

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira –Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique



Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Pharmaco-toxicologie

Thème

*Effet in-vitro de l'extrait éthanolique des composés
phénoliques de Fumaria agraria sur les calculs
rénaux*

Élaboré par

HAMZA Ghozline

TABET Lina

Composition du jury

Dr BOUDAOUAD-OUAHMED H.

Présidente (MCB. Université de Bejaia)

Dr HAMADACHE N.

Examinatrice (MAA. Université de Bejaia)

Dr BOUGOFFA-SADAOUI K.

Promotrice (MCA. Université de Bejaia)

Année Universitaire : 2023-2024

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout-puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce travail.

Nous tenons à remercier chaleureusement notre promotrice Dr. BOUGOFFA-SADAoui qui a consacré beaucoup de son temps à notre disposition on la remercie pour son aide, son encadrement et ses conseils précieux, nous sommes reconnaissantes pour son travail acharné et pour avoir joué un rôle crucial dans notre travail.

Nous remercions également l'honorable jury qui a bien voulu examiner notre travail.

Nous exprimons nos vifs remerciements pour Mr Khaled GUENDOUL pour sa contribution, ses explications, ses astuces et son précieuse aide mais surtout pour sa présence.

Nous remercions également Mr ZAIDI Sid-Ali pour son aide.

Nos profondes gratitudee et remerciement pour l'ingénieur du Laboratoire Biologie physico-chimique Mme SAHEB qui a également participé à ce travail

A tous nos enseignants sans exceptions qui nous ont enrichis de connaissances en particulier Mme Kadji, et Mme Rahmani.

Nous remercions nos amis, nos camarades et toutes personnes qui ont participé à la réalisation de notre projet de fin de graduation de près ou de loin

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à toutes les personnes qui ont contribué à son aboutissement.

À mes chers **parents et unique frère**, pour leur soutien inconditionnel, leurs encouragements constants et leur amour sans faille. Votre confiance en moi a été une source de motivation immense.

À ma très chère cousine **Saida**, à ma confidente qui a été toujours à mes côtés, milles merci pour tout ce que tu m'apporte et tu fais pour moi, bonheur et réussite pour toi.

À mon binôme et ma copine **Ghozline** merci pour ton empathie et ton courage mais surtout pour ton amitié.

À mes chères copines **Massisilia, katia, Thanina, Amel, Lydia** pour leur soutien moral, leur aide précieuse et les moments de détente partagés ensemble.

À tous ceux qui, de près ou de loin, ont apporté leur pierre à l'édifice de ce travail. Ce mémoire est le fruit de nombreuses collaborations et de beaucoup de bienveillance.

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents

Ma chère maman tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je porte pour toi, j'avoue vraiment que tu es pour moi la lumière qui me guide vers le chemin de ma réussite, merci pour ton soutien tout au long de mon parcours d'études.

Mon cher papa, merci de m'avoir orienté dans ma vie au quotidien, merci pour ta confiance et ton éducation ainsi pour ton soutien tout au long de mes études que ce travail soit un modeste témoignage de mon éternelle reconnaissance.

A mes sœurs **Letissia** et **Dania**, en souvenirs des meilleurs moments que nous avons partagés, pour toute la complicité et l'entente qui nous unissent, ce travail est un témoignage de mon attachement et de ma reconnaissance. Je vous souhaite bonheur et réussite.

A mon petit frère **Amine** merci d'être la personne qui me fasse le plus rire sur cette terre merci pour ton attention et ton affection.

A la mémoire de **mon grand-père** merci pour ta fameuse phrase « ton diplôme avant tout ma fille ».

A mon binôme et ma copine **Lina** merci pour ton empathie et ton courage mais surtout pour ton amitié

A mes copines : Un grand merci pour **Sarah** malgré la distance tu as toujours été présente, ainsi à **Katia, Célia, Thanina, Amel, Lydia.**

A toute ma famille en témoignage de ma grande affection et de ma reconnaissance.

Ghozline

Table des matières

Liste des tableaux	I
Liste des figures.....	II
Glossaire médicale	III
Introduction.....	1

Partie I

Chapitre I : La lithiase urinaire

I.1 Anatomie et physiologie de l'appareil urinaire.....	3
➤ Les reins	3
➤ Les uretères	3
➤ La vessie.....	4
➤ L'urètre.....	4
I.2. Anatomie et physiologie rénale.....	4
I.2.1 Histologie du rein	4
I.2.2 Physiologie rénale	5
I.2.3 Pathologies rénales	6
I.3. Lithiase urinaire ou les calculs rénaux	6
I 3.1 Définition	6
I.3.2 Etiologie	7
I.3.3. La lithogénèse	7
✓ La cristallogénèse	7
✓ La calculogénèse.....	7
I.3.4 Classification morpho-constitutionnelle des calculs urinaires.....	10
I.3.4.1 Lithiases d'organe	10
I.3.4.3 Lithiase oxalo-calcique	11
I.4. Diagnostique de la lithiase urinaire	12
I.4.1-Donnés cliniques.....	12
I.4.2-Bilan biologique.....	12
I.4.3. Examen Radiologique	13
I.5. Traitement des calculs urinaires	14
I.5.1 Traitement chirurgical	14

I.5.2 Traitement médicamenteux	14
I.5.3 Traitement par phytothérapie	15

Chapitre II : Les Fumariacées

II.1 Généralités sur les Fumariacées	17
II.2 Classification Botaniques	17
II.3 Description de l'espèce <i>Fumaria agraria</i> L.	17
II.4 Effets thérapeutique de la fumeterre.....	18
II.5 Composition chimique	19
II.6 Effets thérapeutiques des composés phénoliques.....	20

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Matériel	21
I.1.1 Matériel végétal	21
I.1.2 Matériel chimique et analytique	21
II.2 Méthodes	21
II.2.1 Préparation de la poudre végétale	21
II.2.2 Extraction ethanolique des composés phénoliques de <i>Fumaria agraria</i>	22
II.3 Dosage des extraits de <i>Fumaria agraria</i>	23
II.4 Formation des cristallites d'oxalate de calcium <i>in-vitro</i>	24
II.4.1 Inhibition de la formation des cristallites	25
II.4.2 Dissolution des cristallites.....	26
III. Etude statistiques.....	26

Chapitre II : Résultats et discussions

II.1 Récolte et séchage du matériel végétal	27
II.2 Extraction et dosage colorimétrique des composées phénoliques totaux.....	27
II.2.1 Extraction.....	27
II.2.2 Dosage des polyphénols totaux.....	28
II.3 Formation des cristallites oxalate de calcium.....	31
II.4 Inhibition des cristallites « Effet préventif »	31
II.4 Dissolution des cristallites « Effet curatif ».....	35
Conclusion & perspectives.....	38
Références bibliographiques.....	39
Annexe	43

Liste des tableaux

Tableau I : Principaux promoteurs et inhibiteurs de la lithogénèse	9
Tableau II : Classification morpho-constitutionnelle des calculs urinaires les plus fréquents ...	10
Tableau III : Examens de première intention	13
Tableau IV : Les techniques d'imageries	13
Tableau V : les différents traitements anti-lithiasiques.....	14
Tableau VI : Description de la partie aérienne de <i>Fumaria agraria</i>	18
Tableau VII : Exemple des médicaments à base de la partie aérienne de la fumeterre	19
Tableau VIII : Préparation des solutions d'inhibition de la formation des cristallites avec l'extrait éthanolique des composées phénoliques	26
Tableau IX : les avantages de macération et de l'éthanol	28

Liste de figures

Figure 1 : Anatomie générale de l'appareil urinaire.....	3
Figure 2 : Coupe rénale.....	5
Figure 3 : Les étapes de la lithogénèse.....	8
Figure 4 : Promoteurs, substances cristallisables et espèces cristallines.....	9
Figure 5 : Différents types d'oxalate de calcium.....	12
Figure 6 : La composition phytochimique de fumeterre.....	20
Figure 7 : Photographie de la partie aérienne de <i>Fumaria agraria</i>	21
Figure 8 : Schéma montrant les étapes de préparation de la poudre végétale.....	22
Figure 9 : Protocole d'extraction par macération.....	23
Figure 10 : Réaction du Folin-Ciocalteu avec les polyphénols.....	23
Figure 11 : Protocole de dosage des composés phénoliques.....	24
Figure 12 : Solution 1 et 2 utilisées pour la formation des cristallites.....	25
Figure 13 : Courbe d'étalonnage acide gallique.....	29
Figure 14 : Teneur en polyphénols totaux (exprimé en mg EAG/100g PS).....	29
Figure 15 : Formation de cristallites d'oxalate de calcium sous forme d'un trouble blanc.....	31
Figure 16 : Effet inhibiteur de l'extrait éthanolique des composés phénoliques de la partie aérienne de <i>F. agraria</i> sur la formation des cristallites oxalo-calciques.....	33
Figure 17 : Illustration d'un mécanisme d'action des polyphénols : la donation d'hydrogène...34	
Figure 18 : Les illustrations microscopiques des filaments et cristallites d'oxalate de calcium au début et fin d'interaction.....	35
Figure 19 : Résultats de dissolution des cristallites d'oxalates de calcium par l'extrait ethanolique.....	36

Glossaire médicale

Acide urique : un produit de la dégradation des protéines qui est éliminé par les urines.

Analyse morpho constitutionnelle : méthodes d'observation par méthodes optiques, complétées par des méthodes d'identification des espèces moléculaires et cristallines.

Anti tumoral : médicament utilisé pour traiter une tumeur.

Anti inflammatoire : Médicament utilisé dans le traitement local de l'inflammation.

Anti lithiasique : médicament pour le traitement des lithiases biliaires.

Anti malarial : un type d' agent chimique utilisé pour traiter ou prévenir le paludisme.

Anti oxydant : protège les cellules de l'organisme de l'effet des radicaux libres.

Anti spasmodique : médicament utilisé dans le traitement des spasmes musculaires.

Calcémie : taux de calcium dans le sang.

Cavités pyélo-calicielles : partie interne du rein où se collecte l'urine avant d'être évacuée vers l'uretère.

Créatinine : déchet de l'organisme qui provient de la dégradation de la créatine musculaire. Elle est éliminée dans les urines par filtration au niveau des reins.

Cristallerie : présence de cristaux dans les urines.

Cystinurie : maladie génétique responsable de lithiase rénale.

Diabète : maladie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit.

Diurèse totale : volume des urines émises en 24h.

Diurétique : terme caractérisant de façon générale ce qui augmente la sécrétion urinaire.

Fosse lombaire : située dans le bas du dos, correspond à la zone des cinq vertèbres lombaires.

Glycémie à jeun : taux de sucre dans le sang le matin au réveil, suite à une période de 8h sans manger.

Hyper calciurie : excrétion urinaire du calcium supérieure à 0,1 mmol/kg/24 heures.

Hyper oxalurie : excès d'oxalate entraînant des calculs rénaux.

Infection urinaire : infection bactérienne qui se limite à la vessie.

Jonctions urétéro-vésicales : font référence à la zone anatomique où l'uretère s'insère dans la vessie.

Laxatif : médicaments ou des préparations purgatives douces qui agissent sans irriter l'intestin.

L'hyperparathyroïdie primaire : sécrétion excessive d'hormone parathyroïdienne par une ou plusieurs glandes parathyroïdes.

Lithiase urinaire : maladie caractérisée par la formation de calculs dans les voies urinaires (reins, uretère, vessie).

Lithotritie extra corporelle : technique de lithotripsie qui consiste à éliminer en fragments les calculs (rénaux ou biliaires) par le biais d'ondes de choc ultrasonores.

Néphrolithotomie percutanée : intervention chirurgicale pratiquée à l'aide d'une incision d'environ 1 centimètre au flanc ou au dos pour retirer des pierres aux reins.

Perturbation métabolique : affections dues à l'accumulation dans les cellules de quantités anormalement élevées de substances normales ou pathologiques.

Rénine : hormone qui participe à la régulation de la pression artérielle et à la balance hydrosodée dans l'organisme.

Retro péritoine : partie de l'abdomen en arrière de la cavité péritonéale. Il contient des organes des appareils urinaire et digestif.

Urée : Substance cristalline que l'on rencontre dans le sang et l'urine.

Urétéroscopie : l'urétroscope est inséré dans l'urètre jusque dans la vessie puis remonte dans l'uretère jusqu'au site à examiner.

Struvite : minéral de la famille des phosphates hydratés.

Tomodensitométrie : examen d'imagerie indiqué lors d'une hypercalciurie pour localiser un calcul rénal.

Introduction

Introduction

À l'heure de la mondialisation et de l'industrialisation, la population humaine doit faire face à un certain nombre de maladies qui demeurent sans traitement adapté.

La lithiase ne fait pas exception, car pour de nombreuses maladies, un diagnostic précoce et une prise en charge appropriée sont souvent la garantie d'une évolution positive ou d'une guérison. Cependant, les calculs sont établis de manière aléatoire lors d'examens radiologiques de routine chez le patient ou lors de douleurs aiguës.

La lithiase urinaire est une pathologie courante qui touche 4 à 18% de la population d'une tranche d'âge de 20 à 60 ans et d'une prédominance masculine. C'est aussi une pathologie qui évolue dans le temps et selon l'évolution de la société humaine en raison de l'évolution des facteurs de risque de formation de calculs (**Jungers P, 1999**). Cette maladie, présente tant dans les pays développés que dans les pays en cours de développement, se manifeste par la formation de calculs dans le système urinaire. Elle est multifactorielle, allant de problèmes d'hydratation à des troubles génétiques en passant par la malnutrition, ce qui entraîne une excrétion urinaire anormale et parfois une infection. (**Dalibon, 2015**). Il semble que la prévalence de la maladie lithiasique augmente en même temps que le niveau de vie et l'évolution socio-économique et sanitaire des populations (**Fournier et al., 1991**).

Depuis des temps anciens, les vertus curatives des plantes médicinales sont considérées comme parmi les traitements les plus efficaces pour soigner les maladies humaines (**Sen et al., 2010 ; Nabavi et al., 2016**). Les plantes médicinales sont reconnues depuis longtemps pour leurs vertus curatives et restent parmi les traitements les plus efficaces pour diverses maladies. Des recherches récentes soulignent leur potentiel dans le développement de thérapies sûres et efficaces, notamment pour les affections sans traitement adapté. (**Lemaire 2018**).

L'analyse des propriétés phytopharmaceutiques reste une tâche extrêmement captivante et bénéfique, notamment pour les plantes connues dans la médecine traditionnelle comme les fumariacées. Ces plantes constituent une source inédite de substances actives (**Teixeira da Silva, 2004**).

Afin de prévenir, réduire ou éliminer les récurrences de calculs, l'homme a exploré les vertus thérapeutiques de cette famille de plantes. Parmi celles-ci figure l'espèce *Fumaria agraria* qui représente l'objet de notre étude.

L'objectif de cette étude était d'évaluer *in vitro* l'activité anti-lithiasique de l'extrait éthanolique des composés phénoliques de *Fumaria agraria* sur les calculs oxalo-calciques. Pour ce fait l'évaluation de l'effet anti lithiasique préventif et curatif de notre extrait sur les calculs oxalo-calciques.

Pour atteindre notre objectif le travail est subdivisé en deux parties distinctes :

- Partie I : inclut la synthèse bibliographique qui contient deux chapitres
 - Chapitre I : la lithiase urinaire
 - Chapitre II : les fumariacées
- Partie II : qui est la partie expérimentale, celle-ci englobe la section sur le matériel et les méthodes, suivie des résultats et des discussions.

En conclusion, notre travail s'achève par une synthèse des résultats obtenus, où nous avons répondu à notre problématique : ***Fumaria agraria* a-t-il un impact sur les calculs rénaux ?**

Partie I
Etude Bibliographique

Chapitre I

La Lithiase Urinaire

I.1 Anatomie et physiologie de l'appareil urinaire

L'appareil urinaire est un système complexe du corps humain responsable de la production, du stockage et de l'élimination de l'urine. Il comprend plusieurs organes et structures notamment les reins, les uretères, la vessie et l'urètre (**Figure1**).

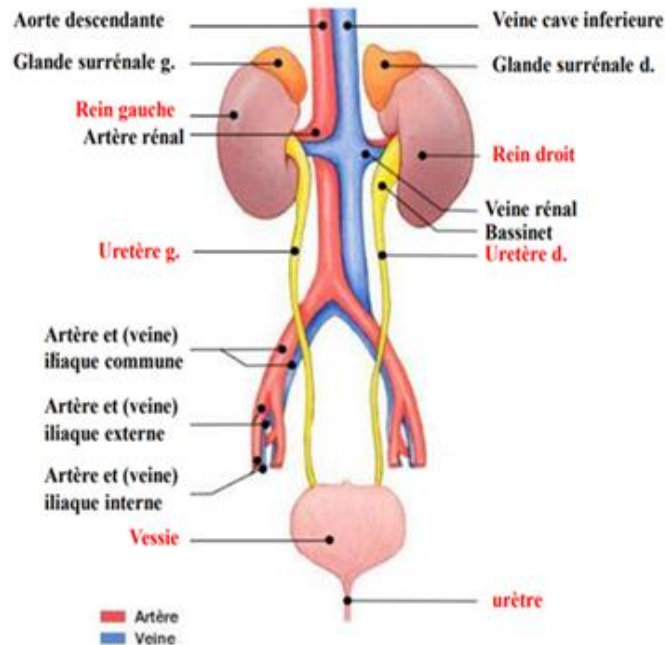


Figure 2 : Anatomie générale de l'appareil urinaire (Nicole, 2009).

➤ Les reins

Les reins se retrouvent dans le rétro-péritoine, au niveau de la fosse lombaire, sous le diaphragme. L'adulte a une forme d'haricot et mesure en moyenne 12cm. Une artère rénale principale vascularise le rein droit et le rein gauche (Gueutin et al., 2011). En raison de la présence du foie, le rein droit est plus bas que le rein gauche (Silver, 2007).

➤ Les uretères

Les uretères mesurent 20 à 30cm et prolongent les reins, permettent le passage de l'urine du rein vers la vessie. Une valve anti-reflux empêche le retour des urines vers le rein (Laville et Martin, 2007).

➤ **La vessie**

La vessie est le réservoir de l'appareil urinaire ; elle sert à stocker l'urine qui lui parvient par les uretères entre deux mictions. Cette période de stockage entre miction appelée « phase de remplissage ». La vessie d'un adulte durant la phase de remplissage peut contenir entre 250ml et 500ml du liquide (**Pan et al., 2012**).

➤ **L'urètre**

C'est un tube musculaire qui transporte l'urine hors de la vessie et hors du corps lors de la miction (**Nicole, 2009**).

I.2. Anatomie et physiologie rénale

I.2.1 Histologie du rein

Le rein est lobé d'un point de vue histologique, et les différentes formations y compris le néphron qui représente l'unité structurelle et fonctionnelle du rein, sont visibles grâce à des coupes frontales. Deux zones sont distinctes sur la coupe sagittale du parenchyme rénal (**Figure 2**) :

- **La zone corticale (Cortex) :** Tissu situé au-dessous de la capsule rénale, environ 1 cm d'épaisseur, responsable de la filtration glomérulaire et la réabsorption tubulaire (**Azhar et Metcalfe, 2015**).
- **La zone médullaire (Médulla) :** Centrale, avec une striation formée ; elle est similaire aux pyramides de Malpighi (**Tortora et Derrickson, 2007**). Les papilles rénales sont des expansions du cortex qui séparent le sommet des pyramides, les petits calices de ces pyramides s'abouchent aux grands calices du pelvis qui se poursuit par l'urètre (**Lüllmann-Rauch, 2008**).
- **Le néphron :** sont des unités microscopiques qui, en filtrant le sang, produisent l'urine. Chaque humain comporte environ 1 million de néphrons ou chacun est composé de glomérules (ou corpuscules rénaux de Malpighi). Principalement localisée dans la partie corticale du tubule. (**Nicole, 2009**).



Figure 2 : Coupe rénale (Lacour et Bernard, 2013)

I.2.2 Physiologie rénale

Le rein exerce diverses fonctions :

➤ **Fonction exocrine**

Le rein régule le pH sanguin en sécrétant des ions hydrogènes et en réabsorbant le bicarbonate (HCO_3^-) filtré dans les tubules rénaux, pour maintenir l'homéostasie acido-basique (Guentin et al., 2011).

➤ **Fonction endocrine**

Le rein a une fonction endocrine fondamentale avec une production d'hormones, dont les cibles sont soit rénales soit extra rénales, il s'agit de « la rénine » faisant partie du système angiotensine-aldostérone, qui régule finement le volume extracellulaire et la pression artérielle (Bessaguet et Desmoulière, 2020).

➤ **Fonction métabolique**

Le rein est un siège de diverses voies métaboliques, en plus du foie, il est le seul organe impliqué dans la néoglucogénèse. En cas de jeûne prolongé, le rein peut assurer jusqu'à 50% de la néoglucogénèse à partir d'acides aminés et d'acide lactique. (Gougoux et al., 2005).

I.2.3 Pathologies rénales

Les maladies rénales sont des troubles qui affectent la structure ou le fonctionnement des reins, parmi ces affections on peut citer :

➤ **Insuffisance rénale**

Il s'agit d'une diminution de la capacité des reins à filtrer les déchets et les toxines du sang. Elle peut être aiguë ou chronique (**Jungers et al., 2011**).

➤ **Néphrite**

Appelée aussi une atteinte rénale, il s'agit d'une inflammation du tissu rénal, souvent causée par une infection bactérienne ou virale, une réaction auto-immune ou à l'exposition à des substances néphrotoxiques (**Khana et al., 2011**).

➤ **Cancer du rein**

Une croissance maligne qui se développe dans les tissus rénaux. Il existe plusieurs types de cancer du rein, le plus courant étant le carcinome à cellules rénales (**Edeline, Julienet al., 2008**).

➤ **Lithiase urinaire**

Il s'agit des dépôts de cristaux qui se forment dans les reins. Ils peuvent être très douloureux lorsqu'ils obstruent les voies urinaires (**Benyakoub, 2023**).

Il s'agit de l'anomalie qui fait l'objet de notre étude.

I.3. Lithiase urinaire ou les calculs rénaux

I 3.1 Définition

La lithiase est une pathologie définie par la présence et/ou la formation de concrétions ou de précipitations de composés organiques et/ou minéraux dans un tissu, un organe ou un dispositif médical. Le terme provient du grec « lithos », qui signifie pierre, et du latin « *Calculus* », qui signifie caillou. (**Ouattara, 2015**). Par conséquent la présence de calcul dans les voies excrétrices est un symptôme de la lithiase urinaire (**Dalibon, 2015**).

Un calcul urinaire est un amas compact d'une ou plusieurs substances cristallisées. Ces dernières se précipitent dans les cavités pyélocalicielles (les calices, bassinet) du rein ou dans les cavités des voies excrétrices urinaires (uretère, vessie) (**Hymam et al., 1996**).

I.3.2 Etiologie

Plusieurs facteurs de risque lithogène ont été identifiés et qui font l'objet de l'évaluation de la pathologie, on distingue :

➤ **Trouble nutritionnel**

- ✓ Un régime alimentaire déséquilibré ou bien une alimentation riche en sel, en protéine animales, en oxalate (cacao, épinards, céleris...etc) ou en sucre peut favoriser la formation du calcul (**Dalibon, 2015**).
- ✓ Une hydratation insuffisante peut concentrer les sels, et les minéraux dans l'urine favorisant ainsi la formation d'un calcul (**Schell-Feith et al., 2000**).

➤ **Maladies métaboliques**

Diverses pathologies peuvent être l'origine d'une lithiase urinaires telles que le diabète et l'hyperthyroïdie (**Dalibon, 2015**).

➤ **Facteurs anatomiques**

- ✓ Anomalies anatomiques des voies urinaires (**Schell-Feith et al., 2000**).

➤ **Antécédents familiaux**

- ✓ En raison des facteurs génétiques, les personnes ayant des antécédents familiaux de lithiase urinaire peuvent être plus susceptibles de développer des calculs. (**Gagnadoux, 2004**).

I.3.3. La lithogénèse

Le terme de lithogénèse regroupe l'ensemble de processus qui conduisent au développement d'un calcul dans les voies urinaires en plusieurs phases qui se forment successivement ou simultanément. On peut distinguer deux grandes étapes de la lithogénèse à savoir : « la cristallogénèse » et la « calculogénèse » (**Daudon, 2004**).

1. **La cristallogénèse** : correspond à la formation de cristaux à partir de substances initialement dissoute dans les urines après leur sursaturation. Cette étape ne constitue pas en soi un processus pathologique (**Khan et al., 1993**).
2. **La calculogénèse** : se définit généralement par la rétention et la croissance des cristaux et agrégats cristallins à différents niveaux de l'appareil urinaire (**Daudon et al., 2008**).

Le processus de la lithogénèse peut être décomposé en sept étapes qui se succèdent ou s'entremêlent au cours de la formation d'un calcul. Ces étapes sont résumées dans la figure ci-dessous (Daudon et al., 2008)

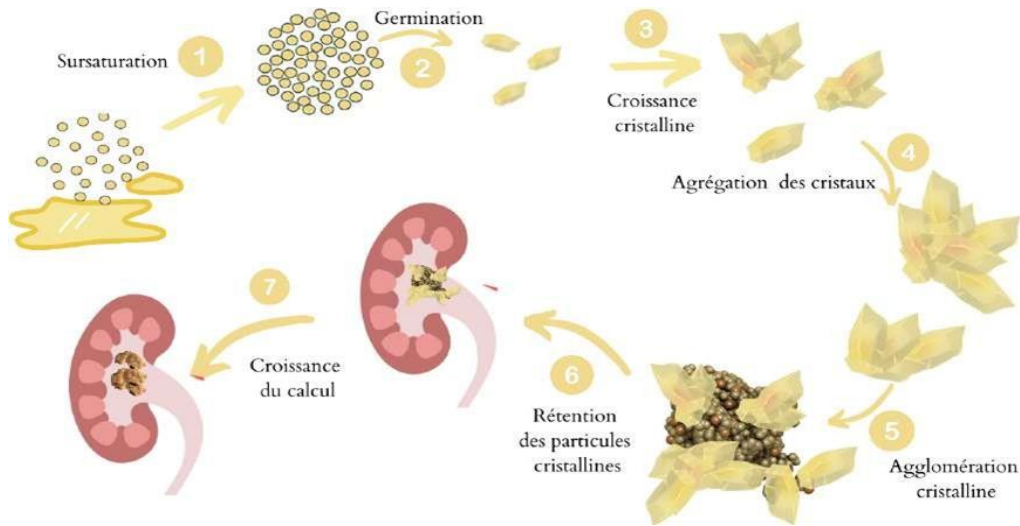


Figure 3 : les étapes de la lithogénèse (Dalibon, 2015)

3. **La sursaturation des urines** : Survient lorsque la concentration d'une substance dépasse sa capacité de dissolution dans l'eau. Le pH de l'urine joue également un rôle dans la solubilité des substances.
4. **La germination cristalline** : Appelé produit de formation, dans l'urine indique le niveau de sursaturation où les cristaux se forment rapidement. Il varie selon l'individu et le type de substance.
5. **La croissance des cristaux** : Lorsque l'urine est saturée en substances cristallines, de petits cristaux se forment. Ces cristaux peuvent croître en captant davantage de substance cristalline présente dans l'urine, formant ainsi des particules plus volumineuses.
6. **L'agrégation des cristaux** : résulte des attractions électrostatiques entre les cristaux. Elle peut générer des particules de taille importante, souvent plus rapidement que le temps nécessaire pour le passage de l'urine à travers le rein.
7. **L'agglomération cristalline** : Les macromolécules urinaires chargées négativement jouent un rôle crucial dans la formation des calculs rénaux. Elles facilitent l'agglomération des cristaux en se fixant à leur surface, favorisant ainsi l'attachement de nouveaux cristaux et organisant la structure du calcul.

8. **La rétention des particules cristallisées** : des particules cristallines générées dans les voies urinaires sont retenues dans le rein ou les voies urinaires. Ces particules se développent ensuite pour former un calcul.
9. **La croissance du calcul** : varie en fonction du niveau de saturation des urines, Les erreurs diététiques entraînent une croissance intermittente par poussées, tandis que les maladies génétiques induisent une croissance plus régulière.

Les ions qui participent à la formation des espèces insolubles sont appelés promoteurs de la cristallisation, Ils s’associent très souvent par deux ou par trois pour former une substance cristallisable qui, elle-même, peut se présenter sous plusieurs espèces cristallines (figure 4) (Daudon et al., 2008).

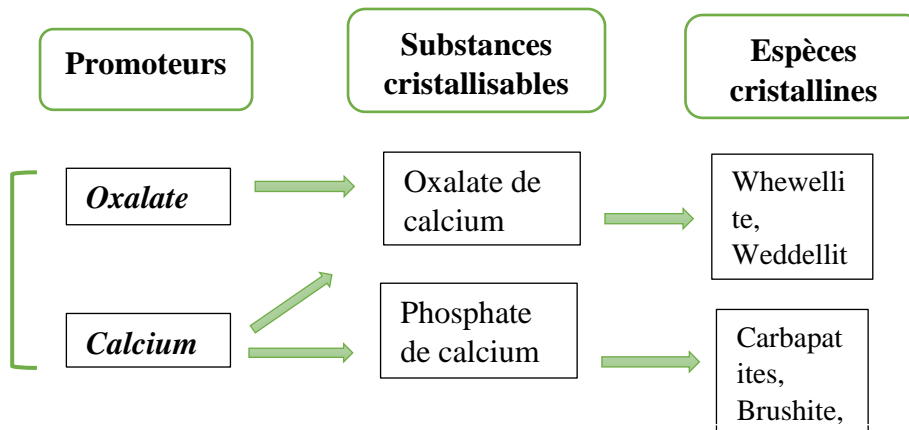


Figure 4 : Promoteurs, substances cristallisables et espèces cristallines (Daudon et al., 2008)

En état physiologique, il existe dans les urines, un équilibre entre les substances promoteurs et inhibiteurs de la cristallisation (Tableau I). Cet équilibre peut être rompu soit par un excès des promoteurs, soit par un déficit des inhibiteurs (Soula et al., 2009).

Tableau I : principaux promoteurs et inhibiteurs de la lithogénèse (Basavaraj et al., 2007).

Promoteurs	Inhibiteurs
Calcium	Inorganique
Sodium	Citrate
Oxalate	Magnésium
Acide urique	Phosphate
Cystine	Organique
pH faible de l’urine	Fragment de prothrombine urinaire 1
Faible débit urinaire	Lithostathine rénale




I.3.4 Classification morpho-constitutionnelle des calculs urinaires





I.3.4.1 Lithiases d'organe : Les lithiases d'organes sont secondaires à des anomalies du système urinaire, favorisant la stase et la formation de calculs. Lorsque des calculs et des anomalies anatomiques sont détectées, les calculs doivent être retirés et les anomalies anatomiques doivent être corrigées (**Jungers et al., 2005**).

I.3.4.2 Lithiases d'organisme

Elles sont à l'origine d'un déséquilibre métabolique. Classées en fonction de la nature des calculs (**Tableau II**). Dans notre présente étude, on s'est intéressé aux calculs rénaux de type « Oxalate de calcium »

Tableau II : Classification morpho-constitutionnelle des calculs urinaires les plus fréquents (**Daudon et al., 1993 & Daudon, Jungers, 2012**).

Classification	Composition chimique	Principales caractéristiques morphologiques	Facteurs favorisants	Photographie
Acide urique	Acide et sel d'urate	Surface : Lisse homogène, orange Bosselée. Section : Concentrique orange Inorganisée.	pH urinaire acide	
Struvite	Phosphate d'ammonium et de magnésium	Surface : Rugueuse ou cristaux ± soudés, blanche Section : Inorganisée ou radiale lâche, blanche à beige	Infection urinaire à germes uréasiques	
Cystine	Cystine	Surface : Grenue, rugueuse, brun-jaune Section : Radiale diffuse ou inorganisée, brun-jaune	Cystinurie	

<p>Whewellite (moH)</p>	<p>Monohydrate d'oxalate de calcium</p>	<p>Surface : Mamelonnée, ombiliquée, brune</p> <p>Section : Concentrique et radiale, brune</p>	<p>Hyperoxalurie</p>	
<p>Weddellite (diH)</p>	<p>Dihydrate d'oxalate de calcium</p>	<p>Surface : Spicules anguleuses, brun- jaune</p> <p>Section : Coque concentrique, centre inorganisé brun-jaune</p>	<p>Hypercalciurie</p>	
<p>Brushite</p>	<p>Phosphates de calcium</p>	<p>Surface : Pommelée ou rugueuse, beige</p> <p>Section : Concentrique et radiale beige</p>	<p>Hypercalciurie, hyperparathyroïdie, diabète phosphaté,</p>	
<p>Lithiase infectieuse</p>	<p>Carbonate Phosphate d'ammonium et de magnésium</p>	<p>Surface : Lisse, Pommelée ou rugueuse, beige</p> <p>Section : Concentrique Inorganisée ou radiale, brun.</p>	<p>Infection urinaire, Présence de cristaux de struvite dans les urines, pH urinaire > 7</p>	

I.3.4.3 Lithiase oxalo-calcique

Le calcul oxalo-calcique se forme au niveau rénal, précisément dans les tubules collecteurs et le bassinet du rein. L'origine de cette lithiase, par formation de phases cristalline, est due à la précipitation d'ions d'oxalate avec des cations de calcium Ca^{2+} , après une sursaturation de ces espèces ioniques de formule moléculaire $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, avec $n = 1, 2, 3$.

Ils sont décrits comme le principal composant inorganique des calcifications pathologiques (**Daudon et Jungers, 2012**).

La phase minérale des calculs rénaux est l'oxalate de calcium, qui représente environ 75% à 80% des calculs. Ils peuvent se présenter sous différentes formes cristallines. La lithiase urinaire est caractérisée par deux phases principales : la phase monohydratée $\text{CaCO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Whewellite) et la phase dihydratée $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Weddellite) (**Xie et al., 2015**).

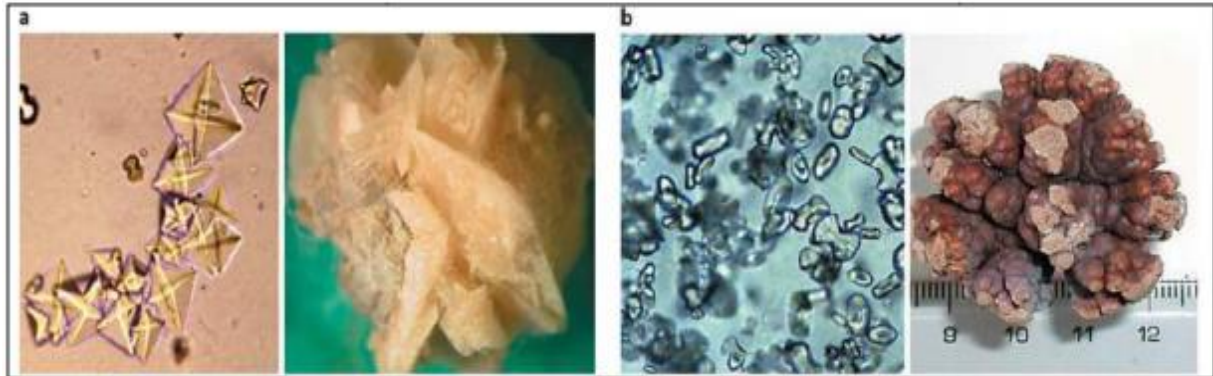


Figure 5 : Différents types d'oxalate de calcium
(a) oxalate de calcium dihydraté (COD) ; (b) Oxalate de calcium monohydraté (COM) (**Saita et al., 2007**).

I.4. Diagnostique de la lithiase urinaire

L'exploration de la lithiase, se repose sur le fait d'analyser le calcul et de rechercher les facteurs de risque lithogène à partir des données cliniques, radiologiques et biologiques, afin d'améliorer la prise en charge thérapeutique et de prévenir toute récurrence (**Dalibon, 2015**).

I.4.1-Donnés cliniques

Les manifestations cliniques de la lithiase sont communes à tous les types de calculs, elles se traduisent en douleur brutale et persistante ressentie au niveau du dos ou sur le côté (flanc) et s'accompagne à des vomissements, nausées et fièvre ainsi que la présence d'hématurie (**Benyakoub, 2023**).

I.4.2-Bilan biologique

Il est recommandé de prescrire systématiquement un bilan métabolique de base dès le premier épisode lithiasique (**Tableau III**).

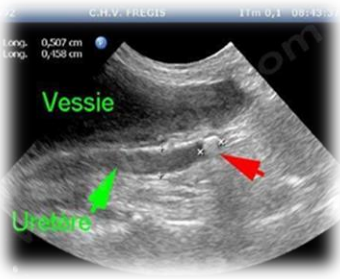

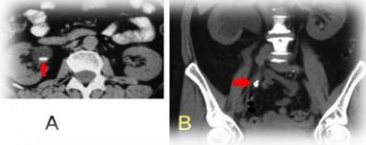
Tableau III : Examens de première intention (**Jungers et al., 1999**).

Urine de 24h	Bilan sanguin	Urine du réveil
Créatinine Calcium Acide urique Urée Sodium Diurèse totale	Créatinine Calcium Acide urique Glycémie à jeun Phosphore	Densité Ph urinaire Cristallurie Bandelette urinaire et/ou ECBU

I.4.3. Examen Radiologique

Plusieurs techniques d'imagerie peuvent être utilisées pour mettre en évidence la topographie, le nombre et la taille des calculs ainsi que son retentissement sur les voies excrétrices (**Tableau IV**).

Tableau IV : Les techniques d'imageries (**Joseph et al., 2002 & Lechavallier et al., 2008**)

Technique d'imageries	Principe	Photographie
Ecographie	<ul style="list-style-type: none"> - Visualisation des calculs des cavités pyélo-calicielles et des jonctions pyélo-urétérales et urétéro-vésicales. - Dépistage clinique de colique néphrétique. 	
Radiographie	<ul style="list-style-type: none"> - Basée sur les rayons X - Détection des calculs radio-opaque (calculs calciques). 	
Tomodensitométrie de l'appareil urinaire (uroscanner)	<ul style="list-style-type: none"> - Exploration de la dureté des calculs par TDM en mesure de sa densité en HU. 	

I.5. Traitement des calculs urinaires

Pour que la prise en charge de la lithiase soit efficace, les médecins traitants, les radiologues, et les diététiciens doivent être impliqués (**Courbebaisse et al., 2017**) et différents traitements sont proposés :

I.5.1 Traitement chirurgical

Le traitement chirurgical vise à éradiquer tout calcul dans l'arbre urinaire et cela s'effectue par différentes techniques (**Debre et al., 1992 et Hymam et al., 1996**) :

- ✓ **La lithothritie extracorporelle** : méthode qui provoque la destruction des calculs sous l'effet des ondes de choc des ultrasons issues d'un générateur extracorporel (calculs rénaux < 20 mm).
- ✓ **L'urétéroscopie** : consiste à une fragmentation et extraction du calcul à l'aide d'un urétéroscopie par voie uréthrovesicale, les fragments sont extraits par une sonde à panier (calculs rénaux et urétéraux < 15 mm).
- ✓ **La néphrolithotomie percutanée** : se fait par ponction et dilatation du trajet urinaire, abord des cavités rénales par voie percutanée puis fragmentation et extraction du calcul (Calculs rénaux volumineux > 20 mm).
- ✓ **La chirurgie ouverte** : généralement réservée lorsque les autres techniques semblent inefficaces, souvent en cas pédiatrique et indiquée pour les calculs coralliformes du rein.

I.5.2 Traitement médicamenteux

Le protocole médicamenteux souvent prescrit englobe un ensemble de molécules représentées dans le tableau ci-dessous ; (**Haymann et al., 2014**) :

Tableau V : les différents traitements anti-lithiasiques (**Haymann et al., 2014**).

Traitement	Type de lithiase
Les diurétiques thiazidiques ou apparentés	Lithiase calcique
La cellulose phosphate	Lithiase calcique
L'allopurinol	Lithiase urique
Le citrate de potassium	Lithiase urique , cystinique
Les antispasmodiques et anti-inflammatoires	Cas des coliques néphrétiques

A ce jour, aucun traitement ne permet la dissolution totale des calculs rénaux c'est dans ce sens que les recherches s'orientent vers la phytothérapie.

I.5.3 Traitement par phytothérapie

C'est une forme de médecine alternative qui utilise des extraits de plantes pour traiter ou prévenir divers troubles de santé.

En Algérie, les patients optent pour la médecine traditionnelle pour traiter cette maladie, en raison du coût élevé des médicaments conventionnels et de leur efficacité parfois limitée (**Walid et al., 2016**). Plusieurs familles de plantes présentent des propriétés anti-lithiasiques notamment les angiospermes comme : *Urtica urens L*, *Parietaria officinalis L*, *Paronychia argentea L*,...etc.

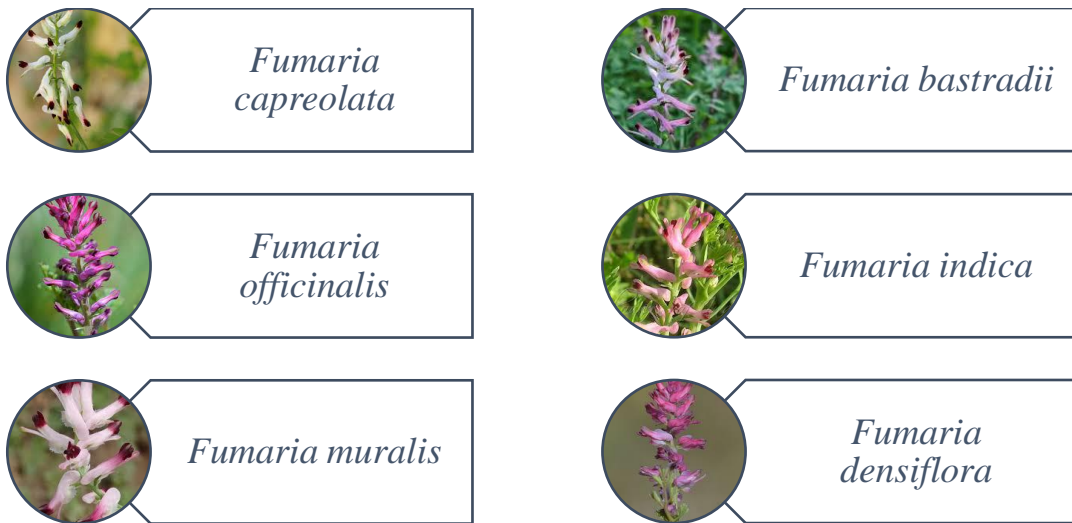
Les différentes raisons de ce retour à la médecine traditionnelle incluent le faible coût par rapport aux médicaments conventionnels, la disponibilité des plantes et l'existence de maladies pour lesquelles il n'existe pas de traitement pharmaceutique efficace (**Touami, 2017**).

Chapitre II

Les Fumariacées

II.1 Généralités sur les Fumariacées

Les Fumariacées sont une famille de plantes dicotylédones composée de 15 genres et 400 espèces différentes, réparties dans diverses parties de l'Europe et dans les régions tempérées (Sousek et al., 1999). Son appellation locale, fumeterre provient du mot latin « fumus terrae » ; Elle est également connue sous le nom de « fumé de la terre » en référence à l'odeur de fumée de certaines espèces. (rakotondramasy et al., 2007). Les espèces du genre *Fumaria* les plus connu étant :



II.2 Classification Botaniques

Selon plusieurs recherches, l'espèce *Fumaria agraria* est classée en plusieurs catégories. Dans notre cas nous évoquerons ci-dessous la classification de **Goetz en 2009**.

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Embranchement : Spermatophyta

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Magnoliidae

Ordre : Papaverales

Famille : *Fumariaceae*

Genre : *Fumaria*





Espèce : *Fumaria agraria*

II.3 Description de l'espèce *Fumaria agraria*

C'est une plante herbacée annuelle, dressée ou diffuse, environ de 50 cm de longueur (Goetz et al., 2009 ; Suau et al., 2002). De gout salé à l'état sec et amer à l'état frais d'où le

nom de « fil de terre » (**Jauzein, 1995**). Les différentes parties de la plante sont décrites dans le tableau ci-dessous (**tableau VI**).

Tableau VI : Description de la partie aérienne de *Fumaria agraria* (**Susplugas et al., 1975 ; Jauzein, 1995**).

Organe	Description	Photo
Fleurs	<ul style="list-style-type: none"> • Volumineuses • Couleur blanche a rose violacé • Taches pourpres aux extrémités • Tubulaire zygomorphes 	
Fruits	<ul style="list-style-type: none"> • Formés d'une capsule • Sec globuleux et volumineux • Renferment une seule graine 	
Feuilles	<ul style="list-style-type: none"> • Couleur verte • Alternées en rosette • Pétiolées a folioles écartées et découpées en lobes étroits 	
Tiges	<ul style="list-style-type: none"> • Epaissees et longues de 20 a 30 cm • Grimpantes et rameuses • Couleur verte grisatre 	

II.4 Effets thérapeutique de la fumeterre

L'utilisation de cette plante en tant que remède naturel est dû à ses multiples vertus thérapeutiques, comme laxatif, antipyrétique et dans le traitement des déséquilibres

hépatobiliaires et dermatologique (Gilani et al., 2005 ; Goetz et al., 2009). Comme elle présente aussi des effets antitumoraux, antimicrobiens et antimalariaux (Maiza et al., 2007 ; Bougoffa et al., 2015, Bougoffa et al., 2019).

Des médicaments à base de la fumeterre sont commercialisés en plusieurs principes actifs sous différents noms et formes galéniques regroupés dans le tableau ci-dessous (Tableau VII) (Goetz et al., 2009).

Tableau VII : Exemple des médicaments à base de la partie aérienne de la fumeterre (Goetz et al., 2009).

Nom commercial	Composition	Classe thérapeutique
Actibil	160 mg titrant 0,5% de protopine de la partie aérienne.	Gastro-intestinale
Arkogelule	220 mg titrant 0,5% de protopine de la partie aérienne.	Entéro-Hépatologique
Oddibil	250 mg d'extrait sec de la partie aérienne.	Entéro-Hépatologique

II.5 Composition chimique

L'analyse phytochimique de la fumeterre révèle la présence de nombreux principes actifs en métabolites secondaires notamment les alcaloïdes isoquinoléiques d'où l'appellation de « plantes alcaloifères » et les composées phénoliques en particulier, quelques-unes sont illustrées dans la **Figure 6** (Suau, 2002 ; Souseck et Valesova, 1999).

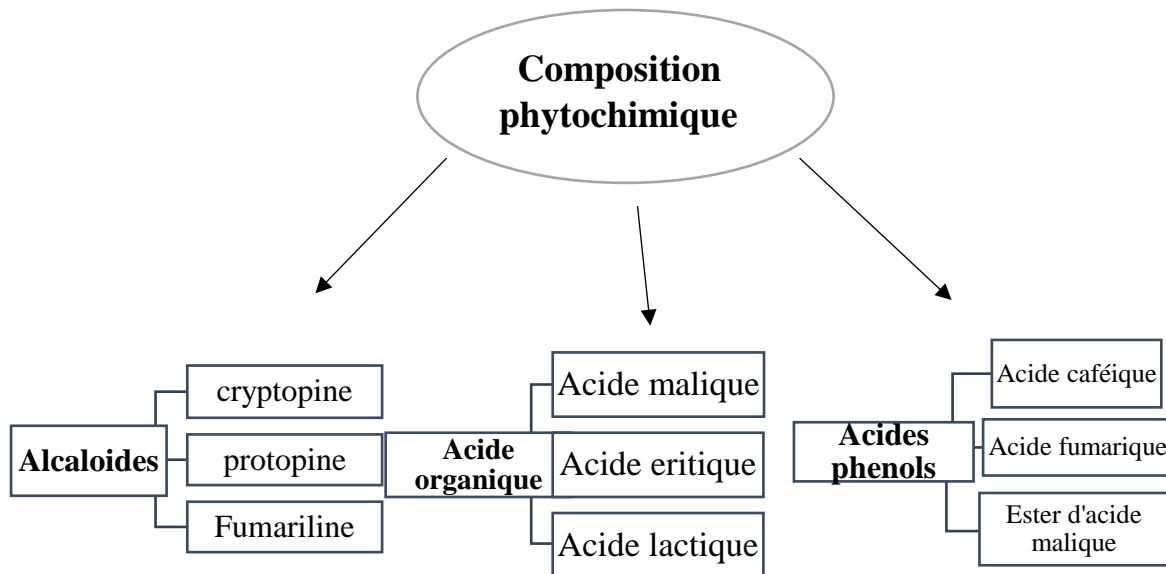


Figure 6 : Composition phytochimique de la fumeterre (Wang *et al.*, 2009)

II.6 Effets thérapeutiques des composés phénoliques

Les composés phénoliques interviennent dans divers processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation des organes, floraison et nodulation ; cela est dû à leur énorme diversité structurale, ce qui rend leur description exhaustive méthodologique difficile (Bruneton, 1993).

D'après des centaines études scientifiques, Les flavonoïdes et les acides phénoliques ont exploré leurs propriétés anticancéreuses, démontrant leur capacité à ralentir la prolifération cellulaire mais également la lutte contre les infections virales et bactériennes (Wang *et al.*, 2009).

Les flavonoïdes, possèdent également des activités anti-allergique, anti-athérosclérotique, hépatoprotectrice, antithrombotique. Ces effets sont attribués à leurs pouvoir anti-oxydant élevé qui, en raison de leurs propriétés redox, jouent un rôle important dans les dommages oxydatifs en neutralisant les radicaux libres, en piégeant l'oxygène ou en décomposant les peroxydes (Suau, 2002).

Partie II
Etude Expérimentale

Chapitre I

Matériel & Méthodes

I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel

I.1.1 Matériel végétal

La partie aérienne (tiges, feuilles, fleurs et fruits) de l'espèce *Fumaria agraria* est utilisée comme échantillon biologique pour étudier l'effet de l'extrait éthanolique sur la dissolution ainsi que l'inhibition de formation de cristallites d'oxalate de calcium impliqué dans les maladies lithiasiques.

La plante est récoltée dans la région de Tigrine commune d'Ouzellaguen située au niveau de la wilaya de Bejaia (Algérie) pendant la période de fructification et de floraison qui est un moment favorable pour la cueillette (Mars 2024) (**figure 7**).



Figure 7 : Photographie de la partie aérienne de *Fumaria agraria*
A : une branche de l'espèce bien visualisée ; *B* : l'espèce dans son champ

I.1.2 Matériel chimique et analytique

Le matériel et les différents réactifs utilisés pour l'extraction sont reportés dans l'annexe (**Annexe I**).

II.2 Méthodes

II.2.1 Préparation de la poudre végétale

Les étapes de la préparation de la poudre végétale sont représentées dans le schéma suivant :

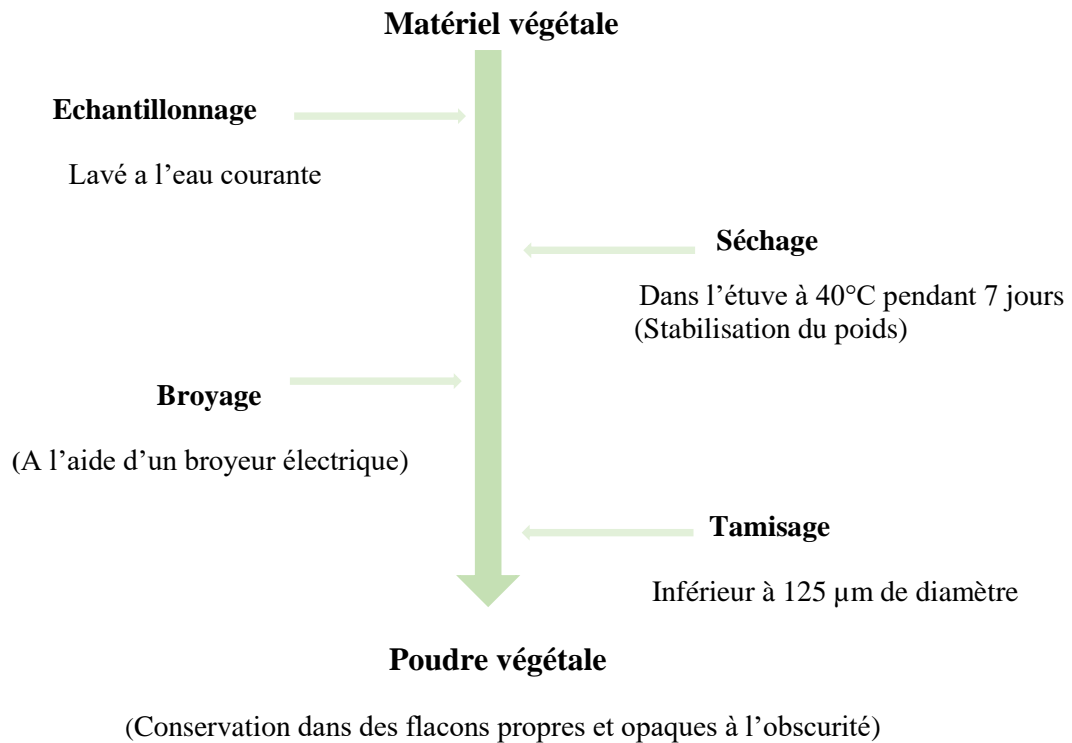


Figure 8 : Schéma montrant les étapes de préparation de la poudre végétale

II.2.2 Extraction éthanolique des composés phénoliques de *Fumaria agraria*

L'extraction éthanolique des composés phénoliques de la partie aérienne de *Fumaria agraria* est réalisée par macération, une méthode solide-liquide. Les extraits ont subis une série de dilution 1/100 puis centrifugés et filtrés par la suite.

Afin d'estimer le temps idéal d'extraction, par dosage colorimétrique, une série d'extraction en fonction de temps, a raison de 15min d'intervalle pendant 1hueur, a été entrepris (**figure 9**). Chaque temps d'extraction est réalisé en 3 essais.

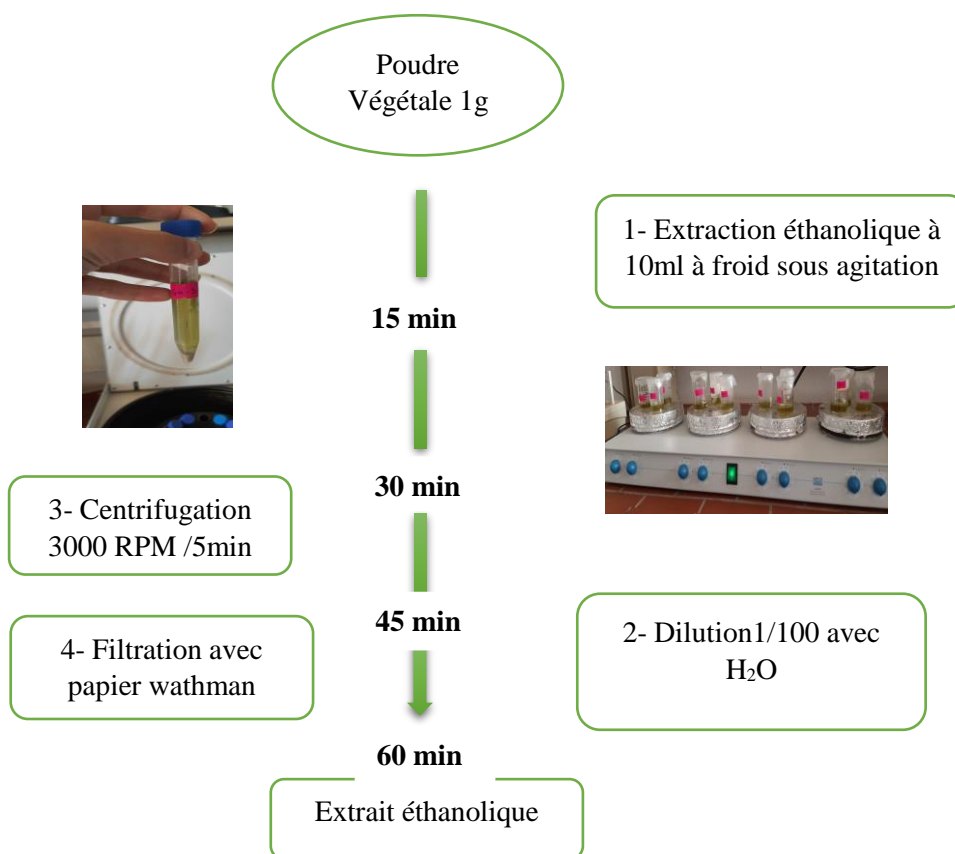


Figure 9 : Protocole d'extraction par macération (Souiseck et al., 1999)

- Les extraits récupérés sont soumis à un dosage colorimétrique afin de déterminer le taux des composés phénoliques totaux dans chaque extrait.

II.3 Dosage des extraits de *Fumaria agraria*

- **Principe** : Le réactif de Folin Ciocalteu, mélange des acides phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phospho-molybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), est réduit en présence de polyphénols en un complexe d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène, l'intensité de la couleur formée dont l'absorption est mesurée à 765 nm, dépend du nombre de groupement hydroxyles et leur position des polyphénols présents dans les extraits obtenus (**figure10**) (Singleton et al., 1999).

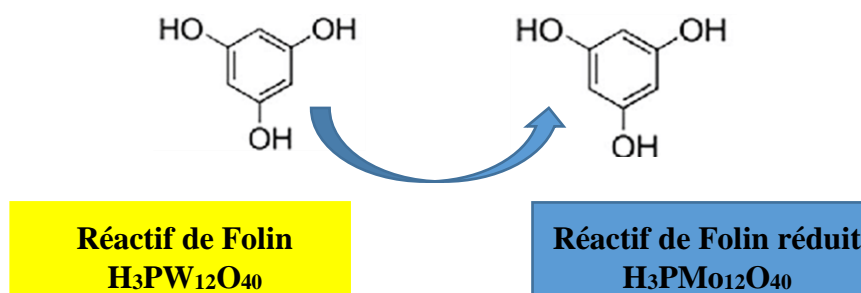


Figure 10 : Réaction du Folin-Ciocalteu avec les polyphénols (Boizot et Charpentier, 2006)

- **Protocole :**

La quantification des polyphénols est réalisée par la méthode colorimétrique de Folin Ciocalteu par spectrophotomètre à 765nm, comme indiqué dans la figure 11 (Souseck *et al.*, 1999)

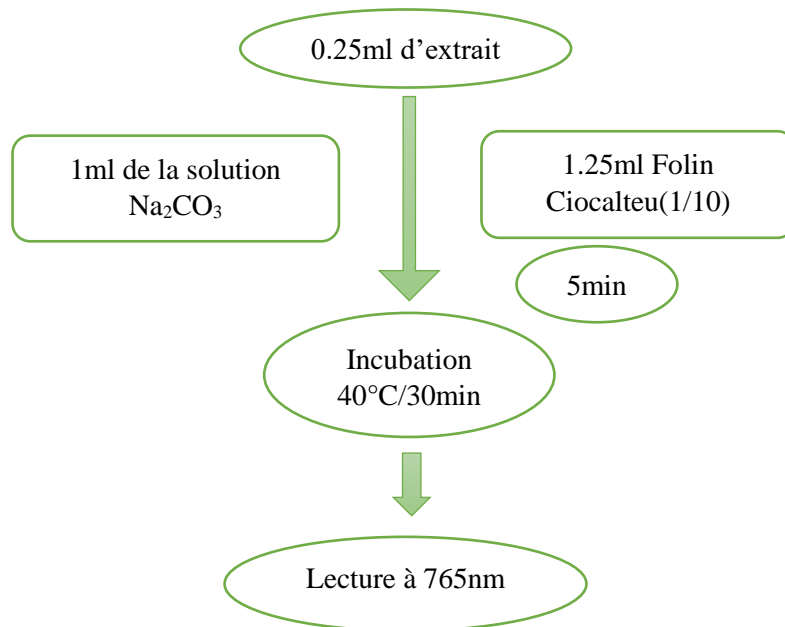


Figure 11 : Protocole de dosage des composés phénoliques (Souseck *et al.*, 1999).

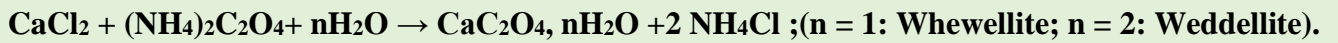
- ✓ Le blanc est préparé de la même façon en remplaçant l'extrait par l'eau distillée.
- ✓ Une courbe d'étalonnage est préparée en utilisant une gamme de concentrations d'acide gallique. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique.

II.4 Formation des cristallites d'oxalate de calcium *in-vitro*

Pour une évaluation de l'effet anti-lithiasique de l'extrait éthanolique des composés phénoliques, quantifiés préalablement, une formation des cristallites d'oxalate de calcium a été réalisée *in-vitro*.

Pour cela, deux produits à savoir le Chlorure de calcium dihydrate (CaCl_2) et l'Oxalate d'ammonium ($(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$) ont permis la formation d'un mélange de cristallite d'Oxalate de calcium (CaC_2O_4) monohydratée et dihydratée (selon la réaction chimique ci-dessous), correspondants aux deux types Whewellite et wheddellite les plus dominants dans les calculs rénaux humains (cité préalablement au Chapitre I) (Baddade *et al.*, 2018). Les conditions

physiologiques de l'urine (agitation, pH=6, T= 37°) ont été respectés en mettant le mélange au bain marie selon le protocole de **Baddade et ses collaborateurs (2018)**.



Après diverses expériences de développement et de mise au point, pour la création des cristallites d'oxalate de calcium, les concentrations des deux substrats précédents ont été établies de la manière suivante :

- **Solution 1** : une concentration de **0.1g/ml** d'oxalate d'ammonium ((NH₄)₂C₂O₄).
- **Solution 2** : une concentration de **0.1g/ml** de chlorure de calcium (CaCl₂).



Figure 12 : Solution 1 et 2 utilisées pour la formation des cristallites

II.4.1 Inhibition de la formation des cristallites

L'inhibition de la formation des cristallites rénales représente un aspect crucial dans la prévention de la lithiase urinaire. Afin de détecter un effet inhibiteur de l'extrait phénolique, nous avons visualisé sous microscope optique un échantillon chaque 15min pendant 2h selon le protocole d'inhibition de **Baddade et al. (2018)** (**Tableau VIII**). Dans ce test on souhaite évaluer l'effet préventif de notre extrait vis-à-vis des récurrences lithiasiques.

Tableau VIII : Préparation des solutions d'inhibition de la formation des cristallites avec l'extrait éthanolique des composées phénoliques

Produit	Groupe contrôle (0.26mg/ml)	Solution Chlorure de calcium (0,01g/ml)	Solution Oxalate d'ammonium (0,01g/ml)
Volume (µl)	5000	2500	1500

II.4.2 Dissolution des cristallites

Le test de dissolution des cristallites par l'extrait éthanolique est une étude qui vise à évaluer l'efficacité potentielle des composés phénoliques présents dans l'extrait aqueux de *Fumaria agraria* pour dissoudre les cristallites déjà formés autrement dit évaluer l'effet curatif.

- Un volume de 40 µl de notre extrait est ajouté sur les cristallites déjà formé.
- L'observation sous microscope optique au grossissement « x40 » se fait chaque **15min** pendant **2h**.

III. Etude statistiques

Les résultats ont été analysés statistiquement en utilisant le test student (logiciel IBM SPSS version 26). Les résultats sont comparés avec une probabilité $p < 0,05$, tous les tests in vitro représentent la moyenne de 3 essais \pm écartype.

Chapitre II

Résultats & Discussions

Dans cette section, nous présentons les résultats de notre étude sur les effets de l'extrait éthanolique des composés phénoliques de *Fumaria agraria* sur les calculs rénaux. Nous exposons d'abord les données obtenues à partir de nos expérimentations *in-vitro*, mettant en évidence les effets de l'extrait sur l'inhibition et la dissolution des calculs rénaux.

Ensuite, nous analysons ces résultats à la lumière des mécanismes d'action possibles des composés phénoliques de *Fmaria agraria* et discutons de leur pertinence pour le développement de nouvelles stratégies de prévention ou de traitement des calculs rénaux.

II.1 Récolte et séchage du matériel végétal

- La récolte de la partie aérienne de la plante *Fumaria agraria* a été faite au printemps (Mars,2024), stade de floraison et fructification durant lequel le pic en substances actives est maximum (**suau et al., 2002**).
 - Les enzymes hydrolases présentes dans le matériel végétal frais peuvent induire la décomposition de certains composés phénoliques. Ainsi, afin de prévenir cette réaction, le matériel végétal a été séché à l'étuve à 40° (**Bruneton,1999**).
 - Le broyage comme étant un facteur important pendant l'extraction, permet d'augmenter la surface de contact entre la matière végétale et le solvant, favorisant ainsi sa solubilité pour obtenir un meilleur rendement en substances dissoutes (**Kablan et al., 2008**).
- La méthode d'extraction des composés phénoliques, le ratio échantillon/solvant, le temps et la température d'extraction sont des facteurs qui influencent l'extraction des composés phénoliques (**Bruneton, 2009**).

II.2 Extraction et dosage colorimétrique des composés phénoliques totaux

II.2.1 Extraction

Dans cette étude, l'extraction a été effectuée selon le procédé solide-liquide, impliquant la macération de poudre de *Fumaria agraria* dans de l'éthanol. Ce solvant est réputé pour son efficacité à extraire les composés phénoliques (**Cowan, 1999**). Les avantages de la macération et l'éthanol sont représentés dans le tableau X.

Tableau IX : les avantages de macération et de l'éthanol (**Rajbhar et al., 2014 ; Kashif et al., 2017**)

Avantages de « Macération ».	Avantage de « L'éthanol ».
<ul style="list-style-type: none"> ○ Elle évite la fragilité des espèces chimiques organiques qui peuvent se dégrader à des températures plus élevées. ○ C'est une technique d'extraction à froid qui restreint la libération (la perte) d'espèces chimiques dans l'air ○ Moins de consommation de temps par rapport au soxhlet 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Faible toxicité et moins altérant comparant au méthanol ○ Facilement volatile (éliminable) ○ Permet une extraction maximale des composées végétales polaires

- **Temps d'extraction**

Ce facteur est essentiel pour extraire les composés phénoliques. On extrait ces composés en utilisant la concentration optimale du solvant et le rapport échantillon/solvant le plus élevé possible. Le temps d'extraction optimum, en se basant sur les résultats du dosage, correspond à 30 min tout en fixant le degré d'agitation (**Souseck et al., 1999**).

II.2.2 Dosage des polyphénols totaux

Compte tenu de la coexistence de plusieurs substances absorbantes à des longueurs d'ondes proches dans un extrait de plante, il n'est pas certifiant d'effectuer un dosage spécifique à partir d'une seule mesure. La méthode la plus couramment utilisée consiste en une approche différentielle, qui implique de mesurer la variation de l'absorbance à une longueur d'onde donnée après l'ajout d'un réactif spécifique à une substance ou à un groupe de substances (**Singleton et al., 199**).

Le dosage des polyphénols de la partie aérienne de notre plante a été réalisé par la méthode de Folin Ciocalteu (**Singleton et al., 1999**), en se référant à une courbe d'étalonnage linéaire en utilisant l'acide gallique comme standard (Figure 13).

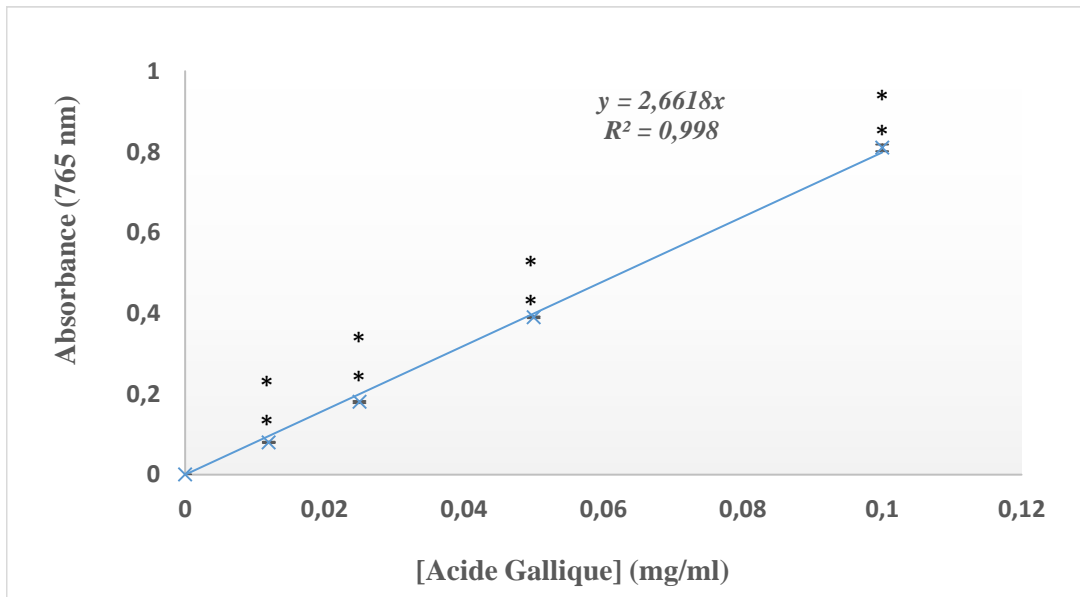


Figure 13 : Courbe d'étalonnage acide gallique

Les résultats des dosages des polyphénols sont représentés dans la figure ci-dessous (Figure 14). La quantité de polyphénols est exprimée en « mg » équivalent d'acide gallique par « 100 g » de poudre sèche (mg EAG/100g PS).

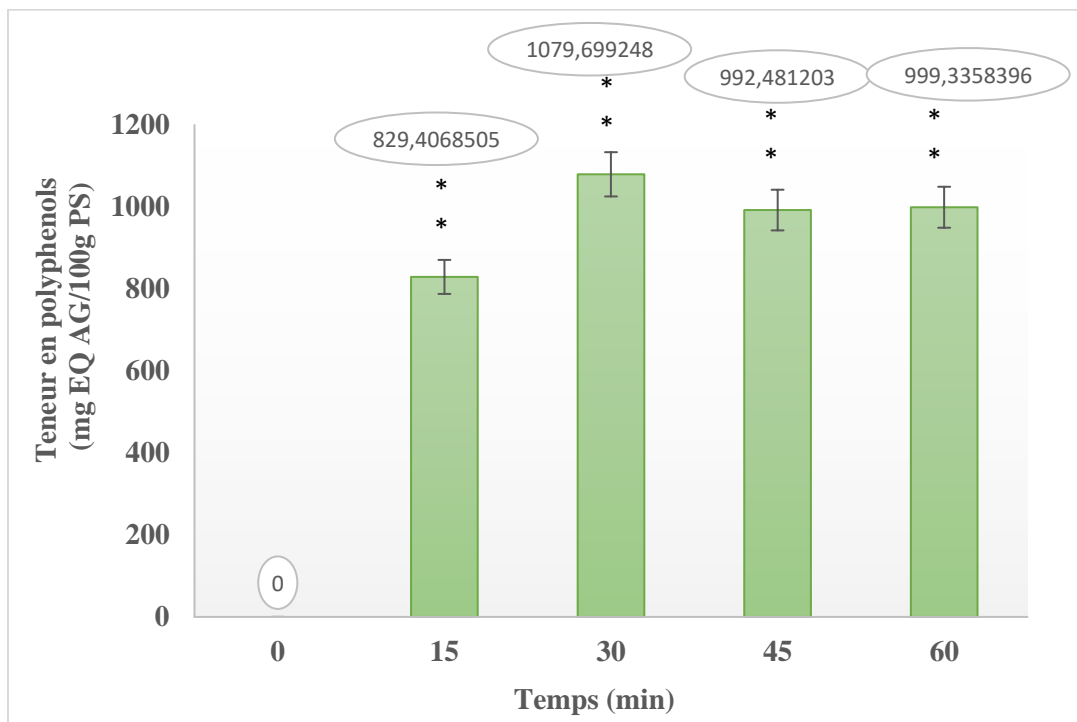


Figure 14 : Teneur en polyphénols totaux (exprimé en mg EAG/100g PS)

Les résultats obtenus démontrent l'efficacité de la « macération » dans l'extraction de ces métabolites secondaires. Les valeurs obtenues varient entre $1079,69 \pm 0.021$ (mg EAG/100g PS) et 829.40 ± 0.024 (mg EAG/100g PS). Ces résultats mettent en évidence des variations statistiquement très significatives ($p < 0.01$).

Ces résultats concordent avec les résultats obtenus par (Telli et al., 2010) qui ont constaté que la variation de la quantité totale de composés phénoliques dans l'extrait éthanolique provenant de la poudre de dattes Ghars est rapide entre 30 minutes et 5 heures.

Cependant, de nombreux chercheurs ont souligné la possibilité de l'oxydation de certaines substances notamment des composés oxygénés tel que les composés phénoliques, pour des temps d'extraction élevés (Nazck et Shahidi, 2004 ; Nazck et Shahidi, 2006).

Les résultats estimés à « **1079 mg EAG/100g** » demeurent inférieurs à ceux obtenus chez d'autres espèces de *Fumaria* du même genre, collectées à la même période (mars) mais dans une région espagnole qui sont de : « **1884mg EAG/100g** » pour *F. agraria*, « **2533mg EAG/100g** » pour *F. capreolata*, de « **2938 mg EAG/100g** » pour *F. officinalis*, « **2037 mg EAG/100g** » pour *F. parviflora* et « **2425 mg EAG /100g** » pour *F. densiflora* (Sousek et Valesova, 1999) (Sousek et Valesova, 1999). Cette différence peut être attribuée à la composition du sol comme aux facteurs climatiques.

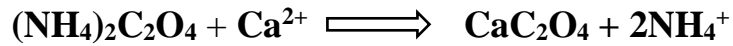
Dans le genre *Fumaria*, des analyses effectuées sur des échantillons prélevés durant les mois d'avril, mai et juin ont confirmé l'impact saisonnier sur la concentration en polyphénols (Sousek et Valesova, 1999).

La variation quantitative peut également être attribuée au volume et au type de solvant d'extraction utilisé, les solvants alcoolisés peuvent augmenter la perméabilité des parois cellulaires (Seidel, 2005). De plus, le poids initial de la poudre et son état (frais ou sec) peuvent également influencer l'extraction ainsi que le taux et la nature des composés extraits (Mbodj, 2003; Naczck et Shahidi, 2006).

De ce résultat de dosage, l'extrait éthanolique des polyphénols totaux issu de l'extraction par macération à 30 min, représentant le meilleur taux en polyphénols, a été étudié pour évaluer son effet vis à vis l'inhibition de formation et la dissolution des cristaux lithiasique *in-vitro*.

II.3 Formation des cristallites oxalate de calcium

Au niveau urinaire, les cristaux d'oxalate de calcium sont distingués par leur niveau d'hydratation et leur mécanisme de cristallisation qui se repose sur la précipitation des ions d'oxalates ($\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$) avec les cations de calcium (Ca^{2+}), sous la réaction chimique suivante :



Dans notre étude *in-vitro*, la formation du cristallite d'oxalate de calcium découle de la liaison ionique covalente entre l'ion oxalate ($\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$) et l'ion calcium (Ca^{2+}), ce qui génère un polymère d'oxalate de calcium $[\text{Ca}(\text{COO})_2]$. Ce polymère, grâce aux interactions hydrostatiques, se réarrange en couches, formant ainsi le cristallite stable d'oxalate de calcium. Il existe sous deux formes différentes : « L'oxalate de calcium dihydraté » est la forme la plus courante, connue sous le nom minéralogique de « **Weddellite** » et « L'oxalate de calcium monohydrate » ou « **Whewellite** » (Tiselius HG, 2003).

In-vitro, un précipité ou un trouble blanc apparaissant lentement en fonction de temps, indique la formation des cristallites d'oxalate de calcium dans le milieu réactionnel sous des conditions identiques à ceux physiologiques (Température et pH) (Houhamdi et al., 2000) (Figure 15).



Figure 15 : Formation de cristallites d'oxalate de calcium sous forme d'un trouble blanc

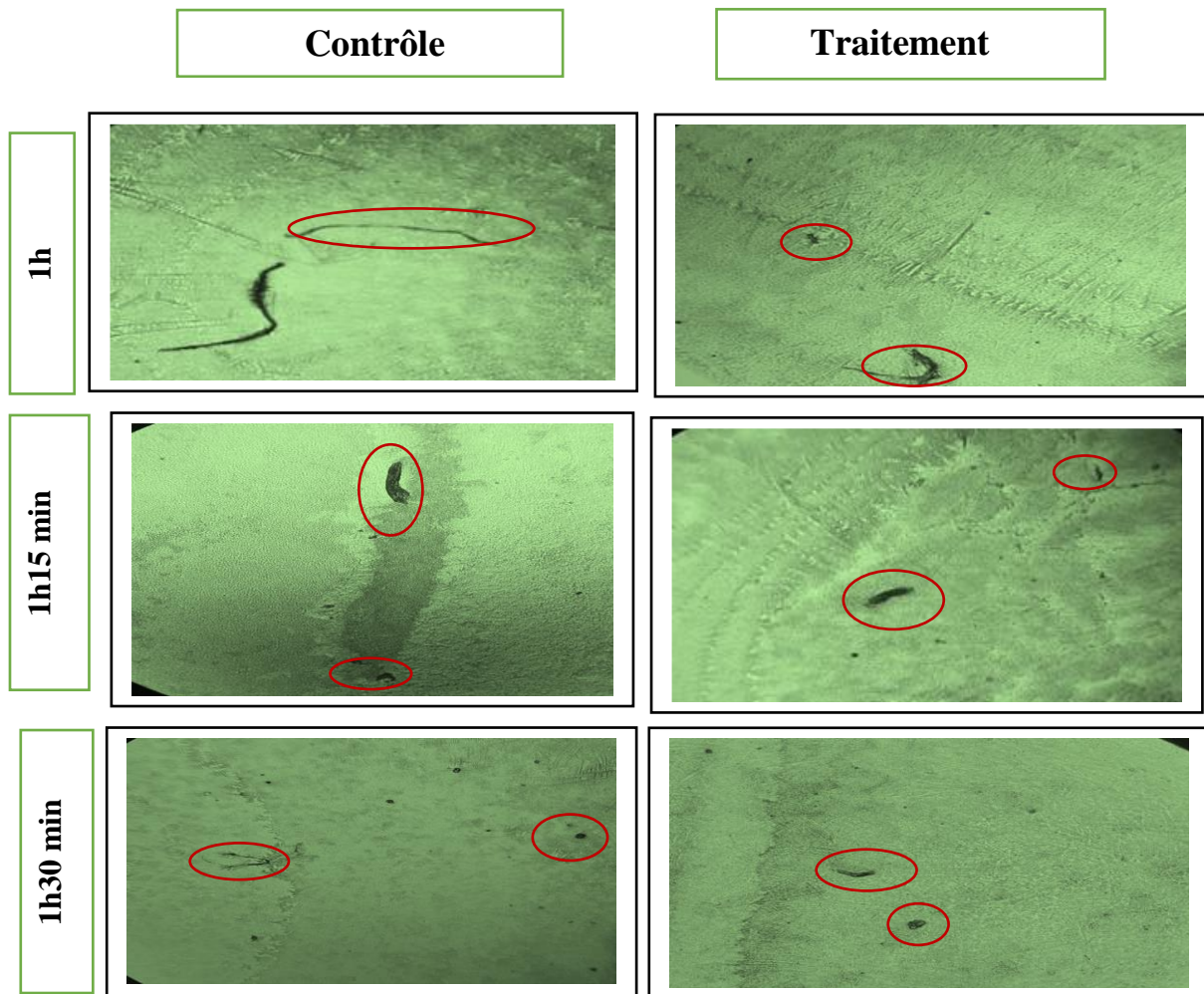
II.4 Inhibition des cristallites « Effet préventif »

L'inhibition des cristallites d'oxalate de calcium constitue un domaine de recherche crucial dans les maladies lithiasiques pour un effet préventif contre toute réaction récidive, une condition caractérisée par la formation de calculs rénaux. Ces cristaux oxalo-calciques, peuvent entraîner des douleurs intenses et des complications rénales (Baddade et al., 2018). Allant dans

ce sens, les recherches se sont orientées vers prévention de la formation de ces cristallites ou pour limiter leur croissance et agglomération.

L'intérêt de cette étape réside dans le test d'identification de l'effet inhibiteur de l'extrait ethanolic des composés phénoliques de *Fumaria agraria*, sur les cristallites d'oxalates de calcium en solution préparée préalablement.

En se référant aux travaux de **Baddade et al. (2018)**, une approche qui suggère d'inhiber la formation des cristallites d'oxalate de calcium, les résultats sont observés chaque **15min** pendant **2h** sur lame au microscope optique, grossissement **X40**, dont l'inhibition débute après 1h de formation des cristallites ; les résultats sont présentés dans la Figure 16.



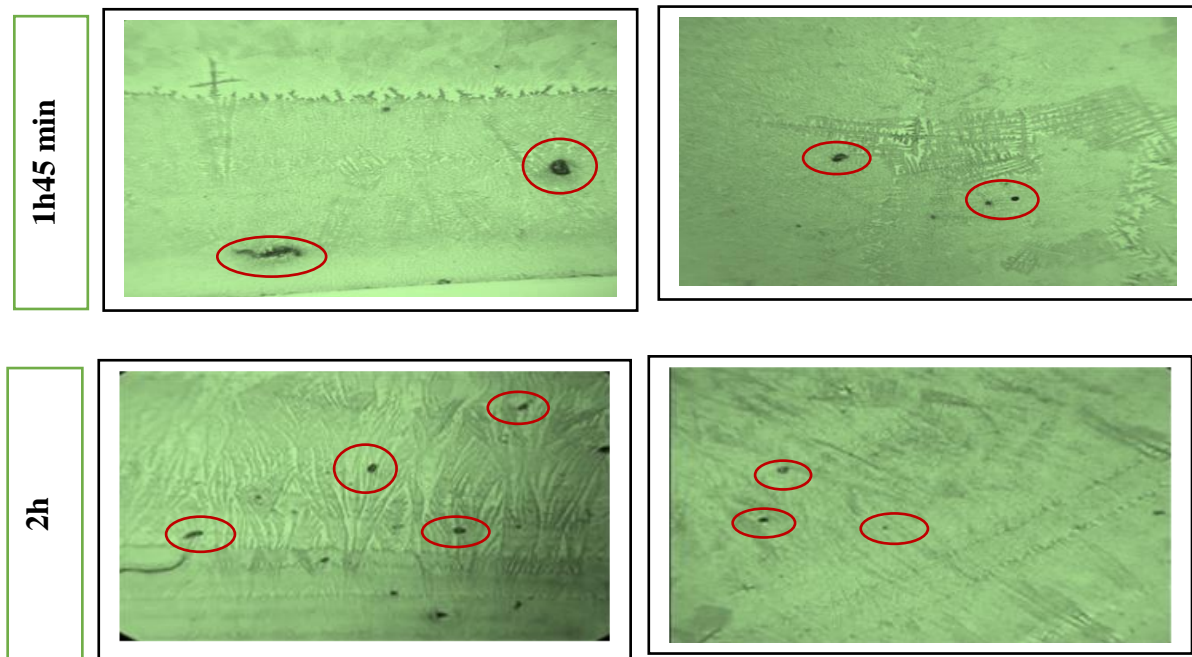


Figure 16 : Effet inhibiteur de l'extrait éthanolique des composés phénoliques de la partie aérienne de *F. agraria* sur la formation des cristallites oxalo-calciques (grossissement x40).

Dans le domaine des lithiases rénales, où aucun traitement curatif n'existe, les efforts thérapeutiques se concentrent sur la gestion des symptômes et la prévention de la formation de nouveaux calculs. Cependant, les solutions actuelles demeurent limitées face à l'élimination des calculs existants ou à la prévention de leur réapparition (**Lemaire, 2018**).

Selon (la figure 17) on observe une réduction de formation des cristallites d'oxalate de calcium au fil du temps, comparativement aux lames témoins.

Pendant le processus d'extraction, l'extrait éthanolique, qui est un extrait brut, est enrichi en composés phénoliques existant dans la poudre végétale de la partie aérienne de notre plante. Selon **Souseck et ses collaborateurs (1999)**, *Fumaria agraria* présente une richesse en Acides phénols (Acides Caféique, Chlorogénique et Fumarique), en acides organiques (Acides malique, éritique et glycolique) et en Flavonoïdes (Hétéroside de la quercétine : Isoquercitrine, Rutoside et le quercitrine-3,7-diglucoside-3- arabinoglucoside)

Les composés phénoliques typiques ayant une activité antioxydante sont principalement divisés en deux grandes catégories : les acides phénoliques et les flavonoïdes (**Apak et al., 2007**). Plusieurs études ont prouvé l'efficacité antioxydantes des composés phénoliques et leur capacité de neutraliser les radicaux libres par plusieurs mécanismes, en cédant soit un électron, soit un atome d'hydrogène (Figure 16). Leur structure particulière leur confère une activité antioxydante remarquable (**Apak et al., 2007**). Les groupes hydroxyle des

polyphénols agissent efficacement en tant que donneurs d'électrons; ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote, interrompant ainsi le cycle de génération de nouvelles espèces radicalaires (**Perron et al., 2011**).

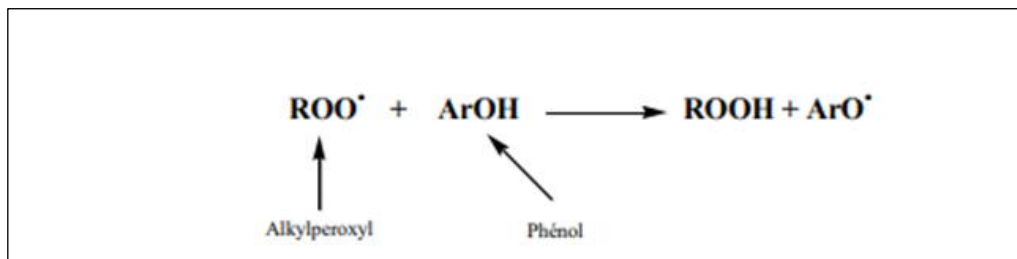


Figure 17 : Illustration d'un mécanisme d'action des polyphénols : la donation d'hydrogène (**Halliwell, 2008**).

Les travaux de Dai et Mumper en 2010 ont confirmé que les composés phénoliques présentent une structure chimique propice à la capture des radicaux libres en raison de deux caractéristiques principales (**Dai et Mumper, 2010**) :

- la présence de groupes phénoliques hydroxyles, qui ont la capacité de fournir un atome d'hydrogène ou un électron au radical libre.
- Un système aromatique stabilisé par la résonance, ce qui contribue à renforcer leur activité anti-oxydante.

Notre hypothèse dans ce contexte d'inhibition de la formation des cristallites d'oxalates de calcium, se traduisant par une diminution de l'opacité des cristallites ou des filaments oxalo-calcique sous microscope entre les lames en contacts avec l'extrait, repose probablement sur l'effet des composés phénoliques présents dans l'extrait éthanolique en agissant en tant qu'antioxydants pour piéger et donc protéger les ions calcium contre l'oxydation. On a cité préalablement que la formation du cristallite d'oxalate de calcium $N([\text{Ca}(\text{COO})_2]_n)$ est la résultante de la formation des liaisons ioniques covalentes entre l'ion oxalate ($\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$) et l'ion calcique (Ca^{2+}), formant ainsi un polymère d'oxalate de calcium $[\text{Ca}(\text{COO})_2]_n$. Ce polymère et grâce aux interactions hydrostatiques se réorganise en feuillets formant ainsi le cristallite stable d'oxalate de calcium mono ou dihydraté $N\{([\text{Ca}(\text{COO})_2]_n) (\text{H}_2\text{O})_x\}$ (**Auméras, 1927**).

Il est connu, que l'intensité de l'opacité d'un cristal ou d'une cristallite est proportionnelle au nombre de feuillets formé ce qui est observé dans les lames étant en contact avec l'extrait en comparaison aux lames contrôles (sans extrait).

Les ions calcium sont des cations métalliques qui peuvent subir des réactions d'oxydation, ce qui signifie qu'ils peuvent perdre des électrons lorsqu'ils interagissent avec des molécules oxydantes. Si les ions calcium sont oxydés, cela peut potentiellement les rendre moins réactifs ou même les rendre incapables de participer à des réactions chimiques, telles que la formation des oxalates de calcium.

II.4 Dissolution des cristallites « Effet curatif »

Le test de dissolution vise à évaluer l'efficacité d'une molécule ou un mélange de molécules à dissoudre les cristallites d'oxalate de calcium pour un effet curatif.

Nous tenons à rappeler que la formation d'oxalate de calcium repose sur la polymérisation des complexes oxalo-calciques liés par les liaisons hydrostatiques. Les cristallites se forment par l'empilement de plusieurs couches, créant une opacité visible au microscope optique (**Tableau XI**).

La solution de cristallites d'oxalate de calcium est formée **2h** après interaction des deux solutions CaCl_2 et $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ a raison préalablement préparées.

La figure 18 illustre les photos microscopiques (**x40**) des filaments ainsi que les cristallites d'oxalate de calcium formés après **2h** d'interaction.

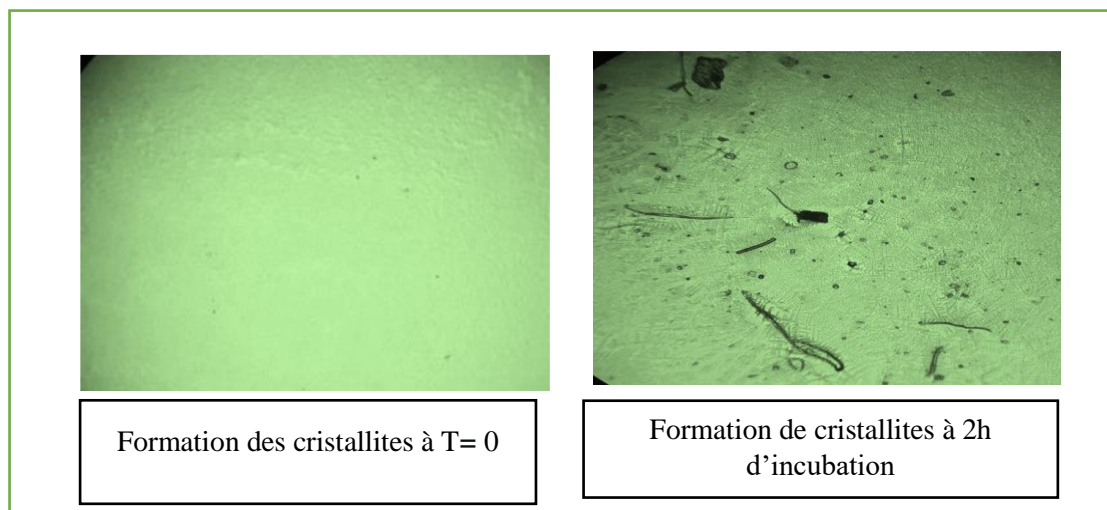


Figure 18 : Les illustrations microscopiques des filaments et cristallites d'oxalate de calcium à $T= 0$ et fin d'interaction (grossissement $\times 40$).

L'observation au microscope optique se fait deux heures après incubation des cristallites, préalablement synthétisés, avec nos concentrations des extraits éthanoliqes. Les résultats ainsi que la discussion sont illustrés ci-dessous (Figure 19)

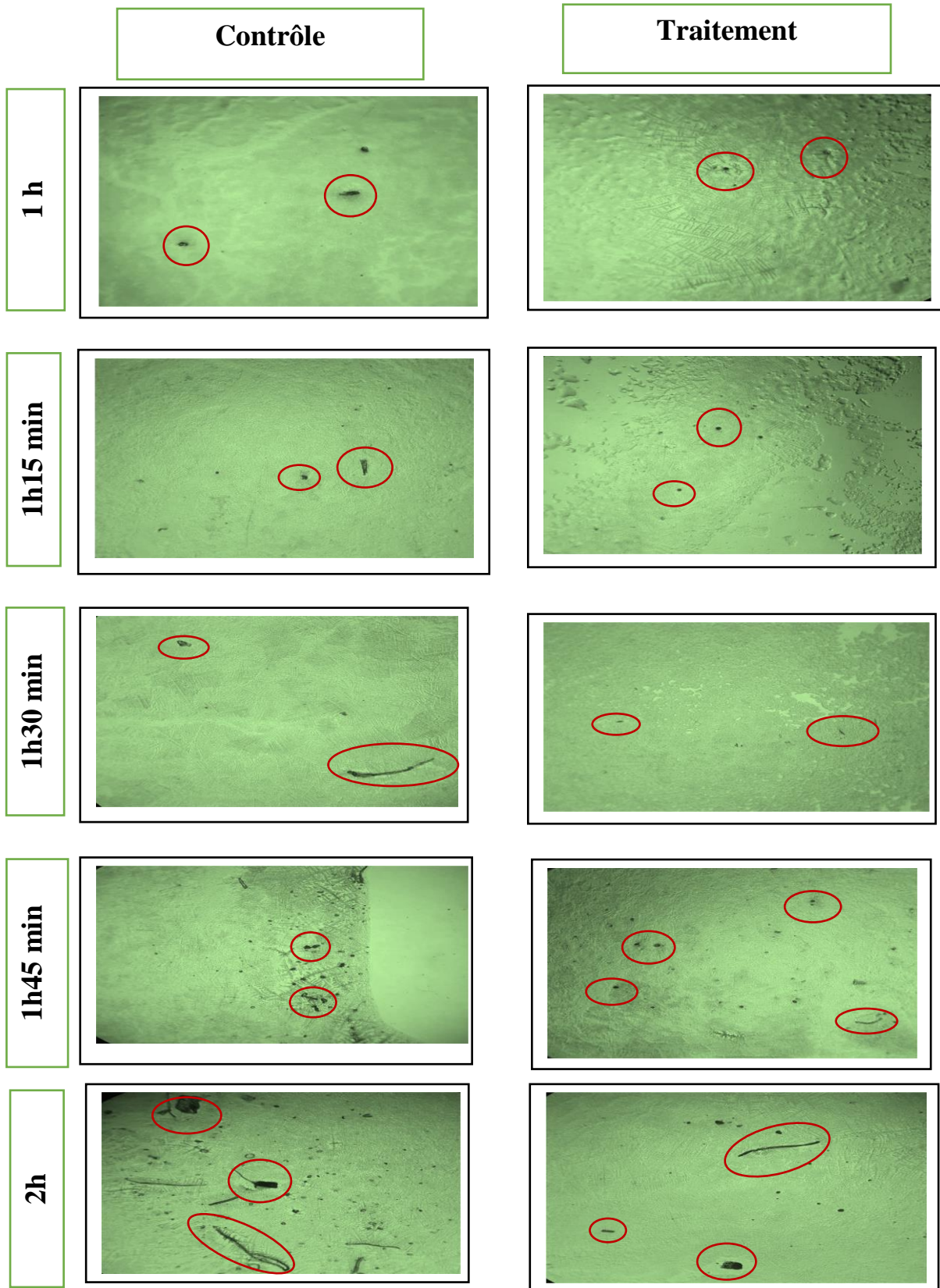


Figure 19 : Résultats de dissolution des cristallites d'oxalates de calcium par l'extrait éthanolique (grossissement x40).

Après plusieurs tentatives en employant différentes concentrations en extrait, la concentration de 0.26mg /ml a été fixée pour son effet dissolutif sur les cristallites préalablement formées, ou l'observation microscopique s'est étalée à 2h chaque 15min ceci après les 2h de formation de cristallites.

L'acidité urinaire est l'un des premiers facteurs de risque survenant la cristallisation *in vivo* et donc la formation des cristallites responsables des calculs rénaux. Certaines substances, habituellement ont une solubilité peu variable en fonction du pH urinaire cas de l'oxalate et de la 2,8 dihydroxyadénine (**Khouchlaa et al., 2017**). Ces derniers peuvent être déstabilisés dans des milieux a pH très bas (**Auméras, 1927**).

Il a été observé que l'ajout de l'extrait de notre plante dans la solution d'oxalate de calcium diminue le pH réactionnel (pH= 3,5) et donc augmente le degré d'acidité.

Ce changement du pH peut probablement s'expliquer par la présence des protons H⁺ dans le milieu réactionnel, libérés par les composés phénoliques de l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *F. agraria*. Rappelons que parmi les mécanismes antioxydants, très réponsus pour les polyphénols, est la mise en jeu des atomes H⁺ de ces composés selon la réaction ci-dessous :



La présence des composés phénoliques libère les ions H⁺, ce phénomène se traduit par une baisse de pH et donc une augmentation d'acidité du milieu réactionnel ; Cette dernière probablement exerce une pression par attaque acide sur les liaisons covalentes existantes entre les constituants, provoquant ainsi la diminution de volume et d'intensité des cristallites.

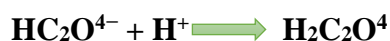
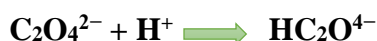
Ces ions H⁺ réagissent avec les ions oxalate (C₂O₄²⁻) pour former l'ion hydro-oxalate (HC₂O₄⁻). Cette conversion réduit la concentration de l'ion oxalate libre en solution en affectant sa solubilité en solution, d'où un effet dissolutif qui peut avoir lieu (**Auméras, 1927**).

La dissolution de l'oxalate de calcium dans un environnement acide peut être représentée par les réactions suivantes :

1. Dissociation de l'oxalate de calcium :



2. Protonation de l'oxalate :



*Conclusion &
perspectives*

Depuis l'aube de l'humanité, les humains ont cherché à traiter diverses affections en utilisant une association médicamenteuse, qui n'était pas souvent sans risque ni complications sérieuses. C'est pourquoi ils se tournent souvent vers la médecine traditionnelle, qui exploite des substances naturelles mieux assimilables par l'organisme et qui constituent le principal vivier de nouveaux médicaments.

Dans notre étude, nous avons testé, *in vitro*, l'effet inhibiteur et dissolutif de l'extrait éthanolique de la partie aérienne de l'espèce *Fumaria agraria* sur les cristallites d'oxalate de calcium, les cristaux les plus abondant dans les maladies lithiasiques.

L'extraction des substances actives de la poudre végétale de la partie aérienne de notre plante a été réalisée par macération en fonction de temps, suivi d'un dosage colorimétrique afin d'estimer le temps idéal d'extraction correspondant au plus grand taux en teneur phénolique, ceci en se référant à la courbe d'étalonnage établie à l'aide de l'acide gallique comme molécule standard. Les résultats obtenus nous ont informé que **30 min** d'extraction à froid sous agitation et à l'abri de la lumière sont suffisants pour un meilleur rendement en polyphénols estimés à 1079.27mg EAG/100g de PS.

Plusieurs mis au point ont été effectués afin de formée des cristallites **d'oxalate de calcium** en utilisant deux produit à savoir : **l'oxalate d'ammonium ((NH₄)₂C₂O₄)** et le **chlorure de calcium dihydrate (CaCl₂)**, et puis de tester l'effet dissolutif et inhibiteur de notre extrait préalablement préparé.

Les résultats obtenus à partir de l'ensemble des tests réalisés démontrent que l'extrait aqueux de cette plante possède un potentiel anti-lithiasique via l'inhibition de la formation des cristallites d'oxalate de calcium (effet préventif) comme via leur dissolution pour un effet curatif. Ces effets peuvent être à l'origine des interactions avec les composés phénoliques présents dans notre extrait ce qui constitue une avancée majeure dans la quête d'un remède efficace contre la formation de lithiases.

Des études complémentaires pourraient être envisagées pour enrichir ce travail, notamment :

- Réaliser une spectroscopie infrarouge à transformée de fourier (**FTIR**).
- Etablir des corrélations entre les effets antioxydants de l'extrait et l'effet anti-lithiasique afin de comprendre la relation structure fonction
- Refaire les essais sur des vrais calculs rénaux.
- D'autres paramètres toxicologiques, pharmacocinétiques et pharmacodynamiques sont indispensables à étudier.

Références
Bibliographiques

-A-

- APAK, Reşat, GÜÇLÜ, Kubilay, DEMIRATA, Birsen *et al.* Évaluation comparative de divers tests de capacité antioxydante totale appliqués aux composés phénoliques avec le test CUPRAC. *Molécules*, 2007, vol. 12, n° 7, p. 1496-1547.
- Asif Khan M, Kuznia J, Bhattarai A. Metal semiconductor field effect transistor based on single crystal GaN. *Applied Physics Letters*, 1993 ; 62 :1786-1787.
- AUMÉRAS, Maurice. Contribution à l'étude des équilibres ioniques. Premier Mémoire : Étude de l'équilibre oxalate de calcium-acide chlorhydrique étendu. *Journal de Chimie Physique*, 1927, vol. 24, p. 24-49.
- Azhar R, Metcalfe C, Inderbir S. Anatomic partial nephrectomy: technique evolution. *Current Opinion in Urology* 2015 ; 25 : 95-99.

-B-

- Baddade L., El Bir M., Oubenali M., Echajia M., Rabi S., Berkani M., and Mbarki M. (2018). Inhibition de la cristallisation in vitro de l'oxalate de calcium par extrait aqueux de Zizyphus Lotus, *International Journal of Innovation and Applied Studies*.
- Basavaraj D, Biyani C, Browning A. The role of urinary kidney stone inhibitors and promoters in the pathogenesis of calcium containing renal stones. *EAU-EBU update series* 2007 ;5 :126-136.
- Benyakoub O. LA LITHIASE URINAIRE CHEZ L'ENFANT EXPERIENCE DE L'HOPITAL D'ENFANT DE RABAT 2023.
- Bessaguet F et Desmoulière A. Les reins. *Actualités pharmaceutiques* 2020 ;59 : 57-60.
- BOIZOT, Nathalie et CHARPENTIER, Jean-Paul. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA, In: Numéro spécial*, 2006, p. 79-82.
- Bougoffa-Sadaoui K, Gontier E, Telliez M S, Lequart-Pillon M, Ouadid-Ahidouch H, Maiza-Benabdesselam F. Characterization of isoquinolin alkaloids from *Fumaria agraria* and evaluation of their antiproliferative activity against human breast cancer cell lines. *Phytothérapie* 2016 ;14 : 188-195.
- Bruneton J. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier, 2009.

-C-

- Courbebaisse M, Pprot-bertoye C, Bertocchio J.-P. Lithiase rénale de l'adulte: des mécanismes au traitement médical préventif. *La Revue de Médecine Interne* 2017 ; 38 : 44-52.
- COWAN, Marjorie Murphy. Produits végétaux comme agents antimicrobiens. *Revue de microbiologie clinique*, 1999, vol. 12, n° 4, p. 564-582.

-D-

- DAI, Jin et MUMPER, Russell J. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 2010, vol. 15, no 10, p. 7313-7352.
- DALIBON, Pierre. La lithiase urinaire, une affection sous surveillance. *Actualités Pharmaceutiques*, 2015, vol. 54, no 542, p. 23-29.
- Daudon M, Bounxouel B, Santa cruz F. Composition des calculs observés aujourd'hui dans les pays non industrialisés. *Prog Urol*, 2004 ; 14 : 1151-61.
- Daudon M, Traxer O, Lechevallier E. Épidémiologie des lithiases urinaires. *Progrès en urologie* 2008 ;18 :802-814.
- Daudon M., Bader C, Jungers P. Urinary calculi: review of classification methods and correlations with etiology. *Scanning Microscopy*, 1993 ; 7 :32.
- Daudon M et Jungers P. Stone composition and morphology: a window on etiology. *Urolithiasis: basic science and clinical practice* 2012 ;113-140.
- Debre B, Thomas J, Thomas, E, Fompeyide D. Hypocitraturie de la lithiase rénale uro-oxalique. *La Presse thermale et climatique* 2008 ; 145 :257-26.

-E-

- Edeline, J, Rioux-Leclercq, N. Carcinomes à cellules rénales et facteurs pronostiques. Renal cell carcinoma and prognostic factors In *Annales de Pathologie* 2008 ; 28 :374-80.

-F-

- Fournier A., Bataille P., (1991). Monographie Lithiase rénale : Avant-propos. Rev. Prat.

-G-

- Gagnadoux, M, Broyer, M., Le Bihan, C., Charbit, M., Guest, G., Tete, M. J, Niaudet, P. Long-term social outcome of children after kidney transplantation. *Transplantation* 2004 ;7 : 1033-1037.
- Gilani A H. Trends in ethnopharmacology. *Journal of ethnopharmacology* 2005 ;100 :43-49.
- Goetz P, Ghedira K, Le Jeune R. *Fumaria officinalis* L.(Fumariaceae). *Phytothérapie* 2009 ;7 :221-225.
- Gougoux F, Zatorre R, Lassonde M. A functional neuroimaging study of sound localization: visual cortex activity predicts performance in early-blind individuals. *PLoS biology*, 2005 ; 3 :27.
- Guentin V, Deray G, Isnard-Bagnis C. La physiologie rénale. *Journal de Pharmacie Clinique* 2011 ; 30 : 209-214.

-H-

- HALLIWELL, Barry. Les polyphénols sont-ils des antioxydants ou des pro-oxydants ? Qu'apprenons-nous de la culture cellulaire et des études in vivo ?. *Archives de biochimie et biophysique* , 2008, vol. 476, n° 2, p. 107-112.
- HAMMOUDI, Roukia, KHENFER, Siham, MEDJOUEL, Maroua, *et al.* Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques de *Salvia chudaiei*. *Liban Sci J* , 2017, vol. 18, p. 234.
- Haymann J, Bazin D, Emmanuel L. Pathological calcifications: a medical diagnosis based on their physicochemical properties. *La presse médicale* 2014 ;43 :135-48.
- Hymam J., Kenfer A., Leglicier B., Peraldi M-M., Rance B. Rondeau E., Rossert J., Spar J-D., (1996). Néphrologie 2ème édition ; Service néphrologie-Hôpital Tenon-Pris.

-J-

- Joseph P, Mandal AK, Singh SK, Mandal P, Sankhwar SN, Sharma SK. (2002). Computerized tomography attenuation value of renal calculus: can it predict successful fragmentation of the calculus by extracorporeal Shockwave lithotripsy.
- Jauzein P. *Fumaria petteri* Reichenb. subsp. *calcarata* (Cadevall) Liden et Soler, un taxon méconnu. *Le Mondes des Plantes*1995 ;42 : 454, 29.
- Jungers P, Man N, Joly D. *L'insuffisance rénale chronique: prévention et traitement*. Lavoisier, 2011.
- Jungers, P, Daudon, M., Hennequin, C., Boujelben, G., Lacour, B. Serial crystalluria determination and the risk of recurrence in calcium stone formers. *Kidney international* 2005 ; 67 :1934-1943.
- Jungers, P Joly, D., Rieu, P., Méjean, A., Gagnadoux, M. F., Daudon, M. Treatment of cystinuria. *Pediatric Nephrology* 1999 ; 13 :945-950.

-K-

- KABLAN, B. J., ADIKO, M., et ABROGOUA, D. P. In vitro assessment of *Kalanchoe crenata* (Crassulaceae) and *Manotes longiflora* (Connaraceae), used for the treatment of eye diseases in the Ivory Coast. *Phytothérapie*, 2008, vol. 6, p. 282-288.
- Khana M, Rashidb M, Imranb M. Prevalence of asymptomatic coronary Artery disease on 99m TC-sesTAMbI spect In chronic kidney disease patients. *The Journal* 2015 ;13 :19.
- KHOUCHLAA, A., TALBAOUI, A., EL YAHYAOUI EL IDRISSE, A., *et al.* Détermination des composés phénoliques et évaluation de l'activité litholytique in vitro sur la lithiase urinaire d'extrait de *Zizyphus lotus* L. d'origine marocaine. *Phytothérapie*, 2017, vol. 16, no 1, p. 14-19.

-L-

- Lacour B. Physiologie du rein et bases physiopathologiques des maladies rénales. *Revue francophone des laboratoires* 2013 ; 451 :25-37.
- Laville M, Belaid S, Martin A, Schott A, Goaziou M. Hypovitaminosis D among 18-to-49-years-old women wearing concealing clothes, an ignored reality in general practice. *Presse Medicale* 2007 ; 3 : 201-206.
- Lechevallier E, Daudon M, Traxer O. Épidémiologie des lithiases urinaires. *Progrès en urologie* 2008 ;18 : 802-814.
- Lemaire, M., (2018). La lithiase rénale : comment éviter la récurrence ? Congrès UCL de Médecine Générale
- Lüllmann-Rauch, Bercovic S, Dibbens L, Oshlack A. Array-based gene discovery with three unrelated subjects shows SCARB2/LIMP-2 deficiency causes myoclonus epilepsy and glomerulosclerosis. *The American Journal of Human Genetics* 2008 ; 82 : 673-684.

-M-

- Maiza-Benabdesselam F, Khentache S, Bougoffa K, Chibane M, Adach S, Chapeleur Y, Laurain-Mattar D. Antioxidant activities of alkaloid extracts of two Algerian species of *Fumaria*: *Fumaria capreolata* and *Fumaria bastardii*. *Records of Natural Products* 2007 ;1 :28.

-N-

- Nabavi S, Marchese A, Orhan I E, Daglia M, Barbieri R, Di Lorenzo A, Nabavi S M. Antibacterial and antifungal activities of thymol. A brief review of the literature. *Food chemistry* 2010 ; 210 : 402-414.
- Nicole M., (2009). Anatomie physiologie biologie 4ème édition ; Maloine.

-O-

- OUATTARA, Adama. Lithiase urinaire en chirurgie pédiatrique du CHU Gabriel Touré. 2015.

-P-

- Pan C, Lin C, Hsuan-Liang. Indoxyl sulfate predicts cardiovascular disease and renal function deterioration in advanced chronic kidney disease. *Archives of Medical Research* 2012 ; 43 : 451-456.
- PERRON, Nathan R., GARCIA, Carla R., PINZON, Julio R., *et al.* Effets antioxydants et prooxydants des composés polyphénoliques sur les dommages à l'ADN induits par le cuivre. *Journal de biochimie inorganique* , 2011, vol. 105, n° 5, p. 745-753.

-R-

- RAJBHAR, KARISHMA, DAWDA, Himanshu, et MUKUNDAN, Usha. Polyphénols : Méthodes d'extraction. *Sci. Rév. Chimique. Commune* , 2015, vol. 5, n° 1, p. 1-6.
- Rakotondramasy-Rabesiaka L, Havet J L, Porte C, Fauduet H. Solid-liquid extraction of protopine from *Fumaria officinalis* analysis determination, kinetic reaction and model building. *Separation and Purification Technology* 2007 ;54 :253-261.

-

- Saita A, Bonacorsi A, Motta M. Stone composition: where do we stand?. *Urologia Internationalis* 2007 ; 79 : 16-19.
- Schell-feith E, Kist-van J, Conneman N,. Etiology of nephrocalcinosis in preterm neonates : association of nutritional intake and urinary parameters. *Kidney international* 2000 ;58 :2102-2110.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines. Current status and future prospect. *Int J Pharm Sci Rev Res* 2010 ; 3 :91-100.
- Sevik, H., Ozel, H. B., Cetin, M., Özel, H. U., Erdem, T. Determination of changes in heavy metal accumulation depending on plant species, plant organism, and traffic density in some landscape plants. *Air Quality, Atmosphere & Health* 2019 ; 12 :189-195.

- Silver, Agrawal, A., Marcia R., Walczyk M. Once-monthly darbepoetin alfa for maintaining hemoglobin levels in older patients with chronic kidney disease. *Journal of the American Medical Directors Association* 2007 ; 8 : 83-90.
- SINGLETON, Vernon L., ORTHOFER, Rudolf, et LAMUELA-RAVENTÓS, Rosa M. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In : *Methods in enzymology*. Academic press, 1999. p. 152-178.
- Soula A, Renollet Y, Bovin D. Analysis of high-temperature creep deformation in a polycrystalline nickel-base superalloy. *Materials Science and Engineering: A* 2009 ; 510 :301-306.
- Sousek J, Guedon D, Adam T. Alkaloids and organic acids content of eight *Fumaria* species. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques* 1999 ;10 :6-11.
- Souseck, K.J., Valesova, M. Chemical components of genus *Fumaria*. *Phytochemical Analysis*, 1999 (89): p. 489-500.
- Suau R, Cabezudo B, Rico R, Najera F, López-Romero J. M. Direct determination of alkaloid contents in *Fumaria* species by GC-MS. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques* 2002 ;13 :363-367.
- Susplugas J, Massa V, Susplugas P, Taillade R, Susplugas C, Salabert J. FUMETERRES EN LANGUEDOC ROUSSILLON. 1975.

-T-

- TEIXEIRA DA SILVA, Jaime A. Chrysanthèmes ornementaux : amélioration par biotechnologie. *Culture de cellules, de tissus et d'organes végétaux*, 2004, vol. 79, p. 1-18.
- TELLI, A., MAHBOUB, N., BOUDJENEH, S., et al. Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera* L) variété Ghars. 2010.
- TISELIUS, H.-G. Épidémiologie et prise en charge médicale de la maladie des calculs. *BJU international*, 2003, vol. 91, n° 8, p. 758-767.
- Tortora G J et Derrickson B H. Principles of Anatomy and Physiology, Hoboken: *John Wiley & Sons* 2012.
- Touahmi A, Rodesney C, Roman B, Dhamani N. Mechanosensing of shear by *Pseudomonas aeruginosa* leads to increased levels of the cyclic-di-GMP signal initiating biofilm development. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2017 ;114 : 5906-5911.

-W-

- Walid, KHITRI, LACHGUEUR, Nassima, TASFAOUT, Abdessamed, et al. Plantes antilithiasiques utilisées en médecine traditionnelle dans la ville d'Oran, Algérie. Approche ethnobotanique et phytochimique. *Revue d'ethnoécologie*, 2016, no 9.
- Wang X, Hu L, Wang X, Li N, Xu C, Gong L Liu, B. DNA methylation affects gene alternative splicing in plants. An example from rice. *Molecular plant* 2016 ; 2 :305-307.
- Wang, Z. Y., & Liu, J. R. In vitro and in vivo antioxidant activity of *Pinus koraiensis* seed extract containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 2009 ;4 : 681-686.

-X-

- XIE, We, Xiaomei, YE, Lidan. Construction of lycopene-overproducing *Saccharomyces cerevisiae* by combining directed evolution and metabolic engineering. *Metabolic engineering* 2015 ;30 : 69-78.

Annexe I : Appareils et réactifs

Appareils

- Balance de précision
- Barreaux magnétiques
- Béchers
- Broyeur électrique
- Centrifugation
- Cristallisoirs
- Cuves en quartz
- Embouts
- Entonnoirs
- Ependorfs
- Eprouvettes graduées
- Etuve ventilée
- Fioles
- Lames
- Micropipette
- Microscope optique
- Papier absorbant
- Papier aluminium
- Papier filtre wathman
- PH mètre
- Paraffine
- Spatule métallique
- Spectrophotomètre UV VISIBLE
- Tamiseur
- Tubes à essai
- Verre de montre
- Vortex

Produits

- Acide gallique ($C_7H_6O_5$)
- Carbonate de sodium (Na_2CO_3)
- Chlorure de calcium dihydraté ($CaCl_2$)
- Ethanol (C_2H_6O)
- Eau distillée (H_2O)
- Follin ciocalteu ($H_3PW_{12}O_{40}$)
- Oxalate d'ammonium (CaC_2O_4)

Résumé

La lithiase urinaire est une pathologie fréquente qui affecte, selon les pays, de 4 % à 18 % de la population. L'échec des traitements et méthodes conventionnels semblent la cause de se tourner vers la phytothérapie anti-rolithiasique. *Fumaria agraria* appartient à la famille des fumariacées, est couramment présente dans les régions méditerranéennes, y compris l'Algérie. Leur richesse en métabolites secondaires tels que les composés phénoliques et alcaloïdes isoquénoliéiques leur confèrent diverses propriétés pharmacologiques. Notre étude s'est fondée sur l'évaluation *in vitro* de l'effet anti-lithiasique de cet espèce suite à l'extraction éthanolique de sa partie aérienne, d'autre part nous sommes intéressées à la synthèse des calculs rénaux oxalo-calciques ainsi qu'à leur dissolution mais également à l'inhibition de leurs formations à partir de l'effet de l'extrait éthanolique de notre plante. Les résultats de cette recherche ont montré une richesse de cette plante en composés phénoliques, dont les propriétés de leur pouvoir anti lithiasique son indication dans les traitements et les préventions de certaines maladies n'est plus à démontrer. C'est pourquoi nous suggérons à ce qu'on porte un intérêt particulier à ces variétés pour les destiner à un but de fabrication médicamenteuse ou à usage thérapeutique.

Mots-clés : *Fumaria agraria*, lithiase urinaire, oxalate de calcium, extraits éthanoliques, composés phénoliques.

Summary

Urinary lithiasis is a common pathology that affects, depending on the country, from 4% to 18% of the population. The failure of conventional treatments and methods seems to be the reason to turn to anti-rolithiasis herbal medicine. *Fumaria agraria* belongs to the family of fumariaceae, is commonly present in Mediterranean regions, including Algeria. Their richness in secondary metabolites such as phenolic compounds and isoquenenolylic alkaloids give them various pharmacological properties. Our study was based on the *in vitro* evaluation of the anti-lithiasis effect of this species following the ethanolic extraction of its aerial part, on the other hand we were interested in the synthesis of oxalo-calcic kidney stones as well as their dissolution but also in the inhibition of their formation from the effect of the ethanolic extract of our plant. The results of this research have shown a richness of this plant in phenolic compounds, whose properties of their anti-lithiasis power and its indication in the treatments and prevention of certain diseases is no longer to be demonstrated. This is why we suggest that we pay particular attention to these varieties to destiny them for a purpose of medicinal manufacture or for therapeutic use.

Keywords: *Fumaria agraria*, urinary lithiasis, calcium oxalate,ethanloic extract,phenolic compounds.

