbal drugs of *Bulamogi, uganda*: plants, use and administration. *Ethnopharmacology* 88 : 19-44.
- Tigrine, N. (2016).** Activité antioxydante des extraits d'écorce et de pulpe de Citrus limon et Citrus sinensis. Mémoire de magister, Pharmacologie Moléculaire, Faculté des Science de la Nature et de la Vie, Université Abderrahmane Mira - Bejaïa, Algérie. p 25-26.
- Tison, J. M., Jauzein, P., Michaud, H., & Michaud H., (2014).** Flore de la France méditerranéenne continentale (Vol. 2080, p. 265). Turriers : Naturalia publications.
- Traxer. O., (2007).** Lithiase urinaire. *La revue du praticien*, 57 : 1805-1815.
- Trease G E ; (1989).** Evans WC. Trease and Evans 'Pharmacognosy, 13th Edition, Balliere Tindall, Londres; 176-180.
- Tsujihata, M., (2008).** Mechanism of calcium oxalate renal stone formation and renal tubular cell injury. *International Journal of Urology*, 5(2): 115-120.
- Vacheron, S., &Vacheron, S. (2010).** La phyto-aromathérapie à l'officine.

- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M and Telser J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J BiochemCell Biol*, 39(1), 44-84
- Vincent, A.M., Russeli, J.W., Low, P., Feldnan, E.L., (2004).** Oxidative stress in the pathogenesis of Diabetic Neuropathy. Department of Neurology, Endocrine Reviews 25 (4), 612-628.
- Viro, S. (2004).** Les petites protéines de stress et leur rôle dans la mort cellulaire. Etude de leur fonction chaperon à travers l'exemple de la mutation R120G de l' β -crystalline. *Thèse de doctorat*, Université Claude Bernard-Lyon 1.
- WICHTL M., ANTON R., (2003)** _ Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, Ed. TEC & DOC, 2003.
- Wollgast, J., Anklam, E. (2000).** Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33(6), 423 - 447.
- Zeghad, N. (2009).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Constantine : Université Mentouri.
- Zekkour, M. (2008).** Les risques de la phytothérapie, Monographies des plantes toxiques les plus usuelles au Maroc. Université Mohamed v-Soussi, faculté de médecine et de pharmacie, Rabat, thèse de pharmacie.

ANNEXE

Annexe 1 : Tableau du matériel de laboratoire et appareillage et produits utilisés dans nos expériences

Matériel consommable et verreries	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Erlen Meyer et béchers ▪ Réfrigérant à boules ▪ Flacons hermétiquement fermés ▪ Ballon de 250 ml ▪ Boîtes pétries ▪ Barreau magnétique ▪ Papier filtre Wattman (3 mm) 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cristallisoir ▪ Tubes en verre + support ▪ Tubes à essai + support ▪ Cuve chromatographique ▪ Plaque CCM ▪ Cellule de Malassez ▪ Pipette Pasteur
Appareillage	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Etuve à 60 °C ▪ Broyeur électrique ▪ Etuve ventilée 104 °C ▪ Spectrophotomètre UV-Vis ▪ Vortex ▪ Bain-marie agitateur et thermostaté ▪ Agitateur magnétique (150 tpm) 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Agitateur magnétique (150 tpm) ▪ Centrifugeuse à 3000 tr/min ▪ Microscope optique couplée à l'appareil photo ▪ Dessiccateur ▪ Centrifugeuse à 3000 tr/min ▪ Microscope optique couplée à une appareil photo.

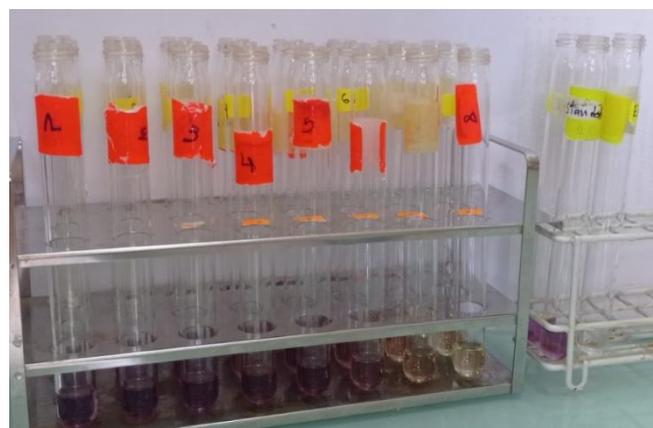
Annexe 2 : Tableaux des réactifs (produits et solvants) utilisés dans nos expériences

Produits	Solvants	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> - Chlorure de calcium (CaCl₂) - Oxalate de sodium (Na₂C₂O₄) - Chlorure de potassium KCl (0,2 M) - Ferricyanure de potassium (1%) - DPPH (50 µM) - Acide sulfurique concentré - Liqueur de Fehling - Standard : Acide gallique - Standard: catéchine - Acide trichlorure acétique (10%) - Chlorure ferrique (1%) 	<ul style="list-style-type: none"> - Eau distillée - Solution d'HCl diluée - Chloroforme - Méthanol - Eau physiologique NaCl (0.15 M) - Tampon phosphate (0,2 M; pH 6,6) - Acide sulfurique concentré - Hydroxyde d'ammonium NH₄OH (25%) - Perchlorure ferrique (FeCl₃), [C] = 10% et 1% 	<ul style="list-style-type: none"> - Réactif de Mayer (iodure de - Réactif de Liebermann (acide sulfurique + anhydride acétique) - Réactif de Folin

Annexe 3 : Quelques résultats des manipulation réalisés au la boratoire



Résultats de l'ensemble des tests phytochimiques



Résultat de dosage de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique



Résultat d'étalonnage des flavonoïde par le standard catéchine



Résultat d'étalonnage des polyphénol par le standard acide gallique

Résumé

Paronychia capitata L. est une plante connue chez les herboristes en Algérie sous le nom « Bessat-EL-Moulouk ». En Algérie, Il est utilisé pour traiter la lithiase urinaire et vu la large propagation de cette maladie dont La cristallisation oxalocalcique est la forme de cristallisation la plus fréquente dans les urines humaines. Nous sommes intéressés dans cette étude d'évaluer l'activité antioxydante et l'activité antilithiasique d'extrait aqueux de la partie aérienne de cette plante.

A cet effet, les parties aériennes d'*P. Capitata* récoltées à partir Ain-Türk -Oran- sont extraites par décoction sous un montage à reflux. Il s'en est suivi le screening phytochimique, le dosage des polyphénols, des flavonoïdes et l'évaluation de l'activités antioxydante et antilithiasique.

L'extraction a donné un rendement faible de 6 % en matière sèche et les tests phytochimiques ont montré la présence de plusieurs familles chimiques comme : alcaloïdes, mucilage, flavonoïdes, polyphénols, saponosides, terénoïdes, composés réducteurs. La teneur de l'extrait aqueux (ExAq) en polyphénols et flavonoïde est de $24,18 \pm 0,227 \mu\text{g EQAG/mg}$ d'extrait et $5,01 \pm 0,074 \mu\text{g EQCa/mg}$ d'extrait respectivement. Ensuite l'activité antioxydante montre que l'extrait aqueux possède un pouvoir antioxydant puissant avec un $\text{IC } 50 = 1.4 \mu\text{g/ml}$. L'évaluation du pouvoir antilithiasique par test turbidimétrie a révélé moins d'efficacité d'ExAq de cette plante que l'inhibiteur de référence (acide citrique) sur l'inhibition de cristallisation l'oxalate de calcium qui est de l'ordre 65.95% pour une concentration d'extrait de 0.5 mg/ml. Cette efficacité a été confirmée par la méthode de suivi par microscopie.

A la lumière de ces résultats, nous suggérons d'utiliser cette plante comme remède antioxydant, par contre l'efficacité de l'extrait aqueux de cette plante dans le traitement de la lithiase reste à confirmer par des tests in vivo.

Mots clés : Extrait aqueux, lithiase urinaire, *Paronychia capitata* L, oxalate de calcium, activité antioxydante, test turbidimétrie.

Abstract

Paronychia capitata L. is a plant known among herbalists in Algeria under the name "Bessat-EL-Moulouk". In Algeria, it is used to treat urinary lithiasis and given the wide spread of this disease whose oxalocalcic crystallization is the most frequent form of crystallization in human urine. We are interested in this study to evaluate the antioxidant activity and the antilithiasis activity of aqueous extract of the aerial part of this plant.

For this purpose, the aerial parts of *P. capitata* harvested from Ain-Türk -Oran- are extracted by decoction under a reflux assembly. The phytochemical screening, the dosage of polyphenols, flavonoids and the evaluation of the antioxidant and antilithiasic activities followed.

The extraction gave a low yield of 6% in dry matter and the phytochemical tests showed the presence of several chemical families such as: alkaloids, mucilage, flavonoids, polyphenols, saponosides, terenoids, reducing compounds. The content of polyphenols and flavonoid in Aqueous Extract (AqEx) is $24.18 \pm 0.227 \mu\text{g EQAG/mg}$ extract and $5.01 \pm 0.074 \mu\text{g EQCa/mg}$ extract respectively. Then the antioxidant activity shows that the aqueous extract has a potent antioxidant power with an $\text{IC } 50 = 1.4 \mu\text{g/ml}$. The evaluation of the antilithiasis power by turbidimetry test revealed less efficiency of AqEx of this plant than the reference inhibitor (citric acid) on the inhibition of crystallization of calcium oxalate which is of the order of 65.95% for an extract concentration of 0.5 mg/ml. This efficiency was confirmed by the follow-up microscopy method.

In the light of these results, we suggest to use this plant as an antioxidant remedy, but the effectiveness of the aqueous extract of this plant in the treatment of lithiasis remains to be confirmed by in vivo tests.

Key words: Aqueous extract, urinary lithiasis, *Paronychia capitata* L, calcium oxalate, antioxidant activity, turbidimetry test

المخلص

Paronychia capitata L هو نبات معروف بين المعالجين بالأعشاب في الجزائر تحت اسم "بساط الملوك". في الجزائر، يتم استخدامه لعلاج الحصوات البولية ونظرًا لانتشار هذا المرض على نطاق واسع، فإن التبلور أكسالوكلسي هو الشكل الأكثر شيوعًا للبلورات في البول البشري. فحن مهتمون في هذه الدراسة بتقييم النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد لتشكيل الحصوات للمستخلص المائي للجزء الجوي من هذا النبات.

لهذا الغرض، تم استخدام الأجزاء الهوائية من النبتة التي تم حصادها من عين الترك - وهران - وتم استخراج موادها الفعالة عن طريق التسخين بالإرجاع. لقد تبع ذلك التحليل النباتي الكيميائي وتحليل نسبة البوليفينول والفلافونويد وتقييم الأنشطة المضادة للأكسدة والنشاط ضد تشكل الحصوات.

أعطى الاستخلاص عائدًا منخفضًا قدره 6% من المادة الجافة وأظهرت الاختبارات الكيميائية النباتية وجود عدة عائلات كيميائية مثل: القلويات، الصمغ، الفلافونويد، البوليفينول، الصابونوسيدات، الترينويدات، المركبات المختزلة. محتوى المستخلص المائي (ExAq) من البوليفينول والفلافونويد هو 24.18 ± 0.227 مكافئ لحمض الغاليك /ميكروغرام من المستخلص و 5.01 ± 0.074 مكافئ للكركستين /ميكروغرام من المستخلص على التوالي. ثم يوضح النشاط المضاد للأكسدة أن المستخلص المائي له قوة مضادة للأكسدة قوية مع التركيز المثبط ل 50 من نسبة الجذور الحرة هو 1.4 ميكروغرام / مل. أظهر تقييم قوة الفعالية ضد مرض الحصوات للمستخلص المائي عن طريق اختبار قياس التعر كفاءة أقل مقارنة بالمثبط المرجعي (حمض الستريك) في تثبيط تبلور أكسالات الكالسيوم بنسبة 65.95%. لتركيز مستخلص 0.5 مجم / مل. تم تأكيد هذه الفعالية من خلال طريقة المراقبة المجهرية للتبلور في البول الاصطناعي.

في ضوء هذه النتائج، نقترح استخدام هذا النبات كعلاج مضاد للأكسدة، ولكن لا يزال يتعين تأكيد فعالية المستخلص المائي لهذا النبات في علاج مرض تشكل الحصوات البولية من خلال الاختبارات داخل العضوية.

الكلمات المفتاحية: المستخلص المائي، مرض الحصوات البولية، *Paronychia capitata* L، أكسالات الكالسيوم، نشاط مضاد للأكسدة، اختبار قياس العكس.