

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université A. MIRA- BEJAIA
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de Biologie Physico-chimique

Mémoire

Présenté par

M^{elle} KASMI Souad

Pour l'obtention du Diplôme de Magister

Filière : Biologie

Option : Ingénierie en Biochimie et Biotechnologie

Thème

Etude de l'activité diurétique des extraits éthanoliques de
Fraxinus angustifolia et *Pistacia lentiscus*

Soutenu le : 11/05/2014

Devant le Jury composé de :

Nom et prénom	Grade		
Mme Benabdesselam F.	Professeur	Univ. de Bejaïa	Présidente
Mr Atmani D.	Professeur	Univ. de Bejaïa	Rapporteur
Mr Balla E.H	MCA	Univ. de Bejaïa	Examineur
Mr Ouchemoukh S.	MCA	Univ. de Bejaïa	Examineur

Année Universitaire: 2013/2014

Glossaire

- ✚ **2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)** : c'est un radical libre et stable.
- ✚ **Aldostérone** : C'est un minéralocorticoïde, elle est sécrétée dans le cortex (c'est-à-dire la partie périphérique) des glandes surrénales (glandes disposées sur les reins). Cette hormone participe au maintien de l'équilibre hydroélectrolytique, en retenant le sodium et l'eau dans l'organisme.
- ✚ **Antioxydant** : Agent naturel ou chimique qui réduit ou neutralise l'oxydation.
- ✚ **Apoptose** : ou la mort cellulaire programmée, est le processus par lequel la cellule induit son auto-destruction.
- ✚ **Homéostasie** : processus par lequel un organisme maintient constantes les conditions internes nécessaires à la vie.
- ✚ **Hormone antidiurétique (ADH)** : Hormone sécrétée par l'hypothalamus et stockée dans l'hypophyse, sa sécrétion est réglée par les osmo-récepteurs du cerveau. Après sa libération, la sécrétion d'eau diminue ce qui induit une augmentation de la volémie et la pression artérielle.
- ✚ **Hypercalcémie** : Il s'agit d'une accumulation de calcium dans le sang, pouvant être en rapport avec une hyperactivité des glandes parathyroïdes, ainsi appelées parce qu'elles sont situées dans le cou, de part et d'autre de la thyroïde. L'excès de calcium dans le sang, à un taux supérieur à 105 mg/l, définit une hypercalcémie. Elle est le plus souvent en rapport avec la sécrétion excessive d'hormone parathyroïde par l'une des quatre glandes parathyroïdes, mais d'autres causes sont possibles : ingestion massive de calcium, surdosage en vitamine D, défaut d'élimination rénale de calcium, cancers.
- ✚ **Hyperkaliémie** : c'est un désordre hydro-électrolytique défini par un excès de potassium dans le plasma sanguin. Chez l'homme, elle se définit par un taux sanguin de potassium, appelé kaliémie, supérieur à 5 mmol/l. En fonction de son importance et de sa rapidité d'installation, l'hyperkaliémie peut menacer la vie car elle est pourvoyeuse de troubles du rythme et de la conduction cardiaque pouvant aboutir, en l'absence de traitement urgent, à un arrêt cardio-circulatoire.

- ✚ **Hypokaliémie** : c'est définie par une concentration plasmatique de potassium inférieure à 3,5 milli moles par litre. Il s'agit donc d'un désordre hydro-électrolytique pouvant menacer le pronostic vital par la survenue de troubles du rythme cardiaque, également observés dans l'hyperkaliémie. Des fausses hypokaliémies peuvent être observées d'où une confirmation par un deuxième prélèvement.
- ✚ **L'alcalose métabolique** : est un trouble de l'équilibre acido-basique défini par une hausse du pH dans le secteur extracellulaire plasmatique. Les principales causes d'alcalose sont les contractions du volume extracellulaire, hypertension artérielle, l'expansion volumique...etc.
- ✚ **Parenchyme** : partie d'un organe qui constitue le ou l'ensemble des tissus fonctionnels de cet organe.
- ✚ **Peroxydation lipidique** : c'est l'oxydation des lipides insaturés par les espèces réactifs d'oxygène ou par des enzymes.
- ✚ **Prostaglandines** : c'est une famille de substance proche d'hormone et qui sont présentées chez tous les mammifères. Elles sont synthétisées à partir de l'acide arachidonique par l'action des cyclooxygénases.
- ✚ **Tissu conjonctif** : tissu fondamental servant notamment au soutien, à la défense et à la nutrition des autres tissus de l'organisme animal. Les tissus conjonctifs sont constitués de cellules relativement éparées, entourées d'une matrice extracellulaire abondante, de consistance très variable (de liquide à très solide).

Liste des abréviations

μS : Micro-Siemens.

ADH : Hormone Antidiurétique.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

Al : Aluminium.

ANOVA : Analyse de la Variance.

BSA : Albumine du Sérum Bovin.

Cl⁻ : Chlore.

COX : Cyclooxygénase.

Da : Dalton.

E AG : Equivalent Acide gallique.

E AT : Equivalent Acide tannique.

E Cat : Equivalent Catéchine.

E Q : Equivalent quercétine.

E Rut : Equivalent Rutine.

Fe : Fer.

HCl : Chlorure d'Hydrogène.

Hg : Mercure.

K⁺ : Potassium.

Na⁺ : Sodium.

NaCl : Chlorure de Sodium.

NaOH : Hydroxyde de Sodium.

SDS : Dodécylsulfate de Sodium.

TEA : Triéthanolamine.

Liste des figures

Figure 1 : Les reins et les voies urinaires.....	3
Figure 2 : Coupe frontale du rein droit.....	4
Figure 3 : Anatomie d'un néphron.....	5
Figure 4 : sites de la filtration, réabsorption et de la sécrétion dans un néphron.....	7
Figure 5 : Régulation rénale de la pression artérielle et la réabsorption du sodium et l'eau..	10
Figure 6 : Lieux d'action des diurétiques.....	11
Figure 7 : Exemple de tannin hydrolysable.....	29
Figure 8 : Exemple de tannin non hydrolysable (procyanidine).....	29
Figure 9: Structure de base des anthocyanes.....	30
Figure 10: La molécule d'isoprène.....	31
Figure11 : Structure chimique du furosémide	33
Figure 12 : Structure chimique de l'indométacine [acide 1-(4-chlorobenzoyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1- <i>H</i> -indole- 3-acétique].....	34
Figure 13 : Photographie du matériel végétal.....	35
Figure 14: Photographie de rat albinos.....	36
Figure 15 : Photographie de l'analyseur d'électrolytes (PL1000A).....	40
Figure 16 : Méthode du gavage.....	41
Figure 17: Photographie d'une cage métabolique.....	41
Figure 18: Teneurs en phénols totaux des extraits éthanoliques de <i>P. lentiscus</i> et <i>F. angustifolia</i>	45

Figure 19: Teneurs en flavonoïdes des extraits éthanoliques de <i>P. lentiscus</i> et <i>F. angustifolia</i>	46
Figure 20: Teneurs en tannins des extraits éthanoliques de <i>P. lentiscus</i> et <i>F. angustifolia</i>	46
Figure 21: Volume des urines après traitement avec l'extrait éthanolique des feuilles de <i>F. angustifolia</i> et de la molécule de référence, le furosémide.....	48
Figure 22 : Volume des urines après traitement avec l'extrait éthanolique de l'écorce de <i>F. angustifolia</i> et de la molécule de référence, le furosémide.....	49
Figure 23 : Volume des urines après traitement avec l'extrait éthanolique des feuilles de <i>P. lentiscus</i> et de la molécule de référence, le furosémide.....	51
Figure 24: Volume des urines après traitement avec l'extrait éthanolique des fruits de <i>P. lentiscus</i> et de la molécule de référence, le furosémide.....	51
Figure 25 : Résultats du traitement avec le furosémide et les extraits éthanoliques de <i>F. angustifolia</i> et <i>P. lentiscus</i> sans et avec l'indométacine.....	58
Figure 26: Résultats du traitement avec le furosémide et les extraits éthanoliques de <i>F. angustifolia</i> et <i>P. lentiscus</i> sans et avec l'indométacine.....	59

Liste des tableaux

Tableau I : Comparaison entre la composition du plasma et celle de l'urine.....	9
Tableau II : Plantes à effet diurétique.....	19
Tableau III : Classification de <i>F. angustifolia</i>	20
Tableau IV: Principaux flavonoïdes de <i>F. angustifolia</i>	21
Tableau V: Les lignanes de <i>F. angustifolia</i>	22
Tableau VI: Les coumarines de <i>F. angustifolia</i>	24
Tableau VII: Les Principaux Secoiridoïdes du <i>Fraxinus angustifolia</i>	26
Tableau VIII: Classification du genre <i>Pistacia</i> selon les sections.....	27
Tableau IX: Taux d'extraction pendant trois ans successifs des extraits éthanoliques de <i>F. angustifolia</i> et <i>P. lentiscus</i>	44
Tableau X : Concentration en ions Sodium, Potassium et Chlore des plantes utilisées...47	
Tableau XI : pH et la conductivité des urines cumulatives de 8 des différents lots.....	53
Tableau XII: Concentrations en ions Na ⁺ , K ⁺ et Cl ⁻ du contrôle négatif, le furosémide et les extraits éthanoliques des deux plantes aux différentes doses.....	55

Sommaire

Partie théorique

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre I : Rappels physiologiques du rein

I.1. Anatomie du rein.....	2
I.1.1. Anatomie externe.....	2
I.1.2. Anatomie interne.....	2
I.1.2.1. Le néphron.....	4
I.2. Physiologie du rein.....	6
I.2.1. Formation de l'urine et excrétion des déchets.....	6
I.2.1.1. Filtration glomérulaire.....	6
I.2.1.2. Réabsorption tubulaire.....	6
I.2.1.3. Sécrétion tubulaire.....	7
I.2.1.4. Caractéristiques des urines.....	8
I.2.2. Régulation de la composition et de la pression du sang par le rein.....	8
I.2.2.1. Maintien de l'équilibre hydrique et électrolytique du sang.....	9
I.2.2.2. Maintien de l'équilibre acido-basique du sang.....	9
I.2.2.3. Régulation de la pression artérielle.....	9
I.3. Principe de la thérapeutique diurétique.....	9
I.3.1. La diurèse.....	9
I.3.2. Grandes classes des diurétiques de synthèse.....	11
I.3.2.1. Diurétiques de l'anse.....	11
I.3.2.2. Thiazides et apparentés.....	12
I.3.2.3. Antagonistes de l'aldostérone.....	12
I.3.2.4. Diurétiques épargneurs de potassium non antagonistes de l'aldostérone.....	12
I.3.2.5. Diurétiques du tube proximal ou Inhibiteurs de l'anhydrase carbonique.....	12

I.3.3. Indications du traitement diurétique.....	13
I.3.3.1. Insuffisance cardiaque.....	13
I.3.3.2. Hypertension artérielle.....	13
I.3.3.3. Insuffisance rénale.....	13
I.3.3.4. Résorption des œdèmes.....	14
I.3.4. Complications hydroélectrolytiques des diurétiques.....	14
I.3.4.1. Hypokaliémie.....	15
I.3.4.2. Hyperkaliémie.....	15
I.3.4.3. Hypercalciurie.....	15
I.3.4.4. Hypercalcémie.....	15
I.3.4.5. Acidose métabolique hyperchlorémique.....	16
I.3.4.6. Alcalose métabolique.....	16

Chapitre II : Les plantes à activités diurétiques

II.1. Généralités.....	17
II.1.1. <i>Coriandrum sativum</i> (Coriandre).....	17
II.1.2. <i>Petroselinum hortense</i> (Persil).....	18
II.1.3. <i>Tropaeolum majus</i> (Capuchinha).....	18
II.1.4. <i>Allium sativum</i> (ail).....	18
II.2. <i>Fraxinus angustifolia</i>	20
II.2.1. Description de la plante.....	20
II.2.2. Classification de la plante.....	20
II.2. 3. Condition de croissance et de vie.....	20
II.2.4. Composition.....	20
II.2.4.1. Flavonoïdes	21
II.2.4.2.Lignanes.....	22
II.2.4. 3. Coumarines.....	23
23 II.2.4. 4. Secoiridoides.....	24

II.2.5. Activité biologiques des espèces du genre <i>Fraxinus</i>	25
II.3. <i>Pistacia lentiscus</i>	26
II.3.1. Description de la plante et conditions de croissance.....	26
II.3.2. Classification	26
II.3.3. Composition.....	27
II.3.3.1. Composées phénoliques.....	27
A. Tannins	28
B. Anthocyanes.....	30
II.3.3.2. Terpénoïdes	30
II.3.4. Activités biologiques.....	31

Partie expérimentale

Chapitre III : matériels et méthodes

III.1. Matériels.....	33
III.1.1. Matériels chimiques et équipements.....	33
III.1.1.1. Matériels chimiques.....	33
III.1.1.2. Equipements.....	34
III.1.2. Matériel végétal.....	35
III.1.3. Les animaux.....	36
III.2. Méthodes.....	36
III. 2. 1. Broyage, tamisage et extraction.....	36
III.2.2. Dosage des polyphénols.....	37
III.2.2.1. Dosage des phénols totaux.....	37
III.2.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	38

III.2.2.3. Dosage des tannins.....	38
III.2.3.Minéralisation de la plante.....	39
III.2.4. Activité diurétique.....	40
III.2.5. Etude de l'implication des prostaglandines dans l'activité diurétique.....	42
III.2.6. Analyse statistique.....	42

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Taux d'extraction des composés de la plante.....	43
IV. 2. Teneurs en composés phénoliques :.....	44
IV.2.1. Teneurs en phénols totaux :.....	44
III.2.2. Teneurs en flavonoïdes:.....	45
III.2.3. teneurs en tannins.....	46
IV. 3.Teneurs en quelques éléments dans les poudres des plantes étudiées (Minéralisation).	47
IV.4. Activité diurétique des extraits éthanoliques de <i>F. angustifolia</i> et <i>P. lentiscus</i>	48
IV.4. 1. Le volume urinaire	48
IV.4. 2. Mesure du pH et conductivité	52
IV. 4.3. Dosage des électrolytes dans les urines cumulatives de 8h des différents lots traités.....	54
VI.5. Etude de l'implication des prostaglandines dans le l'activité diurétique de <i>F. angustifolia</i> et <i>P. lentiscus</i>	57
Conclusion.....	60
Références bibliographiques.....	62

Annexe



Introduction

Introduction

Les diurétiques sont des médicaments qui favorisent la diurèse, c'est-à-dire qu'ils augmentent la natriurèse par inhibition de la réabsorption tubulaire du sodium, entraînant ainsi une augmentation de l'excrétion urinaire.

Ces médicaments sont utilisés pour ajuster le volume et/ou la composition des fluides du corps dans des cas pathologiques divers comme l'hypertension, les œdèmes, l'insuffisance cardiaque et/ou rénale.

Les études pharmacologiques et l'usage chimique ont montré que les diurétiques de synthèse présentent de nombreux effets secondaires (acidose plasmatique, déséquilibres ioniques....etc.) et ne peuvent être administrés que dans certains cas physiologiques.

Depuis des temps immémoriaux, les plantes ont servi comme première source de médicaments pour l'homme. En effet, elles ont continué à fournir à l'humanité des remèdes thérapeutiques nouveaux et originaux jusqu'à aujourd'hui. L'intérêt de l'étude et de l'utilisation des plantes médicinales a mené à la caractérisation et à l'identification de molécules majeures, et à l'isolation de composés chimiques actifs.

Des études de l'activité diurétique des plantes médicinales constituent un nouveau domaine d'investigation pour la plupart des chercheurs dans ce domaine. Ces plantes sont constituées, en grande partie, des composés phénoliques tels que, les flavonoïdes, les lignanes et les coumarines. Aussi la reconnaissance des composés phénoliques comme des diurétiques naturels est maintenant bien acquise.

Dans ce travail, notre choix s'est focalisé sur les plantes *Fraxinus angustifolia* et *Pistacia lentiscus* vue leur richesse en composés phénoliques, suggérés être des composés qui exhibent diverses activités biologiques, dont l'activité diurétique.

Chapitre I

Rappels physiologiques du rein

I.1. Anatomie et physiologie du rein

I.1. 1. Anatomie externe

Les reins, au nombre de deux, sont situés de part et d'autre de la colonne vertébrale, ils s'étendent de la 12^{ème} vertèbre dorsale à la 3^{ème} vertèbre lombaire. Un rein adulte mesure en moyenne 12 cm de longueur, 6 cm de largeur et 3 cm d'épaisseur et pèse environ 150 g (**Cam Uyen, 2010**).

Les reins sont de couleur rouge-brun foncé en raison de l'abondante présence de vaisseaux sanguins. Le rein droit est légèrement plus bas que le rein gauche, en raison de la présence du foie (**Mombazet, 2010 ; Dennai, 2012**)

Le rein est entouré par trois capsules :

- la capsule fibreuse agit comme une barrière contre les infections provenant des régions avoisinantes.
- la capsule adipeuse fixe le rein à la paroi postérieure et le protège contre les coups.
- le fascia rénal est une couche de tissu conjonctif qui entoure le rein et la glande surrénale et qui ancre ces deux organes aux structures voisines (**Forest et Martin, 2007**).

Le rein comporte un bord latéral concave sur lequel s'implantent l'artère rénale, la veine rénale, des fibres nerveuses et l'uretère au niveau d'une ouverture appelée le hile (**Dennai, 2012**) (**Figure 1**).

I.1.2. Anatomie interne :

Une coupe frontale du rein révèle deux régions distinctes : une zone superficielle rougeâtre, à texture lisse appelé cortex rénal et une zone profonde, brun rougeâtre, appelé médulle rénale. La médulle est constituée de 8 à 18 pyramides rénaux de forme conique et ensemble, le cortex rénal et les pyramides rénaux constituent le parenchyme (la partie fonctionnelle) du rein (**Forest et Martin, 2007**).

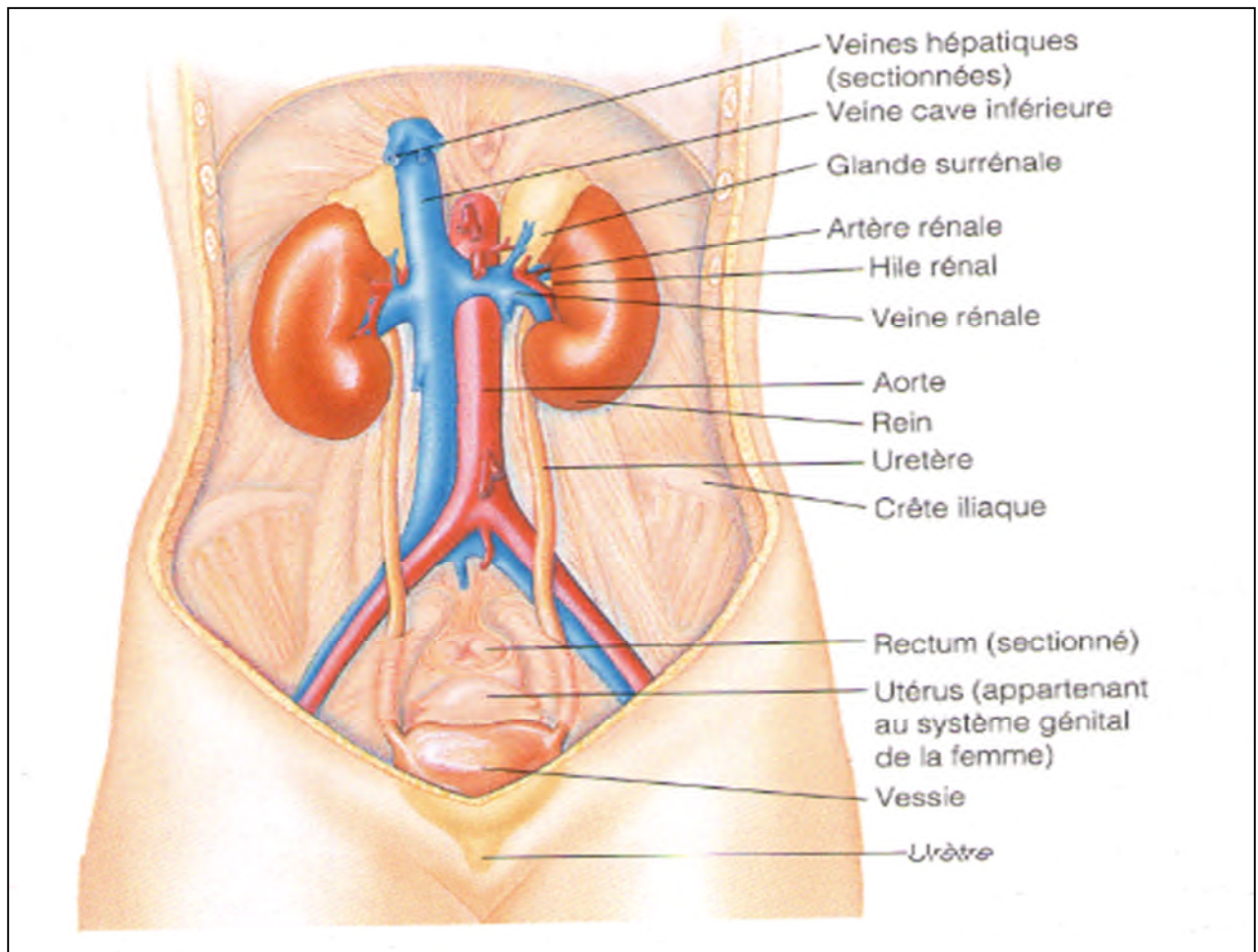


Figure 1 : Les reins et les voies urinaires (Marieb, 2000).

Le parenchyme contient environ un million de structures microscopiques appelées néphrons. L'urine produite par les néphrons se jette dans des conduits plus larges, les tubes rénaux droits qui débouchent sur des structures appelées calices rénaux. De là l'urine se jette dans une grande cavité appelé bassinets ou pelvis rénal, et s'écoule dans l'uretère pour se rendre jusqu'à la vessie (Moro, 2010 ; Wong Hee Kam et Huguet, 2010).

Le hile s'élargit à l'intérieur du rein pour former une cavité appelée sinus rénal, qui contient une partie du bassinets, les calices et des ramifications des nerfs et des vaisseaux sanguin rénaux. Du tissu adipeux contribue à stabiliser ces structures dans le sinus rénal (Davis, 1981) (Figure 2).

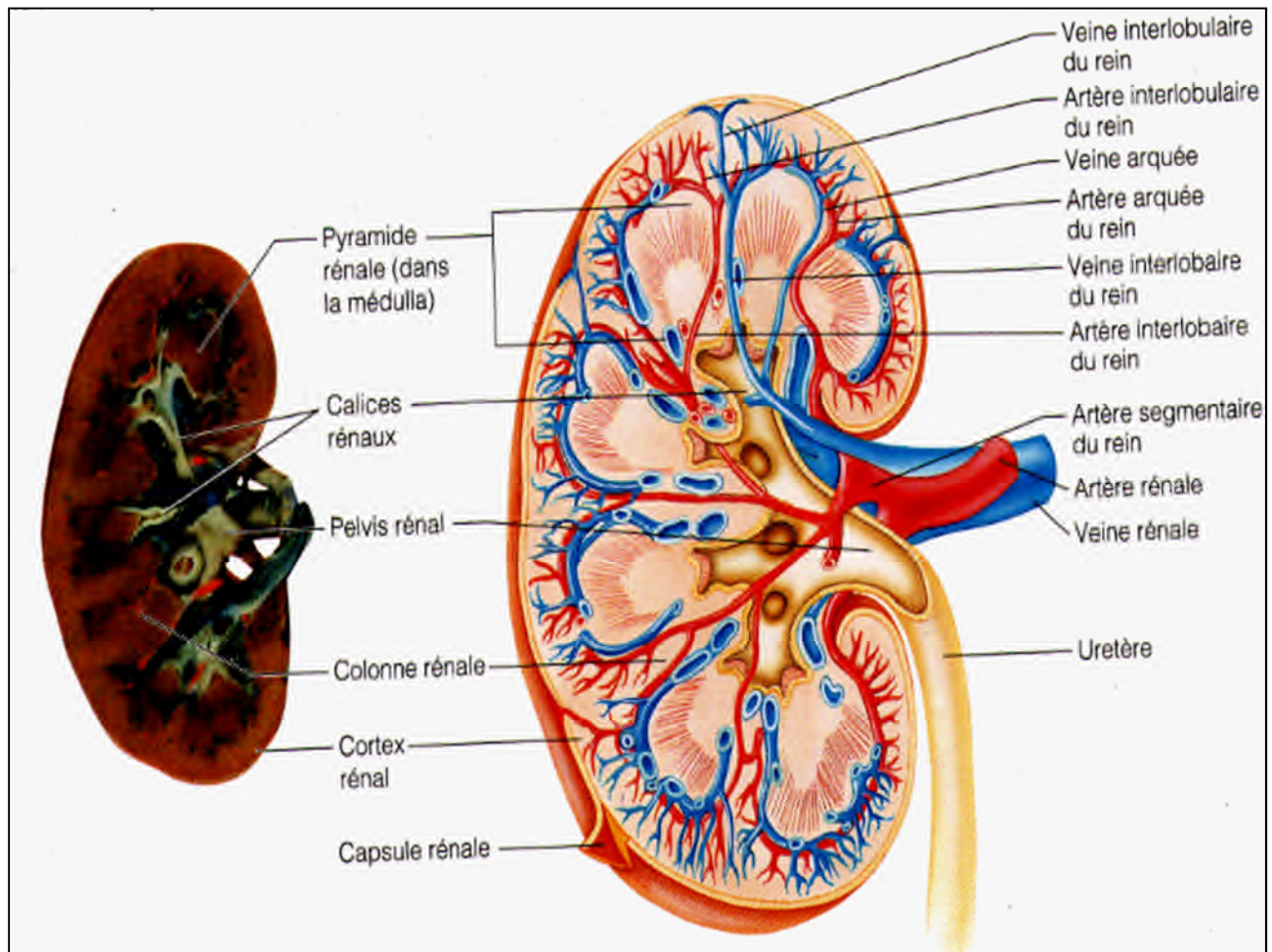


Figure 2 : Coupe frontale du rein droit (Forest et Martin, 2007).

I.1.2.1. Le néphron :

Ce sont les unités structurales et fonctionnelles du rein qui assurent la formation de l'urine. Chaque néphron est constitué de deux parties principales : un corpuscule rénal, où s'effectue la filtration du plasma, et le tube rénal dans lequel passe le liquide filtré (Forest et Martin, 2007).

Le corpuscule rénal comprend deux parties : le glomérule, un réseau de capillaire, et la capsule glomérulaire (ou capsule de Bowman), qui enveloppe les capillaires glomérulaires (Cam Uyen, 2010).

La partie tubulaire du néphron s'étend du glomérule au bassinot est constituée de trois parties :

- le tubule contourné proximal, qui fait suite à la capsule glomérulaire, il est situé dans le cortex et il a une forme sinueuse.
- l'anse du néphron ou anse de Henlé : le tubule prend une forme de U et descend dans la médulle. Il est formé d'un segment descendant puis d'un segment ascendant qui remonte jusqu' au cortex, à proximité du corpuscule rénal.
- le tubule contourné distal (Wong Hee Kam et Huguet, 2010 ; Dennai, 2012) (Figure 3).

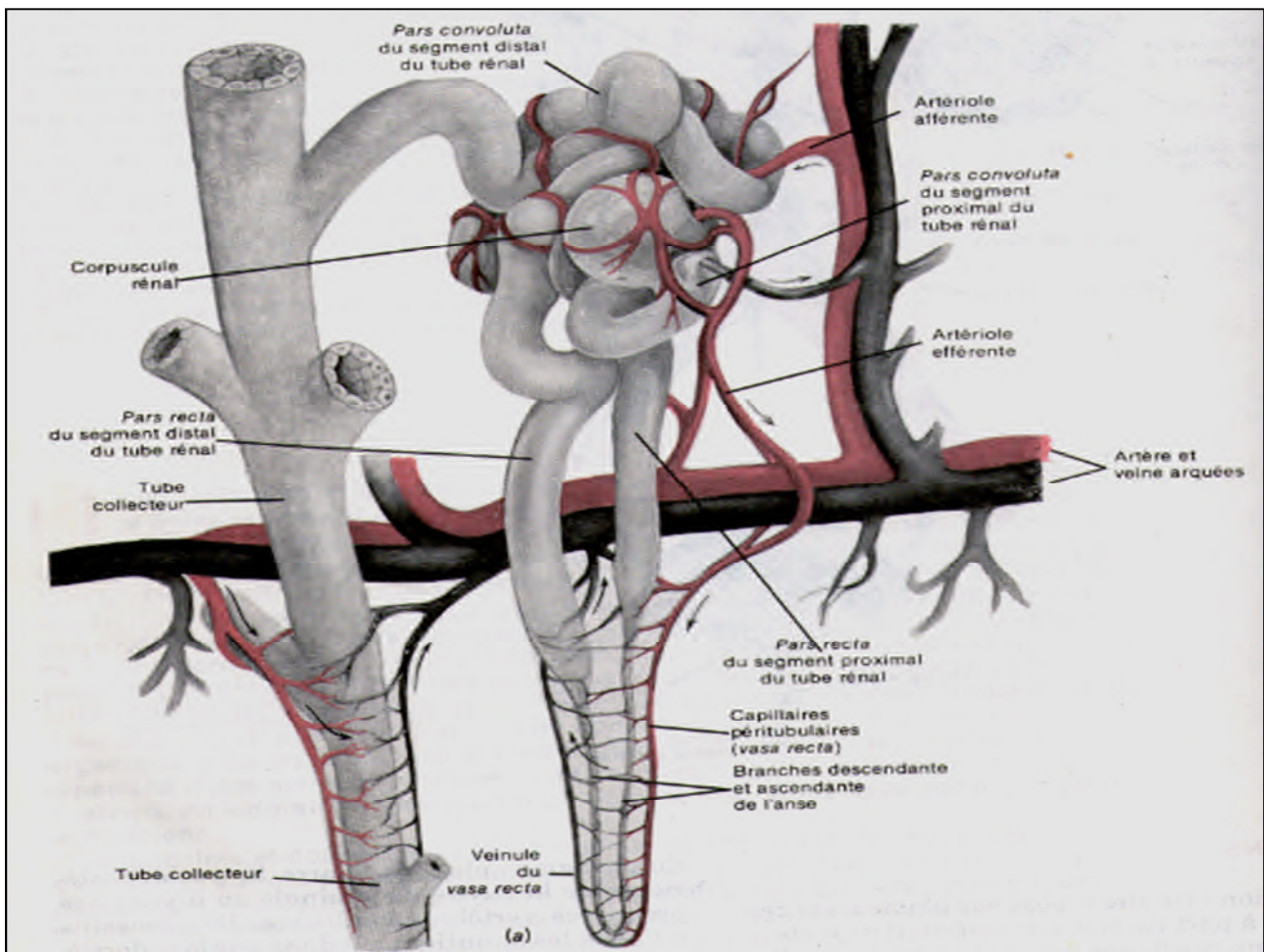


Figure 3 : Anatomie d'un néphron (Davis, 1981).

I.2. Physiologie du rein :

Le rein est un organe complexe essentiel dans le maintien de l'homéostasie de l'organisme. Il est doué de plusieurs fonctions : il est responsable de la formation de l'urine et de l'excrétion des déchets, on parle de fonction exocrine, mais il agit également comme une glande endocrine (**Mombazet, 2010**).

I.2.1. Formation de l'urine et excrétion des déchets :

Le rein filtre environ 180 litres de sang par jour au niveau du glomérule, il en résulte la formation de l'urine primitive qui va subir des transformations à l'intérieur du tubule en réabsorbant certaines substances et en excréant d'autres, aboutissant à la formation de l'urine définitive (**Cam Uyen, 2010 ; Dennai, 2012**).

I.2.1.1. Filtration glomérulaire :

La formation de l'urine commence par la filtration glomérulaire. Il s'agit d'un processus passif et non sélectif au cours duquel les liquides et les solutés traversent une membrane par la pression hydrostatique. La membrane de filtration du glomérule laisse librement le passage au plasma sanguin vers la chambre glomérulaire. Les molécules de faible poids moléculaire, comme l'eau, le glucose, les acides aminés et les déchets azotés. Les molécules de haut poids moléculaire (> 80 000 Da) comme les protéines plasmatiques (albumine ...) n'ont aucun accès à la chambre glomérulaire (**Mombazet, 2010 ; Cam Uyen, 2010**) (**Figure 4**).

Enfin, le filtrat glomérulaire ainsi formé se retrouve dans la chambre glomérulaire, qui s'abouche au tubule contourné proximal (**Dennai, 2012**).

I.2.1.2. Réabsorption tubulaire :

La réabsorption consiste au passage de substances de la lumière tubulaire vers l'espace interstitiel puis vers les capillaires péri-tubulaires. Ce phénomène concerne les substances utiles à l'organisme qui ne doivent pas être éliminées, comme l'eau, le sodium, le glucose ou les acides aminés (**Mombazet, 2010**) (**Figure 4**).

Il se produit une certaine réabsorption passive (par exemple, l'eau passe par osmose), mais la réabsorption de la plupart des substances se fait par des mécanismes de transport actif, lesquels sont très sélectif et utilisent des transporteurs membranaires (Marieb, 2000).

Environ 178,5 L sur les 180 L filtrés sont réabsorbés, la différence de 1,5 L étant éliminée sous forme d'urine (Moro, 2010).

I.2.1.3. Sécrétion tubulaire

La sécrétion est le phénomène inverse de la réabsorption. Les substances sécrétées vont des capillaires, de l'espace interstitiel ou des cellules tubulaires vers la lumière tubulaire. Les principales substances éliminées par ce phénomène sont l'urée, l'acide urique et le potassium (Mombazet, 2010 ; Cam Uyen, 2010) (Figure 4).

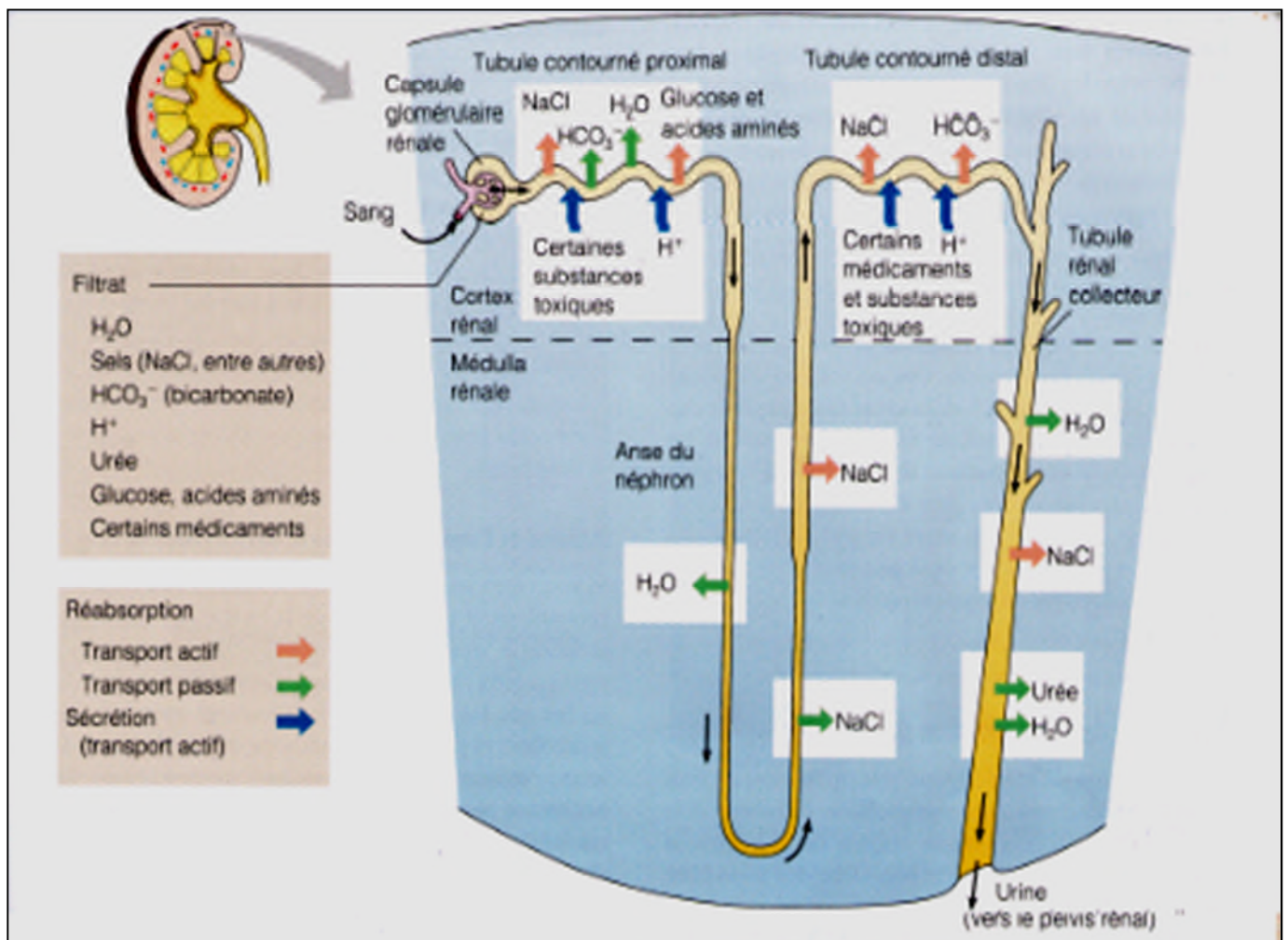


Figure 4 : Sites de la filtration, réabsorption et de la sécrétion dans un néphron (Marieb, 2000).

I.2.1.4. Caractéristiques des urines :

✓ Couleur :

La couleur jaune des urines est due à la présence d'urobiline, un pigment qui résulte de la destruction de l'hémoglobine par l'organisme. Cette couleur varie aussi selon la concentration de l'urine et le régime alimentaire. Les médicaments et certaines maladies influent sur la couleur. Les calculs rénaux peuvent causer la présence de sang dans les urines modifiant ainsi sa couleur (**Forest et Martin, 2007**).

✓ Odeur :

Légèrement aromatique, mais dégage une odeur d'ammoniac si on la laisse reposer. L'urine des diabétiques a une odeur fruitée à cause de la présence de corps cétonique (**Pasquali, 2009**).

✓ pH :

Se situe entre 4,6 et 8 ; varie considérablement selon le régime alimentaire. Les régimes riches en protéines augmentent l'acidité ; les régimes végétariens augmentent l'alcalinité (**Forest et Martin, 2007**).

✓ Composition chimique :

Les constituants qui se trouvent normalement dans l'urine sont les suivants : déchets azotés, eau, divers ions. Les constituants qui ne devraient pas se trouver dans l'urine sont : le glucose, protéines plasmatiques, le sang, le pus et la bile (**Marieb, 2000 ; Pasquali, 2009**) (**Tableau I**).

Tableau I : Comparaison entre la composition du plasma et celle de l'urine (Pocock et Richards., 2004).

	Plasma	Urine	Unités
Na ⁺	140-150	50-30	Mmol.L ⁻¹
K ⁺	3.5-5	20-70	Mmol.L ⁻¹
Ca ²⁺	1.35-1.50	10-24	Mmol.L ⁻¹
HCO ₃ ⁻	22-28	0	Mmol.L ⁻¹
Phosphate	0.8-1.25	25-60	Mmol.L ⁻¹
Cl ⁻	100-110	50-130	Mmol.L ⁻¹
Créatinine	0.06-0.12	6-20	Mmol.L ⁻¹
Urée	4-7	200-400	Mmol.L ⁻¹
NH ₄ ⁺	0.005-0.02	30-50	Mmol.L ⁻¹
Protéines	65-80	0	g.L ⁻¹
Acide urique	0.1-0.4	0.7-8.7	Mmol.L ⁻¹
Glucose	3.9-5.2	0	Mmol.L ⁻¹
PH	7.35-7.40	4.8-7.5	-log ₁₀ (H ⁺)
Osmolarité	281-297	50-1300	Mosm.Kg

1.2.2. Régulation de la composition et de la pression du sang par le rein :

La composition du sang dépend de l'alimentation, du métabolisme cellulaire et du débit urinaire. Pour maintenir la composition du sang, les reins doivent accomplir plusieurs tâches (Forest et Martin, 2007).

1.2.2.1. Maintien de l'équilibre hydrique et électrolytique du sang

L'ADH (l'hormone antidiurétique) fait augmenter la réabsorption de l'eau et permet de conserver l'eau dans l'organisme en absorbant et réabsorbant des ions en fonction des hormones sécrétées. L'aldostérone fait augmenter la réabsorption du sodium et de l'eau, et elle fait diminuer la réabsorption du potassium (Davis, 1981 ; Marieb, 2000).

I.2.2.2. Maintien de l'équilibre acido-basique du sang

En sécrétant activement des ions bicarbonate (et en conservant les ions H^+) ainsi qu'en absorbant des ions bicarbonate (et en sécrétant des ions H^+). Les tampons chimiques captent les ions H^+ ou les bases en excès de façon temporaire ; les centres respiratoires modifient le pH sanguin en retenant le gaz carbonique (ce qui abaisse le pH) ou en l'éliminant (ce qui élève le pH). Seuls les reins peuvent éliminer de l'organisme les acides métaboliques et les bases en excès (Marieb, 2000).

I.2.2.3. Régulation de la pression artérielle

En sécrétant la rénine, une enzyme qui active le système rénine-angiotensine-aldostérone. Une augmentation de la sécrétion de la rénine a pour effet d'élever la pression artérielle (Forest et Martin, 2007) (Figure 5).

I.3. Principe de la thérapeutique diurétique :

I.3.1. Diurèse :

La diurèse est liée au maintien de la composition chimique du milieu intérieur donc de l'homéostasie. Une filtration glomérulaire suffisante et un bon remaniement tubulaire sont les deux conditions pour avoir une diurèse efficace. Celle-ci est sous le contrôle des deux principales hormones: l'ADH et l'aldostérone.

Une action diurétique est mise en évidence par la mesure du volume urinaire éliminé et la composition ionique des urines recueillies (Beaux, 1991).

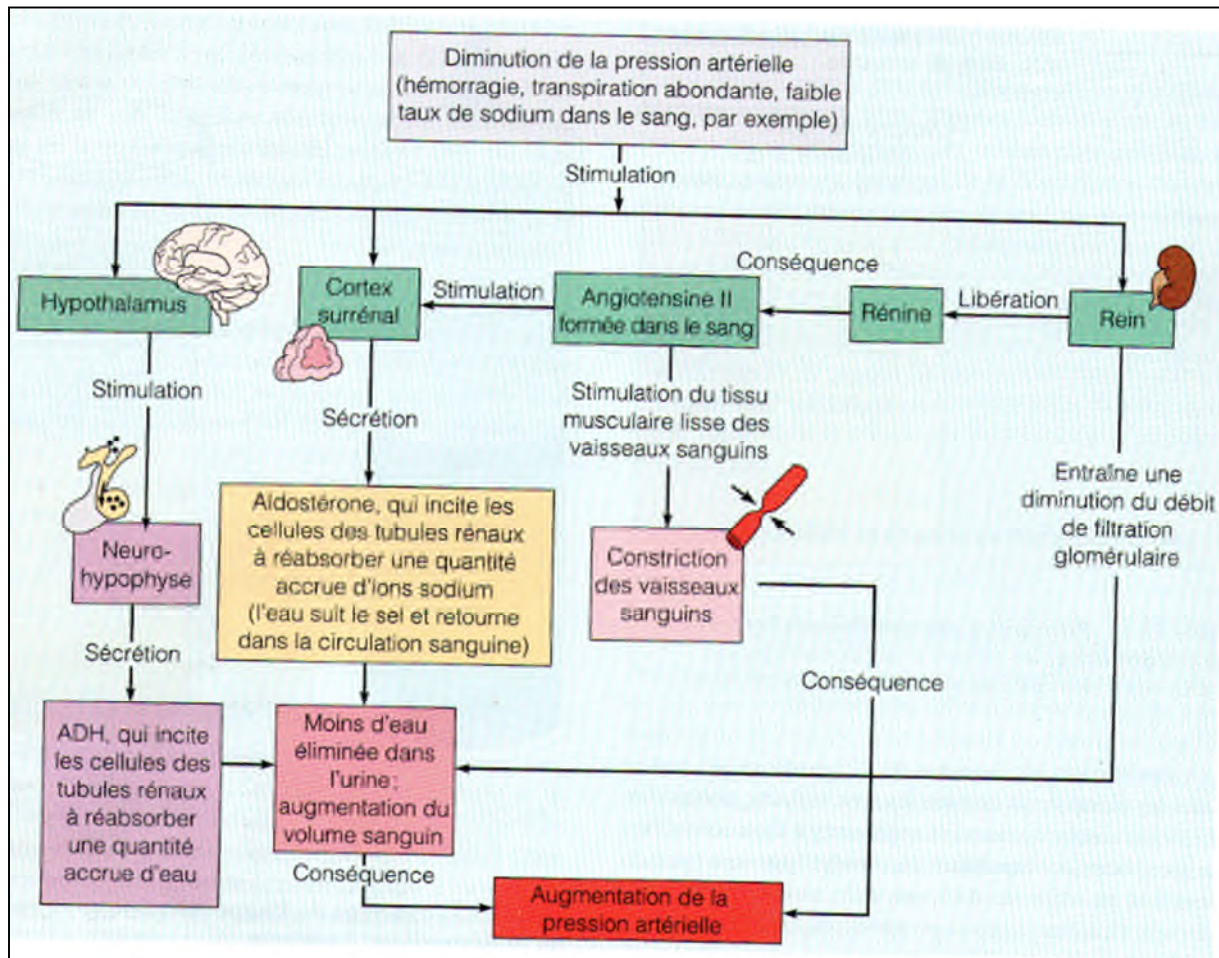


Figure 5 : Régulation rénale de la pression artérielle et la réabsorption du sodium et l'eau (Mariieb, 2000).

La diurèse est l'augmentation d'urine et peut avoir les causes suivantes :

- ✓ **La diurèse aqueuse** : une diminution de l'osmolarité du plasma et/ou une augmentation du volume sanguin réduisent le taux d'ADH, ce qui conduit à une excrétion d'eau dite libre.
- ✓ **La diurèse osmotique** : apparaît lorsque des substances non réabsorbables sont filtrées dans le tubule, fixent l'eau et l'éliminent ensuite avec elles (Silbernagl et Despopoulos, 2001).
- ✓ **Les médicaments diurétiques** : ont pour propriété d'augmenter le volume des urines. Le plus souvent, ils augmentent l'excrétion de sodiums, mais aussi l'excrétion d'eau libre (Briet et Boutouyrie, 2009). Ils sont utilisés pour ajusté le volume et/ou la composition

des fluides du corps dans des cas pathologiques divers comme l'hypertension, les œdèmes....ect

Plusieurs classes sont définies en fonction de leurs cibles pharmacologiques et de leur mode d'action (Junior et al., 2011). (Figure6)

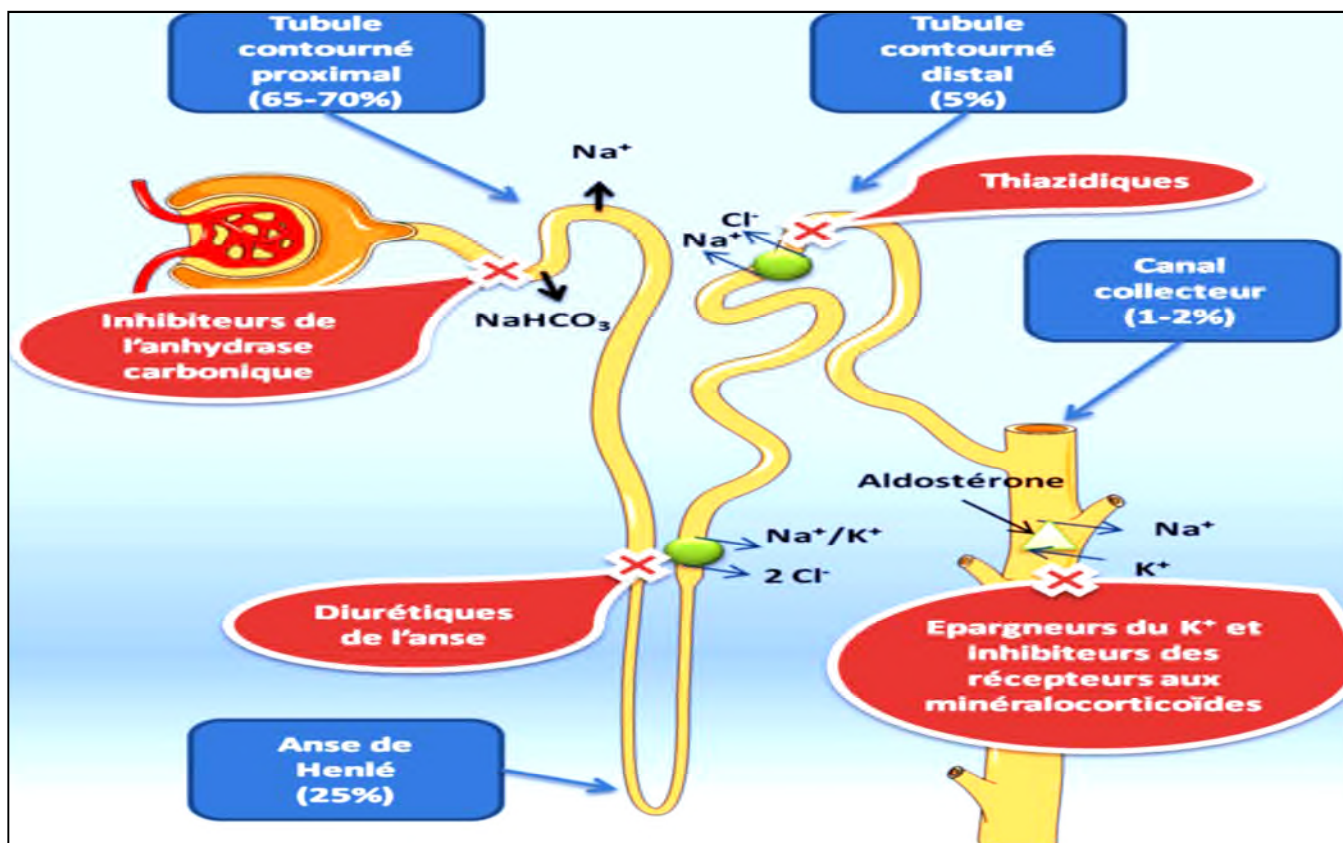


Figure 6 : Lieux d'action des diurétiques (Funck-Brentano et Cohen-Solal, 2010).

I.3.2. Grandes classes des diurétiques de synthèse :

I.3.2.1. Diurétiques de l'anse :

Les diurétiques de l'anse (essentiellement furosémide ou Lasilix®, bumétamide ou Burinex®), ont une action rapide et brève. Ils agissent au niveau de partie ascendante de l'anse de Henlé en bloquant la réabsorption des ions Cl⁻, Na⁺ et K⁺ ainsi que de l'eau. Ils augmentent la filtration glomérulaire et le débit sanguin du rein (Presne et al, 2007).

I.3.2.2. Thiazides et apparentés :

Ce sont les composés du type : chlorothiazide, hydrochlorothiazide et autres benzothiazdines. Ils interfèrent essentiellement sur les mécanismes des concentrations et de dilution de l'urine au niveau du tube proximal et sur les échanges sodium-potassium du tube distal. En effet, ils diminuent la réabsorption du sodium dans le tube proximal (**Ernst et Moser, 2009**).

I.3.2.3. Antagonistes de l'aldostérone :

Pour les antagonistes de l'aldostérone (essentiellement la spironolactone ou Aldactone® et ses génériques, les métabolites actifs de la spironolactone comme la canrénone, et l'éplérénone), le mécanisme d'action est un blocage par compétition du récepteur cytosolique de l'aldostérone des cellules principales du tubule distal connecteur et du segment cortical du canal collecteur (**Beaux, 1991**).

I.3.2.4. Diurétiques épargneurs de potassium non antagonistes de l'aldostérone

Ils sont représentés par l'amiloride ou Modamide et par le triamtérène ou Teriam. Les diurétiques, à action tubulaire directe, agissent sur la membrane du tube contourné distal entraînant une inhibition de l'entrée du sodium. Ils agissent également avec un deuxième type de co-transporteur sodique (Na^+ /protons) qui maintient le pH et l'osmolarité intracellulaire (**Beaux, 1991 ; Presne et al., 2007**).

I.3.2.5. Diurétiques du tube proximal ou Inhibiteurs de l'anhydrase carbonique :

Deux familles de composés sont représentées par cette classe: les sulfamidothiazoles (acétazolamide) et les phényldisulfonamides (dichlorphenamides). Ils agissent en inhibant indirectement la réabsorption du sodium par l'intermédiaire de l'inhibition directe de celle des bicarbonates au niveau du tubule proximal (**Ernst et Moser, 2009**).

I.3.3. Les indications du traitement diurétique :

I.3.3.1. Insuffisance cardiaque :

L'insuffisance cardiaque est définie comme une anomalie du fonctionnement cardiaque rendant le cœur incapable de délivrer aux tissus périphériques une quantité de sang suffisante à leurs besoins métaboliques (**Théry et al, 1995**).

Les diurétiques thiazidiques et de l'anse (de type furosémide) entraînent une amélioration symptomatique évidente et prouvée depuis longtemps (**Gevigney et Delahaye, 2005**).

Agissant sur la rétention sodée et la volémie, rendant la paroi vasculaire plus sensible à l'action des vasodilatateurs ; ainsi ils réduisent la précharge sans modifier le débit cardiaque (**Chéron et Masne, 1995**).

I.3.3.2. Hypertension artérielle :

Un sujet adulte est considéré hypertendu si sa pression artérielle est supérieure ou égale à 140/90 mm Hg quel que soit son âge (**Hanon et al., 2004**).

Les diurétiques sont un des piliers du traitement de l'hypertension essentielle. Malgré leur ancienneté, ils restent un maillon important du traitement de l'hypertension et de l'insuffisance cardiaque (**Briet et Boutouyrie, 2009**).

Dans l'hypertension artérielle, le traitement diurétique de choix est l'association d'un thiazide à faible dose et d'un épargneur de potassium. (**Presne et al, 2007**).

Ces médicaments réduisent la pression diastolique et systolique chez la majorité des patients hypertendus. Ainsi ce sont les médicaments anti-hypertensifs les plus efficaces (**Shah et al., 2003**).

I.3.3.3. Insuffisance rénale :

C'est une diminution ou un arrêt de la filtration glomérulaire au point que la fonction rénale ne peut plus maintenir l'homéostasie de l'organisme (**Forest et Martin, 2007**).

Les diurétiques sont souvent utilisés pour augmenter le volume urinaire dans le cas des patients qui souffrent ou à risque d'insuffisance rénale (**Schetz, 2004**).

Les diurétiques de l'anse conservent leur efficacité et sont licites chez un patient ayant une insuffisance rénale sévère. Il faut augmenter les doses du furosémide et de bumétamide, proportionnellement au degré de l'insuffisance rénale (**Presne et al, 2004**).

Les diurétiques thiazidiques perdent leur efficacité en cas d'insuffisance rénale. Ces diurétiques exposent au risque d'hyperkaliémie grave et sont contre-indiqués dans l'insuffisance rénale sévère (**Ernst et Moser, 2009**).

I.3.3.4. Résorption des œdèmes :

L'œdème se définit comme une accumulation excessive de liquide d'origine endogène dans le compartiment extravasculaire (**Rousselot, 2004**).

Les diurétiques sont très utiles et toujours indiqués en cas d'œdème périphérique. Après leurs administrations, le volume du liquide décroît par suite de l'augmentation de l'élimination rénale d'eau et de sel. Ainsi ces médicaments luttent efficacement contre les œdèmes (**Montani et al., 2004**).

Le furosémide est très efficace dans la résorption des œdèmes d'origine cardiaque, hépatique ou rénale (**Berko et al., 2002**).

I.3.4. Complications hydroélectrolytiques des diurétiques :

Bien que les diurétiques soient très souvent nécessaires pour le maintien de la balance hydrosodée, il n'est pas rare que leur utilisation abusive conduise à une détérioration de la fonction rénale. Un travail comparant l'emploi de diurétiques (combinaison spironolactone/furosémide) a clairement établi que le développement d'une insuffisance rénale était beaucoup plus fréquent chez les patients traités par ces diurétiques (27 contre seulement 3malades) (**Zaza et al., 2005**).

Ces complications non liées directement à leur effet commun, qui est la déplétion sodée, concernent essentiellement la kaliémie, l'équilibre acido-basique et le métabolisme des cations divalents (calcium et magnésium) (**Presne et al, 2004**).

I.3.4.1. Hypokaliémie :

L'hypokaliémie est propre aux diurétiques de l'anse et aux thiazidiques, en raison de l'augmentation du débit de sodium arrivant au niveau du collecteur, où s'effectue la réabsorption d'un Na^+ contre une sécrétion d'un K^+ (**Semama, 2006 ; Ernst et Moser, 2009**).

Les thiazides diminuent la réabsorption du sodium dans le tube proximal cet ion alors en abondance dans le néphron distal perturbe l'équilibre des échanges Na^+ / K^+ . Il en découle un risque d'hypokaliémie et secondairement de sécrétion d'aldostérone et il apparaît une diminution de la filtration glomérulaire progressivement (**Beaux, 1991**).

I.3.4.2. Hyperkaliémie :

L'hyperkaliémie est propre aux diurétiques d'épargne potassique. Son risque est majoré par la réduction du nombre de néphrons (c'est-à-dire l'insuffisance rénale organique), par la restriction sodée (**Presne et al, 2004**).

I.3.4.3. Hypercalciurie :

Une Hypercalciurie peut être la conséquence de l'inhibition de la réabsorption de calcium par le furosémide au niveau de la branche large ascendante de l'anse de Henlé. Cette Hypercalciurie expose le patient à 2 types de complications après traitement au long cours. La première est une déminéralisation osseuse avec hyperparathyroïdisme. La seconde est l'apparition d'une néphrocalcinose (dépôts calcaires diffus dans le parenchyme rénal) ou de lithiases rénales (calculs dans les voies excrétrices) (**Semama, 2006**).

I.3.4.4. Hypercalcémie :

Les thiazidiques diminuent les pertes urinaires de calcium. Ils stimulent le canal calcique situé au niveau de la face apicale de la cellule, permettant ainsi le passage de calcium à l'intérieur de la cellule tubulaire du tubule contourné distal et ainsi une hypercalcémie (**Semama, 2006 ; Ernst et Moser, 2009**).

I.3.4.5. Acidose métabolique hyperchlorémique :

C'est une complication des inhibiteurs de l'anhydrase carbonique et des diurétiques épargneurs de potassium. Avec les premiers, l'acidose est associée à une hypokaliémie, en raison de la stimulation des échanges distaux de sodium avec le potassium, alors qu'une hyperkaliémie est présente avec les secondes (**Beaux, 1991 ; Presne et al., 2004**).

I.3.4.6. Alcalose métabolique :

C'est une complication non rare des diurétiques kaliurétiques (thiazides et diurétiques de l'anse), surtout donnés à fortes doses ou en association entre eux, du fait du mécanisme de contraction, qui stimule la réabsorption proximale des bicarbonates, et de la stimulation de la synthèse d'ammonium en raison de la déplétion potassique (**Presne et al., 2004**).

Chapitre II

Les plantes à activité diurétique

II.1. Généralités:

L'échec des traitements pharmaceutiques conventionnels, surtout dans le cas de maladies chroniques, la forte incidence des effets indésirables qui leur sont associés et l'insuffisance des infrastructures sanitaires dans les pays en voie de développement font qu'une large tranche de la population mondiale dépend essentiellement de la médecine naturelle (plantes médicinales), complémentaire ou parallèle pour se soigner (**Bouxi**, 2012).

L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement de diverses pathologies a constitué une nouvelle méthode dans la plus part des pays sous développés que les pays industriels. Les plantes médicinales sont utilisées dans le traitement traditionnel de certaines maladies rénales. C'est pourquoi un grand nombre de ces plantes ont attiré l'intention des chercheurs qui ont prouvé leur activité diurétique (**Sadki et al.**, 2010).

II.1.1. *Coriandrum sativum* (Coriandre) :

Coriandrum sativum est largement utilisée en cuisine à travers le monde. Toutes ses parties sont comestibles mais les feuilles fraîches et les fruits secs sont les plus utilisés. Dans la médecine indienne traditionnelle, le coriandre est utilisé pour le traitement des problèmes digestifs, respiratoires et du système urinaire (**Jabeen et al.**, 2009).

Les travaux d'**Aissaoui et ses collaborateurs (2008)** ont prouvé l'effet diurétique de cette plante. En effet l'administration de l'extrait aqueux du fruit de *C. sativum* par perfusion intraveineuse à deux doses (40 et 100 mg/kg) pour des rats a montré une augmentation dans l'excrétion d'eau, des électrolytes Na⁺, K⁺ et la vitesse de la filtration glomérulaire avec un effet dose dépendante. Le mécanisme d'action de cet extrait demeure similaire à celui du furosémide, le diurétique de contrôle dans cet expérience.

II.1.2. *Petroselinum hortense* (Persil):

Le persil a été utilisé dans la médecine traditionnelle comme un remède pour plusieurs maladies. Cette plante possède un effet carminatif, emménagogue et abortif. En effet, *P. hortense* a gagné une grande réputation comme un diurétique très puissant et même son effet hypotensif a été attribué à son action diurétique.

L'activité diurétique de *P. hortense* a été étudiée par **Kreydiyyeh et ses collaborateurs en 2001**. L'extrait aqueux des fruits de cette plante a été administré à des rats par la perfusion rénale *in situ* à une dose de 5mg/100g de poids de rat. Cette expérience a montré que l'effet diurétique du persil est dû à une inhibition de la pompe Na^+/K^+ ce qui induit une réduction dans la réabsorption de ces deux électrolytes et une augmentation de sécrétion de l'eau.

II.1.3. *Tropaeolum majus* (Capuchinha):

Dans la médecine traditionnelle Brésilienne, les feuilles de *T. majus* sont souvent utilisées pour le traitement de plusieurs maladies y compris les maladies cardiovasculaires, les infections de l'appareil urinaire et la constipation.

L'étude menée par **Junior et ses collaborateurs (2009)** a montré que cette plante possède un effet diurétique très puissant. Le mécanisme d'action de cette plante semble être compliqué et implique le système des prostaglandines.

II.1.4. *Allium sativum* (ail):

Allium sativum possède plusieurs effets bénéfiques. Elle est caractérisée par une activité antimicrobienne, antithrombotique, antihypertensive, antihyperglycémique et antihyperlipidémique (**Wright et al., 2007**).

L'étude de **Pantoja et ses collaborateurs (1996)** a prouvé l'activité diurétique de cette plante qui est due à une inhibition de l'effet stimulateur de l'aldostérone, angiotensine II et l'ADH dans le transport du sodium.

En 2007, **Wright et ses collaborateurs** ont publié un article dans lequel ils ont fait répertorier plus de soixante dix sept plantes à activité diurétique dont quelques unes sont représentées dans **le tableau II**.

Chapitre II

Les plantes à activité diurétique

Tableau II : Plantes à effet diurétique (Wright et al., 2007).

Famille	Espèce	Partie utilisée	Références
Amaranthaceae	<i>Aerva lanata</i>	Feuilles et fleurs	Goonaratna et al. (1993), Selvam et al. (2001), Udupihille et Jiffry (1986)
Apiaceae	<i>Alepidea amatymbica</i>	Racines	Somova et al. (2001)
Cactaceae	<i>Opuntia ficus</i>	Feuilles et fleurs	Galati et al. (2002)
Caprifoliaceae	<i>Sambucus mexicana</i>	Fleurs	Beaux et al. (1999)
Equisetaceae	<i>Equisetum bogotense</i>	Tiges	Lemus et al. (1996)
Lamiaceae	<i>Marrubium vulgare</i>	Partie aérienne	El Bardai et al. (2001)
Leguminosae	<i>Vicia faba</i> L.	Graines	Vered et al. (1997)
Liliaceae	<i>Allium cepa</i>	Bulbes	Ribeiro et al. (1988)
Polygalaceae	<i>Bredemeyera floribunda</i>	Racines	Bevevino et Aires (1994)
Rosaceae	<i>Rubus rosaefolius</i>	Feuilles	Ribeiro et al. (1988)
Solanaceae	<i>Withania somnifera</i>	Tiges	Andallu et Radhika (2000)
Urticaceae	<i>Urtica dioica</i> L.	Partie aérienne	Caceres et al. (1987), Al Ali et al. (2003), Singh and Sisodia (1971)
Zygophyllaceae	<i>Tribulus terrestris</i> L.	Feuilles et fruits	
Scrophulariaceae	<i>Digitalis purpurea</i>	Fruits	Navarro et al. (2000)
Oleaceae	<i>Fraxinus excelsior</i> L.	Feuilles	Casadebaig et al. (1989), Eddouks et al (2005)
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia hirta</i>	Feuilles	Johnson et al. (1999)

II.2. *Fraxinus angustifolia* :

II.2.1. Description de la plante :

C'est un arbre qui atteint de 8 à 15 m de haut, à écorce lisse de couleur grise. Ses feuilles composées, sont disposées en 5 à 9 folioles, opposées, un peu étroites et dentées. Ses fleurs forment des bouquets latéraux, rougeâtres et sans pétales ni sépales. Son fruit est une graine prolongée d'une longue aile qui tombe en grappes et sa fructification est en avril-juin (Beloued, 2009).

II.2.2. Classification de la plante :

La classification de cette plante est représentée dans le **tableau III**.

Tableau III : Classification de *F. angustifolia* (Kostova et Iossifova, 2007).

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Angiospermes
Ordre	Fraxineae
Sous ordre	Fraxininae
Famille	Oleales
Genre	<i>Fraxinus</i>
Espèce	<i>Fraxinus angustifolia</i>

II.2. 3. Conditions de croissances et de vie :

Le genre *Fraxinus* est largement distribué dans les régions tempérées et la partie nord de l'hémisphère (Kostova et Iossifova, 2007). *F. angustifolia* est un élément caractéristique des forêts de la Méditerranée, avec le peuplier il occupe beaucoup de régions arrosées sur le littoral de l'Est de l'Algérie (Beloued, 2009).

F. angustifolia peut se produire sur les sols sable-limoneux, sablo-argileux, ou le pH est légèrement acide ou neutre. Les concentrations de l'azote sont normales. Bien que les concentrations de phosphore et du Potassium ainsi que la matière organique sont généralement élevées (Kutbay et al., 1998).

II.2.4. Composition :

Le genre *Fraxinus* est une source riche en composés phénoliques biologiquement actifs, dont plusieurs ont été identifiés comprenant des coumarines, des secoiridoïdes, des phenylethanoides, des flavonoïdes et des lignanes (Calis et al, 1996 ; Visen et al., 2009).

II.2.4.1. Les flavonoïdes :

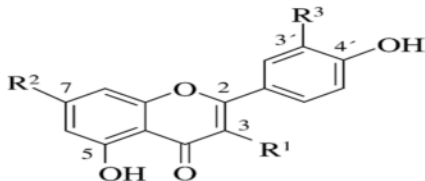
Ce sont les polyphénols les plus abondants dans l'alimentation de l'Homme et plus de 4000 composés ont pu être identifiés (González-Gallego, 2007). La plus part sont responsables de la couleur des feuilles, les fruits et les fleurs des plantes (Nijveldt et al., 2009).

Ils présentent une structure commune en C6-C3-C6. Deux cycles aromatiques (A et B) sont liés par une chaîne de 3 carbones formant un hétérocycle oxygéné (C) (Grotewold, 2006).

Les flavonoïdes se répartissent en quinze familles de composés, dont les plus importantes sont les suivantes : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, isoflavones, isoflavanones, et anthocyanes (Kebiche, 2009).

Fraxinus raibocarpa est très riche en flavonoïdes, essentiellement du kaempférol, l'astragaline, isoquercitrine et la rutine (Kamoldinov et al., 2011). Le tableau IV représente les principaux flavonoïdes de *F. angustifolia*.

Tableau IV: Principaux flavonoïdes de *F. angustifolia* (Kostova et Iossifova, 2007).

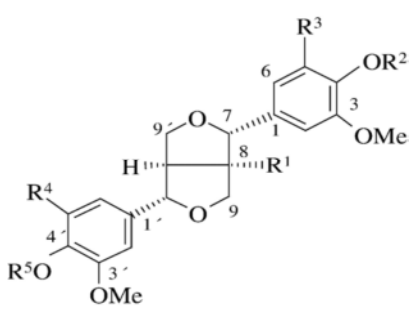
Composé	Radicale (R)	Nom
	$R^1 = \text{O-Glc6-Rha}, R^2 = \text{OH}, R^3 = \text{OH}$	Rutine
	$R^1 = \text{O-Glc}, R^2 = \text{OH}, R^3 = \text{H}$	Astragaline
	$R^1 = \text{O-Glc6-Rha}, R^2 = \text{OH}, R^3 = \text{H}$	Nicotiflorine

II.2.4.2.. Les Lignanes :

Le terme lignane désigne habituellement des composés dont le squelette résulte de l'établissement d'une liaison entre les carbones β des chaînes latérales des deux unités dérivées du 1-phénylpropane (liaison 8-8') (**Bruneton, 2009**).

Ce sont des dimères ou des oligomères qui résultent de l'association de trois types d'alcools : le monolignols- coumarylique, l'alcool coniferylique et synapylique (**Daayf et Lattanzio, 2008**). Le **tableau V** représente les lignanes de *F. angustifolia*.

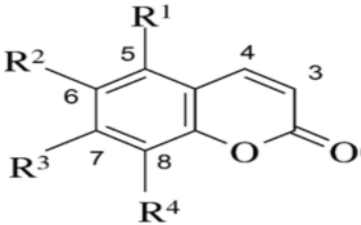
Tableau V: Les lignanes de *F. angustifolia* (**Iossifova et al., 1997**).

Composé	Radicale (R)	Nom
	$R^1=H, R^2=H, R^3=H, R^4=H, R^5=H$	Pinoresinol
	$R^1=H, R^2=Glc, R^3=H, R^4=H, R^5=H$	Pinoresinol-4-O-D-glucopyranoside
	$R^1=OH, R^2=Glc, R^3=H, R^4=H, R^5=H$	8-hydroxypinoresinol-4-O-β-D-glucopyranoside
	$R^1=OGlc, R^2=H, R^3=OMe, R^4=H, R^5=H$	Fraxiresinol-8-D-glucopyranoside

II.2.4. 3. Les coumarines :

Les coumarines sont constituées par un élément en C6-C3 dans lequel la chaîne en C3 est sous forme d'hétérocycle oxygéné (Vermerris et Nicholson, 2006). Les coumarines existent sous forme libre ou comme glucosides dans toutes les espèces de *Fraxinus* étudiées. Quelques espèces sont des sources industrielles importantes pour la production de coumarines (Kostova et Iossifova, 2007). Les coumarines caractéristiques de l'espèce *F. angustifolia* sont représentées dans le **tableau VI**

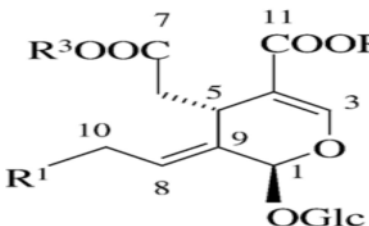
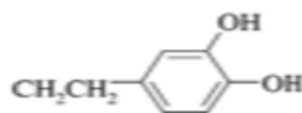
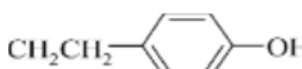
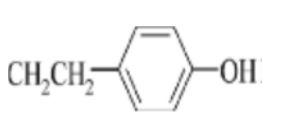
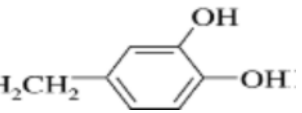
Tableau VI: Les coumarines de *F. angustifolia* (Iossifova et al., 1997 ; Kostova et Iossifova, 2007).

Composés	Radicale (R)	Nom
<p>Coumarine</p> 	$R^1=H, R^2=OH, R^3=OH, R^4=H$	Esculetine
	$R^1=H, R^2=OGlc, R^3=OH, R^4=H$	Esculine
	$R^1=H, R^2=OH, R^3=OGlc, R^4=H$	Cichoriine
	$R^1=H, R^2=OMe, R^3=OH, R^4=H$	Scopoletine
	$R^1=H, R^2=OH, R^3=OMe, R^4=H$	Isoscooletine
	$R^1=H, R^2=OMe, R^3=OH, R^4=OH$	Fraxetine
	$R^1=H, R^2=OMe, R^3=OH, R^4=OGlc$	Fraxine
	$R^1=OMe, R^2=OH, R^3=OMe, R^4=H$	Fraxinol

II.2.4. 4. Secoiridoïdes

La famille des Oleaceae est une source riche des secoiridoïdes. Il a été rapporté que plusieurs plantes du genre *Fraxinus* contiennent des composés de type secoiridoïdes dont on peut citer les oleuropeïnes des feuilles de *F. japonica*, ligstrosïde de l'écorce de *F. griffithii* et 10-hydroxyligstrosïde de l'écorce de *F. excelsior* (Calis et al., 1995). Le tableau VII représente les principaux secoiridoïdes de *F. angustifolia*.

Tableau VII: Les Principaux Secoiridoïdes de *F. angustifolia* (Calis et al., 1995 ; Kostova et Iossifova, 2007).

Composé	Radical (R)	Nom
	$R^1=H, R^2= Me, R^3= Me$	Oleoside-7,11-dimethylester
	$R^1=H, R^2= Me,$ $R^3=$ 	Oleuropeine
	$R^1=H, R^2= Me$ $R^3=$ 	Ligstrosïde
	$R^1=OH, R^2= Me$ $R^3=$ 	10-Hydroxyligstrosïde
	$R^1=OH, R^2= Me$ $R^3=$ 	10-Hydroxyoleuropeine

II.2.5. Activité biologiques des espèces du genre *Fraxinus* :

Selon plusieurs études, le genre *Fraxinus*, possèdent des multiples activités biologiques dues à son contenu en métabolites secondaires, dont l'activité antioxydante, anti inflammatoire, anti-rhumatique, analgésique, antidiabétique et diurétique (**Eddouks et al, 2005**).

En effet, L'écorce de *F. japonica* riche en esculine et en esculetine se sont avérées actifs contre la formation de l'œdème de rat induit par la carragénine. De même, l'écorce et les feuilles de *F. excelsior* ont été utilisées en tant que remède rhumatismal depuis des époques anciennes (**Kostova et Iossifova, 2007**).

Les secoiridoïdes des graines de *F. excelsior* sont responsables de la réduction de la glycémie postprandiale, *in vivo*, en deux phases. Dans la première par l'inhibition des transporteurs intestinaux du glucose et dans la deuxième par l'augmentation de la sécrétion de l'insuline (**Visen et al., 2009**).

L'étude menée par **Atmani et ses collaborateurs (2009)**, porté sur l'effet antioxydant de quelques plantes algériennes, a montré que *F. angustifolia* possède une grande activité antioxydante. Cette activité se traduit par l'effet scavengère vis-à-vis du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et le H₂O₂.

Une étude portée sur l'extrait aqueux des graines de *F. excelsior* a prouvé que cet extrait diminue la pression sanguine et augmente l'élimination de l'eau et des électrolytes. Ce résultat suggère que *F. excelsior* peut améliorer l'hypertension sans influencer la vitesse cardiaque (**Eddouks et al, 2005**). Tandis que l'effet diurétique et natriurétique de l'extrait éthanolique de cette plante est attribué aux flavonoïdes (**Kostova et Iossifova, 2007**).

II.3. *Pistacia lentiscus* :

II.3.1. Description de la plante et conditions de croissance :

P. lentiscus est un large buisson, avec une forte odeur caractéristique et des feuilles vertes persistantes de 4 à 5 mm du diamètre (**Chryssavgi et al., 2008**). C'est un arbuste de 1 à 3m de longueur comme il peu atteindre une taille de 8m (**Castola et al., 2000 ; Benhammou et al., 2008**). Elle possède aussi des graines globulaires, caractérisé par une couleur jaune palle, rouge ou noir et un diamètre de 4 à 8 mm (**Nahida et al., 2012**).

Cette plante est distribuée le long du bassin méditerranéen. Elle a une large distribution géographique et bioclimatique ; elle s'étend des régions humides au régions arides (**Janakat et Al-Merie, 2002 ; Trabelsi et al., 2012**). Elle est placée parmi les plantes qui tolèrent plus de sécheresse par rapport aux autres plantes persistantes, comme elle supporte aussi des taux élevés de salinité (**Ait Said et al., 2011**).

II.3.2. Classification

P. lentiscus (Mastic) appartient à la division des Magnoliophyta, l'ordre des Sapindales, la famille des Anacardiaceae et le genre *Pistacia* (**Nahida et al., 2012**). Ce genre est divisé en 4 sections et 11 espèces représentées dans le **tableau VIII**.

Tableau VIII: Classification du genre *Pistacia* selon les sections (Ozden-Tokatli et al., 2010).

Sections	Espèces
Lentiscella	<i>P. Mexicana</i>
	<i>P.texana</i>
Eu- lentiscus	<i>P. lentiscus</i>
	<i>P.weinmannifolia</i>
Butmela	<i>P.atlantica</i>
Eu-Terebinthus	<i>P. vera</i>
	<i>P. khinjuk</i>
	<i>P. terebinthus</i>
	<i>P. chinensis</i>
	<i>P. palaestine</i>

II.3.3. Composition

Plusieurs études ont montré que *P. lentiscus* est très riche en composés phénoliques y compris les acides phénoliques, les tannins, les flavonoïdes et les anthocyanes. D'autres études ont rapporté aussi la richesse de cette plante aux huiles essentielles (Nahida et al., 2012 ;Azaizeh et al., 2013).

II.3.3.1. Les composées phénoliques

Trois classes principales de composés sont identifiés chez les feuilles de *P. lentiscus* ; l'acide gallique et ces dérivés, les flavonols (myricetin et quercetineglycosides) et les anthocyanes. L'acide Para-coumariniques est aussi identifié dans l'extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus* et *P. atlantica*. (Benhammou et al., 2008).

A. Les tannins

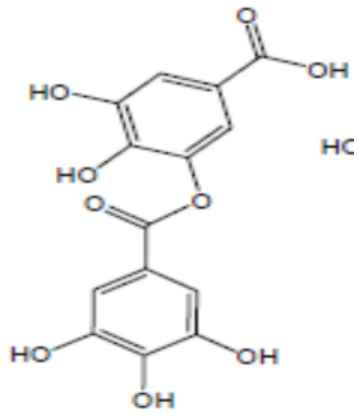
Les tannins sont des composés phénoliques très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes et les dicotylédones (**Akroum, 2011**). Ils ont la capacité de se combiner et de précipiter les protéines. Ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinités (**Vermerris et Nicholson, 2006 ; Bruneton, 2009**).

Ils se trouvent au niveau des feuilles et les fruits des plantes et il joue un rôle protecteur contre les infections et les herbivores (**Vermerris et Nicholson, 2006**).

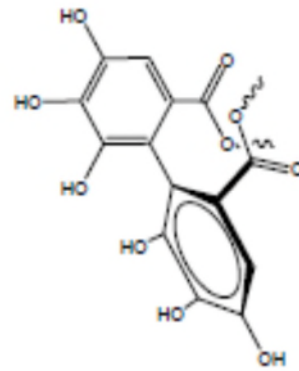
On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tannins différents par leur structure : les tannins hydrolysables et les tannins condensés ou non hydrolysables (**Graziani et al., 1998**).

- ✓ Le premier groupe : les tannins hydrolysable, constitué par une molécule de glucide liée à des molécules d'acide gallique ou ellagique ; on obtient à partir de là les gallotannins et les ellagitannins (**Akroum, 2011**) (**Figure 7**).
- ✓ Le deuxième groupe : les tannins condensés ou paraoanthocyanidiques se sont des polymères flavanique. Ils sont constitués d'unités de flavan- 3ols liées entre elles par des liaisons carbone –carbone le plus souvent 4-8 ou 4-6 (**Bruneton, 2009**) (**Figure 8**).

P. lentiscus contient des tannins condensés, mais 75% des composés phénoliques de cette plantes sont des tannins hydrolysables (**Azaizeh et al., 2013**).



Gallotannin



Ellagitanin

Figure 7 : Exemple de tannin hydrolysable (Vermerris et Nicholson, 2006).

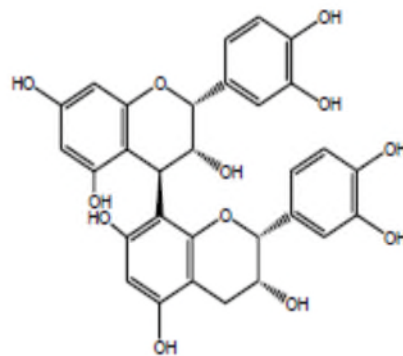


Figure 8 : Exemple de tannin non hydrolysable (procyanidine) (Vermerris et Nicholson, 2006).

B. Les anthocyanes :

Les anthocyanes sont les pigments les plus importants chez les plantes supérieures. Ils sont responsables de la couleur rose, orange, rouge, violet et bleu des fleurs et des feuilles. La structure de base de ces composés est un noyau aromatique anthocyanidine qui est lié à un hétérocycle oxygéné. Ce dernier est lié à son tour à un autre noyau aromatique par une liaison carbone-carbone (**Castaneda-Ovando et al., 2009**) (**Figure 9**).

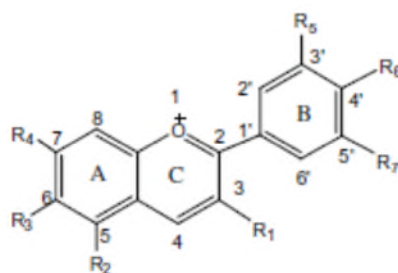


Figure 9 : Structure de base des anthocyanes (**Castaneda-Ovando et al., 2009**).

L'étude de Romani et ses collaborateurs (2002), fait parti des travaux minimes portés sur les anthocyanes de *P. lentiscus*. Cet étude a montré la présence de deux composés principales qui sont la delphinidin 3-O-glycoside et cyaniding 3-O-glucoside (**Benhammou et al., 2008**).

II.3.3.2. Les terpénoïdes :

C'est un groupe de composés très riche. En 2004, plus de 30000 composés sont répertoriés comprenant les huiles essentielles, les antibiotiques, les hormones végétaux, les lipides membranaires, ...ect (**Crozier et al., 2006**).

Le terme terpénoïdes désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.). La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 (**Figure 10**). Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène : hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes (**Malecky, 2006**).

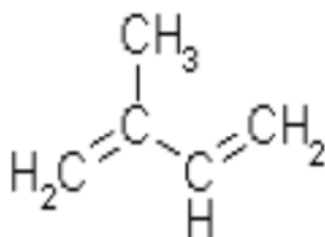


Figure 10: La molécule d'isoprène (Crozier et al., 2006).

Les fruits de *P. lentiscus* sont riches aux huiles essentielles. Elles contiennent des α -pinene, myrcene et limonene (Nahida et al., 2012).

Les feuilles de *P. lentiscus* contient 49 composés identifiés dont 11 composés sont des monoterpènes et 37 sont des sesquiterpènes (Ait Said et al., 2011).

La composition de 105 échantillons des huiles essentielles extraites de *P. lentiscus* a été étudiée. Myrcene, limonene, terpinen-4-ol, α -pinene, β -pinene, α -phellandrene, sabinene, cymene and terpinene, sont les principaux constituants de cette plante (Castola et al., 2000).

II.3.4. Activités biologiques :

P. lentiscus a été utilisée en médecine depuis le temps des enceins Grec. Ses deux parties, aérienne et racine ont été utilisées pour le traitement des toux, douleurs du gorge, l'eczéma, douleurs d'estomac, les calculs urinaires et l'hypertension (Ljubuncic et al., 2005 ; Chryssavgi et al., 2008).

L'étude menée par Atmani et al., (2009), a montrée que *P. lentiscus* possède un effet antioxydant car elle a exhibé une activité scavenger envers le DPPH et H₂O₂ et elle a inhibé fortement la peroxydation lipidique.

Ljubuncic et ses collaborateurs ont prouvé aussi l'effet antioxydant de *P. lentiscus*. Cet effet est déterminé par la mesure de la capacité de cet extrait à réprimer la peroxydation des lipides au niveau du foie de rat et en plus ils ont prouvé que cet extrait n'est pas toxique (Nahida et al., 2012).

La vitamine E ou le α Tocopherol existe naturellement dans les feuilles de *P. lentiscus*. La propriété pharmacologique de cette vitamine, largement utilisé comme un antioxydant, est aussi son utilisation en cosmétique (**Kvvcak et Akay, 2005**).

Bhourri et ses collaborateur ont montrés que l'acide digallique obtenu du fruit de *P. lentiscus* exhibe une activité inhibitrice vis-à-vis la xanthine oxydase. Il possède aussi une activité scavengère (99%) et une protection de peroxydation lipidique (68%) (**Nahida et al., 2012**).

Cette plante est connue aussi pour son pouvoir antifongique et antibactérien spécialement vis à vis *Helicobacter pylorii* et *Listeria monocytogenes* (**Djenane et al., 2011 ; Trabelsi et al., 2012**). L'extrait éthanolique de *P. lentiscus* et *P. atlantica* a exhibé un effet antimicrobien considérable et en particulier un effet antifongique vis à vis *Trichoderma Sp*, *Aspergillus flavus* et *Fusarium sp* (**Benhammou et al., 2008**).

L'étude de **Janakat et Al-Merie (2002)**, a montré que l'extrait aqueux de *P. lentiscus* possède un effet hépatoprotecteur vis-à-vis du carbone tetrachloride CCl₄ par la réduction de l'activité de trois enzymes (phosphatase alcaline, Alanine amino transférase et l'aspartate amino transférase) et le niveau de la bilirubine.

Balan et ses collaborateurs ont rapporté que l'extrait éthanolique (50%) de *P. lentiscus* inhibe la prolifération et induit la mort des cellules cancéreuses du colon in vitro. Cet extrait exerce un effet dose dépendant à l'apoptose par l'induction directe ou indirect de l'arrêt du cycle cellulaire à la phase G1 suivi par la dégradation d'ADN (**Nahida et al., 2012**).

L'objectif de notre travail est l'évaluation de l'activité diurétique de deux plantes médicinales locale largement utilisé dans le traitement des maladies ; *F. angustifolia* et *P. lentiscus*. Pour cela les extraits éthanoliques de ces deux plantes ont été évalués sur des rats albinos.

Chapitre III

Matériel et méthodes

III.1. Matériels

III.1.1. Matériels chimiques et équipements

III.1.1.1. Matériels chimiques

- Ethanol
- Furosémide (Forme injectable, 20mg/2mL)
- Indométacine
- Eau Physiologique

✓ Furosémide :

Le furosémide, lasilix, diurétique dit « de l'anse » d'action rapide et brève. C'est un diurétique qui appartient au groupe des sulfamides. Il agit principalement au niveau de l'anse de Henlé où ils interfèrent avec la réabsorption du sodium (**Giezen et al., 1998**) (**Figure 11**).

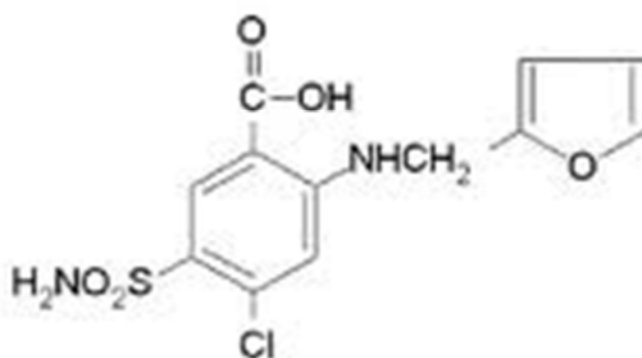


Figure11 : Structure chimique du furosémide (**Lamotte et al., 1978**).

C'est un acide faible ($pK_a = 3,9$), il est non ionisé seulement dans l'estomac et l'intestin grêle. Dans le reste du tube digestif, le furosémide est ionisé et il prend une charge négative qui réduit significativement sa capacité à franchir les membranes biologiques (**Laulicht et al., 2011**).

✓ Indométacine :

Dérivé d'indole méthylé, l'indométacine est un anti-inflammatoire non stéroïdien issu de l'acide acétique (**Figure 12**). Il est largement utilisé pour le traitement des rhumatismes inflammatoires chroniques et certains types d'arthroses. Il est caractérisé par une inhibition

non sélective qui est plus puissante au niveau de la cyclooxygénase 1 (COX-1) qu'au niveau de COX-2, deux enzymes impliquées dans la synthèse des prostaglandines (Girgis, 2012).

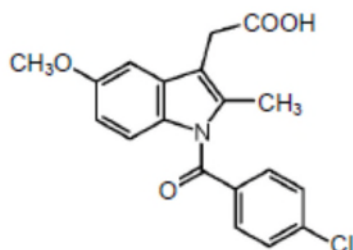


Figure 12 : Structure chimique de l'indométacine [acide 1-(4-chlorobenzoyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1-*H*-indole-3-acétique] (Girgis, 2012).

III.1.1.2. Equipements

- Centrifugeuse
- Vortex
- pH mètre
- Sonicateur
- Broyeur Electrique
- Tamiseur
- Etuve
- Balance
- Sonde pour gavage
- Seringues
- Analyseur d'électrolytes (PL1000A)

III.1.2. Matériel végétal

Il s'agit des feuilles, d'écorces de *Fraxinus angustifolia* et des feuilles, des graines de *Pistacia lentiscus* (**Figure 13**).

Les feuilles et l'écorce de *F. angustifolia* ainsi que les feuilles de *P. lentiscus* ont été récoltées et échantillonnées en Juillet 2011 alors que les graines de *P. lentiscus* ont été récoltées en Décembre 2011 dans un endroit naturel loin de tout impact de pollution, dans la forêt d'Azru n° Béchar, Amizour située à l'est de Bejaia.



Figure 13 : Photographie du matériel végétal. **A1** : Feuilles de *F. angustifolia*, **A2** : Ecorce de *F. angustifolia*, **B1** : Feuilles de *P. lentiscus*, **B2** : Fruit de *P. lentiscus*.

III.1.3. Les animaux

Il s'agit de rats mâles, albinos, dont le poids varie de 150g à 180g (**Figure 14**). L'élevage de ces animaux est fait au sein de l'animalerie de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia. En effet, ils sont logés dans des cages, avec accès libre à la nourriture (Croquettes composées de soja, maïs) et à l'eau de robinet, dans des conditions de température ambiante (25°C), avec un cycle naturel de 12h/12h de lumière et d'obscurité.

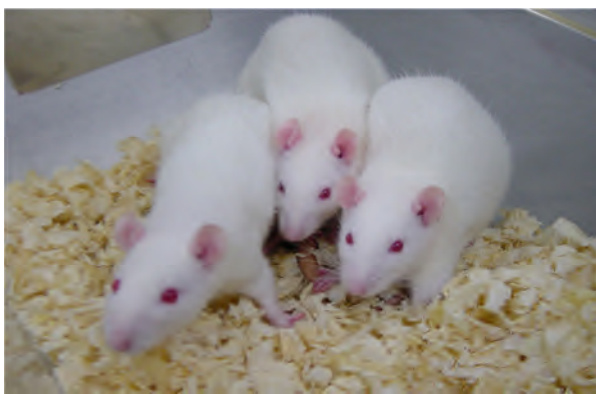


Figure 14: Photographie des rats albinos

III.2. Méthodes :

III. 2. 1. Broyage, tamisage et extraction:

Les feuilles et l'écorce de *F. angustifolia* et les feuilles de *P. lentiscus* ont été séchés dans un endroit ombragé et aéré, puis ils ont été broyées par un broyeur de marque Kika Labortechnik M20 et tamisées pour récupérer à la fin une poudre fine de diamètre < 63µm. Les fruits de *P. lentiscus*, séchées à l'air libre puis à l'étuve, sont broyées jusqu'à l'obtention d'une pâte.

Dans notre étude, une extraction des composés actifs a été réalisée en utilisant l'éthanol. La poudre fine de chacune des plantes ainsi que la pâte des fruits de *P. lentiscus* est macérée dans l'éthanol pendant 24h, à raison de 1 gramme de poudre ou de pâte pour 4 ml d'éthanol.

Une centrifugation pendant 10 minutes à une vitesse de 1500g a été effectuée après décantation de la solution, le surnageant est versé dans des cristallisoirs ou boites de pétri afin de subir un séchage à l'air libre. Après l'évaporation totale, la pesée de l'extrait a été prise après stabilisation du poids sec de l'extrait.

Le pourcentage d'extraction de chaque extrait est calculé par la formule suivante:

% d'extraction = $(P_1 - P_0) / \text{poids de la poudre ou extrait du départ} \times 100$, tel que:

P₁ : poids après évaporation.

P₀ : poids vide du cristallisoir ou boite de pétri.

III.2.2. Dosage des polyphénols

III.2.2.1. Dosage des phénols totaux

➤ **Principe de la méthode :**

La quantité des phénols totaux contenue dans les extraits a été déterminée suivant le protocole de **Kähköen et al. (1999)**.

Le principe de la méthode est basé sur la réduction de l'acide phosphomolybdène-phosphotungstéine du réactif de Folin-Ciocalteu vers un complexe de couleur bleu, dont l'intensité dépend du nombre de groupement hydroxyles et leur position dans les molécules.

➤ **Mode opératoire :**

Un volume de 200µl de la solution de chaque extrait est mélangé avec 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu et 0,8 de carbonate de Sodium (Na₂CO₃) à 7,5%. Après incubation pendant 30 minutes à température ambiante, les absorbance ont été lues à une longueur d'onde de 765nm.

La concentration en phénols totaux est exprimée en milligramme équivalent de catéchine par gramme de poudre de plante (mg E Cat/g d'extraits en utilisant la catéchine comme standard à différentes concentration) (**Annexe I, Figure 27**).

III.2.2.2. Dosage des flavonoïdes :

➤ **Principe de la méthode :**

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé suivant le protocole de **Maksimovic et al. (2005)**. Cette méthode est basée sur la formation de complexes jaunâtres par chélation de métaux (Fe et Al) par les différents extraits.

➤ **Mode opératoire :**

Le réactif de dosage des flavonoïdes, le chlorure d'aluminium (AlCl_3), a été préparé par dissolution de 133mg d' AlCl_3 et de 400mg d'acétate de Sodium dans 100ml d'eau distillée. La réaction est réalisée en mélangeant 10ml de la solution d'extrait et 5ml du réactif d' AlCl_3 . Après une incubation de 10min, la lecture des absorbances est réalisée à 430nm.

La concentration en flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent de rutine par gramme de poudre de plante, par rapport à une courbe d'étalonnage de rutine réalisée dans les mêmes conditions (**Annexe I, Figure 28**).

III.2.2.3. Dosage des tannins :

➤ **Principe de la méthode :**

Le dosage des tannins a été effectué suivant la méthode **d'Hagerman et Butler (1978)** qui est basé sur la précipitation de la protéine standard, l'Albumine du sérum bovin (BSA) dans une solution tampon par les tannins des extraits de plante. Le précipité est dissout en présence d'un détergent (SDS) et le mélange fer-phénols est déterminé spectrophotométriquement à 510nm.

La méthode que nous avons adoptée nécessite la préparation des solutions suivantes :

Tampon A : Il est préparé en mélangeant une solution d'acide acétique (0,2M) et du NaCl (0,17M), puis ajusté à pH=4,9 avec NaOH.

BSR : Une solution de BSR a été préparé dans le tampon A à une concentration de 1mg /ml.

SDS/TEA : Elle est préparée par 50ml de TEA avec 10g du SDS, ajusté à 1L d'eau distillée.

Chlorure ferrique (FeCl₃): Elle est préparée par la dissolution de 1,62g de FeCl₃ (0,001M) dans du HCl (0,001M). Puis la solution est filtrée.

➤ **Mode opératoire :**

2ml de la solution de BSR ont été mélangé avec 1ml de la solution de l'extrait. Le mélange a été incubé 24h à 4°C. Une centrifugation à 3000g de ce dernier pendant 15 min à température ambiante a permis d'obtenir un surnageant et un précipité qui a été dissout dans 4ml de la solution SDS/TEA. En fin, 1ml de FeCl₃ a été ajouté à la solution, puis agité par vortex. Après 15 min d'incubation, la lecture a été effectuée en 510 nm contre un blanc contenant du chlorure ferrique et de SDS/TEA et la BSA.

La concentration en tannins est exprimé en milligramme équivalent d'acide tannique par gramme de poudre de plante par rapport à une courbe d'étalonnage d'acide tannique réalisée dans les mêmes conditions sauf que le temps d'incubation du mélange BSA et acide tannique est de 15min seulement (**Annexe I, Figure 29**).

III.2.3.Minéralisation de la plante :

La minéralisation de la poudre des deux plantes a été réalisée selon la méthode de **Martin-Prével et al. (1984)**.

La poudre a été préalablement séchée à l'étuve à 70°C pendant 48h. Après refroidissement dans un dessiccateur pendant 30 min, trois échantillons de 2mg dans des creusés en porcelaine ont été préparés puis mis au four à 450°C pendant 2h. Les cendres récupérées ont été humectées et refroidies avec 2à 3 ml d'eau distillé suivi de l'ajout de 1ml de HCl. La solution acide a été chauffée mais sans laisser bouillir jusqu'à l'apparition des première vapeurs puis addition de quelque millilitres d'eau distillé. Après filtration du liquide à travers un papier Wattman dans une fiole à 100 ml et rinçage du filtre avec l'eau distillé 3 à 4 fois, le filtre est incinéré dans un four à 550 °C pendant 30 min.

Cinq millilitres de Fluorure d'hydrogène ont été ajouté aux cendres récupérés puis chauffé au moins de 100 °C avant l'ajout de 1ml de HCl. La solution a été filtrée dans la même fiole et le filtre est rincé avec l'eau tiède. Le volume a été ajusté à 100 ml d'eau distillé et la concentration des ions Na⁺, K⁺ et Cl⁻ a été mesuré avec un analyseur d'électrolytes (PL 1000A Electrolyte analyzer)(**Figure 15**).

Cet appareil est basé sur le test du potentiel entre l'électrode des ions Na^+ , K^+ et Cl^- et l'électrode de référence. La concentration de ces ions est donnée par la formule de Nernst :

$E = E_0 + 2,303RT/nF (\log a_x F_x)$, avec :

E : Le potentiel de l'électrode sélectif de l'ion dans le réactif,

E₀ : Le potentiel standard de l'électrode de l'ion sélectif de l'échantillon,

T : Température absolue en Kelvin (K),

F : Constante de Faraday,

n : Charge de l'ion,

a_x : Activité de l'ion,

R : Constante des gaz parfait ($R=8,314 \text{ JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$),

F_x : Coefficient de l'activité de l'ion.



Figure 15 : Photographie de l'analyseur d'électrolytes (PL1000A).

III.2.4. Activité diurétique :

L'activité diurétique des extraits éthanoliques des deux plantes a été évaluée selon le protocole de **Gilani et al. (2008)** avec quelques modifications.

Avant tout traitement, la diurèse de base a été évaluée, en administrant l'eau physiologique à une dose de 25 ml/kg par voie intra-gastrique aux rats (**Figure 16**). Les rats ayant excréter 2ml d'urine dans les deux heures qui suivent, sont utilisés pour le test diurétique.

Les rats sont séparés en 5 groupes de 6 rats chacun. Ils sont placés dans leurs cages métaboliques, privés de nourriture pendant 16h, pour établir un équilibre hydrique et ionique (**Figure 17**). Chaque groupe est traité comme suit :

Chapitre III

Matériels et méthodes

- Le premier groupe reçoit de l'eau physiologique et il est considéré comme un contrôle négatif.
- Le deuxième groupe reçoit du furosémide à une dose de 10mg/Kg et il est pris pour un contrôle positif.
- Les trois autres groupes sont traités respectivement avec 100mg, 200mg et 400mg de l'extrait éthanolique.

Après traitement, chaque rat est placé immédiatement dans une cage métabolique avec accès libre à l'eau et la nourriture. Les urines sont collectées dans un tube gradué et leurs volumes ont été mesurés après 1h, 2h, 4h, 6h, 8h. Le pH, la conductivité, la concentration des ions Na^+ , K^+ et Cl^- sont aussi mesuré après 8h en utilisant le même appareil que celui de la minéralisation.



Figure 16 : Méthode du gavage.



Figure 17: Photographie d'une cage métabolique.

III.2.5. Etude de l'implication des prostaglandines dans l'activité diurétique :

Dans cette étude, le protocole de **Junior et al. (2011)** a été suivi. Avant toute manipulation, les rats sont traités de la même façon que le protocole précédant.

Les rats sont divisés en 6 groupes de 6 rats chacun et ils sont traités par voie intra-gastrique:

- Le premier groupe a reçu de l'eau physiologique et il est considéré comme un contrôle négatif.
- Le deuxième groupe a reçu 5mg/kg d'indométacine, 1h avant l'administration de l'eau physiologique pour évaluer le rôle des prostaglandines dans l'activité diurétique.
- Le troisième groupe est traité avec 10 mg/kg du furosémide.
- Le quatrième groupe a reçu 5 mg/kg d'indométacine 1h avant l'administration de la même dose du furosémide.
- Le cinquième groupe a reçu 100mg/kg de l'extrait éthanolique des feuilles de *F. angustifolia*.
- Le sixième groupe est traité avec 5mg/kg d'indométacine 1h avant l'administration de l'extrait éthanolique des feuilles de la même plante.

La même procédure est suivie pour la concentration de 100mg/kg de l'extrait éthanolique de l'écorce de *F. angustifolia*, les feuilles et le fruit de *P. lentiscus*.

Le volume des urines et la concentration des ions Na^+ , K^+ et Cl^- sont mesurés après 15h.

III.2.6. Analyse statistique :

Les résultats des tests effectués sont exprimés en Moyenne \pm SEM. La comparaison statistique de ces résultats est effectuée en utilisant le Graph Pad Prism 4 software et la différence est considérée comme significative pour $p < 0,05$. Cette différence est déterminée grâce à l'analyse de variance (ANOVA) suivi du test de Dunnett, pour la comparaison des groupes tests par rapport au contrôle négatif, alors que pour la comparaison de ces groupes entre eux, le test de Tukey a été utilisé.

Chapitre IV

Résultats et discussion

IV. Résultats et discussion

IV.1. Taux d'extraction des composés phénoliques de la plante

Les composés phénoliques peuvent être isolés facilement à partir d'un tissu végétal par extraction avec des solvants. Mais la procédure de l'extraction est influencée par plusieurs paramètres tels que : la nature chimique de ces composés, la méthode d'extraction utilisée, la dimension des particules d'échantillon et le temps d'extraction (**Telli et al., 2010**).

Les hydrolases contenues dans le matériel végétal frais peuvent provoquer la dégradation de certains composés phénoliques. Pour cette raison, on a procédé à un séchage du matériel végétal à l'air libre (**Bruneton, 1999**).

L'extraction réalisée dans cette étude est une extraction solide-liquide, par macération d'une quantité de poudre de plante dans l'éthanol, un solvant connu à extraire les composés phénoliques (**Cowan, 1999**).

De plus, l'utilisation de l'éthanol est meilleure par rapport à d'autres solvants. En effet, il est moins altérant que le méthanol, qui peut exercer un effet de méthanolyse sur les tannins, pouvant perturber la teneur réelle des extraits en ces composés. Aussi, il est polaire et moins toxique (**Bruneton, 1999**).

Cependant, pour extraire le maximum de composés, on a utilisé une poudre très fine d'un diamètre inférieur ou égal à 63 μ m et cela pour augmenter la surface d'échange entre le solvant et la poudre. Cela suivant le principe du transfert de la matière, où la force de transmission durant ce transfert est le gradient de la concentration de soluté entre le solide et le liquide. Cette force devient importante lorsque le rapport solide/liquide utilisé est plus élevé (**Telli et al., 2010**).

Les taux d'extraction obtenus dans cette étude et ceux des deux années précédentes (2010 et 2011), réalisées au niveau du laboratoire de Biochimie Appliqué de l'université Abderrahmane Mira, sont représentés dans le **Tableau IX**.

En 2012, Le taux d'extraction le plus élevé est enregistré dans les feuilles de *P. lentiscus* (17%), suivi de celui des feuilles (9,84%) et de l'écorce (5,98%) de *F. angustifolia*, et enfin de celui des fruits de *P. lentiscus* (3,89%).

Ces résultats indiquent que les feuilles de *P. lentiscus* sont plus riches en composés polaires que les autres parties de plantes utilisées dans cette étude.

Tableau IX : Taux d'extraction pendant trois ans successifs des extraits éthanoliques de *F. angustifolia* et *P. lentiscus*.

Plantes	Extraits	Taux d'extraction(%)		
		2010	2011	2012
<i>F. angustifolia</i>	Feuilles	11,42	7,01	9,84
	Ecorce	5,2	5,77	5,98
<i>P. lentiscus</i>	Feuilles	15,62	26,37	17,00
	Fruits	12,75	18,2	3,89

Le tableau VII a montré que la variation dans les taux d'extraction est minime suivant les années excepté pour les fruits de *P. lentiscus* qui ont montré des taux d'extraction élevés pendant l'année 2010 et 2011 comparé à l'année 2012. Ceci peut être dû aux variations saisonnières (Atmani, 2011) et/ou infections, blessure ou attaque de pathogènes qui induit une synthèse rapide des acides phénoliques par la plante. Les acides phénoliques estérifiés aux polysaccharides consolident et stabilisent les parois cellulaires (Boutigny, 2007).

IV. 2. Teneurs en composés phénoliques :

IV.2.1. Teneurs en phénols totaux :

Les teneurs en phénols totaux des différents extraits sont représentées dans la **figure 18**. On remarque que les teneurs des extraits en phénols totaux sont variables soit dans les extraits de la même plante ou entre les deux plantes.

L'extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus* a donné un taux de $240 \pm 6,2$ mg E Cat/g d'extrait qui est le taux le plus élevé, par rapport à celui du fruit qui est de $110 \pm 3,4$ mg E Cat/g d'extrait.

La meilleure teneur en phénols totaux était de $350 \pm 6,5$ mg E Cat/g d'extrait, enregistrée dans l'extrait éthanolique de l'écorce de *F. angustifolia*. Cette teneur représente le triple de celle des feuilles de la même plante (170 ± 3 mg E cat/ g d'extrait).

Les feuilles de *F. angustifolia*, utilisé dans cette étude, ont montré un taux de polyphénols doublement supérieur (170 mg E Cat/g d'extrait) à celui de *Fraxinus americana* rapportée par Owen et Johns (1999) ($95,56$ mg E Cat/g d'extrait).

L'étude menée par **Kähköen et al. (1999)** a classé plusieurs plantes selon leur contenu en phénols totaux. Les plantes ayant des quantités très élevées en phénols sont celles dont la quantité en ces composés varie de 17,5 à 155,3 mg EAG/ g de poudre de plante.

La présente étude permet de conclure que les extraits éthanolique de *F. angustifolia* et *P. lentiscus* possèdent de grandes quantités de phénols totaux et que l'écorce de *F. angustifolia* est le plus riche en ces composés.

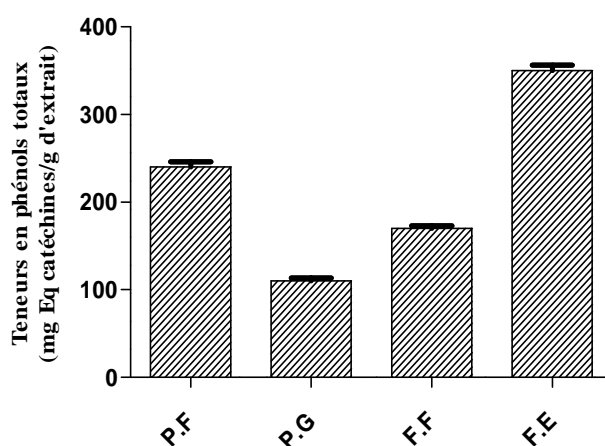


Figure 18: Teneurs en phénols totaux des extraits éthanoliques de *P. lentiscus* et *F. angustifolia*. **P.F** : *P. lentiscus* (Feuilles), **P.G** : *P. lentiscus* (Fruit), **F.F** : *F. angustifolia* (Feuilles), **F.E**: *F. angustifolia* (Ecorce). Barres verticales représentent les Ecart-type.

III.2.2. Teneurs en flavonoïdes:

Les taux de flavonoïdes semblent être équivalents pour les extraits éthanoliques des deux plantes (de $15 \pm 0,45$ à $20 \pm 1,04$ mg E Rut/g d'extrait), à l'exception de l'extrait des feuilles de *F. angustifolia* qui montrent la teneur en flavonoïdes la plus élevée ($44,7 \pm 1,9$ mg E Rut/g d'extrait) (**Figure 19**).

Ces résultats sont comparables à ceux rapportés dans l'étude menée par **Atmani et al. (2009)** où ils ont enregistré des teneurs en flavonoïdes de $12,93 \pm 1,69$ et $6,6 \pm 0,08$ mg E Rut/g d'extrait pour les feuilles de *P. lentiscus* et l'écorce de *F. angustifolia*, respectivement. De plus, le résultat des analyses quantitatives en flavonoïdes de l'extrait éthanolique des feuilles d'*E. arborea* par spectroscopie UV-visible montre qu'il contient $54,08 \pm 0,031$ mg EQ/g d'extrait. Cette quantité abondante caractérise les plantes appartenant à la famille des Ericaceae (**Amezouar et al., 2013**).

Une autre teneur comparable à celles trouvés dans notre étude est celle de l'extrait éthanolique des fleurs de *Populus nigra* ($13,67 \pm 0,34$ mg EQ/g d'extrait), rapporté par **Debbache-Benaida et al. (2013)**. Cette quantité, considéré importante, est responsable de l'activité anti-inflammatoire de cette plante.

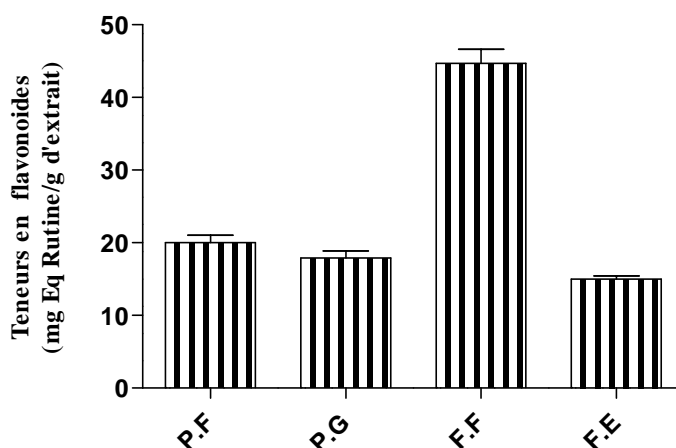


Figure 19: Teneurs en flavonoïdes des extraits éthanoliques de *P. lentiscus* et *F. angustifolia*. **P.F** : *P. lentiscus* (Feuilles), **P.G** : *P. lentiscus* (fruit), **F.F** : *F. angustifolia* (Feuilles), **F.E** : *F. angustifolia* (Ecorce).

III.2.3. Dosage des tannins :

L'extrait des feuilles de *P. lentiscus* et de l'écorce de *F. angustifolia* incluent les taux de tannins les plus élevés ($100,3 \pm 2,5$ et $93,45 \pm 1,4$ mg E AT/ g d'extrait, respectivement), suivi de l'extrait de l'écorce de *F. angustifolia* ($47,73 \pm 1,4$ mg E AT/ g d'extrait) et des fruits de *P. lentiscus* ($23,16 \pm 1,2$ mg E AT/ g d'extrait) (**Figure 20**).

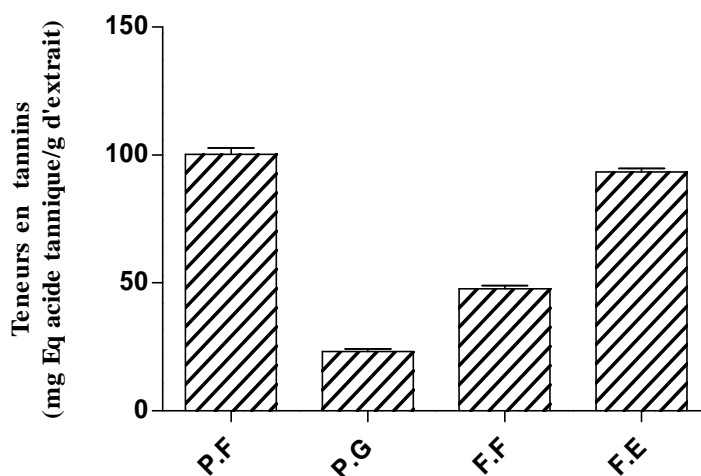


Figure 20: Teneurs en tannins des extraits éthanoliques de *P. lentiscus* et *F. angustifolia*. **P.F** : *P. lentiscus* (Feuilles), **P.G** : *P. lentiscus* (Fruits), **F.F** : *F. angustifolia* (Feuilles), **F.E** : *F. angustifolia* (Ecorce).

Des résultats similaires sont rapportés par les études d'**Atmani et al. (2009)**. En effet, La teneur en tannins remarqué pour l'écorce de *F. angustifolia*, elle était de 157.93mg E AT/ g d'extrait.

De même, une étude réalisée par **Romani et al. (2002)** a démontré que les feuilles de *P. lentiscus* sont très riches en tannins (6 à 7 % du poids de la poudre sèche).

IV. 3. Dosage de quelques éléments dans les poudres des plantes étudiées (Minéralisation) :

Le dosage des ions Sodium, Potassium et Chlore a été réalisé sur les poudres des deux plantes et les résultats sont représentés dans le **tableau X**.

Selon ces résultats, on constate que les feuilles de *F. angustifolia* contiennent les taux les plus élevés en ion Sodium (200 mmol/L), Potassium (30 mmol/L) et Chlore (10 mmol/L). Les concentrations en ions Sodium de l'écorce de *F. angustifolia*, des feuilles et des fruits de *P. lentiscus* sont proches, elles varient entre 80 et 110 mmol/L alors que pour l'ion Potassium, l'écorce représente 20 mmol/L, les feuilles et les fruits représentent des valeurs identiques de 10 mmol/L.

Les fruits de *P. lentiscus* ainsi que l'écorce de *F. angustifolia* contient les concentrations les plus faibles en ion Chlore (0,2mmol/L).

Tableau X: Concentration des ions Sodique, Potassique et Chlorure.

Echantillons	Concentration en (mmol/l)		
	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻
Feuilles de <i>F. angustifolia</i>	200	30	10
Ecorce de <i>F. angustifolia</i>	80	20	0,2
Feuilles de <i>P. lentiscus</i>	110	10	10
Fruit de <i>P. lentiscus</i>	90	10	0,7

Parmi les travaux publiés sur *F. angustifolia* et *P. lentiscus*, aucun travail n'a été effectué sur la minéralisation de ces deux plantes. Des recherches faites sur *Rumex abyssinicus* (famille des Polygonaceae) a révélé des concentrations très faibles en K⁺ (45 mmol/l), alors que pour le Na⁺ et Cl⁻, les concentrations ne sont pas détectables (**Mekonnen et al., 2010**).

Une autre étude de **Junior et al. (2009)** sur *Tropaeolum majus* (famille des Tropaeolaceae) a montré une concentration extrêmement faible en ion Potassium dans l'extrait éthanolique des feuilles de cette plante. Par conséquent, les plantes utilisées dans notre étude ont exhibé des concentrations très faibles en ions Potassium et Chlore par rapport à leurs concentrations en ion Sodium.

IV.4. Activité diurétique des extraits éthanoliques de *F. angustifolia* et *P. lentiscus* :

IV.4. 1. Volume urinaire :

Pour prédire une activité diurétique des extraits éthanoliques des feuilles et l'écorces de *F. angustifolia*, feuilles et fruit de *P. lentiscus* on a procédé à la mesure du volume des urines des rats, après l'administration intra-gastrique de l'eau physiologique, des extraits éthanoliques et de la molécule de référence (furosémide), chaque 2 heures pendant 8 heures. Les résultats obtenus sont exprimés en ml d'urine /100g de poids de rats et représentés dans les **figures N°21, 22,23 et 24.**

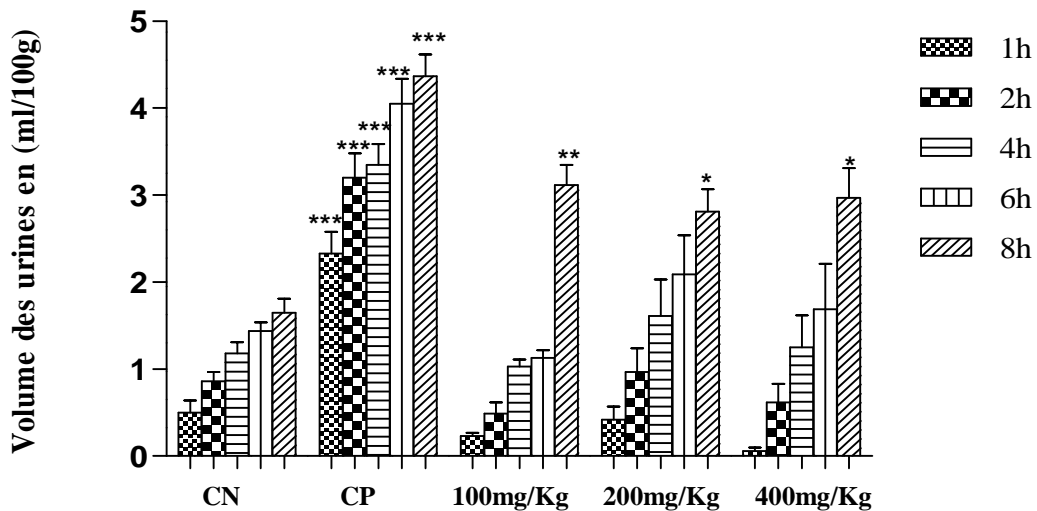


Figure 21: Volume des urines après traitement avec l'extrait éthanolique des feuilles de *F. angustifolia* et de la molécule de référence, le furosémide. **CP** : Contrôle positif (Furosémide), **CN** : Contrôle négatif (Eau physiologique). (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

Le furosémide augmente le volume urinaire significativement ($p < 0,001$) dès la première heure. Cette augmentation est maintenue jusqu'à la fin du traitement où le volume urinaire est augmenté jusqu'à 163,29% par rapport au contrôle négatif, ayant seulement reçu de l'eau

physiologique. Ceci est en accord avec plusieurs études, où des résultats similaires ont été rapportés (Giezen *et al.*, 1998 ; Ratnasooriya *et al.*, 2004 ; Freitas *et al.*, 2011).

Les extraits éthanoliques des feuilles de *F. angustifolia* ont augmenté les volumes urinaires significativement à 8h et cela sans montré une relation dose dépendante avec le volume urinaire. Les doses de 100, 200 et 400 mg/Kg ont augmenté les volumes urinaires de 62,2 ; 45,89 et 54,29%, respectivement par rapport au contrôle négatif.

L'étude de Junior et ses collaborateurs (2011), sur l'extrait éthanolique des feuilles de *Tropaeolum majus* a montrée que le composés actif (l'isoquercitrine) de cette plante, à la dose de 100mg/Kg, a augmenté le volume urinaire significativement après 6h et jusqu'à 24h. Le volume urinaire engendré par cette dose était meilleur par rapport à celui donné par les doses de 25 et 50 mg/Kg.

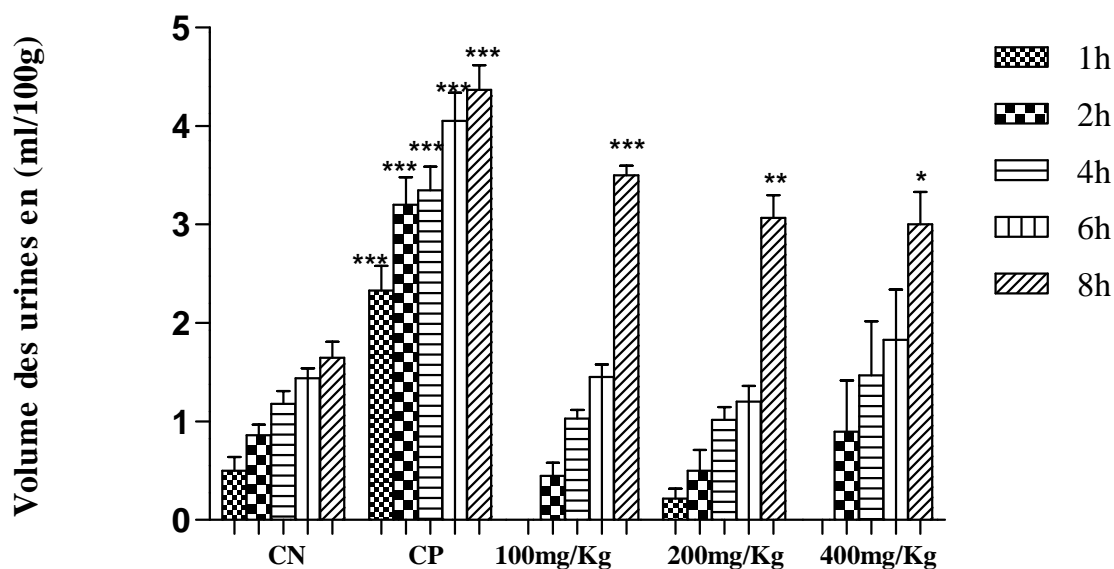


Figure22 : Volume des urines après traitement avec l'extrait éthanolique de l'écorce de *F. angustifolia* et de la molécule de référence, le furosémide. CP : Contrôle positif (Furosémide), CN : Contrôle négatif (Eau physiologique). (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001).

Après 8h du traitement, les extraits éthanoliques de l'écorce ont élevé la diurèse significativement. Ces extraits ont exhibé une relation dose dépendante inverse avec le volume urinaire ; ce dernier diminue en augmentant la dose de l'extrait. La dose de 100mg/Kg a donné le meilleur volume urinaire avec un pourcentage d'augmentation très élevé et qui a atteint 86,12%.

En passant de la dose de 200mg/kg à celle de 400mg/kg de l'extrait éthanolique de l'écorce, le pourcentage d'augmentation du volume urinaire varie de 59,65% à 55,76%, respectivement.

Ces résultats sont similaires avec ceux de **Ratnasooriya et al. (2004)** et **Amuthan et al. (2012)**. Pour ces derniers, les volumes urinaires sont augmentés de 33,89%, 26,82%, 13,77% pour des doses de 500, 1000 et 1500 mg/kg, respectivement.

L'analyse statistique a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre les volumes urinaires générés par les différentes doses des extraits éthanoliques des feuilles et de l'écorce de *F. angustifolia* ce qui indique que la dose de 100 mg/Kg de ces extraits est déjà suffisante pour déclencher un effet diurétique significatif.

L'étude de **Mekonnen et al. (2010)** a rapporté des résultats similaires. Les doses de 500, 750 et 1000mg/Kg de l'extrait aqueux de *Rumex abyssinicus* ont augmenté le volume urinaire significativement sans montrer une différence significative entre eux.

D'après les résultats obtenus, on remarque que la dose de 100mg/kg de l'extrait éthanolique, soit de l'écorce ou bien des feuilles, de *F. angustifolia* a donné des volumes urinaires proches de celui du contrôle positif (le furosémide). En revanche, l'activité diurétique du furosémide a commencé dès la première heure alors que celle de extraits de *F. angustifolia* et *P. lentiscus* a débuté après 8h du traitement. Cette différence est probablement due au fait que les extraits sont métabolisés après 8h du traitement.

Les polyphénols ingérés peuvent pénétrer dans les tissus et organes, en particulier au niveau des lieux de métabolisation comme l'intestin et le foie. En effet, des études menées avec des polyphénols marqués (quercétine, épigallocatechine, quercétine 4'-glucoside, resvératrol, cyanidine 3-glucoside) ont montré que, 1 à 6 heures après l'ingestion, la radioactivité était principalement détectée dans le sang et les organes du système digestif. Toutefois, les polyphénols ont également été détectés dans des organes tels que le cerveau, le cœur, les reins, le thymus, le pancréas, la prostate... (**Barnes et al, 2011 ; Lenoir, 2011**).

L'étude menée par **Eddouks et al. (2005)** a rapporté l'effet diurétique de *F. excelsior*, une espèce appartenant à la famille que *F. angustifolia*. L'extrait aqueux des fruits de cette plante, administré par gavage à une dose de 20mg/kg à des rats (une fois par jour pendant 21jours), a produit une augmentation importante du volume urinaire après 7jours. De ce fait, on suggère que les extraits éthanoliques des feuilles et de l'écorce de *F. angustifolia* pourraient être une source de molécules ayant une activité diurétique.

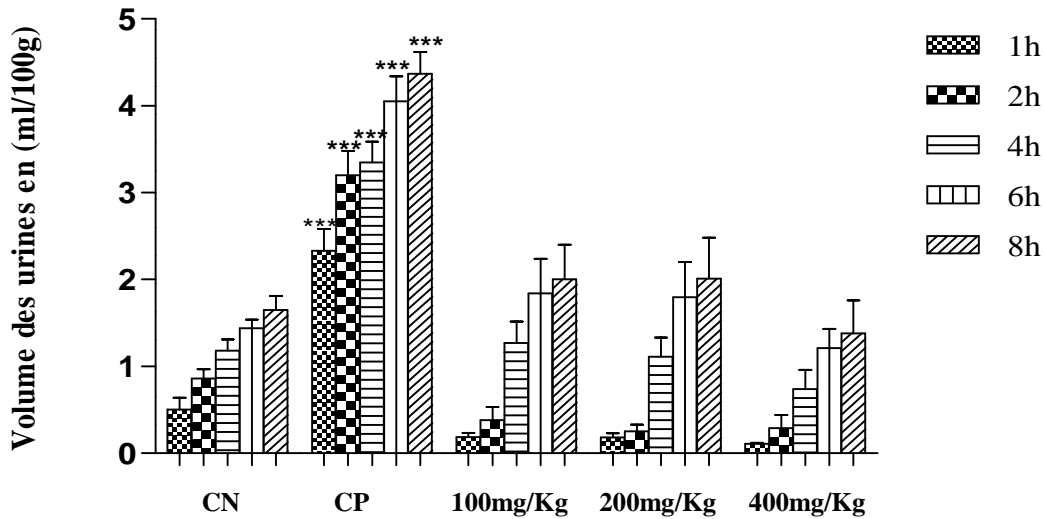


Figure 23 : Volume des urines après traitement avec l'extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus* et de la molécule de référence, le furosémide. **CP :** Contrôle positif (Furosémide), **CN :** Contrôle négatif (Eau physiologique). (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$).

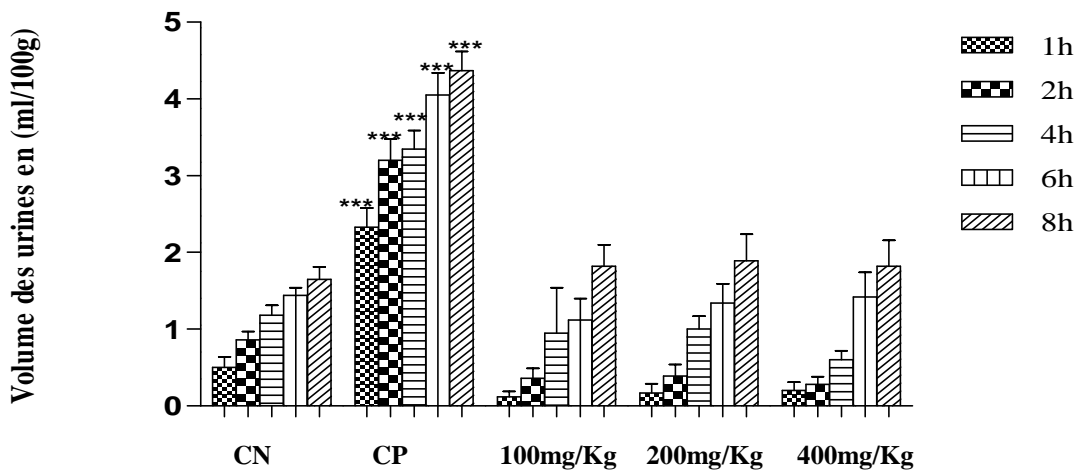


Figure 24 : Volume des urines après traitement avec l'extrait éthanolique des fruits de *P. lentiscus* et de la molécule de référence, le furosémide. **CP :** Contrôle positif (Furosémide), **CN :** Contrôle négatif (Eau physiologique). (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$).

Les extraits éthanoliques de *P. lentiscus* de leur part ont montré des volumes urinaires statistiquement non significatifs par rapport au contrôle négatif. A 8h, les doses de 100 et 200 mg/Kg de extrait éthanolique des feuilles ont augmenté le volume urinaire de 21,5%. Alors que les doses de 100, 200 et 400 mg/Kg de l'extrait éthanolique des fruits ont augmenté le volume urinaire avec des pourcentages très proches allant de 14,54% à 19,81%.

D'après plusieurs études, qui rapportent l'usage de cette plante traditionnellement comme diurétique (Ljubuncic et al., 2005 ; Chryssavgi et al., 2008) et d'après les résultats de la présente étude, on suggère que les doses des extraits éthanoliques des feuilles et du fruit de *P. lentiscus* testés sont probablement insuffisantes pour déclencher un effet diurétique, ou leurs effet diurétique est seulement natriurétique, ou bien les extraits n'ont pas été métabolisé durant les 8h d'observation.

IV.4. 2. Mesure du pH et conductivité :

La mesure du pH et de la conductivité a été faite sur les urines fraîches cumulées de 8 heures et les résultats sont illustrés dans le **tableau XI**.

Le pH des urines des rats traités avec les extraits éthanoliques de l'écorce et les feuilles de *F. angustifolia*, varie de $6,95 \pm 0,1$ à $7,79 \pm 0,8$, un pH légèrement acide surtout pour la dose de 100 mg/kg, alors que pour les feuilles et les fruits de *P. lentiscus*, le pH varie de $7,59 \pm 0,68$ et $8,53 \pm 0,13$ donc un pH qui tant vers l'alcalinisation des urines.

L'acidification des urines est une propriété des diurétiques de l'anse de Henlé (Ratnasooriya et al. 2004 ; Zhao et al., 2009). C'est l'exemple du furosémide utilisé dans cette étude est qui a donné un pH acide de $6,18 \pm 0,07$. Ce résultat suggère que les extraits éthanolique de l'écorce et des feuilles de *F. angustifolia* peuvent exercer un effet diurétique comparable à celui des diurétiques de l'anse.

Tableau XI : pH et conductivité des urines cumulatives de 8 heures, des différents lots traités.

Echantillons		pH	Conductivité (µS)
Contrôle négatif		7,13±0,33	12,18±0,98
Contrôle positif		6,18±0,07	15,30±0,95
<i>F. angustifolia</i>	Feuilles	100mg	6,95±0,1
		200mg	7,79±0,8
		400mg	7,06±0,62
	Ecorce	100mg	6,79±0,67
		200mg	7,05±0,35
		400mg	7,17±0,89
<i>P. lentiscus</i>	Feuilles	100mg	8,08±0,12
		200mg	7,90±0,44
		400mg	8,19±0,33
	Graines	100mg	8,41±0,18
		200mg	7,59±0,68
		400mg	8,53±0,13

La conductivité, de sa part, nous donne une indication indirecte sur la présence d'électrolytes dans les urines. Un effet important est observé avec le lot traité avec le furosémide et qui est en accord avec son action brève et courte.

Selon ces résultats, on suggère que l'augmentation de la conductivité des urines des rats traités par les extraits éthanoliques de *F. angustifolia* et *P. lentiscus* est dû probablement à une augmentation de la sécrétion des ions Sodium, Potassium et Chlore.

IV. 4. 3. Dosage des électrolytes dans les urines :

Afin de chercher une possibilité d'explication du type de diurèse, un dosage des électrolytes Sodium, Potassium et Chlore a été réalisé. Les résultats du dosage des électrolytes sont calculés dans les urines cumulées de 8h, suivant l'administration intra-gastrique de l'eau physiologique (contrôle négatif), des extraits éthanoliques des deux plantes et de la molécule de références (Furosémide) et sont illustrés dans le **Tableau XII** et exprimés en mmol/L de Sodium, Potassium ou Chlore.

Le Furosémide a induit une augmentation des concentrations des ions Na^+ , K^+ et Cl^- avec des valeurs de 60,02%, 127,46%, 77,81% , respectivement, par rapport au contrôle négatif. L'augmentation de la sécrétion ionique est accompagnée par celle de l'eau, cela est en accord avec les résultats rapportés par les travaux de **Ratnasooriya et al. (2004)** et **Abdala et al. (2012)**, appuyant l'action diurétique du furosémide.

L'extrait éthanolique des feuilles de *F. angustifolia* a induit une augmentation de la sécrétion des ions Na^+ , K^+ et Cl^- , mais il ne présente pas une relation dose dépendante. La dose de 100 mg/kg a montré des concentrations très proches de celle du furosémide et qui sont de 54,9%, 129,44% et 68,39%, pour les ions Na^+ , K^+ et Cl^- , respectivement.

L'extrait éthanolique de l'écorce de *F. angustifolia* n'a pas révélé une relation dose-dépendante avec la sécrétion des ions Na^+ , K^+ et Cl^- . En plus, la dose de 100mg/kg a exhibé la meilleure sécrétion pour les trois ions avec des valeurs de 47,48%, 159,25% et 68,55%, pour les ions Na^+ , K^+ et Cl^- , respectivement. Ces résultats sont aussi proches de ceux du contrôle positif.

Les extraits éthanolique de *F. angustifolia*, à la dose de 100mg/Kg, ont exhibé une activité salurétique significative, par rapport à celle du contrôle négatif et très proche de celle du furosémide. Ces résultats sont similaires avec l'étude d'**Amuthan et ses collaborateurs (2012)** qui ont montré que l'extrait aqueux d'*Amaranthus spinosus* n'a pas produit une relation dose dépendante avec le volume urinaire et la sécrétion ionique. Le maximum d'efficacité est enregistré avec la dose de 500mg/Kg qui a montré une activité salurétique élevé par rapport à celle du contrôle négatif (**Amuthan et al., 2012**).

Chapitre IV
Résultats et discussion

Tableau XII: Concentrations en ions Na⁺, K⁺ et Cl⁻ du contrôle négatif, le furosémide et les extraits éthanoliques des deux plantes aux différentes doses. **F.F** : Feuilles de *F. angustifolia*, **F.E** : Ecorce de *F. angustifolia*, **P.F** : Feuilles de *P. lentiscus*, **P.G** : Fruit de *P. lentiscus*. (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001).

Echantillons	Concentration urinaire des ions (mmol/L/8h)			Salurétique (Na ⁺ + Cl ⁻)	Natriurétique (Na ⁺ /K ⁺)
	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻		
Contrôle négatif	100,5±2,95	66,12±0,63	100,86±0,84	201,36±1,79	1,51
Contrôle positif	160,16±2,30 ^{***}	150,498±0,42 ^{***}	179,34±0,42 ^{***}	339,508±1,73 ^{***}	1,06
FF100	155,71±1,95 ^{***}	151,71±1,88 ^{***}	169,84±1,41 ^{***}	325,55±2,37 ^{***}	1,02
FF200	96,84±2,18	182,85±1,4 ^{***}	112,08±1,65 [*]	208,92±2,84	0,5
FF400	106,62±2,4	180,216±0,81 ^{***}	129,6±1,17 ^{**}	236,22±2,58 ^{**}	0,59
FE100	148,44±3 ^{***}	171,4±1 ^{***}	170,08±0,77 ^{***}	318,52±1,78 ^{***}	0,93
FE200	145,14±2,4 ^{***}	155,77±1,86 ^{***}	114±1,26 [*]	259,14±3,03 ^{***}	0,56
FE400	102,54±2,26	182,57±1,44 ^{***}	181,53±1,52 [*]	284,07±2,78 ^{***}	0,56
PF100	112,55±2,5 [*]	175,8±1,51 ^{***}	181,08±1,53 ^{***}	293,63±2,19 ^{***}	0,64
PF200	126,06±3 ^{**}	208,5±1,79 ^{***}	193,63±1,45 ^{***}	319,69±2,49 ^{***}	0,65
PF400	135,47±1,7 ^{**}	188,4±1,47 ^{***}	147,09±1,24 ^{**}	282,56±1,95 ^{***}	0,71
PG100	113,97±1,9 [*]	155,85±1,69 ^{***}	194,88±2,09 ^{***}	308,85±3,02 ^{***}	0,73
PG200	89,46±2,3 [*]	150,426±1,89 ^{***}	144,93±1,03 ^{**}	234,39±2,38 ^{**}	0,59
PG400	150,42±1,9 ^{***}	236,97±2,89 ^{***}	259,26±2,13 ^{***}	409,68±4,04 ^{***}	0,63

Une valeur du rapport natriurétique supérieur à 2 indique une activité natriurétique favorable (Vogel, 2002). Les rapports natriurétique après traitement avec des différents extraits ont montré des valeurs qui varient entre 0,5 et 1,02 ce qui indique qu'ils ne possèdent pas d'activité natriurétique favorable. En revanche, les rapports natriurétique des doses de 100mg/Kg de l'écorce (0,93) et des feuilles (1,02) de *F. angustifolia* sont au voisinage de celui du furosémide (1,06).

Les extraits éthanolique de *F. angustifolia* testé dans notre étude ont provoqué une augmentation importante du volume urinaire et de la sécrétion des ions Na^+ , K^+ et Cl^- comparable à celle du furosémide. En outre, et selon les résultats de la mesure de la conductivité et la minéralisation des deux parties de cette plante, on peut déduire que l'augmentation de la sécrétion ionique n'est pas dû au contenu de *F. angustifolia* en ces ions, puisqu'elles sont présents en quantités très infimes, mais à une véritable activité diurétique de cette plante. En effet, l'activité diurétique de *F. excelsior* n'était pas liée à son contenu en ions Na^+ , K^+ et Cl^- puisque l'extrait aqueux de cette plante contient des quantités négligeables en ces ions (Eddouks et al., 2005).

Ces résultats renforcent l'idée qui suppose que les extraits éthanoliques de *F. angustifolia* agissent de la même façon qu'un diurétique de l'anse.

Par ailleurs, l'extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus*, a provoqué une augmentation significative de la sécrétion des ions Na^+ , K^+ et Cl^- pour les trois doses étudiées, mais sans montrer une relation dose dépendante. La meilleure dose, qui a donné le maximum de sécrétion pour les trois ions, est celle de 200mg/kg avec des pourcentages d'augmentation de 26%, 215,33% et 93%, pour Na^+ , K^+ et Cl^- respectivement, par rapport au contrôle négatif. Tandis que, la dose la plus efficace pour l'extrait éthanolique du fruit de *P. lentiscus* est celle de 400mg/kg, avec une augmentation significative de la sécrétion des ions Na^+ , K^+ et Cl^- à des valeurs de 27,05 %, 257% et 159% , respectivement par rapport au contrôle négatif.

En comparant ces résultats avec celui du contrôle positif, les extraits éthanolique de *P. lentiscus* n'ont pas induit une augmentation comparable, de la sécrétion des ions Na^+ , K^+ et Cl^- , à celle du furosémide. Cela élimine la possibilité que cet extrait peut agir comme le furosémide.

De plus, les extraits éthanoliques de *P. lentiscus* ont montré une activité salurétique significative pour toutes les doses. Les rapports natriurétique de ces doses sont très modifiés par rapport à celui du contrôle négatif. Cette caractéristique est attribué aux diurétiques thiazidiques, qui augmente la sécrétion du K^+ et qui altèrent le rapport Na^+/K^+ (Rang et al., 1995).

Aussi, selon les résultats précédents, les extraits éthanoliques de *P. lentiscus* n'ont pas augmenté significativement le volume urinaire. En revanche, ils amplifient la sécrétion ionique du Na^+ , K^+ , Cl^- . En admettant que cette plante contient des quantités négligeables en ces ions, cela indique que l'élévation de la conductivité est induite par le composé ou les composés actifs de cette plante.

Les extraits éthanoliques de *P. lentiscus*, ont induit une élévation de la sécrétion de Na^+ , K^+ et Cl^- avec une alcalinisation des urines sans augmenter significativement le volume urinaire. Ces observations suggèrent que cet extrait n'agit pas comme un diurétique de l'anse et non pas comme un diurétique épargneurs de potassium, mais probablement par un effet proche de celui d'un diurétique thiazidique.

En effet, l'extrait aqueux d'*Amaranthus spinosus*, à la dose de 500mg/kg, a augmenté significativement la sécrétion du Na^+ , K^+ et Cl^- sans augmenter le volume urinaire par rapport au contrôle négatif. En plus, il a provoqué une alcalinisation du pH des urines. Cet effet est le même que celui induit par le thiazide (10 mg/kg), utilisé comme un contrôle positif dans la même étude. Ces résultats suggèrent fortement que cet extrait agit comme le thiazide (Amuthan et al. 2012).

VI.5. Etude de l'implication des prostaglandines dans l'activité diurétique des extraits de *F. angustifolia* et *P. lentiscus* :

Afin de confirmer l'implication des Prostaglandines (PG) dans le mécanisme d'action des extraits éthanoliques de *F. angustifolia* et *P. lentiscus*, le volume urinaire et les concentrations des ions Na^+ , K^+ et Cl^- ont été mesuré après 15h du traitement des rats avec l'eau physiologique, le furosémide et 100 mg/kg des extraits éthanoliques avec et sans l'ajout de l'indométacine (5 mg/kg). Les résultats sont représentés dans les figures N° 25 et 26.

Après 15h du traitement, les doses de 100 mg/Kg des extraits éthanolique de *F. angustifolia* ainsi que le furosémide ont induit une augmentation légère du volume urinaire, en le comparant au contrôle négatif. Cependant, les extraits éthanoliques de *P. lentiscus* n'ont induit aucune augmentation significative (**Figure 25**).

Les rats traités avec l'indométacine et le furosémide n'ont montré aucun changement dans leurs volumes urinaires cumulatifs, par rapport aux rats traité seulement avec le furosémide. L'administration des extraits éthanoliques à des rats prétraités avec l'indométacine n'a pas réduit le volume urinaire, par rapport au groupe qui a reçu seulement ces extraits.

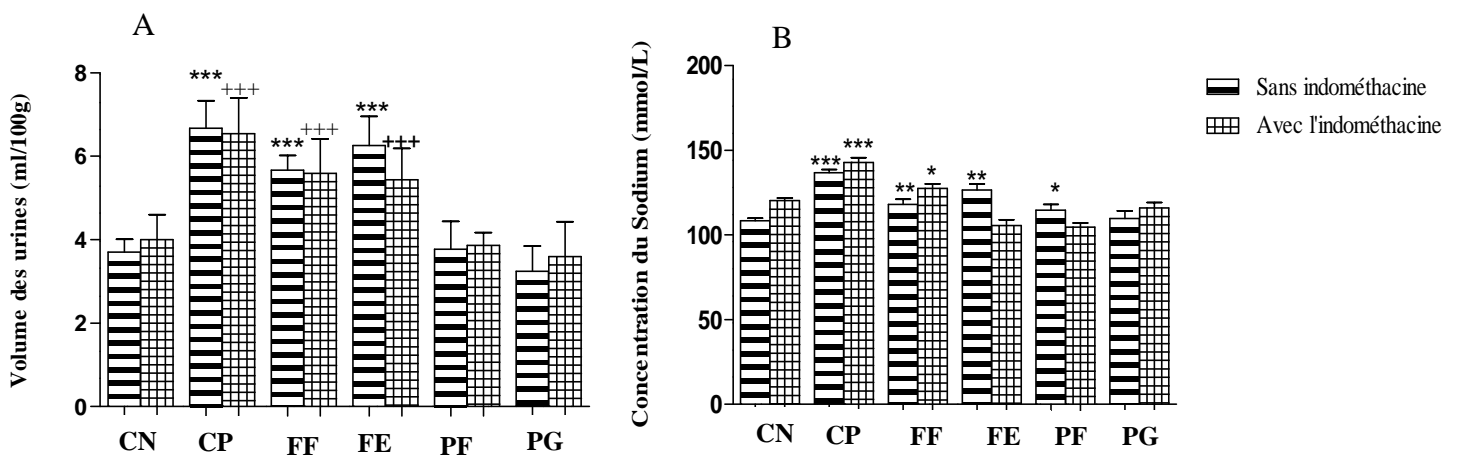


Figure 25 : Résultats du traitement avec le furosémide et les extraits éthanoliques de *F. angustifolia* et *P. lentiscus* sans et avec l'indométacine. **A :** Volume d'urines après 15h du traitement, **B :** Concentration urinaire en ion Na^+ après 15h du traitement. **CN :** Contrôle négatif, **CP :** Contrôle positif, **FF :** Feuilles de *F. angustifolia*, **FE :** Ecorce de *F. angustifolia*, **PF :** Feuilles de *P. lentiscus*, **PG :** Fruit de *P. lentiscus*. (*/+p < 0.05; **/+p < 0.01; ***/+++p < 0.001).* : par rapport au contrôle négatif, + : par rapport à l'indométacine suivi de l'eau physiologique.

Les extraits éthanoliques des deux plantes, à l'exception du fruit de *P. lentiscus* ont augmenté la sécrétion ionique du Na^+ , K^+ et Cl^- . Le furosémide, à son tour, a fait augmenter la sécrétion de ces trois ions.

Ces extraits, avec ou sans le prétraitement avec l'indométacine, n'ont pas modifié la concentration des urines en ions Na^+ , K^+ et Cl^- .

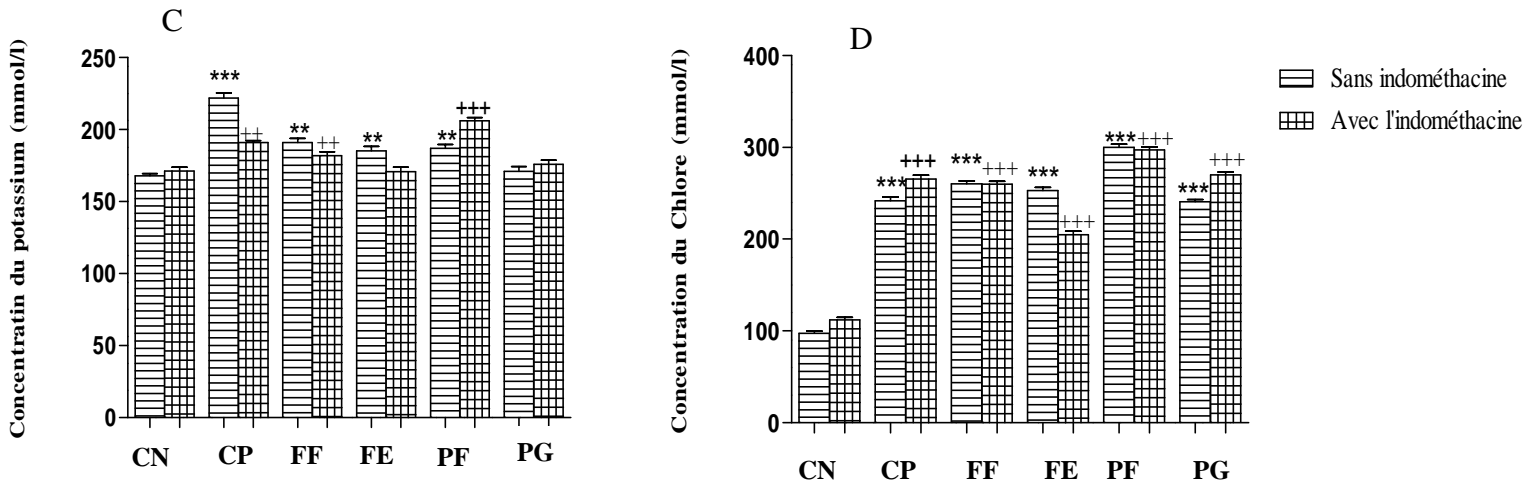


Figure 26: Résultats du traitement avec le furosémide et les extraits éthanoliques de *F. angustifolia* et *P. lentiscus* sans et avec l'indométhacine. **C** : Concentration urinaire en ion K^+ après 15h du traitement, **D** : Concentration en ions Cl^- après 15h du traitement. **CN** : Contrôle négatif, **CP** : Contrôle positif, **FF** : Feuilles de *F. angustifolia*, **FE** : Ecorce de *F. angustifolia*, **PF** : Feuilles de *P. lentiscus*, **PG** : Fruit de *P. lentiscus*. (*/+p < 0.05; **/+p < 0.01; ***/+++p < 0.001).* : par rapport au contrôle négatif, + : par rapport à l'indométhacine suivi de l'eau physiologique.

Le diurétique de référence, le furosémide, a augmenté significativement la sécrétion des ions Na^+ , K^+ et Cl^- . En revanche, le traitement avec l'indométhacine et le furosémide n'a pas interféré avec la sécrétion de ces ions par rapport aux animaux qui ont reçu uniquement le furosémide.

Le volume urinaire obtenue suite au traitement par les extraits éthanoliques de *F. angustifolia* ainsi que leur concentration en ions Na^+ , K^+ et Cl^- sont plus proches de celui du contrôle positif. Cela confirme les résultats précédents qui supposent que les extraits éthanoliques des feuilles et de l'écorce de *F. angustifolia* (100 mg/Kg) ont un pouvoir diurétique similaire à celui du furosémide. Tandis que, les extraits éthanoliques des feuilles et du fruit de *P. lentiscus* à la même dose n'ont pas d'effet sur le volume urinaire, mais seulement sur la sécrétion ionique.

Les prostaglandines (PG) possèdent une large gamme d'activité physiologique au niveau des reins. Les PG sont des médiateurs importants de l'homéostasie de l'eau et des ions, de la vitesse de la filtration glomérulaire et de la pression artérielle rénale (**Satoa et al., 2007**). Ils sont aussi impliqués dans le maintien de la perfusion rénale, grâce à leur effet vasodilatateur. Ainsi ils provoquent une élévation du volume et de la concentration urinaire en ions Sodium (**De Maria et Weir, 2003**).

Les cyclooxygénases (COX-1 et 2) sont les deux enzymes qui interviennent dans la synthèse des PG et qui limitent leur taux dans les cellules alors que l'indométacine est l'inhibiteur non sélectif de ces deux enzymes (**Bernard et al., 2000**).

Lorsque les rats sont traités, avec les extraits éthanoliques de *F. angustifolia* ou *P. lentiscus* et l'indométacine, leurs volumes urinaires ainsi que la concentration de leurs urines en ions Na⁺, K⁺ et Cl⁻ n'ont pas été modifiés. Cela indique que le composé ou les composés actifs de ces extraits n'induisent pas la libération des PG.

En revanche, l'effet diurétique et natriurétique de l'extrait aqueux de *Tropaeolum majus* a été réduit à 90% lorsqu'il a été précédé par un traitement avec l'indométacine suggérant que cet extrait facilite la libération des PG (**Junior et al., 2009**). Cela confirme que l'activité diurétique des extraits étudiés n'implique pas les PG.

Les résultats obtenus indiquent que les extraits éthanolique des feuilles et de l'écorce de *F. angustifolia* agissent probablement comme des diurétiques de l'ance, en bloquant la réabsorption des ions Cl⁻, Na⁺ et K⁺ ainsi que de l'eau. Cependant, les extraits éthanoliques de *P. lentiscus* possèdent un effet proche de celui des thiazides et qui n'implique pas la libération des PG.

Les composés actifs de *F. angustifolia* et *P. lentiscus* qui sont responsables de cette activité diurétique sont inconnus. Le dosage des composés actifs de ces plantes a montré des quantités non négligeables de polyphénols totaux, de flavonoïdes et des tannins. En effet, cette activité est peut être due à ces composé (**Abed et Benmrabet, 1981 ; Galati et al., 1996; Jouad et al., 2001; Olah et al., 2003**). De plus, l'extrait éthanolique de ces deux plantes contient aussi d'autres composés connus pour leur effet diurétique et natriurétique comme les coumarines (**Hopps et al., 1967**).

P. lentiscus est riche en caroténoïdes, les sesquiterpènes et les triterpènes prouvé avoir une activité diurétique (**Hopps et al., 1967; Twaij et al., 1983; Ahmed et al., 1997; Olah et al., 2003; Somova et al., 2003**).



Conclusion

Conclusion

Habituellement, les informations sur le potentiel des plantes médicinales sont transmises oralement et, dans certains cas, les médicaments modernes précieux sont entrés en utilisation à travers l'étude des remèdes traditionnels.

En outre, les chercheurs continuent à la recherche de médicaments dérivés de plantes comme des prototypes de développement plus efficace et, si possible, des médicaments moins toxiques. Bien que le vaste arsenal de médicaments utilisés dans le traitement des troubles cardio-vasculaires et nerveuses, les maladies du foie et des reins, les plantes médicinales sont encore une source précieuse de nouveaux agents thérapeutiques. Dans ce contexte et pour la première fois, un bio-essai réalisé pour étudier l'efficacité de *F. angustifolia* et *P. lentiscus* comme agent diurétique a été effectué.

Conformément à la littérature, les résultats actuels ont montré que le furosémide augmente le volume d'urine et l'excrétion du Sodium, Potassium et du Chlorure et que le mécanisme impliqué dans l'action diurétique est médiée par l'inhibition du co-transporteur $\text{Na}^+ / \text{K}^+ / 2\text{Cl}^-$ dans la branche ascendante de l'anse de Henlé.

Notre étude a montré que les extraits éthanoliques des feuilles et de l'écorce de *F. angustifolia*, à la dose de 100mg/Kg, possède la capacité de moduler le volume urinaire ainsi que la sécrétion des ions Na^+ , K^+ et Cl^- avec acidification des urines et sans impliquer les prostaglandines. Ce résultat est similaire à celui du furosémide, le diurétique de référence dans notre étude.

Pour *P. lentiscus*, l'effet concerne seulement la sécrétion ionique; les extraits éthanoliques de cette plante ont augmenté la sécrétion des ions Na^+ , K^+ et Cl^- avec alcalinisation des urines et sans faire appel aux prostaglandines. Le maximum de sécrétion est révélé à la dose de 200mg/Kg pour l'extrait éthanoliques des feuilles alors que pour celui du fruit, à 400mg/Kg.

Notre étude a montré que *F. angustifolia* possède un effet diurétique plus puissant et plus rapide que celui de *P. lentiscus*. Cet activité est attribuée à la richesse de ces deux plante en composés actifs polaires connus et prouvé d'avoir une activité diurétique très puissante.

En effet, nos résultats ont montré que ces deux plantes agissent avec des mécanismes d'action variable ce qui indique qu'elles possèdent des composés actifs différents.

En perspective :

Il est nécessaire de tester d'autres concentrations de l'extrait éthanolique de *P. lentiscus* et de comparer son activité par rapport à d'autres contrôles positifs, comme le thiazide, à fin de déterminer son mode d'action exacte.

Il est aussi demandé de fractionner cet extrait, dans le but de déterminer le composé ou les composés actifs responsables de cette activité diurétique.

Références

bibliographiques

- **Abdala A., Martin-Herrera D., Benjumea D. et Gutierrez S.** (1012). Diuretic activity of some *Smilax canariensis* fractions. *Journal of Ethnopharmacology* 140, 277–281.
- **Abed L. et Benmrabet K.** (1981). Intérêt de l'apport en potassium et sodium des infusions de plantes médicinales. *Plantes Médicinales et Phytothérapie* 15, 92–98.
- **Ahmed M., Sadhu S.K., Datta B.K. Kunu J.K. et Bachar S.C.** (1997). Preliminary studies on the antiinflammatory, analgesic and diuretic activity of stagninol, a sesquiterpene isolated from *Persicaria stagnina*. *Die Pharmazie* 52, 472–475.
- **Aissaoui A., El-Hilaly J., Israili Z. et Lyoussi B.** (2008). Acute diuretic effect of continuous intravenous infusion of an aqueous extract of *Coriandrum sativum* L. in anesthetized rats. *Journal of Ethnopharmacology* 115, 89–95.
- **Ait Said S., Fernandez C., Greff S., Torre F., Derridj A., Gauquelin T. et Mevy J.** (2011). Inter-Population Variability of Terpenoid Composition in Leaves of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria: A Chemoecological Approach. *Molecules* 16, 2646-2657.
- **Akroum S.** (2011). Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de doctorat en physio-Toxicologie. Université Mentouri de Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. 125p.
- **Amezouar F., Badri W., Hsaine M., Bourhim N. et Fougrach H.** (2013). Evaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire d'*Erica arborea* L. du Maroc. *Pathologie Biologie* 61 (2013) 254–258.
- **Amuthan A., Chogtu B., Bairy K., Sudhakar et Prakash M.** (2012). Evaluation of diuretic activity of *Amaranthus spinosus* Linn. aqueous extract in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology* 140, 424–427.
- **Atmani D. ; Chaher N.; Berboucha M.; Ayouni K.; Lounis H.; Boudaoud H.; Debbache N. et Atmani DJ.** (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry* 112, 303–309.
- **Azaizeh h., Halahleh F., Abbas N., Markovics A., Muklada H., Ungar E. et Landau S.** (2013). Polyphenols from *Pistacia lentiscus* and *Phillyrea latifolia* impair the exsheathment of gastro-intestinal nematode larvae. *Veterinary Parasitology* 191, 44–50.
- **Beaux D.** (1991). Etude pharmacologique des propriétés diurétiques d'extraits d'*Orthosiphon*, de piloselle, de 'Sureau noir', de Fenouil doux et de Busserole chez le

- rat. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Metz, centre des sciences de l'environnement. 284p
- **Beloued A. (2009).** Plantes médicinales d'algérie. Edition Office des publications universitaires (5édition). P 75
 - **Benhammou N., Atik Bekkara F. et Panovska T. (2008).** Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. African Journal of Pharmacy and Pharmacology 2, 022-028.
 - **Berko S., Regdon Jr, Ducza E., Falkay G., Ero I. (2002).** In vitro and in vivo study in rats of rectal suppositories containing furosemide. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 53, 311–315.
 - **Bernard N., Sacquet J., Benzoni D. et Sassard, J. (2000).** Cyclooxygenases 1 and 2 and thromboxane synthase in kidneys of Lyon hypertensive rats. American Journal of Hypertension 13, 404–409.
 - **Boutigny A. (2007).** Etude de l'effet de composés du grain de blé dur sur la régulation de la voie de biosynthèse des trichothécènes B : purification de composés inhibiteurs, analyse des mécanismes impliqués. Thèse de doctorat en Biologie. Université BORDEAUX 1, école doctorale de science du vivant, géosciences, sciences de l'environnement. 404p
 - **Bouxid H. (2012).** Les plantes médicinales et le diabète de type 2 (A propos de 199 cas). Thèse de doctorat en médecine. Université SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH, faculté de médecine et pharmacie de FES. 107p.
 - **Briet M. et Boutouyrie P. (2009).** Diurétiques : aspects pharmacologiques et thérapeutiques. EMC - Cardiologie 11, 905- 10.
 - **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. Edition Tec et Doc. Paris. p262-279.
 - **Calis I., Hosny M. et Lahloub M. (1996).** A secoiridoid glucoside from *Fraxinus angustifolia*. Phytochemistry 6, 1557.-1562.
 - **Cam Uyen M. (2010).** Adaptation de la posologie des anti-cancéreux à la fonction rénale. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Paris XI, Faculté de pharmacie Chantenay Malabry. 106p
 - **Castaneda-Ovando A., Ma. Pacheco-Hernandez L., Paez-Hernandez M., Rodriguez J. et Andres Galan-Vidal C. (2009).** Chemical studies of anthocyanins: A review Food Chemistry 113, 859–871.

- **Castola V., Bighelli A. et Casanova J.** (2000). Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Corsica. *Biochemical Systematics and Ecology* 28, 79-88.
- **Cheng-Hao Y., Wei-Zhong T., Cheng P., Tao S., Bin L., Min L., Xiao-Fang X., et Hong Z.** (2012). Diuretic, anti-inflammatory, and analgesic activities of the ethanol extract from *Cynoglossum lanceolatum*. *Journal of Ethnopharmacology* 139, 149–154.
- **Chéron G. et Masne A.** (1995). Traitement de l'insuffisance cardiaque aigüe du nourrisson. *Arch Pediatr* 3, 176-179.
- **Chryssavgi G., Vassiliki P., Athanasios M., Kibouris T. et Michael K.** (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry* 107, 1120–1130. Columbus, Ohio, USA. P 3-4
- **Cowan M. M.** (1999). Plant products as antimicrobial agent. *Clinical Microbiology Reviews* 12, 568-571.
- **Crozier A., Clifford M. et Ashihara H.** (2006). Plant secondary metabolites occurrence, structure and role in the human diet. Edition Blackwell Publishing Ltd. p 47-49
- **Daayf F. et Lattanzio V.** (2008). Recent Advances in polyphenol Research. Edition Blackwell Publishing Ltd, USA. p1-9
- **Davis S.** (1981). Anatomie et physiologie humaines. Edition de Copyright, McGraw-Hill, 2diteurs. Canada. P 493-509.
- **De Maria A.N. et Weir M.R.** (2003). Coxibs—beyond the GI tract: renal and cardiovascular issues. *Journal of Pain and Symptom Management* 25, 41–49.
- **Debbache-Benaida N., Atmani-Kilani D., Barbara Schini-Keirth V., Djebbli N. et Atmani A.** (2013). Pharmacological potential of *Populus nigra* extract as antioxidant, antiinflammatory, cardiovascular and hepatoprotective agent. *Asian Pac J Trop Biomed* 3, 697-704.
- **Dennai Y.** (2012). Prise en charge de l'insuffisance rénale chronique terminale en urgence (A propos de 140 cas). Thèse de doctorat en pharmacie. Université Sidi Mohammed ben Abdallah, faculté de Médecine et de Pharmacie FES. 98p
- **Diabate S., Konan K., Alloul D., Coulibaly E. et De Franqueville E.** (2009). Performance de deux techniques d'extraction des phénols racinaires pour l'évaluation

- du marquage de la tolérance à la fusariose des clones de palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Sciences & Nature* 6, 117 – 12.
- **Djenane D., Yangüela J., Montañés L., Djerbal M. et Roncalés P.** (2011). Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef. *Food Control* 22, 1046-1053.
 - **Eddouks M., Maghrani M., Zeggwagh N., Haloui M. et Michel B.** (2005). *Fraxinus excelsior* L. evokes a hypotensive action in normal and spontaneously hypertensive rats. *Journal of Ethnopharmacology* 99, 49–54.
 - **Ernst M. et Moser M.** (2009). Use of Diuretics in Patients with Hypertension. *The new England journal of medicine* 361, 2153-64.
 - **Forest M. et Martin L.** (2007). *Principe d'anatomie et de physiologie*. Copyright édition du renouveau Pédagogique, Inc. Canada. P1075-1117.
 - **Freitas P., Pucci L., Vieira M., Lino R., Oliveira C., Cunha L., Paula J. et Valadares M.** (2011). Diuretic activity and acute oral toxicity of *Palicourea coriacea* (Cham.) K Schum. *Journal of Ethnopharmacology* 134, 501–503.
 - **Funck-Brentano T. et Cohen-Solal M.** (2010). Remodelage osseux et traitements diurétiques. *Revue du rhumatisme monographies* 78, 124–128.
 - **Galati E.M., Trovato A., Kirjavainen S., Forestieri A.M., Rossitto A. et Monforte M.T.** (1996). Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid: antihypertensive and diuretic activity in rat. *Farmacology* 51, 219–221.
 - **Gevigney G. et Delahaye F.** (2005). Données physiopathologiques et implications thérapeutiques au cours de l'insuffisance cardiaque gauche. *Revue de médecine interne* 26, 874–884.
 - **Giezen V., Reitsma J., Bouma B., Hasselaar P. et Reinders J.** (1998). Furosemide enhances blood fibrinolytic activity in rats with no correlation to its diuretic activity. *Fibrinolysis & Proteolysis* : 5, 293-300.
 - **Gilani A., Jabeen Q, Khan A. et Shah A.** (2008). Gut modulatory, blood pressure lowering, diuretic and sedative activities of cardamom. *Journal of Ethnopharmacology* 115, 463–472.
 - **Girgis K.** (2012). Anti-inflammatoire non stéroïdiens : une veille classe innovante pour le traitement du traumatisme crânien. Thèse de doctorat en pharmacologie.

Faculté de sciences pharmaceutiques et biologiques, Université de Paris Descartes.
221p

- **González-Gallego J., Sánchez-Campos S. et Tuñón M.** (2007). Anti-inflammatory properties of dietary flavonoïds. *Nutr Hosp.* 22, 287-93.
- **Grotewold E.** (2006). The science of flavonoïds. Edition the Ohio State University. P 1-6
- **Hagerman A. et butler L.** (1978). Protein precipitation method for quantitative dermination of tannins. *Journal of agriculture Chinese institute of chemical engineers* 39, 625-633.
- **Hanon O., Seux M. et Rigaud A.** (2004). Hypertension artérielle chez le sujet âgé. *EMC-Médecine* 1, 381–387.
- **Hopps V., Mantia G. et Consiglio D.** (1967). Further research on the diuretic activity of newly synthesized coumarin derivatives. *Bollettino – Societa Italiana Biologia Sperimentale* 43, 1526–1530.
- **Iossifova T., Kostova I. et Evstatiev L.** (1997). Secoiridoids and Hydroxycoumarins in Bulgarian *Fraxinus* Species. *Biochemical Sysrematics and Ecology* 25, 271-274.
- **Iossifova T., Kostova I. et Evstatieval L.** (1997). Secoiridoids and Hydroxycoumarins in Bulgarian *Fraxinus* Species. *Biochemical Sysrematics and Ecology* 25, 271-274.
- **Jabeen O., Bashir S., Lyoussi B. et Gilani A.** (2009). Coriander fruit exhibits gut modulatory, blood pressure lowering and diuretic activities. *Journal of Ethnopharmacology* 122, 123–130.
- **Janakat S. et Al-Merie H.** (2002). Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*. *Journal of Ethnopharmacology* 83, 135-138.
- **Jouad H., Lacaille-Dubois M.A., Lyoussi B. et Eddouks, M.** (2001). Effects of the flavonoids extracted from *Spergularia purpurea* Pers. on arterial blood pressure and renal function in normal and hypertensive rats. *Journal of Ethnopharmacology* 76, 159–163.
- **Junior A., Gasparotto F., Boffo M., Lourenc E., Stefanello M., Salvador M. Silva-Santos F., Marques M. et Kassuya C.** (2011). Diuretic and potassium-sparing effect

- of isoquercitrin—An active flavonoïds of *Tropeaeolum majus L.* Journal of Ethnopharmacology 134, 210–215.
- **Kahkonen M., Hopia A. Vuerela H., Rauha J., Pihlaja T. et Heinonen M.** (1999). Antioxydant activity of plant extract containing phenolic coumpound ; Journal of Agricultural and food chemistry 47, 3954- 3962.
 - **Kebiche M.** (2009). Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens L* : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. Thèse de doctorat en Biochimie. Université Mentouri Constantine, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.143p
 - **Kostova I. et Iossifova T.,** (2007). Chemical components of Fraxinus species. Fitoterapia : 78, 85–106.
 - **Kreydiyyeh S. et Usta J.** (2001). Diuretic effect and mechanism of action of parsley. Journal of Ethnopharmacology 79, 353–357.
 - **Kutbay G., , Kilinç M. et Kandemir A.** (1998). Phytosociological and Ecological Structure of Fraxinus Angustifolia Subsp. oxycarpa Forests in the Central Black Sea Region. Tr. J. of Botany 22, 157-162.
 - **KVvcak B. et Akay S.** (2005). Quantitative determination of a-tocopherol in Pistacia lentiscus, Pistacia lentiscus var. chia, and Pistacia terebinthus by TLC-densitometry and colorimetry. Fitoterapia 76, 62–66.
 - **Lamotre M., . Campsteyn L. et Dupontet M.** (1978). Structure Cristalline et Moléculaire de l'Acide Furfurylamino-2 Chloro-4 Sulfamoyl-5 Benzoïque, la Furosemide (C₁₂H₁₁ClN₂O₅S). Acta Cryst 34, 1657-1661.
 - **Laulicht B., Tripathi A. et Mathiowitz E.** (2011). Diuretic bioactivity optimization of furosemide in rats. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 79, 314–319.
 - **Ljubuncic P., Song H., Cogan U., Azaizeh H. et Bomzon A.** (2005). The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease. Journal of Ethnopharmacology 100, 198–204.
 - **Maksimović Z., Malencić N. et Kavocević D.** (2005). Polyphenol contents and antioxydant activity of Maydos stigma extracts. Bioresource Technology 98, 873-877.
 - **Malecky M.** (2006). Métabolisme des terpénoïdes chez les Caprins. Thèse de Doctorats en Physiologie de la Nutrition Animale (biotechnologie). Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech). 206p

- **Marieb N.** (2000). Biologie humaine Anatomie et physiologie. Edition du renouveau Pédagogique, Inc. Canada. P453-493.
- **Martin-prével P., Gagnard J. et Gautier P.** (1984). L'analyse végétale dans le contrôle de l'alimentation des plantes tempérées et tropicales. Techniques et documentation. p782
- **Mekonnen T., Urga K. et Engidawork E.** (2010). Evaluation of the diuretic and analgesic activities of the rhizomes of *Rumex abyssinicus* Jacq in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 127, 433–439.
- **Mombazet A.** (2010). Le pharmacien d'officine face au patient dialysé Réalisation d'un outil de formation destiné à l'équipe officinale. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Henri Poincare-Nancé.150p
- **Montani D., Jaïs X., Ioos V., Sitbon O., Simonneau G. et Humbert M.** (2004). Traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire. *Revue de médecine interne* 25, 720–731.
- **Moro C.** (2010). Place de la bandelette urinaire en médecine générale dans le cadre du dépistage de la protéinurie chez le sujet à risque ; a propos de 128 cas. Thèse de doctorat en médecine. Université Henri Poincare-Nancé. 181p
- **Nahida, Ansari S. et Siddiqui A.** (2012). *Pistacia lentiscus*: A review on phytochemistry and pharmacological properties. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4, 0975-1491.
- **Nijveldt R., Nood E., Hoorn D., Boelens P., Norren K. et Leeuwen V.** (2001). Flavonoïds: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 74, 418–25.
- **Olah N.K., Radu L., Mogoan C., Hanganu D. et Gocan, S.** (2003). Phytochemical and pharmacological studies on *Orthosiphon stamineus* Benth. (Lamiaceae) hydroalcoholic extracts. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis* 33, 117–123.
- **Owen P.L. et Johns T.** (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of Northeastern North America plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology* 64, 149-160.
- **Ozden-Tokatli Y., Akdemir H., Tilkat E. et Onay A.** (2010). Current status and conservation of *Pistacia* germplasm. *Biotechnology Advances* 28, 130–141.

- **Pantoja C., Norris B. et Contreras C.** (1996). Diuretic and natriuretic effects of chromatographically purified fraction of garlic (*Allium sativum*). *Journal of Ethnopharmacology* 52, 101-105.
- **Pasquali N.** (2009). Les troubles urinaires et vésicaux induit par les médicaments. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Joseph FOURIER Faculté de pharmacie de Grenoble. 68p
- **Pocock, G et Richards C.D.** (2004). *physiologie humain*. Edition Masson. Paris. 927p
- **Presne C., Monge M., Mansour J., Oprisiu R., Choukroun G., Achard JM. et Fournier A.** (2007). Thérapeutique diurétique. *Néphrologie & Thérapeutique*. 3, 392–426.
- **Ratnasooriya W., Pieris K., Samaratunga U. et Jayakody J.** (2004). Diuretic activity of *Spilanthes acmella* flowers in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 91, 317–320.
- **Romani A., Pinelli P., Galardi C., Mulinacci N. et Tattini M.** (2002). Identification and quantification oggalloyl derivatives, flavonoïds glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus* L. *Phytochem. Anal.* 13, 79-86.
- **Rousselot JF.** (2004). Œdème pulmonaire. *EMC-Vétérinaire* 1, 231–244.
- **Sadki CH, Hachtb B, Amrani S et Atmani F.** (2010). Acute diuretic activity of aqueous *Erica multiflora* flowers and *Cynodon dactylon* rhizomes extracts in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 128, 352–356.
- **Satoa M., Nakayama T., Somab M., Aoia N., Kosugeb K., Haketab A., Izumi Y., Matsumotob K., Satoa N. et Kokubunc S.** (2007). Association between prostaglandin E2 receptor gene and essential hypertension. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids. Journal of Ethnopharmacology* 77, 15–20.
- **Schetz M.** (2004). Should we use diuretics in acute renal failure? *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology* 18, 75–89.
- **Semama D. S.** (2006). Diurétiques et prématuré. *Archives de pédiatrie* 13, 379–387.
- **Shah S U, Anjum S. et Littler W.** (2003). Use of diuretics in cardiovascular disease: (2) hypertension. *Postgrad Med J* 80, 271–276.
- **Silbernagl S. et Despopoulos A.** (2001). *Atlas de poche de physiologie*. Edition de Médecine-Sciences Flammarion. France. p148-180

- **Somova L.I., Shode F.O., Ramnanan P. et Nadar A.** (2003). Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *africana* leaves. *Journal of Ethnopharmacology* 84, 299–305.
- **Tellier A., Mahboub N. 1, Boudjeneh S. 1, Siboukeur K. et Moulti-Mati F.** (2010). Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera*). *Annales des Sciences et Technologie* 2, 2-8.
- **Théry C., Asseman P., Bauchart J. et Loubeyre C.** (1995). Actualité sur le traitement de l'insuffisance cardiaque chronique. *Revue Med intene* 17, 135-143.
- **Trabelsi H., Cherif O., Sakouhi F., Villeneuve P., Renaud J., Barouh N., Boukhchina S. et Mayer P.** (2012). Total lipid content, fatty acids and 4-des methylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. *Food Chemistry* 131, 434–440.
- **Twaij H.A., Kery A. et Al-Khazraji N.K.** (1983). Some pharmacological, toxicological and phytochemical investigations on *Centaurea phyllocephala*. *Journal of Ethnopharmacology* 9, 299–314.
- **Vermerris W. et Nicholson R.** (2006). *Phenolic compound Biochemistry*. Edition Springer, USA. p23-29
- **Visen P., Saraswat B., Visen A., Roller M. , Bily A., Mermet C., He K., Bai N., Lemaire B., Lafay S., Ibarra A.** (2009). Acute effects of *Fraxinus excelsior* L. seed extract on postprandial glycemia and insulin secretion on healthy volunteers. *Journal of Ethnopharmacology* 126, 226–232.
- **Wong Hee Kam S. et Huguet F.** (2010). Dose de tolérance à l'irradiation des tissus sains : le rein. *Cancer/Radiothérapie* 14, 340–343.
- **Wright C., Van-Buren L., Kroner C. et Koning M.** (2007). Herbal medicines as diuretics: A review of the scientific evidence. *Journal of Ethnopharmacology* 114, 1–31.
- **Zaza S., Bonny O. et Liaudet L.** (2005). Le syndrome hépatorénal chez le patient cirrhotique. *Néphrologie et Thérapeutique* 1, 174–182.
- **Zhao Y., Xie R., Chao X., Zhang Y., Lin R. et Sun W.** (2009). Bioactivity-directed isolation, identification of diuretic compounds from *Polyporus umbellatus*. *Journal of Ethnopharmacology* 126, 184–187.

Annexe



Annexe N°1 : Courbes d'étalonnages

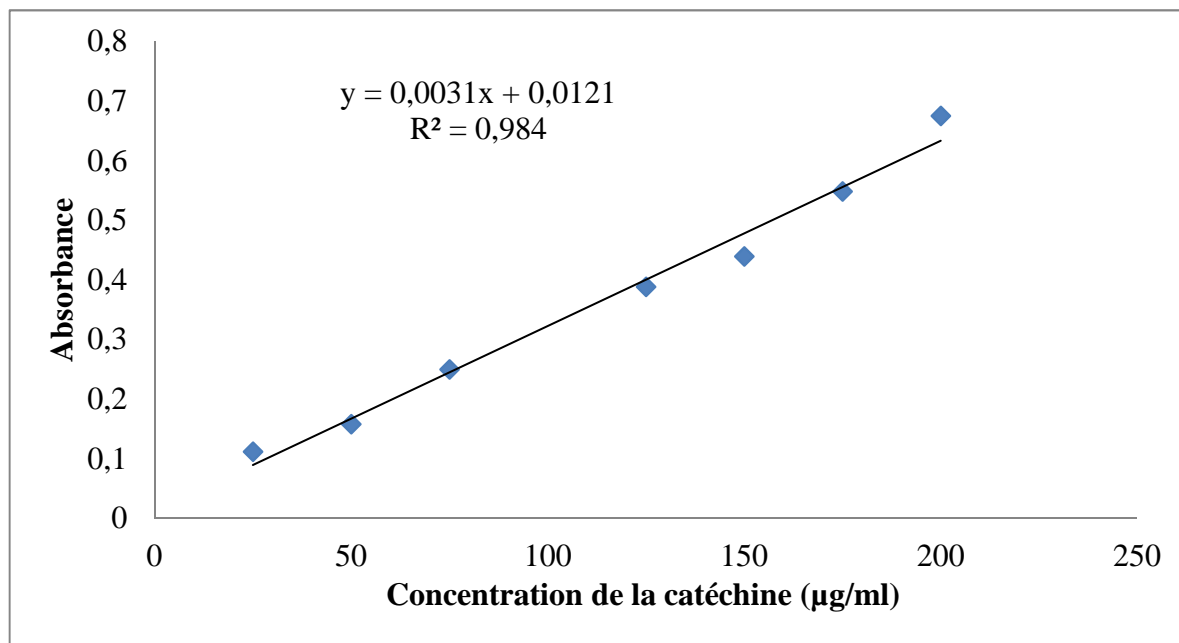


Figure 27: Courbe d'étalonnage de la catéchine.

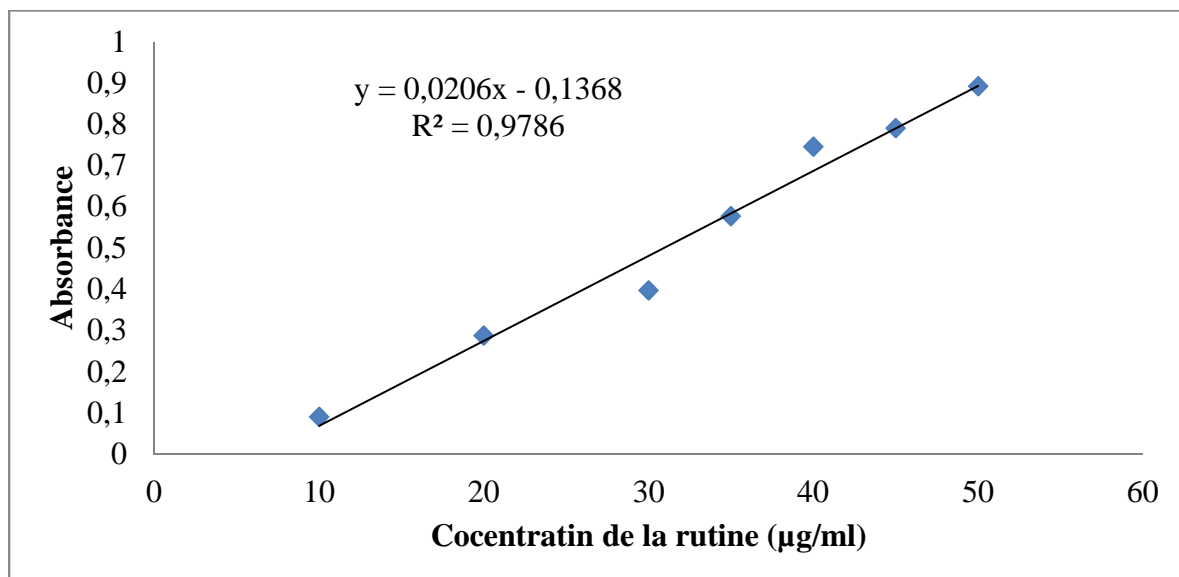


Figure 28: Courbe d'étalonnage de rutine.

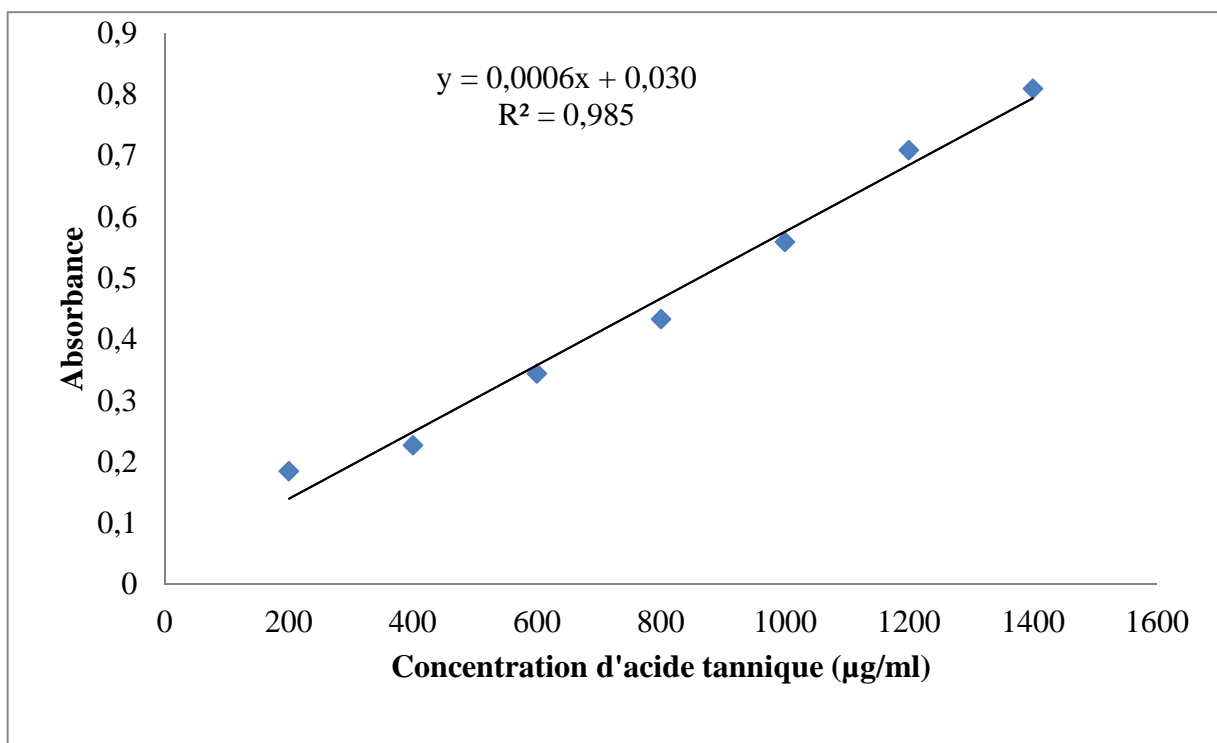


Figure 29: Courbe d'étalonnage de l'acide tannique.

Résumé

Fraxinus angustifolia (Oleaceae) et *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) sont utilisées traditionnellement dans le traitement de diverses pathologies telles que l'inflammation et les maladies des reins. L'activité diurétique des extraits éthanoliques des feuilles et des écorces de *F. angustifolia* et des feuilles et des fruits de *P. lentiscus* a été évaluée sur des rats albinos, par administration intra-gastrique des doses de 100, 200 et 400 mg/kg de poids de rat et la mesure de l'excrétion des urines et des électrolytes (Na^+ , K^+ et Cl^-).

Après 8h de traitement, les extraits de *F. angustifolia* (100 mg/Kg) ont montré une augmentation significative du volume urinaires et de la concentration des ions Na^+ , K^+ et Cl^- . Cette augmentation est comparable à celle du furosémide et semble être loin de l'influence des prostaglandines, suggérant ainsi que *F. angustifolia* possède une activité diurétique proche de celle des diurétiques de l'anse.

Les extraits éthanoliques de *P. lentiscus* n'ont montré aucune augmentation significative de volume urinaire, après 8heures du traitement mais les doses de 200mg/Kg pour les feuilles et 400 mg/Kg pour les fruits ont provoqué une meilleure élévation de la sécrétion ionique. L'effet de ces extraits semble être proche de celui des diurétiques thiazidiques.

Ces résultats suggèrent que les extraits de *Fraxinus angustifolia* peuvent être considérés comme source de composés naturels à activité diurétique.

Mots clés : Diurétique, *Fraxinus angustifolia*, *Pistacia lentiscus*, thiazide, furosémide.

Abstract

Fraxinus angustifolia (Oleaceae) and *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) are traditionally used in the treatment of various diseases such as inflammation and kidney disease. The diuretic activity of ethanol extracts of the leaves and bark of *F. angustifolia* and leaves and fruits of *P. lentiscus* was evaluated in albino rats by intragastric administration of doses of 100, 200 and 400 mg/kg body weight and measurement of urine volume and excretion of electrolytes (Na^+ , K^+ and Cl^-). After 8 hours of treatment, *F. angustifolia* extract (100 mg/Kg) showed a significant increase in the urinary volume and the concentration of Na^+ , K^+ and Cl^- . This increase is comparable to that of furosemide and seems to be far from any influence of prostaglandins, suggesting that *F. angustifolia* exerts its diuretic activity in a similar fashion to that exerted by loop diuretics. The ethanol extracts of *P. lentiscus* showed no significant increase in urinary volume after 8hours of treatment but dose of 200mg/kg for leaves and 400 mg /kg for fruits, caused a significant increase in ion secretion. The effect of these extracts appears to be close to that of thiazide diuretics.

These results suggest that *Fraxinus angustifolia* extracts may be considered as a source of potential natural compounds with diuretic activity.

Keywords: Diuretics, *Fraxinus angustifolia*, *Pistacia lentiscus*, Furosemide, thiazide.

تلخيص

تستخدم عادة فراكنوس انقوستفولية (من عائلة الدرداريات) و (بسطاشية لونتسكوس) من عائلة الصرديات لعلاج الأمراض المختلفة مثل الالتهاب و أمراض الكلى. من خلال داستنا هذه تم تجربة نشاط در البول لمستخلصات الإيثانول لكل من أوراق و لحاء فراكنوس انقوستفولية وأوراق و ثمار بسطاشية لونتسكوس على الجرذان البيضاء من خلال تقديم جرعات 100 و 200 و 400 (ملغ / كغ / وزن الفئران) عن طريق الفم و قد تم قياس كمية البول و شوارد الصديوم، البوتاسيوم و الكلور المفروزة.

بعد 8 ساعات من العلاج، أظهرت جرعة 100 (ملغ / كغ) لمستخلصات إيثانول فراكنوس انقوستفولية زيادة كبيرة في حجم البول وتركيز الصديوم، البوتاسيوم و الكلور. هذه الزيادة هي مماثلة لتلك التي أظهرها الفوروسيميد (مدر البول المستعمل كشاهد في التجربة). و يبدو من خلال تجربتنا أيضا ان نشاط هذه النبتة بعيد عن تأثير البروستاجلاندين ، مما يوحي بأن له نشاط مدر للبول مماثل لتلك التي من ثنية هنل .

لم تظهر مستخلصات إيثانول بسطاشية لونتسكوس زيادة كبيرة في حجم البول بعد 8 ساعات من العلاج، ولكن اظهرت جرعات 200 (ملغ / كغ) بالنسبة للأوراق و 400 (ملغ / كغ) بالنسبة للثمار افضل ارتفاع للإفراز الأيوني . تظهر التجربة ان تأثير هذه المستخلصات قريب من مدرات البول الثيازيدية . من خلال هذه النتائج يمكن اعتبار فراكنوس انقوستفولية كمصدر للمركبات الطبيعية ذات نشاط مدر للبول.

الكلمات الرئيسية : مدر للبول، فراكنوس انقوستفولية، بسطاشية لونتسكوس ، مدرات البول الثيازيدية ، مدرات البول لثنية هنل.