
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieure et de la recherche scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaïa

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie physico-chimique

Filière: Sciences biologiques

Spécialité: Pharmaco-toxicologie



جامعة بجاية
Tasdawit n Bgayet
Université de Béjaïa

Réf:.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme
Master

**Étude phytochimique et activités antioxydant et
antilithiasique de l'extrait méthanolique
d'*Asplenium Ceterach***

Présenté par: AISSAT SidAli & AIT HADJI Nassima

Soutenus le: 03 juillet 2024

Devant un jury composé de:

| | | |
|-------------------------|-------------------|----------------------|
| Mr BRIBI N | Professeur | Président |
| Mme BAKDI H | M.A.A | Examinatrice |
| Mme ABDERRAHIM S | M.C.A | Encadrante |
| Mme MEZAHM T | | Co-encadrante |

Année universitaire: 2023/2024

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant, pour nous avoir protégé, guidé et donné la volonté pour réaliser ce travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à Mme Abderrahim Sabiha de nous avoir encadré et aidé dans la réalisation de ce travail, ainsi pour son accueil chaleureux et ses conseils. Nous sommes profondément reconnaissants pour son dévouement, sa compréhension, et sa patience .

A cette même occasion nous tenons à remercier les professeurs : Mr Bribi N pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury et Mme Bakdi H pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail en dépit de leurs nombreuses autres obligations.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude à Mme Mezahem Tassadit pour sa collaboration à ce travail par ses encouragements et son enthousiasme, sa disponibilité, et pour ses efforts durant la réalisation de ce travail.

Ce travail n'aurait pas été possible sans le soutien permanent de nos familles et de nos proches qui ont toujours été là pour nous.

A tous ceux qui nous ont soutenus dans la réalisation de ce travail. Votre contribution a été essentielle et nous vous en sommes profondément reconnaissants.

Merci.

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes parents qui sont une source inépuisable d'inspiration et de soutien. Leur endurance et leur sacrifice sont des exemples qui me guident dans ma vie et mes études. Que dieu les protège.

Je souhaite également dédier ce travail:

A mon frère qui est un de mes plus grands soutiens

A mes camarades.

A tous mes enseignants.

Sidali

Dédicaces

C'est avec respect et gratitude que je dédie ce travail

A mes parents qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui, pour leurs soutien et encouragements tout au long de ma vie. Que Dieu vous bénisse et vous garde en bonne santé.

A mes frères Ziad et Salah, Je vous souhaite le meilleur.

A toute ma famille et mes proches

A mes amies

A tous mes enseignants

Nassima

Liste des abréviations

EOA: espèces oxygénées activées

ERO: espèces radicalaires (réactives) de l'oxygène

ADN: acide désoxyribonucléique

nm: nanomètre

DPPH: 2,2-DiPhenyl-1-PicrylHydrazyl

ABTS: Acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

IC₅₀: concentration inhibitrice à 50%

FRAP: Ferric Reducing antioxidant power

EAG: équivalent d'acide gallique

EQ: équivalent de quercétine

EC: équivalent de catéchine

I%: pourcentage d'inhibition

TPTZ: 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine

CaCl₂: chlorure de calcium

Na₂C₂O₄: Oxalate de sodium

Liste des tableaux

| N° | Titre | page |
|-----|---|------|
| I | Produits phénoliques identifiés dans les extraits méthanoliques d' <i>A. Ceterach</i> | 04 |
| II | Quelques classes de composés phénoliques et leurs effets pharmacologiques | 08 |
| III | Les principales espèces réactives de l'oxygène | 09 |
| IV | La teneur en composés phénoliques de la plante <i>A. ceterach</i> | 21 |
| V | Les IC50 des radicaux DPPH/ABTS, et l'acide ascorbique | 23 |

Liste des figures

| N° | Titre | Page |
|----|---|------|
| 01 | Effets biologiques des polyphénols | 06 |
| 02 | Anti-oxydants enzymatiques et non enzymatiques | 11 |
| 03 | Photographie de la plante <i>A.ceterach</i> (photo originale) | 14 |
| 04 | Carte géographique de la région de la récolte de la plante | 14 |
| 05 | Poudre obtenue après broyage et tamisage de la plante | 15 |
| 06 | Photo d'un tamiseur électrique | 15 |
| 07 | Allure générale de la courbe turbidimétrique sans inhibiteur | 19 |
| 08 | Effet scavenger du radical DPPH de l'extrait de la plante a différentes concentrations | 22 |
| 09 | Effet scavenger du radical ABTS de l'extrait de la plante a différentes concentrations | 22 |
| 10 | Capacité anti-oxydante de l'acide ascorbique | 23 |
| 11 | Pouvoir réducteur de l'extrait de la plante à différentes concentrations | 24 |
| 12 | Courbe turbidimétrique sans inhibiteur et avec différentes concentrations de l'extrait | 25 |
| 13 | Courbe turbidimétrique de l'acide citrique à différentes concentrations | 25 |
| 14 | Pourcentage d'inhibition de l'acide citrique et de l'extrait a différentes concentrations | 26 |

SOMMAIRE

| | |
|--|----|
| Liste des abréviations | |
| Liste des tableaux | |
| Liste des figures | |
| Introduction | 1 |
| Chapitre I: synthèse bibliographique | |
| I. Présentation de la plante <i>Asplenium Ceterach</i> | 2 |
| I.1.Généralités..... | 2 |
| I.2.Description botanique..... | 2 |
| I.3.Répartition géographique et habitat..... | 3 |
| I.4.Classification..... | 3 |
| I.5.Composition..... | 4 |
| I.6.Propriétés et usage thérapeutique..... | 4 |
| I.7.Effets toxicologiques de la plante..... | 5 |
| I.8.Préparation de formes galéniques..... | 5 |
| II. Polyphénols..... | 5 |
| II.1.Propriétés physico-chimiques..... | 5 |
| II.2.Rôle..... | 6 |
| II.3.1.Synthèse biochimique | 7 |
| II.3.2.Classification..... | 7 |
| II.4.Intérêt/Effet pharmacologique..... | 8 |
| III.Stress oxydatif et antioxydants..... | 8 |
| III.1.Définition..... | 8 |
| III.2.Les espèces réactives de l'oxygène..... | 9 |
| III.3.Principales cibles biologiques des EOA..... | 10 |
| III.4.Antioxydants..... | 11 |
| IV. Reins et lithiase urinaire..... | 12 |
| IV.1.Les reins..... | 12 |
| IV.2.Calculs rénaux..... | 12 |

| | |
|---|----|
| IV.3.Traitement à base de plantes des calculs rénaux..... | 13 |
| Chapitre II: Matériel et méthodes | |
| II.Matériel et méthodes..... | 14 |
| II.1.Matériel végétal..... | 14 |
| II.2.Méthodes..... | 14 |
| II.2.1.Séchage..... | 14 |
| II.2.2.Broyage et tamisage..... | 14 |
| II.2.3.Extraction..... | 15 |
| II.2.4.Dosage des composés phénoliques..... | 15 |
| II.2.4.1.Dosage des polyphénols totaux..... | 15 |
| II.2.4.2.Dosage des flavonoïdes..... | 16 |
| II.2.4.3.Dosage des tanins condensés..... | 16 |
| II.3.Évaluation de l'activité antioxydante..... | 16 |
| II.3.1.Effet scavenger du radical DPPH..... | 16 |
| II.3.2.Effet scavenger du radical ABTS..... | 17 |
| II.3.3.Pouvoir réducteur..... | 18 |
| II.4.Évaluation de l'activité antilithiasique..... | 19 |
| II.5.Analyse statistique..... | 20 |
| Chapitre III: Résultats et discussion | |
| III.1.Rendement d'extraction..... | 21 |
| III.2.Teneur en composés phénoliques..... | 21 |
| III.3.Évaluation de l'activité antioxydante..... | 21 |
| III.3.1.Activité scavenger du radical DPPH..... | 21 |
| III.3.2.Activité scavenger du radical ABTS..... | 22 |
| III.3.3.Pouvoir réducteur..... | 24 |
| III.4.Évaluation de l'activité antilithiasique..... | 25 |
| Conclusion | |
| Conclusion..... | 27 |
| Références bibliographiques | |
| Annexes | |

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la majorité des populations rurale et urbaine en Afrique et représentent le principal moyen par lequel les individus se soignent. Malgré les progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement (**Khan, 2014**).

A ce jour les plantes médicinales restent une source importante de molécules bioactives organiques permettant l'élaboration de nouveaux médicaments. Ces molécules sont appelées métabolites secondaires qui sont les terpènes, alcaloïdes, et les composés phénoliques (**Twaij et Hasan, 2022**).

L'Algérie, par la richesse et la diversité de sa flore, constitue un véritable réservoir phylogénétique, avec environ 4000 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires. Cependant, la flore médicinale algérienne reste méconnue jusqu'à nos jours, car sur les quelques milliers d'espèces végétales, seules 146 sont dénombrées comme médicinales (**Benmeddour, 2016**).

L'étude de la médecine traditionnelle et du traitement par les plantes est donc particulièrement intéressante car peu de travaux de recherche ont concerné cet aspect, et particulièrement l'espèce *Asplenium Cétérach* en phytothérapie. En effet, cette fougère est originaire d'Europe occidentale et centrale, avec une prédominance dans la région méditerranéenne, où elle est utilisée depuis l'Antiquité pour traiter la dysurie (difficulté et gêne lors de la miction) causée par l'accumulation d'oxalate de calcium dans le système urinaire formant des calculs. En outre, la plante brise-pierre est à la fois, diurétique et laxative, elle peut être utile dans le traitement en cas d'insuffisance rénale et contribue à réduire la pression artérielle. En tant que plante anti-inflammatoire, elle réduit les irritations et les spasmes des voies urinaires (**Wichtl et Anton, 2003**).

La présente étude, a pour objectif la contribution à la connaissance d'une plante endémique *Asplenium Cétérach*, très connue pour son effet antilithiasique par la population locale. C'est dans ce contexte qu'on a procédé à l'extraction et au dosage des composés phénoliques de cette plante ainsi qu'à l'évaluation de leurs activités biologiques.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.Présentation de la plante *Asplenium ceterach*

I.1. Généralités

Asplenium ceterach, appelée aussi *Ceterach officinarum* est une plante vivace à feuillage persistant, et pousse en touffe étalée, lorsque le soleil est trop ardent cette espèce se recroqueville pour limiter l'évaporation. Les écailles participent ainsi à une adaptation poussée contre la sécheresse .

Asplenium signifie en grec : splen [rate]; *Asplenon* fut donné par le médecin grec Dioscoride à des plantes connues pour leurs propriétés médicinales pour soigner la rate, et *ceterach* provient de l'arabe chetrak (**Preilly, 2001**).

I.2. Description botanique

A. ceterach est une fougère de la famille des *Aspleniaceae*, à feuilles persistantes, découpées en lobes, qui forme des rosettes denses de 5-15 cm de hauteur, à souche courte, épaisse et gazonnante (**Coste, 1911**).

- ✓ **Feuilles** : Elles sont astringentes en touffe, étalées, à pétiole court et couvert d'écailles, étroitement oblongues, à lobes courts, ovales-obtus, entiers ou crénelés, alternes, confluent, épais, glabres et verts en dessus, couverts en dessous d'écailles brillantes d'abord argentées puis roussâtres (**Coste, 1911 ; Coste, 1937**) ;
- ✓ **Fructifications** : disposées à la face inférieure des feuilles en sores allongés, droits, épars, placés obliquement sur la nervure médiane, dépourvus d'indusie (**Coste, 1937**).
- ✓ **Rhizome** : court est dressé, recouvert d'écailles brun foncé au centre à brun pâle à la marge, ovales-triangulaires, la marge est peu dentée (**Preilly, 2001**) ;
- ✓ **Fronde** : sont vert foncé à vert brunâtre après séchage, subglabres, et densément couvertes d'écailles brunâtres (**Preilly, 2001**) ;

I.3. Répartition géographique et habitat

Cette espèce végétale est originaire d'Europe occidentale et méditerranéenne, d'Afrique du nord et du sud-ouest de l'Asie. On la rencontre sur des sols humides à quasiment secs durant l'hiver, plutôt calcaires, mais aussi granitiques ou basaltiques jusqu'à 1000 mètres d'altitude (**Preilly, 2001**).

I.4. Classification

Selon la classification de Cronquist qui est basée sur les critères morphologiques, anatomiques et chimiques de la plante (**Cronquist, 1968**), on désigne :

Règne: Plantae

Sous-règne: Viridiplantae

Division: Tracheophyta

Classe: Polypodiopsida

Sous-classe: Polypodiidées

Ordre: Polypodiales

Famille: Aspléniacées

Genre: *Asplenium*

Espèce: *Asplenium ceterach*

I.5. Composition chimique

Seize composés phénoliques au total ont été identifiés chez la plante *A.ceterach* (Tableau I), ils appartiennent aux classes des acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques), des flavonoïdes (flavanes-3-ols, flavonols) et des xanthones (**Živković et al, 2017**).

Tableau I: Produits phénoliques identifiés dans les extraits méthanoliques d' *A.ceterach* (Živković et al, 2017)

| Famille | Composés |
|-------------------------------|--|
| Acides phénoliques et dérivés | -Acides hydroxybenzoïques (acide protocatéchique, acide gentisique, acide p-hydroxybenzoïque) - Acides hydroxycinnamiques (esculine, acide chlorogénique, acide caféique, acide p-coumarique, acide rosmarinique) |
| Flavonoïdes et dérivés | -Flavan-3-ols (gallocatéchine, épigallocatéchine, catéchine, épicatechine, gallate d'épigallocatéchine) - Flavonols (Rutine) |
| Xanthones | - Glucoside de mangiférine - Mangiférine |

I.6. Propriétés et usage thérapeutique

- *A. ceterach* a été utilisée pour guérir des maladies courantes en raison de ses propriétés purgatives et antibactériennes ou pour traiter les infections gastriques et rénales ; également utilisée comme diurétique, analgésique, et comme agents anti-inflammatoires (Ho et al, 2011).

- Elle était connue dans le traitement des calculs rénaux et comme spasmolytique (Malamas et Marselos, 1992).

En Inde, la famille des Aspleniacées est utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement de la gonorrhée, de la leucorrhée, comme antipyrétique, dans le traitement de l'éléphantiasis, émolliente dans la toux et les maladies pulmonaires, dans le traitement de la jaunisse, paludisme et dans l'élimination des calculs (Ho et al, 2011).

I.7. Effets toxicologiques de la plante

L'extrait méthanolique d'*A. cétérach* indique la présence des composés phytochimiques intéressants de différentes natures sans être cytotoxiques, la cytotoxicité a été évalué en se référant aux résultats des test de viabilité cellulaire, l'ajout des extraits méthanoliques d'*A. cétérach* a cinq lignée cellulaires ont montré un pourcentage de viabilité cellulaires de plus de 70 % (Farràs *et al*, 2022).

I.8. Préparations et formes galéniques

Plusieurs préparations et formes galéniques ont été employées dans la médecine traditionnelle à savoir :

- Les feuilles sont fumées pour guérir le rhume (Ho *et al*, 2011).
- Les feuilles et fleurs bouillies dans du vin, après refroidissement, la moitié ou une tasse de thé prise en interne (Malamas et Marselos, 1992).
- L'infusion, par macération de la plante entière dans l'eau, est un excellent diurétique par prise de 2 à 3 tasses par jour (Antonone *et al*, 1988).

II. Polyphénols

Les polyphénols sont un groupe de composés phytochimiques d'origine naturelle, qui sont présents en grande quantité dans les fruits, les légumes et les produits naturels (Vauzour, 2013). Ils sont issus du métabolisme secondaire des végétaux (Amiot *et al*, 2009), ils constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

Un polyphénol est une molécule qui possède plusieurs groupements phénols, c'est-à-dire un noyau aromatique sur lequel sont présents un ou plusieurs groupements hydroxyles (-OH) (Bennetau-Pelissero, 2014).

II.1. Propriétés physico-chimiques des polyphénols

Du fait de leur structure chimique, les polyphénols sont capables de piéger certaines espèces radicalaires et de chélater les métaux de transition (Fer et Cuivre), catalyseurs d'oxydation (Amiot *et al*, 2009).

II.2. Rôle des polyphénols

Les polyphénols possèdent des propriétés (Figure 02) antioxydantes et protectrices vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (**Amiot *et al*, 2009**). Ils ont des effets antiagrégants plaquettaires, antiinflammatoires, anti-allergènes, antitumorales et antithrombotiques. Ils ont également la capacité de moduler les processus hémostatiques, vasomoteurs, apoptotiques, prolifératifs et migratoires et finalement le remodelage vasculaire et l'angiogenèse (**Martin et Andriantsitohain, 2002**).

Les polyphénols jouent un rôle crucial dans le maintien des fonctions physiologiques normales des yeux et peuvent aider à réparer les tissus endommagés lors d'états pathologiques (**Feng et Zhang, 2023**).

Les polyphénols aident à prévenir ou à traiter un certain nombre de maladies, notamment certains types de cancer, des problèmes cardiovasculaires et neurologiques et des maladies métaboliques (**Aktas et Kurek, 2024**).

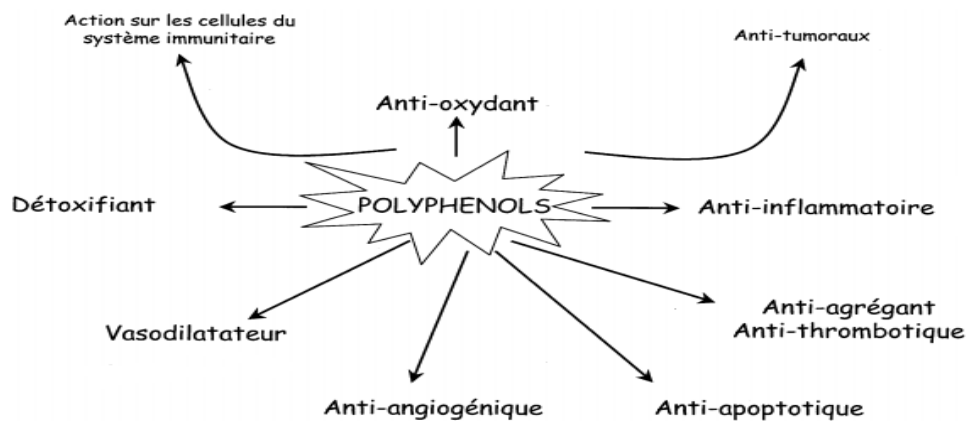


Figure 01: Effets biologiques des polyphénols (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

II.3.1.Synthèse biochimique des polyphénols

Les polyphénols sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques :

- La voie de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).
- La voie issue de l'acétate, qui conduit à des poly β -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphthoquinones (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

II.3.2.Classification des polyphénols

Les polyphénols sont une classe, de métabolites secondaires, constituée d'environ 8000 composés, et divisée en deux catégories principales, les flavonoïdes et les non flavonoïdes (**Vauzour, 2013**).

II.3.2.1. Flavonoïdes

Ils représentent environ 4000 composés, dont presque la moitié des polyphénols (**Lacaille-Dubois et Wagner, 1996**). Ils constituent le groupe le plus important de substances naturelles polyphénoliques de notre alimentation. Leurs structures se composent de deux cycles aromatiques de carbone formant un noyau benzopyrane (cycles A et C) et d'un noyau benzène (cycle B). Basé sur le nombre, la position et la nature des substituants des deux cycles aromatiques et du degré d'oxydation et de substitution de la position 3 du cycle C, les flavonoïdes peuvent être divisés en six sous-groupes : les flavonols, les flavones, les isoflavones, les flavanones, les flavanols et les anthocyanes (**Vauzour, 2013**).

II.3.2.2. Les acides phénoliques

Ils sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (acide hydroxybenzoïque et acide hydroxycinnamique) (**Wichtl et Anton, 2009**).

II.3.2.3. Les stilbènes

Le plus connu est le resvératrol, qui agit comme un puissant anti-inflammatoire, et son rôle dans la prévention et le traitement de maladies telles que les troubles cardiovasculaires, il est présent dans le raisin et dans le vin rouge (**Amiot et al, 2009**).

II.3.2.4. Les tanins

Ils sont des polyphénols de haut poids moléculaires qui sont principalement divisés en deux groupes : les tanins condensés, également connus sous le nom de proanthocyanidines et de tanins hydrolysables, également appelés tanins de pyrogallol (Farha et al, 2020).

II.3.2.5. Les lignanes

Ils sont moins répandus, suscitent un intérêt croissant pour leurs propriétés oestrogéniques (Amiot et al, 2009).

II.4. Intérêt/effet pharmacologique des polyphénols

Les propriétés pharmacologiques des polyphénols les plus importantes sont résumés dans le tableau II ci-dessous :

Tableau II: Quelques classes de composés phénoliques et leurs effets pharmacologiques (Bennetau-Pelissero, 2014).

| composé | Effet/activité |
|---|--|
| Quercétine(un flavonol) | Anti-inflammatoire et anti-oxydant |
| Procyanidine (famille des tanins) | Effet vasculo-protecteur |
| L'hespérétine | Neuroprotectrice, hypocholestérolémiant |
| l'apigénine(une flavone) | antioxydante et anti-inflammatoire |
| le resvératrol | anticancéreux |
| la génistéine (une isoflavone) | prévient les troubles de la ménopause et l'ostéoporose |
| la curcumine (un acide férulique du curcumine) | anticancéreuse |

III. Stress oxydatif et antioxydants

III.1.Définition du stress oxydatif

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières (Haleng et al, 2007), on peut dire aussi que c'est un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ERO) et les capacités cellulaires antioxydantes (Migdal et Serres, 2011).

III.2. Les espèces réactives de l'oxygène

Les ERO ont longtemps été considérées comme des sous-produits toxiques du métabolisme normal de l'oxygène et impliquées dans de nombreuses pathologies. Cependant, la production contrôlée de radicaux apparaît comme un mécanisme essentiel de la signalisation cellulaire qui participe au maintien de l'homéostasie de la cellule (**Migdal et Serres, 2011**).

A l'état physiologique, les ERO modulent des voies de signalisation participant ainsi à l'homéostasie vasculaire (**Maurent, 2017**).

Leurs rôles sont très complexes car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans des conditions normales, elles sont générées en faible quantité et jouent un rôle de messagers secondaires capables, notamment, de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription (**Haleng et al, 2007**).

Les macrophages, par la génération d'ERO, exercent leur action bactéricide. La production d'ERO est contrebalancée par l'existence de systèmes de détoxification (enzymatiques ou non-enzymatiques) qui régulent l'équilibre entre leur production et leur neutralisation par les antioxydants (enzymatiques et non-enzymatiques). Lorsque des circonstances physiopathologiques rompent cet équilibre (Tableau III), on parle alors de stress oxydant (**Maurent, 2017**).

Tableau III: les principales espèces réactives de l'oxygène (**Migdal et Serres, 2011**).

| | |
|--------------|----------------------|
| O_2^- | Anion superoxyde |
| H_2O_2 | Peroxyde d'hydrogène |
| OH^\cdot | Radical hydroxyle |
| RO_2^\cdot | Radical peroxyde |
| RO_2H | Hydroperoxyde |
| RO^\cdot | Radical alkoxyde |

III.3.Principales cibles biologiques des espèces réactives de l'oxygène

III.3.1. L'acide désoxyribonucléique

L'ADN est une cible privilégiée pour les ERO, entraînant ainsi des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique, peuvent être impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement (**Haleng et al, 2007**).

III.3.2. Les protéines

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des ERO. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, et des clivages de chaînes peptidiques. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique). Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire (**Haleng et al, 2007**).

III.3.3. Les lipides membranaires

Le radical hydroxyle est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés (AGPI). Il en résulte une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire (**Haleng et al, 2007**).

III.3.4. Les lipoprotéines

L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de LDL oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages. L'activité de ces récepteurs n'étant pas régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol, les macrophages se transforment petit à petit en cellules spumeuses (rôle important dans les premières étapes de l'athérosclérose) (**Nakajima et al, 2006**). En outre, ces LDL oxydées sont immunogènes et les immuns complexes formés peuvent activer la voie classique du complément et générer la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages (**Saad et al, 2006**).

III.4. Antioxydants

Un antioxydant est une molécule naturelle ou synthétique qui est capable d'inhiber l'oxydation d'autres molécules en intervenant à différents stades du processus d'oxydation (Figure 03). Il peut agir de différentes façons : piéger les composés qui initient la réaction radicalaire, piéger les ions métalliques tel que Fe^{2+} , neutraliser l'anion superoxyde pour éviter la formation de peroxydes, terminer la réaction de propagation dans la réaction radicalaire mise en place ou réduire la concentration en O_2 (Maurent, 2017).

Pour se protéger des effets délétères des ERO, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque ; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (Haleng et al, 2007).

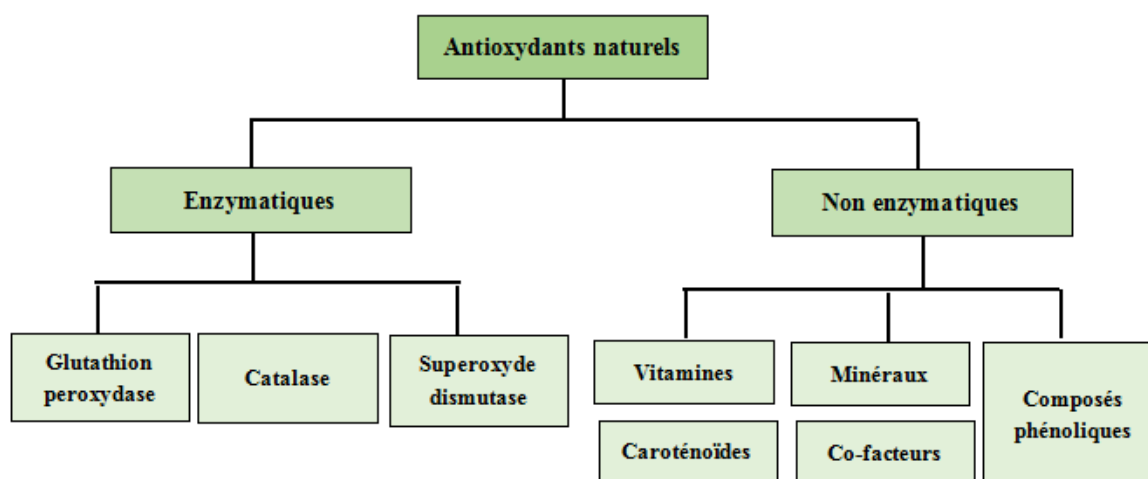


Figure 02: antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Maurent, 2017).

IV.Reins et lithiase urinaire

IV.1.Les reins

Le sang humain contient de l'eau et déchets du corps, les reins purifient le sang circulant et le convertissent l'excès d'eau et de déchets en urine.

Les reins sont des organes appariés situés rétropéritonéalement dans la région lombaire. Ils remplissent trois fonctions principales : maintien des fluides et de l'équilibre acido-basique ; l'élimination des déchets azotés, et la synthèse des hormones (**Akram et al, 2023**).

L'unité fonctionnelle du rein est le néphron, qui est constitué d'un corpuscule rénal, le tubule proximal, l'anse de Henle, le tubule distal et le canal collecteur. Le corpuscule rénal est constitué du glomérule et de la capsule de Bowman. Le plasma est filtré dans le glomérule pour former un ultrafiltrat sans protéines. L'anse de Henle participe à la multiplication à contre-courant de la concentration urinaire. Le tubule distal génère du liquide hypotonique dans la lumière tubulaire, provoquant une médullaire hypertonique interstitiel. Le canal collecteur joue un rôle important en sécrétion du potassium (K⁺), acidification urinaire et réabsorption d'eau en présence d'hormone antidiurétique (**Reddi et Kuppasani, 2008**).

IV.2.Calculs rénaux

Les calculs rénaux sont des dépôts (agrégats) de minéraux et de sels qui se forment dans les reins. Le plus souvent, les calculs rénaux sont principalement composés de calcium. Plus rarement, ils sont constitués d'acide urique (un sous-produit normal de l'urine) ou de cystine ou sont associés à des infections des voies urinaires (**Jama, 2022**).

IV.2.1. Cas pathologique et symptômes

Alors que les petits calculs rénaux peuvent passer librement dans le système urinaire, les calculs rénaux plus gros peuvent se loger dans l'uretère, qui est le tube qui transporte l'urine du rein vers la vessie. Les calculs rénaux symptomatiques provoquent généralement l'apparition soudaine de douleurs sévères au flanc ou au dos d'un côté du corps qui peuvent irradier vers l'aîne (colique néphrétique) et peuvent entraîner la présence de sang dans les urines, des douleurs à la miction, une augmentation de la fréquence des mictions, de la fièvre et des frissons, des nausées et des vomissements (**Jama, 2022**).

IV.3. Traitement à base de plantes des calculs rénaux

Les herbes et les médicaments à base de plantes sont utiles dans le traitement des calculs rénaux. Ces médicaments ont déclenché attention parmi les gens en raison de leurs avantages cliniquement validés, tels que l'immunomodulation, l'adaptogène et propriétés antimutagènes. En raison de l'abus de produits pharmaceutiques synthétiques et de la fréquence accrue des mauvaises réactions aux médicaments, les gens sont obligés de recourir à des thérapies naturelles. De nombreuses alternatives thérapeutiques ont été établies pour les calculs urinaires ces dernières années. Beaucoup de ces thérapies nécessitent une intervention chirurgicale, sont assez coûteuses et sont souvent indisponibles. Pour cette raison, la plupart des gens choisissent ou ne peuvent accéder qu'à des traitements traditionnels à base de plantes pour les calculs urinaires (**Akram et al, 2023**).

Chapitre II

Matériel et Méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétal

La plante *Asplenium Ceterach* (figure 03) a été récolté le mois de mars 2024 dans la région de Ath lahcen /Wilaya de Tizi Ouzou (figure 04).

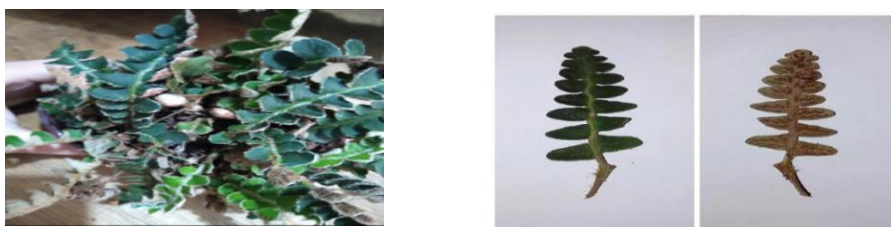


Figure 03: photographie de la plante *Asplenium ceterach* (photo originale)

(a) Plante entière ; (b) tige et feuilles vue de face et de derrière



Figure 04: carte géographique de la région de la récolte de la plante

II.2. Méthodes

II.2.1. Séchage

Après avoir bien lavé la plante, afin d'éliminer tous les contaminants. Le séchage a été effectué à température ambiante dans un endroit aéré et à l'abri de la lumière.

II.2.2. Broyage et Tamisage

Une fois séchée, l'échantillon obtenu a été broyé, La poudre ainsi obtenue est tamisée à l'aide d'un tamiseur électrique (figure 06) de diamètre de 250 μ m pour avoir une poudre fine et homogène (figure 05).



Figure 05: poudre obtenue après broyage et tamisage de la plante



Figure 06: photo d'un tamiseur électrique

✓ Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction est le rapport entre le poids de l'extrait obtenu et le poids initial de la plante utilisée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R = m_0 / m \cdot 100$$

D'où :

R : le rendement en %

m : la masse de l'extrait en mg ou g

m₀ : la masse initiale de la plante

II.2.3 Extraction par macération

Une quantité de 140 g de la poudre a été mélangée avec 1400ml de solvant d'extraction (méthanol), avec un rapport 1g de poudre dans 10 ml de solvant. Après 24 heures de macération, les mélanges ont été filtrés en utilisant du papier filtre wattman, puis placés dans un rotavapeur pour faire éliminer et évaporer le solvant, ensuite sont utilisés ultérieurement pour déterminer la teneur en composés phénoliques ainsi qu'à l'évaluation des activités antioxydante et antilithiasique (**Rostagno et Prado, 2013**).

II.2.4. Dosage des composés phénoliques

II.2.4.1. Dosage des polyphénols totaux

✓ Principe

Dosage des polyphénols en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif est constitué par un mélange d'acidephosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

✓ Mode opératoire

Un volume de 0,2 ml d'extrait est ajouté à 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu. Après 3 à 5 minutes, 0,8 ml de la solution de carbonate de sodium (7,5%) sont ajoutés. Après 2 heures d'incubation, l'absorbance est mesurée à 740 nm. La concentration en composés phénoliques de l'extrait, exprimée en μg d'extrait / mg équivalent d'acide gallique est déterminée en se référant à la droite d'étalonnage (annexe 1) (Wong et al, 2006).

II.2.4.2.Dosage des flavonoïdes

✓ Principe

Les flavonoïdes forment des complexes avec l'aluminium sous forme d'ions Al^{+3} après décomposition de chlorure d'aluminium. Les complexes formés sont responsables de l'absorption de la lumière dans le visible (Ribéreau-Gayon, 1968).

✓ Mode opératoire

Un volume de 1ml d'extrait est ajouté à 1ml du réactif de chlorure d'aluminium. Après 15 min d'incubation, l'absorbance est mesurée à 410 nm. La concentration en flavonoïdes de l'extrait, exprimée en μg d'extrait / mg équivalent de Quercétine, est déterminée en se référant à la droite d'étalonnage (annexe 2)(Quettier-Deleu et al, 2000).

II.2.4.3.Dosage des tanins condensés

✓ Principe

Le dosage des tanins condensés est basé sur la condensation des composés polyphénoliques (flavanes-3-ols) avec la vanilline en milieu acide (Price et al, 1978).

✓ Mode opératoire

Un volume de 1ml d'extrait est ajouté à 2ml du réactif de vanilline (solubilisation de 1 g de la vanilline dans 100 ml d'acide sulfurique (70%)). Après 20 min d'incubation dans un bain marie à 50°C, l'absorbance est mesurée à 500 nm. La concentration en tanins de l'extrait, exprimée en μg d'extrait / mg équivalent de catéchine, est déterminée en se référant à la droite d'étalonnage (annexe3)(Ba et al, 2010).

II.3. Évaluation de l'activité antioxydante

II.3.1. Effet «Scavenger» du radical DPPH

✓ Principe

Un antioxydant a la capacité de donner un hydrogène au radical synthétique DPPH· (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl) de coloration violette (forme oxydée) pour le réduire en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picryl hydrazine) de coloration jaune-verte (**Molyneux, 2004**).

✓ Mode opératoire

Un volume de 1ml d'extrait à différentes concentrations (10,20,30,50,100 µg/ml) est ajouté à 1ml de DPPH à 0.1mM. Après 20 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 517 nm (**Shirwaikar et al, 2006**).

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH· est exprimé par la formule suivante:

$$\% = [(A_{\text{témoin}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{témoin}}] \times 100$$

$A_{\text{témoin}}$: Absorbance du témoin (1ml de méthanol + 1ml de DPPH);

$A_{\text{échantillon}}$: Absorbance de l'extrait (1ml d'extrait + 1ml de DPPH).

II.3.2. Effet «Scavenger» du radical ABTS

✓ Principe

La méthode qui détermine l'activité « scavenger » du radical ABTS est basée sur la capacité d'un antioxydant à piéger le radical cationique ABTS^{•+} (2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) de coloration bleu verte en le transformant en ABTS-H⁺ incolore, par un don d'hydrogène (**Antolovich et al, 2002**). La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre.

✓ Mode opératoire

La solution du radical cationique ABTS^{•+} a été préparée en mélangeant 7 mM d'ABTS avec 2,45 mM de persulfate de potassium. Après 16 heures d'incubation la solution ABTS^{•+} a été diluée avec l'éthanol, afin d'obtenir une absorbance de 0,7±0,02 à 734 nm.

Un volume de 100µl d'extrait à différentes concentrations (100,125,200,500,1000µg/ml)est ajouté à 1.9 ml d'ABTS à0.1mM. Après 7 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 734 nm (**Le et al, 2007**).

Le pourcentage de l'activité scavenger du radical ABTS^{•+} est exprimé par la formule suivante :

$$\% = [(A_{\text{témoin}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{témoin}}] \times 100$$

$A_{\text{témoin}}$: Absorbance du témoin (ABTS^{•+});

$A_{\text{échantillon}}$: Absorbance de l'extrait (extrait + ABTS^{•+}).

- La molécule de référence utilisée est l'acide ascorbique.
- L'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50 %) : est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical (DPPH/ ABTS). Les IC₅₀ sont calculées par le logiciel origine 9 on utilisant la courbe de l'absorbance en fonction de différentes concentrations d'extrait.

II.3.3.Pouvoir réducteur

✓ Principe

La technique consiste à mesurer la capacité des extraits à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe ferrique-tripyridyltriazine (Fe³⁺-TPTZ) en fer ferreux (Fe²⁺), une couleur bleue intense avec un maximum d'absorption à 593 nm se développe (**Benzie et Strain, 1996**).

✓ Mode opératoire

Préparation de la solution FRAP en mélangeant 3 solutions: solution de TPTZ(2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) à 10mM, solution de chlorure de fer à 20mM, et tampon acétate de sodium à 300mM. Un volume de 750µl d'extrait est ajouté à150µl de méthanol, puis 2850µl de FRAP . Après 15 min d'incubation à 37°C, l'absorbance est mesurée à 593 nm. Les résultats sont exprimés en absorbances (**Thaipong et al, 2006**).

II.4.Évaluation de l'activité anti-lithiasique

✓ Principe

Le modèle d'étude que nous avons adopté est basé sur le principe de la turbidimétrie. La turbidimétrie est une méthode optique qui mesure le trouble (absorbance) qui existe dans une solution (Abdelmalek et al, 2001), dans notre cas elle permet le suivi de l'absorbance en fonction du temps lors de la cristallisation oxalo-calcique. La cristallisation avec ou sans inhibiteur a été étudiée à température ambiante, par spectrophotométrie à 620 nm (Djelloul et al, 2012).

La croissance cristalline comporte 3 phases (Abdelmalek et al, 2001)

- ❖ **Une phase de nucléation:** Un temps de latence durant lequel l'absorbance est presque nulle;
- ❖ **Une phase de croissance cristalline:** ascendante de forte croissance, linéaire sur une large partie de temps. Elle est caractérisée par un deuxième paramètre cinétique qui est la pente turbidimétrique;
- ❖ **Une phase d'agrégation:** caractérisée par une lente décroissance (figure 07).

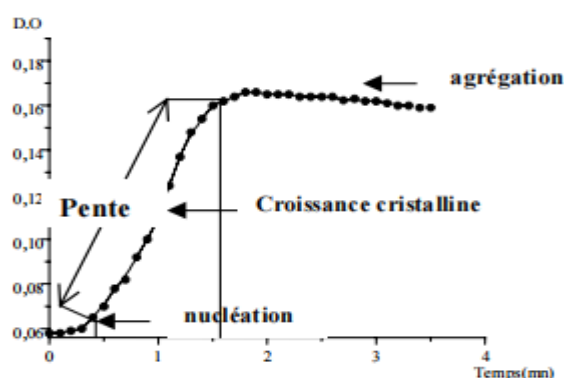


Figure07 : Allure générale de la courbe turbidimétrique sans inhibiteur (Abdelmalek et al, 2001)

Le % d'inhibition est exprimée par la formule suivante (Abdelmalek et al, 2001)

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

où PAI et PSI représentent respectivement les valeurs des pentes turbidimétriques avec et sans inhibiteur.

✓ Mode opératoire

❖ Test en absence d'inhibiteur

Un volume de 1ml de CaCl_2 (chlorure de calcium) (40mM) est placé dans une cuve, dans un spectrophotomètre et taré au zéro, ensuite 1ml de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (oxalate de sodium)(4mM) est ajoutée, la mesure de l'absorbance se fait chaque 6s pendant 10min.

❖ Test en présence d'inhibiteur

Avec la même méthode, 1ml de l'extrait à différentes concentrations (250 $\mu\text{g/ml}$;500 $\mu\text{g/ml}$;et 1 mg/ml), plus 1ml de CaCl_2 (40mM) est placé dans une cuve et taré à zéro, ensuite 1ml de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (4mM) est ajoutée, la mesure de l'absorbance se fait chaque 6s pendant 10min.

L'acide citrique est utilisé comme molécule de référence, avec différentes concentrations (250 $\mu\text{g/ml}$; 500 $\mu\text{g/ml}$; et 1mg/ml)(**Djelloul et al, 2012**).

II.5.Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats obtenus a été effectuée avec une analyse de variance à un facteur de classification (ANOVA) dans le but de déterminer les différences significatives entre les échantillons. Toutes les données représentent la moyenne de trois essais \pm écart type.

Chapitre III

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1 .Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction indique l'efficacité de la méthode d'extraction utilisée, l'extraction par épuisement en utilisant le méthanol a révélé un rendement d'extraction d'ordre de 31.13% qui est largement plus supérieur a celui obtenu par **Brahim et collaborateurs en 2020** qui ont utilisé une autre méthode qui est la décoction sous reflux pendant 24h dans le méthanol, et dont le rendement est d'ordre de 8%.

III.2. Teneur en composés phénoliques

La teneur en composés phénoliques (tableau IV) à été déterminée en se référant aux courbes d'étalonnages de: l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux, la Quercétine pour les flavonoïdes et la catéchine pour les tanins condensés.

Tableau IV: la teneur en composés phénoliques de la plante *A. Ceterach*.

| Polyphénols totaux | flavonoïdes | tanins |
|--------------------|-------------|-------------|
| 305.7±0.17 | 31.2±0.22 | 5.615±0.069 |
| µg/mg EAG | µg/mg EQ | µg/mg EC |

La teneur obtenue en polyphénols totaux est très élevée par rapport aux flavonoïdes et aux tanins, cela pourrait être expliqué par le fait que le Folin-Ciocalteu mesure à travers la réaction d'oxydoréduction tous les composés susceptibles de réduire le réactif (composés phénoliques, sucres réducteurs, acides aminés...etc.) présent dans l'extrait, donc ils faut des méthodes précises pour l'identification des composés d'intérêt (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

III.3. Évaluation de l'activité antioxydante

III.3.1. Activité «scavenger» du radical DPPH

L'activité scavenger du radical DPPH montre une activité anti-radicalaire dépendante de la concentration, il a été constaté qu'à chaque fois que la concentration augmente, le pourcentage d'inhibition augmente également (figure 08), par exemple à la concentration 10µg/ml de l'extrait étudié, nous avons obtenu un pourcentage d'inhibition d'ordre de 33.23% ±2.17% et lorsque la concentration à augmenter à 100µg/ml le pourcentage d'inhibition à augmenter aussi pour atteindre 84.13%±2.17%.

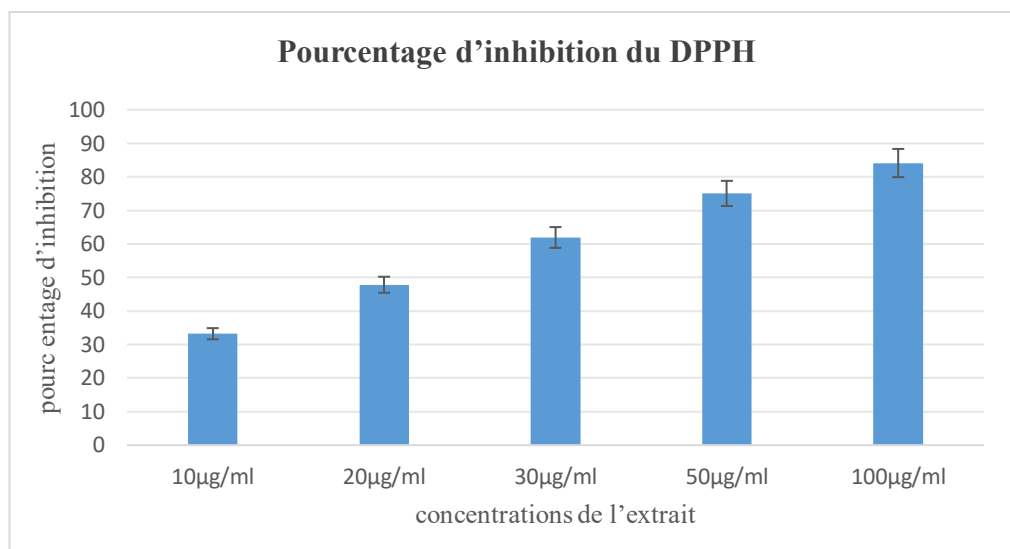


Figure 08: Effet scavenger du DPPH de l'extrait de la plante à différentes concentrations.

III.3.2. Activité «scavenger» du radical ABTS

Les résultats montrent que l'extrait méthanolique de notre plante a un effet Anti-radicalaire assez puissant contre le radical ABTS , effet concentration dépendant, (figure 09), avec une activité de 28.95%±3.04% pour la concentration minimale (100µg/ml), et 88.94%±3.04% pour la concentration maximale (1mg/ml).

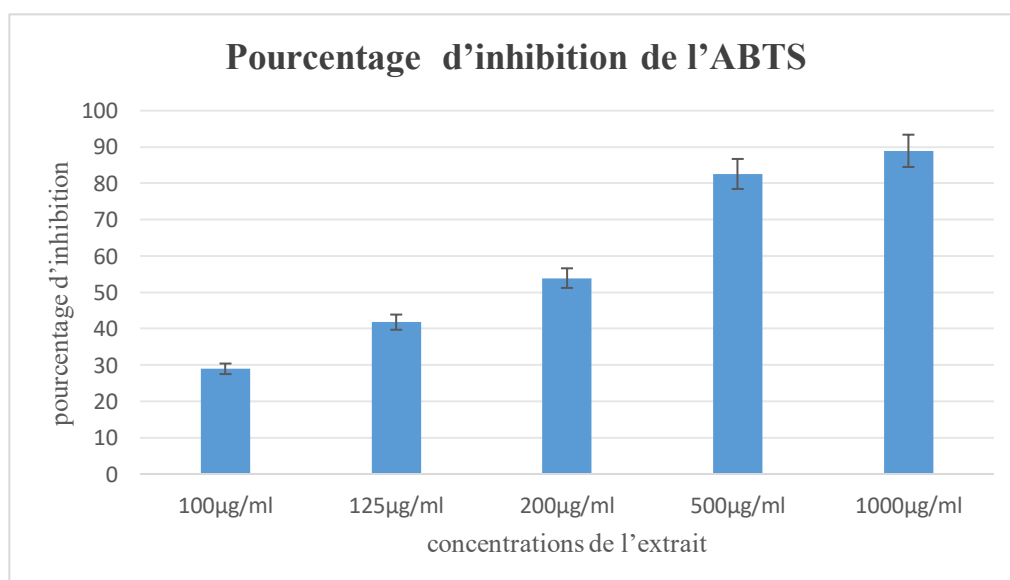


Figure 09: Effet scavenger de l'ABTS de l'extrait de la plante à différentes concentrations.

Étant la molécule de référence, l'acide ascorbique a donné un très bon effet antioxydant (figure 10). L'extrait a montré une capacité à piéger les radicaux DPPH (33.23 % pour une concentration minimale de 10µg/ml) et ABTS (28.95% pour une concentration minimale de 100µg/ml) intéressante mais inférieure à celle obtenue avec l'acide ascorbique qui a donné un pourcentage d'inhibition de 45.86% pour une concentration minimale de 5µg/ml.

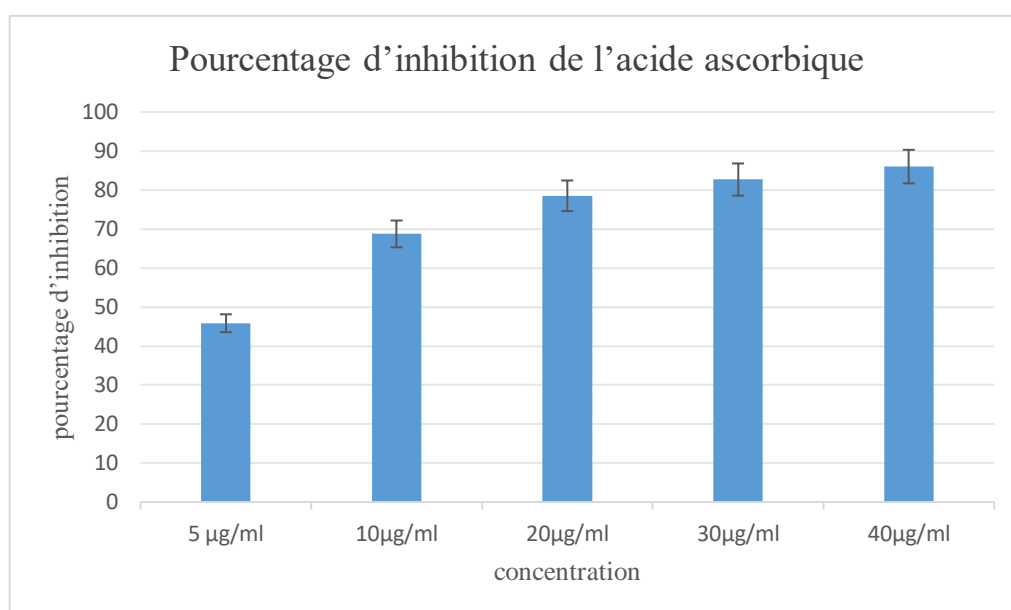


Figure 10: Capacité antioxydante de l'acide ascorbique

Les IC₅₀ des différentes molécules sont illustrées dans le tableau V.

L'IC₅₀ de l'acide ascorbique qui est de 5.598µg/ml (tableau V) est largement inférieur à celle notre extrait, donc on conclut que l'acide ascorbique présente la plus grande activité anti-radicalaire par rapport à l'extrait d'*A. ceterach*.

Tableau V: les IC₅₀ des radicaux ABTS / DPPH, et l'acide ascorbique.

| Molécule | DDPH | ABTS | Acide ascorbique |
|------------------|-------------|--------------|------------------|
| IC ₅₀ | 20.968µg/ml | 173.794µg/ml | 5.598µg/ml |

Il a été constaté que l'extrait méthanolique d'*A.ceterach* a donné une valeur d'IC₅₀ de l'ordre de 20.968 µg/ml qui est largement supérieure à celle obtenue avec les extraits méthanoliques d'*Asplenium aethiopicum* dans les travaux réalisés par **Marimuthu et collaborateurs 2014** et qui est de l'ordre de 91.4 µg/mL, de même pour l'extrait d'acétone qui a donné une IC₅₀ de 99,8 µg/mL. Sachant que, le pouvoir antioxydant est inversement proportionnel à la valeur de l'IC₅₀.

III.3.3. Pouvoir réducteur

Les résultats représentés dans la figure 11 montrent que la capacité de réduction exprimé en absorbance, est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de l'échantillon (pouvoir réducteur augmente avec l'augmentation de la concentration).

A la concentration de 100 µg/ml, l'extrait méthanolique étudié a démontré un fort pouvoir réducteur avec une absorbance de 0.8 ± 0.49 .

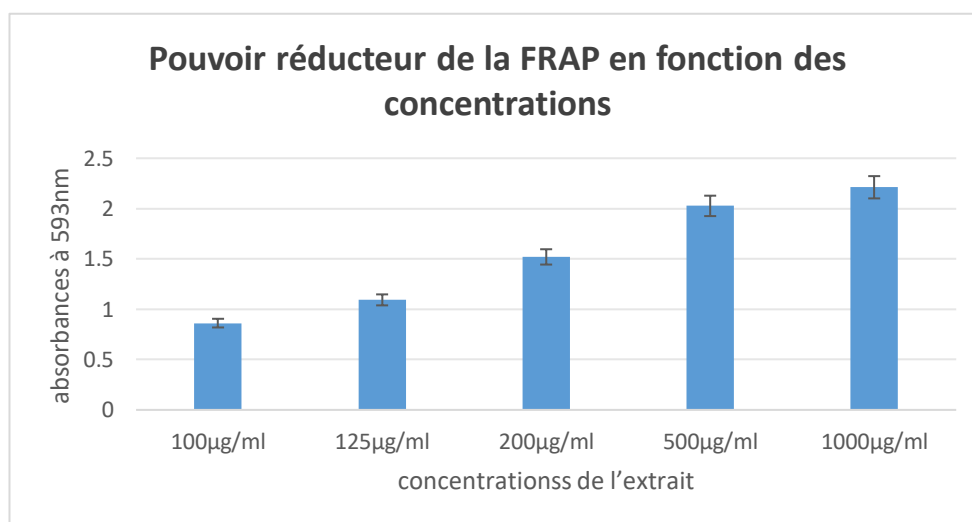


Figure 11: pouvoir réducteur de l'extrait de la plante à différentes concentrations.

III.4. Activité anti-lithiasique

En absence d'inhibiteur (SI), l'activité antilithiasique n'a donné aucun effet sur les cristaux oxalo-calciques (figure 12).

En présence d'inhibiteurs, extrait méthanolique (E) et acide citrique (AC), on observe une inhibition de la formation des cristaux dépendante de la concentration (figures 12 et 13), proportionnelle à l'augmentation de la concentration, c'est à dire que plus la concentration augmente, plus l'inhibition est forte, et elle est inversement proportionnelle vis-à-vis vis de la turbidité, plus l'inhibition est forte, moindre sera la turbidité ce qui sera reflété par la diminution de l'absorbance , et moins l'absorbance.

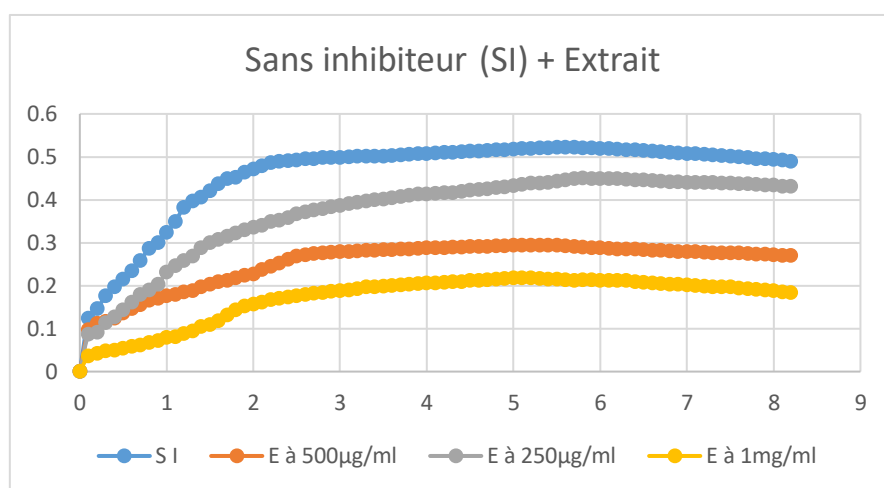


Figure 12: courbe turbidimétrique sans inhibiteur (SI), et avec différentes concentration de l'extrait

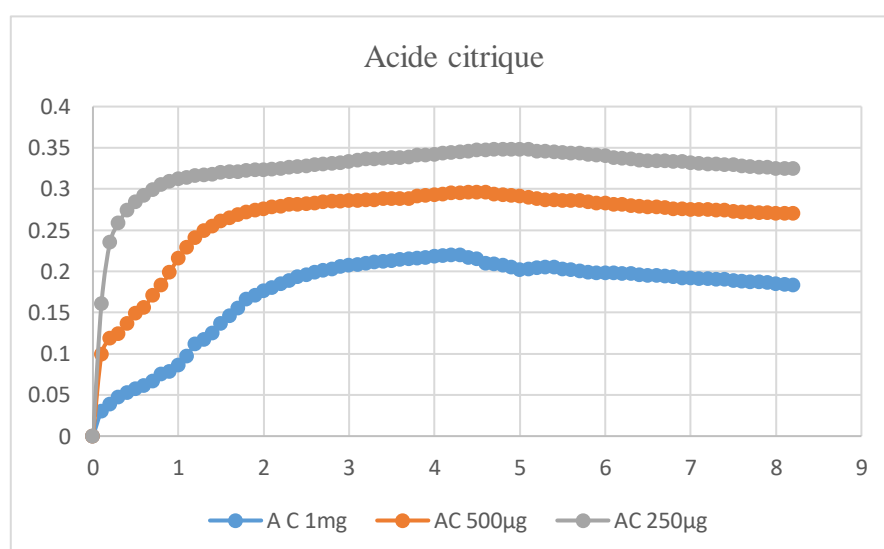


Figure 13: courbe turbidimétrique de l'acide citrique à différentes concentrations.

Il a été observé, au cours de cette étude, à faible concentration (250µg / ml) l'extrait méthanolique d'*A. ceterach* a montré un pourcentage d'inhibition de 32.32% qui est supérieur à celui du standard acide citrique qui est de 31% à la même concentration. De même, à la concentration de 1 mg/ml l'extrait étudié a exhibé une valeur de 95.52% par rapport à l'acide citrique qui a révélé un pourcentage d'inhibition de 89.85%.

Étant donné que les pourcentages d'inhibition obtenus au cours de la présente étude (figure 14) sont supérieurs à ceux de la molécule de référence, l'acide citrique, on peut conclure ainsi que l'activité antilithiasique de la plante *A. ceterach* est très efficace.

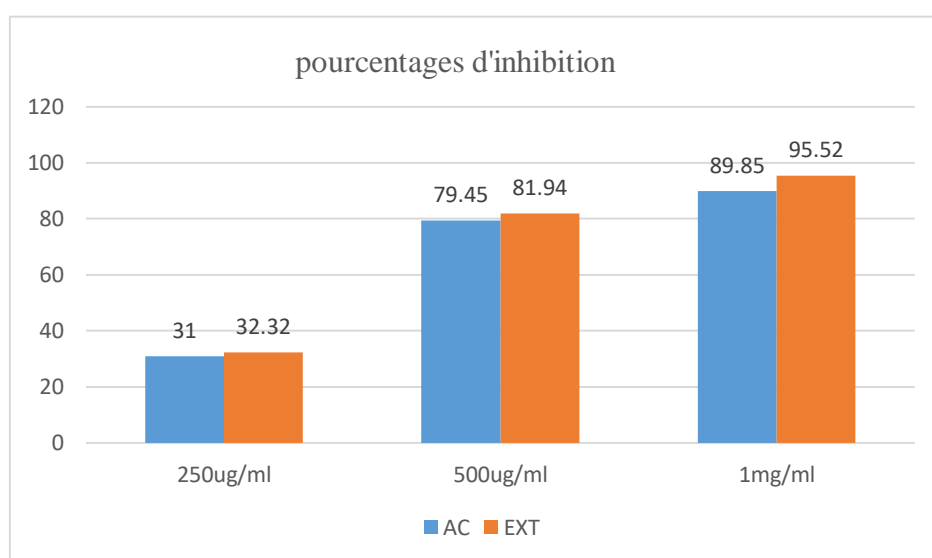


Figure 14: pourcentages d'inhibition de l'acide citrique et de l'extrait à différentes concentrations

Les pourcentages d'inhibition obtenus, indiquent l'efficacité et l'ampleur de l'action des extraits testés sur les calculs urinaires.

Par comparaison aux travaux effectués par **Sasidharan et collaborateurs en 2018** réalisés sur *Scoparia dulcis* Linn appartenant à la même division (Tracheophyta) que l'espèce *A. ceterach* qui ont donné les pourcentages d'inhibition de 50.22 % et 66.96% avec les extraits alcooliques et aqueux respectivement à la concentration de 1mg/ml, l'extrait méthanolique testé au cours de cette étude a révélé un pourcentage d'inhibition le plus efficace avec une valeur de 95.52 %.

Conclusion
Et
Perspectives

Conclusion

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses vertus et propriétés thérapeutiques grâce à sa composition en molécules bioactives, parmi ces plantes on cite

A. cétérach qui est une plante médicinale utilisée traditionnellement depuis les temps anciens sous forme d'infusion ou décoction afin de traiter quelques maladies comme la diarrhée, calculs rénaux, troubles de la prostate et troubles gastros intestinaux.

La présente étude a été réalisée afin d'évaluer la teneur en composés phénoliques de cette plante, et d'évaluer leurs activité antioxydante (vis à vis des radicaux DPPH, ABTS et pouvoir réducteur), ainsi que leurs activité anti-lithiasique (inhiber la formation des cristaux oxalo-calciques).

Un rendement d'extraction d'ordre de 31.13% a été obtenu par macération. Le dosage des composés phénoliques totaux par la méthode au Folin-Ciocalteu montre une teneur de polyphénols totaux de $305.7 \pm 0.17 \mu\text{g}/\text{mgEAG}$, suivie de $31.2 \pm 0.22 \mu\text{g}/\text{mgEQ}$ pour les flavonoïdes dosés par la méthode au chlorure d'aluminium, et $5.615 \pm 0.069 \mu\text{g}/\text{mgEC}$ concernant les tanins dosés en utilisant le réactif de vanilline.

La mesure de l'activité anti-radicalaire, qui a été testée par les méthodes DPPH et ABTS exprimée en pourcentage d'inhibition, a révélé que le pourcentage d'inhibition de l'extrait vis-à-vis de :

- ✓ DPPH est de $84.13\% \pm 2.17\%$ à une concentration $100 \mu\text{g}/\text{ml}$;
- ✓ ABTS est de $88.94\% \pm 3.04\%$ à une concentration de $1000 \mu\text{g}/\text{m}$;
- ✓ Pouvoir réducteur a une capacité réductrice proportionnelle à la concentration.

Selon les résultats obtenus dans cette étude, nous pouvons constater que l'extrait méthanolique de notre plante à une bonne activité antioxydante et une capacité assez importante à piéger les radicaux libres.

L'activité anti-lithiasique a été testée par méthode turbidimétrique ce qui a permis le suivi de la cinétique de cristallisation oxalo-calcique, en absence d'inhibiteur, en présence d'acide citrique, et en présence d'extrait à différentes concentrations, ce qui a révélé un pourcentage d'inhibition maximal de l'ordre de 95.52% pour une concentration de 1mg/ml.

Au terme de ce travail, on peut conclure que l'extrait méthanolique d'*A. cétérach* est riche en molécules naturelles bioactives, possédant ainsi de fortes activités antioxydante et anti-lithiasique.

En perspective, afin de compléter et d'enrichir ce travail, il serait intéressant d'approfondir les recherches sur les propriétés pharmacologiques de cette plante, et de réaliser d'autres tests *in vitro* et *in vivo* pour évaluer d'autres propriétés antioxydantes et anti-lithiasique.

Références bibliographiques

- Abdelmalek F, Harrache D, Addoum S, Semmoud A, (2001). Étude par turbidimétrie de la cristallisation oxalo-calcique en présence de quelques inhibiteurs. *Phys. Chem. News*, 4 : 96-107.
- Akram M, Fiza A, Saman I, Qanta A, Ayesha N, Nimra S, Syed SA (2023) Herbal Treatment of Kidney Stones.
- Aktas H, Kurek M A, (2024). Deep eutectic solvents for the extraction of polyphenols from food plants . *Food Chemistry*, 444; 138629.
- Amiot M J, Riollet C , Landrier J F, (2009). Polyphénols et syndrome métabolique. *Médecine des maladies Métaboliques*.Vol. 3 - N°5.
- Antolovich M, Prenzler P, Patsalides E, McDonald S, Robards K, (2002). Methods for testing antioxidant activity.The Royal Society of Chemistry.*Analyst*, 127; 183–198.
- Antonone R, De Simone F, Morrica P, Ramundo E, (1988). Traditional phytotherapy in the Roccamonfina volcanic group, Campania, Southern Italy. *Journal of Ethnopharmacology*, 22(3), 295–306.
- Benmeddour T, (2016). Etude de l'activité biologique de quelques espèces végétales dans la région de Aurés et au nord du Sahara algérien.
- Bennetau-Pelissero C, (2014). Polyphénols et voies de signalisation, données récentes. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 49;151—159.
- Benzie Iris F F, Strain J J, (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power : The FRAP Assay. *Analytical biochemistry*, 239, 70–76.
- Brahim A, Braiki D, Mebrouk S, (2020). Études des activités antioxydants et antimicrobiennes d'Asplenium ceterach.Université Ibn Khaldoun-Tiaret.
- Ba K, Tine E, Destain J, Cissé N, Thonart P (2010). Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnol agron soc environ* 14(1): 131-139.
- Coste. H, (1937). *La flore de la France*, tome3, taxon 4274.
- Coste. H, (25 décembre 1911). *Plantes médicinales des environs de Millau*. Le messager de Millau.
- Cronquist A, (1968). *The Evolution and Classification of Flowering Plants*.

Références bibliographiques

- Djelloul A, Driouch F, Taleb Z, Kaid-Omar A, Semmoud I, (2012). Experimental design study on the combined effect of citrate–pyrophosphate and citrate–aluminum on calcium oxalate monohydrate crystallization. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineerig* , Pages 328-336.
- Farha A K, Yang Q Q, Kim G, Li H B, Zhu F, Liu H Y, Gan R Y, Corke H, (2020). Tannins as an alternative to antibiotics. *Food Bioscience*, 38.
- Farràs A, Mitjans M, Maggi F, Caprioli G, Vinardell M, López V, (2022). Exploring wild Aspleniaceae ferns as safety sources of polyphenols: The case of *Asplenium trichomanes* L. and *Ceterach officinarum* Willd . *The journal Frontiers in Nutrition (Sec. Food Chemistry)*,9.
- Feng J, Zhang Y, (2023).The potential benefits of polyphenols for corneal diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*,169 ; 115862.
- Haleng J, Pincemail J, Defraigne J O , Charlier C , Chapelle JP, (2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege* , 62 ; 10 ; 628-638.
- Ho R, Teai T, Bianchini J P, Lafont R, Raharivelomanana P, (2011). Ferns: From Traditional Uses to Pharmaceutical Development. *Chemical Identification of Active Principles. Working with Ferns*,Springer, New York, NY, pp. 321–346.
- Jama Walter K, (2022). *Kidney Stones*, 328 (9); 898.
- Khan H, (2014). Medicinal plants in light of history recognized therapeutic modality.
- Lacaille-Dubois MA, Wagner H, (1996). Importance pharmacologique des dérivés polyphénoliques. *Acta Botanica Gallica*, 143:6, 555-562.
- Le K, Chiu F, Ng K, (2007). Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chem.* 105(1): 353-363.
- Malamas M, Marselos M, (1992). The tradition of medecinal plants in Zagori, Epirus (northwestern greece). *Journal of ethnopharmacology* , 37:197-203.
- Marimuthu Alias Antonysamy J, Janarthanan G, Arumugam S, Narayanan J, Mani N, (2014). Antioxidant, Larvicidal, and Cytotoxic Studies on *Asplenium aethiopicum* (Burm. f.) Becherer. *Int Sch Res Notices*, 876170.
- Martin S, Andriantsitohaina S, (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 51: 304–315.

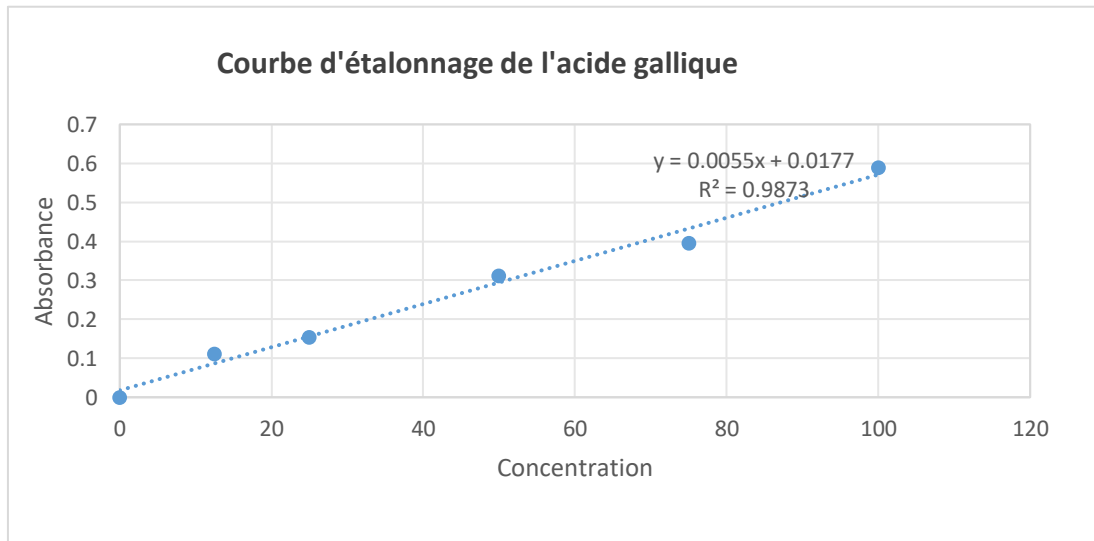
Références bibliographiques

- Maurent K, (2017). Synthèse de composés phénoliques de type diarylheptanoïde : évaluation de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Chimie organique. Université Paul Sabatier - Toulouse III
- Migdal C, Serres M, (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. médecine/sciences, 27 ; 405-12.
- Molyneux P, (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol, 26(2) ;211-219.
- Nakajima K, Nakano T, Tanaka A, (2006). The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta*, 367; 36-47.
- Preilly R, (2001). Les fougères et plantes alliées de France et d'Europe occidentale .Ed Belin, p431.
- Price ML, Van Scoyoc S, Butler LG, (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J Agric Food Chem*, 26; 1214–1218.
- Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseur J, Dine T, Brunet C, Luyckx M, Cazin C J, Cazin C, Bailleul F, Trotin F,(2000). Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *J Ethnopharmacol*. 72(1-2): 35-42.
- Reddi A S, Kuppasani K, (2008). Kidney Function in Health and Disease. (eds) Nutrition in Kidney Disease Nutrition and Health. Humana Press.
- Ribéreau-Gayon P, (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Editions Dunod Paris, pp254.
- Rostagno, M A, Prado J. M, (2013). Natural product extraction: principles and applications, R. Soc. Chem
- Saad A, Virella G, Chassereau Ch, (2006). OxLDL immune complexes activate complement and induce cytokine production by MonoMac 6 cells and human macrophages. *J Lipid Res*, 47; 1975-1983.
- Sasidharan H, Mallya SV, Suchitra P, Kumar KNS, (2018). In-vitro evaluation of *Scoparia dulcis* Linn for anti-urolithiatic activity. *J Phytopharmacol* , 7(3)2; 85-287.

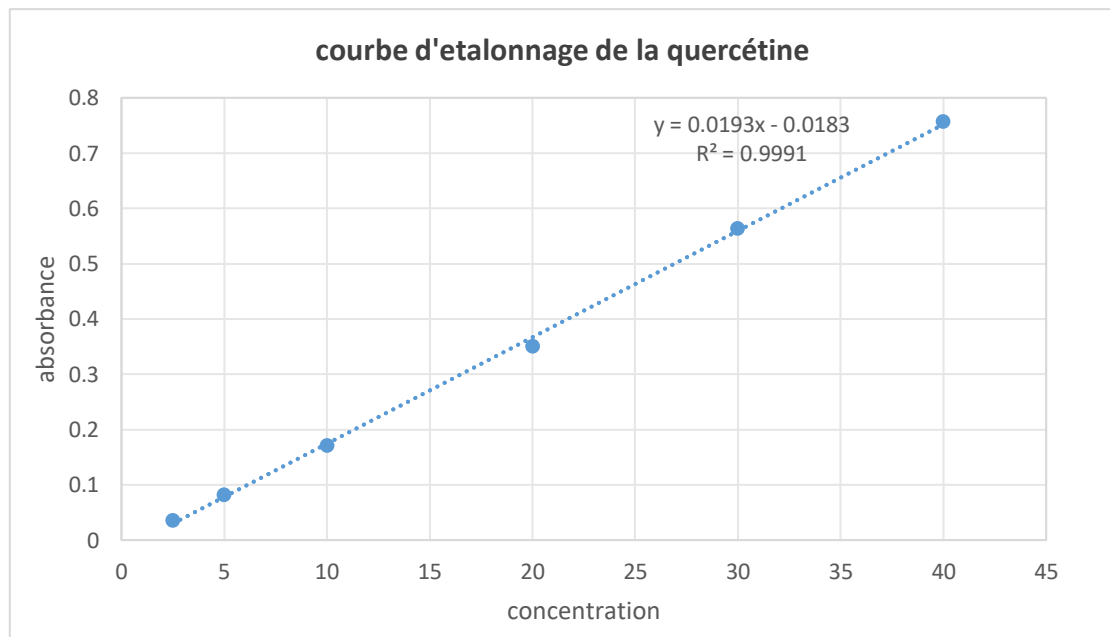
Références bibliographiques

- Shirwaikar A, Rajendran K, Punitha I S R, (2006). In vitro antioxidant studies on the benzyl tetra isoquinoline alkaloid berberine. *Biol. Pharm. Bull.* 29(9): 1906-1910.
- Twaij B M, Hasan M N, (2022). Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. *Int J Plant Biol*, 13; 4–14.
- Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne D H, (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J Food Compost Anal.* 19(6-7): 669-675.
- Vauzour D, (2013). Polyphénols et neuroprotection : où en sommes-nous aujourd'hui ?. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 49; 181—187.
- Wichtl M, Anton R, (2009). Plantes thérapeutiques- tradition, pratique officinale, science pharmacologique des dérivés polyphénoliques. *Acta Botanica Gallica*, 143:6; 555-562.
- Wichtl M, Anton R,(2003). Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, Ed. TEC & DOC.
- Wong C C, Li H B, Cheng K W, Chen F, (2006). A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay *Food chem.* 97(4): 705-711.
- Živković S, Skorić M, Šiler B, Dmitrović S, Filipović B, Nicolić T, Mišić D, (2017). Phytochemical characterization and antioxidant potential of rustyback fern (*Asplenium ceterach*. L) .*Lekovite Sirovine*, vol. 37.

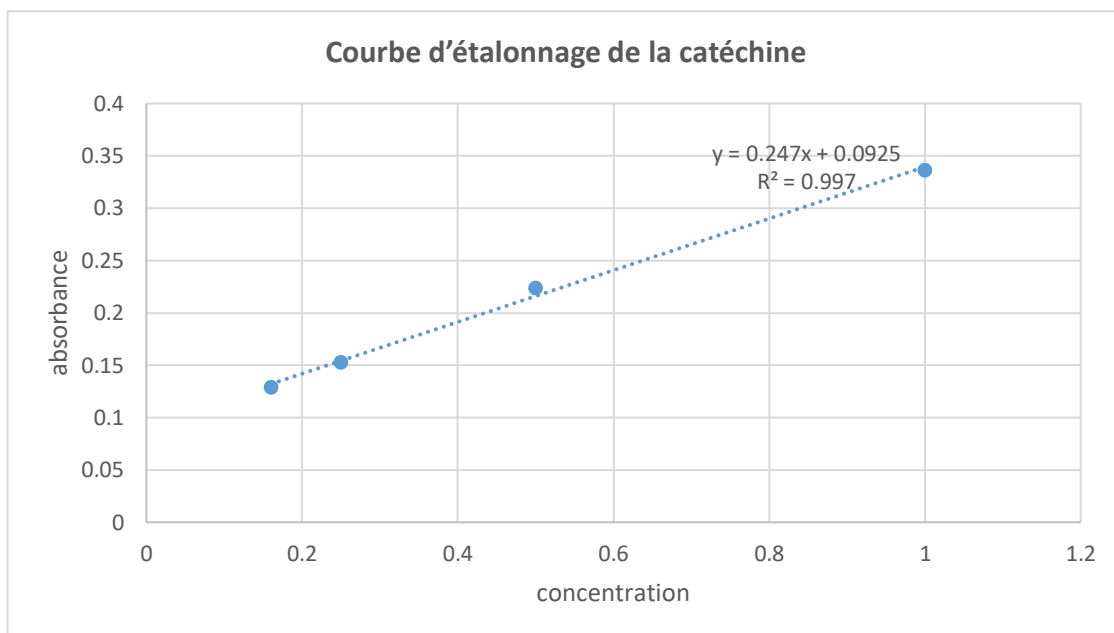
ANNEXES



Annexe 01: courbe d'étalonnage de l'acide gallique



Annexe 02: courbe d'étalonnage de la quercétine



Annexe 03: courbe d'étalonnage de la catéchine

Résumé

La plante *Asplenium Ceterach* est une fougère appartenant à la famille des aspleniaceées, utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs maladies. L'objectif principal de ce travail est l'étude phytochimique et l'évaluation des activités biologiques de l'extrait méthanolique de cette plante. La présente étude s'articule autour de plusieurs axes.

En premier, nous nous sommes intéressés au dosage des composés phénoliques par spectrophotométrie, l'extrait analysé possède une richesse et une diversité dans sa composition chimique (polyphénols, flavonoïdes, ..). En deuxième axe, les activités antioxydantes ont été déterminées, *in vitro*, à travers les tests d'évaluation suivants : piégeage du radical DPPH, piégeage du radical ABTS, et pouvoir réducteur. L'extrait présente une activité antioxydante importante qui est en relation directe avec les teneurs en composés phénoliques. Enfin, l'activité antilithiasique a été évaluée par la méthode turbidimétrique, l'extrait de la plante *Asplenium Ceterach* a présenté un effet intéressant dans l'inhibition de la formation des cristaux oxalo-calciques .

Mots clés: *Asplenium Ceterach*, composés phénoliques, activité antioxydante, activité antilithiasique, turbidimétrie.

Abstract

Asplenium Ceterach is a fern belonging to the Aspleniaceae family, used in traditional medicine for the treatment of several diseases. The main objective of this work is the phytochemical study and the evaluation of the biological activities of the methanolic extract of this plant. This study is structured around several axes.

First, we were interested in the dosage of phenolic compounds by spectrophotometry, the extract analyzed has a richness and diversity in its chemical composition (polyphenols, flavonoids, etc.). In the second axis, the antioxidant activities were determined, *in vitro*, through the following evaluation tests: trapping of the DPPH radical, trapping of the ABTS radical, and reducing power. The extract presents a significant antioxidant activity which is directly related to the contents of phenolic compounds. Finally, the anti-lithiasis activity was evaluated by the turbidimetric method, the extract of the *Asplenium Ceterach* plant presented an interesting effect in inhibition of the formation of oxalo-calcium crystals.

Key words: *Asplenium Ceterach*, phenolic compounds, antioxidant activity, antilithiasis activity, turbidimetry.

ملخص

نبات *Asplenium Ceterach* هو سرخس ينتمي إلى عائلة aspleniaceae ، يستخدم في الطب التقليدي لعلاج العديد من الأمراض. الهدف الرئيسي من هذا العمل هو الدراسة الكيميائية النباتية وتقييم الأنشطة البيولوجية لمستخلص الميثانوليك لهذا النبات. تم تنظيم هذه الدراسة حول عدة محاور.

أولاً، نحن مهتمون بمقاييسات المركبات الفينولية عن طريق القياس الطيفي، المستخلص المحلل له ثراء وتنوع في تكوينه الكيميائي (البوليفينول، الفلافونويد، ...)

في المحور الثاني، تم تحديد الأنشطة المضادة للأكسدة، في المختبر، من خلال اختبارات التقييم التالية: محاصرة جذور DPPH، ومحاصرة جذور ABTS ، وتحليل القوة. يحتوي المستخلص على نشاط مهم مضاد للأكسدة يرتبط ارتباطاً مباشراً بمستويات المركبات الفينولية. أخيراً، تم تقييم النشاط المضاد للحجارة من خلال الطريقة التوربيدية، وقدم مستخلص نبات *Asplenium Ceterach* تأثيراً مثيراً للاهتمام في تثبيط تكوين بلورات الأوكسالو والكالسيوم.

الكلمات الرئيسية: *Asplenium Ceterach*، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للحصى، القياس التوربيدي.