

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGRO/2019

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOMEMASTER

Domaine : SNV **Filière :** Sciences Agronomiques
Spécialité : Agro-alimentaire et Contrôle de Qualité

Présenté par :

CHIKHI Imane
MOKDAD Imane

Thème

Dissolution des calculs biliaires par quelques extraits végétaux. Essai *in vitro*.et caractérisation des plantes.

Soutenu le : 10 / 07 / 2019

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

Mr.RAI Abdelwahab

MCB

Univ. de Bouira

Président

Mr.LIBDIRI Farid

MCB

Univ. de Bouira

Examinateur

Mme.CHEKROUNE Malika

MCB

Univ. de Bouira

Promotrice

Année Universitaire : 2018/2019

Liste des figures :

Figure 1 : situation générale de la VB.....	1
Figure 2 : Lithiase biliaire triangle d'Admirand et Small.....	8
Figure 3 : la plante de <i>Malva sylvestris</i>	11
Figure 4: la plante d' <i>Herniaria hirsuta</i>	12
Figure5 : l'arbuste de citrus limon.....	13
Figure 6 : les plantes :(1) <i>Herniaria hirusta</i> ,(2) <i>Malva sylvestris</i> sous formes séchées.....	15
Figure7 : les calculs biliaires.....	16
Figure 8: Schéma d'extraction.....	21
Figure 9 : Dosage des phénols totaux par la méthode de Folin- Ciocalteu.....	22
Figure10: Dosage des flavonoïdes totaux par la méthode du trichlorure d'aluminium.....	23
Figure 11: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	24
Figure 12: L'acidité titrable de citron, <i>malva sylvestris</i> et <i>herniaria hirsuta</i>	28
Figure 13: Taux de cendre de citron, <i>Malva sylvestris</i> et <i>Herniaria hirsuta</i>	29
Figure 14: Taux d'humidité de citron , <i>Malva sylvestris</i> et <i>Herniaria hirsuta</i>	31
Figure 15 : teneur en saponine de <i>Malva sylvestris</i> et <i>Hurniaria hirusta</i>	32
Figure 16 : Teneur en polyphénols de <i>Malva sylvestris</i> , <i>Herniaria hirsuta</i> et citron.....	34
Figure 17 : Teneur en flavonoïdes de <i>Malva sylvestris</i> , <i>Herniaria hirsuta</i> et de citron.....	35
Figure 18 : Activité anti-radriculaire de citron, <i>Malva sylvestris</i> et <i>Herniaria hirsuta</i>	36
Figure 19: Taux de dissolution des calculs biliaires en fonction de temps (sans agitation)...	38
Figure20 : Taux de dissolution des calculs biliaires en fonction de temps (avec agitation)....	39

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Les caractéristiques des calculs cholestéroliques7

Tableau 2 : Principaux types de calculs pigmentaires (d'après Trotman).....7

Tableau 3 : Caractérisation des calculs utilisés.....17

Tableau 4 : Les valeurs des IC₅₀ de trois extraits de *M.sylvestris* et *L.citrus*.....37

Tableau 5: taux de dissolution des calculs biliaires à la fin d'expérience (sans agitation).....38

Tableau 6 .Taux de dissolution des calculs biliaires à la fin d'expérience (avec agitation)...39

Liste des abréviations :

AG :Acide gallique.

CB : calcul biliaire.

CPRE : cholangiopancréatographie rétrograde endoscopique.

CPRM :cholangiographie par résonance magnétique.

DPPH :2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle.

HIDA : acide hydroxy-iminodiacétique.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice 50%.

LB :Lithiase biliaire.

nm: nanomètre.

PPT : polyphenol total.

RR : Risque relatif.

t :tour.

VB :vésicule biliaire.

Remerciements :

Tout d'abord, je remercie Dieu, Le tout Puissant, de m'avoir donné la foi, le courage, la patience et la santé durant ce travail et même la réussite afin d'atteindre mon objectif.

Nous présentons aussi nos vifs remerciements à notre encadreur Mme CHEKROUNE Malika pour ses conseils et ses encouragements pendant tout ce travail.

Un très grand merci à tous les enseignants qui ont contribué à ma formation pour obtenir le diplôme de Master dans le domaine de la technologie agroalimentaire et contrôle de qualité.

J'adresse mes remerciements aussi aux membres de jury :

**RAI Abdelwahab*

**LIBDIRI Farid*

Enfin, nos remerciements vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.

A tous

Merci beaucoup.

Dédicace :

À mon très cher papa et ma très chère maman :

‘Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive. ‘

A mes très chers frères : Abd El-hakim, Abd El-hamid et le petit Imed El-din et ma chère seour Nour El-houda

‘Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde’’.

A ma belle-famille, et mon cher fiancé SAHNOUNE Naser El-din

‘ Pour leur soutien moral, compréhension et patience. ‘

A mes meilleures amies :Imane , Saida, Amina.

A tous les membres de ma famille MOKDAD et DJEBRI , petits et grands.

A tous mes amis et ma promotion TAA« 2019 ».

Imane

Dédicace :

*C'est avec un très grand honneur que
Je dédie ce travail à mes parents qui
Ont sacrifiés pour que je grandisse avec un savoir faire
Et qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui
Que dieux les protèges et les accorde une longue vie pleine
De sante et de bonheur.*

Je dédie aussi cette réalisation a :

Mes chères frères :Mohamed , Abbas , Moussa .

Ma belle-famille, et mon cher fiancé Amir pour leur soutien

moral, compréhension et patience.

mes meilleures amies :Imane , Saida, Amina...

Imane.

Sommaire

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Chapitre I : Lithiase biliaire

I.1.Généralités.....2

I.2.Définition.....2

I.3.Symptômes et complications.....3

I.4.Causes..... 4

I.5.Diagnostic et examens complémentaires4

I.6.Facteurs étiologiques et prédisposant à la lithiase biliaire5

I.6.1.Age.....5

I.6.2.Sexe.....5

I.6.3.Hérédité.....5

I.6.4.Régime alimentaire.....5

I.6.5.Multiparité.....5

I.6.6.Médicaments.....5

I.7.Calculs biliaires.....6

I.7.1. Types des calculs biliaires.....6

I.7.1.1.Calculs cholestéroliques.....	6
I.7.1.2.Calculs pigmentaires.....	7
I.7.2.Formation des calculs biliaires.....	7
I.7.2.1.Calculs cholestéroliques.....	8
I.7.2.2.Calculs pigmentaires.....	9
I.7.2.2.1.Calculs bruns.....	9
I.7.2.2.2.Calculs noirs.....	9
I.8.Traitement de la lithiase biliaire.....	9
I.8.1.Lithiase asymptomatique.....	9
I.8.2.Colique hépatique	9
I.8.3.Lithiase de la voie biliaire principale (angiocholite) cholécystite.....	10
I.8.4.Pancréatite aiguë.....	10

Chapitre II : Généralités sur les espèces végétales utilisées

II.1. <i>Malva Sylvestris</i>	11
II.1.1.Description.....	11
II.1.2.Compositions.....	11
II.1.3.Propriétés et applications médicinales.....	11
II.2. <i>Herniaria Hirusta</i>	12
II.2.1.Description	12
II.2.2.Composition.....	13
II.2.3.Propriétés et applications médicinales.....	13
II.3. <i>Citrus Limon</i> (citron).....	13
II.3.1.Description	13
II.3.2.Composition.....	13
II.3.3.Propriétés et applications médicinales.....	14

Chapitre III : Matériel et méthodes

III.1. Matériels.....	15
III.1.1. Matériels végétales	15
III.1.2. Calculs biliaires utilisés.....	16
III.2. Méthodes d'analyses	16
III.2.1. Caractérisation des calculs.....	16
III.2.2. Caractérisations des plantes utilisées.....	17
III.2.2.1. Acidité titrable.....	17
III.2.2.2. PH.....	18
III.2.2.3. Teneur en cendres.....	18
III.2.2.4. Détermination de la teneur en eau.....	18
III.2.2.5. Caractérisation et quantification des saponosides	19
III.2.2.5.1. Caractérisation des saponosides.....	19
III.2.2.5.2. Quantification des saponosides.....	19
III.2.2.6. Quantification d'Acide citrique.....	20
III.2.2.7. Dosage des composés phénoliques.....	21
III.2.2.7.1. Préparation des extraits.....	21
III.2.2.7.2. Dosage des poly phénols totaux	22
III.2.2.7.3. Dosage des flavonoïdes.....	23
III.2.2.7.4. Pouvoir anti-radicalaire(DPPH)	24
III.2.3. Etude de la dissolution des calculs.....	24
III.2.3.1. Méthode d'extraction et préparation des tisanes.....	24
III.2.3.1.1. jus de citron.....	24
III.2.3.1.2. préparation de l'infusion de chaque plante médicinale (d' <i>Herniaria Hirusta</i>	

et <i>Malva Sylvestris</i>).....	24
III.2.3.2.Test de dissolution.....	25

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1.Caractérisations des plantes utilisées.....	27
IV.1.1.Acidité titrable.....	27
IV.1.2. PH.....	28
IV.1.3.Teneur en cendres.....	28
IV.1.4. Détermination de la teneur en eau.....	29
IV.1.5. Caractérisation et quantification des saponosides.....	31
IV.1.5.1.Caractérisation des saponosides.....	31
IV.1.5.2.Quantification des saponosides.....	31
IV.1.6. Quantification d'Acide citrique.....	32
IV.1.7.Dosage des composés phénoliques.....	33
IV.1.7.1.Dosage des poly phénols totaux.....	33
IV.1.7.2.Dosage des flavonoïdes.....	35
IV.1.7.3.Pouvoir anti-radicalaire(DPPH)	36
IV.2.Test de dissolution des calculs.....	37
IV.2.1.Sans agitation.....	37
IV.2.1.Avec agitation.....	38
Conclusion.....	41
Références bibliographiques.....	42

Annexes

Introduction :

L'homme a utilisé les plantes médicinales pour traiter les maladies depuis des millénaires [1]. La médecine traditionnelle occupe une place centrale dans les pays en voie de développement [2]. Le recours à la médecine à base des plantes est profondément ancré dans notre culture, car l'Algérie est réputée par la richesse de sa flore médicinale qui comprend des centaines d'espèces végétales. Ainsi qu'elle a un savoir-faire testé de longue date par nos ancêtres. Parallèlement, toutes les cultures et les civilisations de l'Antiquité à nos jours dépendent entièrement ou partiellement de la phytothérapie en raison de leur efficacité, l'accessibilité, la disponibilité, la faible toxicité [3]. Un grand nombre d'affections et de maladies ont été traitées à l'aide des herbes médicinales comme la lithiase biliaires [4, 5,6].

La lithiase biliaire est une maladie fréquente touchant de 15 à 20 % de la population en Europe et en Amérique du Nord, et de 25-50 % en Algérie [6,7]. Pour la traiter ou la prévenir, de nombreuses populations à travers le monde ont recours aux plantes médicinales, ce qui constitue une pratique très ancienne [6]. Selon l'organisation mondiale de la santé en 2008, plus de 80 % de la population mondiale utilise des plantes ou leurs extraits contre de très nombreuses pathologies [8 ,6] y compris contre les calculs [6].

L'utilisation des plantes médicinales et leurs extraits pour traiter cette maladie, a fait l'objet de peu d'études [6].

Dans le présent travail, l'effet de la dissolution des calculs biliaires par les extraits végétaux a été étudié par les extraits de : *Malva Sylvestris*, *Herniaria Hirusta L.*, et *Limon Citrus*. Le but de cette étude est d'évaluer l'effet dissolvant de ces extraits, *in vitro*.

I. lithiase biliaire :

I.1.Généralités :

La vésicule biliaire est un organe de l'appareil digestif ayant pour fonction de stocker et de concentrer la bile produite par le foie, avant de la déverser dans les intestins au moment de la digestion. La bile est un liquide composé de mucus, de pigments biliaires, de sels biliaires, de cholestérol et de sels minéraux, destiné à faciliter la digestion.

La VB se situe près du foie, au niveau de l'abdomen et se présente en forme de poire, d'une longueur d'environ 8 centimètres pour 4 centimètres de diamètre [9].

Les voies biliaires sont des canaux qui sont chargés de collecter et de drainer la sécrétion biliaire hépatique au duodénum. A l'origine, apparaît à la troisième semaine du développement embryonnaire, l'ébauche hépatique sous forme d'un bourgeonnement de l'endoblaste à l'extrémité distale de l'intestin antérieur. La VB, les voies biliaires (cholédoque- cystique) se développent à partir de cette ébauche hépatique [10].

Au plan anatomique elles sont mieux connues de nos jours grâce aux examens radiologiques non invasifs et reproductibles qui affichent leur cartographie. Nous distinguons : les conduits intra-hépatiques et extra-hépatiques.

Ces voies biliaires sont parfois le siège de calculs dus à une précipitation des sels biliaires favorisée par la stase et l'infection. C'est cela qui lui donne une grande importance chirurgicale [11].

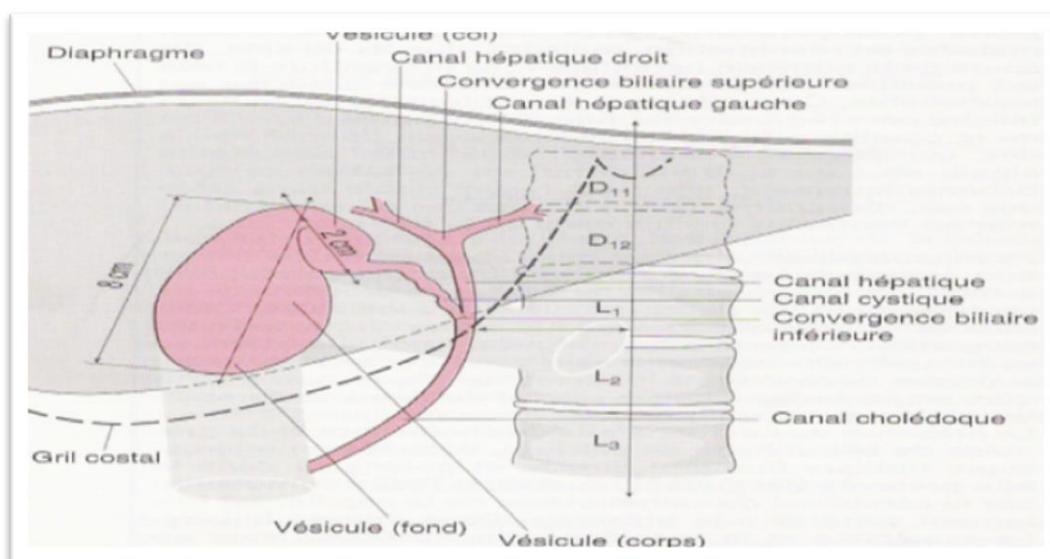


Figure 1 : situation générale de la vésicule biliaire[11].

I.2.Définitions :

Parmi les maladies de l'appareil hépato-biliaire aucune n'est plus commune que la lithiase, aucune n'est plus variée dans ses apparences cliniques, plus fertile en complication, aucune n'est plus importante à savoir reconnaître et traiter, soit que l'on s'en tienne aux méthodes médicales, soit qu'il faille recourir à l'intervention opératoire [12].

La prévalence de la LB est élevée dans les pays occidentaux puisque l'on estime qu'elle touche environ 10 à 20 % des patients [13]. Elle est rare en Extrême-Orient et en Afrique [14], et de 25-50 % en Algérie [6]. Dans l'Ouest algérien, la chirurgie biliaire représente 48 % des interventions chirurgicales (données non publiées) [15].

La lithiase "Maladie de la pierre", c'est-à-dire formation de cailloux (calculs) à l'intérieur de divers canaux des glandes endocrines [16]. La LB est la présence d'un ou de plusieurs calculs dans les voies biliaires [10], de taille et compositions variables responsables d'obstruction à l'écoulement de la bile, d'infection et d'agression chronique des parois biliaires [17].

I.3.Symptômes et complications :

La LB est le plus souvent asymptomatique [18] ne provoquent généralement pas de symptômes, mais le plus souvent, ils sont de découverte fortuite lors de l'imagerie diagnostique effectuée pour une autre raison, ou sont identifiés à l'autopsie [14].

Le principal symptôme, qui ne se manifeste que dans 20% des cas, est une douleur vive (colique hépatique) [19], qui survient quand le calcul migre dans le cystique ou le cholédoque. La douleur est brutale et intense, localisée dans l'épigastre ou l'hypochondre droit, irradiant vers l'épaule droite, inhibant l'inspiration forcée (coupant le souffle) et diminuée par l'immobilité (colique hépatique apathique) [20].

Colique biliaire : douleur abdominale supérieure intense de type colique irradiée vers le bord droit de la cage thoracique.

Cholécystite aigue obstructive : douleur vague dans la partie haute de l'abdomen. Distension, flatulence, intolérance des graisses.

Cholécystite aigue obstructive : douleur permanente dans l'hypochondre droit, fièvre, nausées +/-ictère .sensibilité dans le cadran supérieur droit avec signe de murphy.leucocytoce

.l'absence de traitement peut évaluer en empyème de la vésicule biliaire .Cholangite : fièvre élevée, frissons, ictère (triade de Charcot) [14,7].

I.4.Causes :

La LB est favorisée par : l'âge, le sexe, l'hérédité, la grossesse, l'obésité, le jeune, certains traitements hormonaux, et des maladies comme : la maladie de crohn ou la mucoviscidose, ralentissement de la nutrition, les médicaments réduisant les taux de lipides plasmatiques et les troubles de la réabsorption des sels biliaires [15,16,17 ,18] . Mais Les deux grandes causes de la lithiase biliaire sont le sexe féminin et la vieillesse [16].

I.5.Diagnostic et examens complémentaires :

Des antécédents de douleurs abdominales récurrentes et un ictère avec des selles pâles et des urines foncées, qui disparaissent par la suite, peuvent suggérer une maladie sous-jacente. Pour confirmer le diagnostic, il faut pratiquer les examens suivants :

- Une NFS : neutrophilie s'il y a une cholécystite aiguë. La colique hépatique peut évoluer seule sans surinfection.
- La biologie : les tests de fonction hépatique montrent des signes de cholestase (c'est-à-dire augmentation de la bilirubine et des phosphatases alcalines). L'amylase doit être vérifiée pour exclure une pancréatite aiguë, bien qu'elle puisse être légèrement augmentée dans la colique biliaire ou une cholécystite.
- Une radiographie abdominale standard n'est pas faite en routine, car seulement 10 % des calculs biliaires sont radio-opaques.
- L'échographie est sensible pour la détection des calculs biliaires, même s'ils ne sont pas nécessairement la cause des symptômes cliniques. Des signes supplémentaires comme l'épaississement de la paroi de la vésicule biliaire, la sensibilité pendant la visualisation de la vésicule biliaire ou de la boue dans la vésicule biliaire confortent le diagnostic.
- Une scintigraphie isotopique à l'HIDA montre le fonctionnement de la VB et indique tous les obstacles dans le conduit cystique ou le conduit cholédoque, par le retard de l'excrétion de la bile.
- Une cholangiopancréatographie rétrograde endoscopique peut montrer un obstacle dans le conduit cholédoque. Elle est utilisée lorsque le traitement est nécessaire (par exemple cholécystectomie, pose d'un stent).
- L'échographie endoluminale ou une cholangiographie par résonance magnétique sont des tests diagnostiques à utiliser de préférence à la CPRE pour examiner la voie biliaire sans

courir le risque de pancréatite. Elles sont utiles pour visualiser les zones qui ne peuvent pas être perçues par l'échographie transabdominale [14].

I.6.Facteurs étiologiques et prédisposant à la lithiase biliaire :

I.6.1.Age :

Les CB sont rarement observés avant l'âge de 20 ans [25]. La prévalence globale augmente avec l'âge, L'âge moyen varie selon les études [26]. Le maximum de fréquence se situe entre 51 et 60 ans avec un pourcentage de 24.2% [27].

I.6.2.Sexe :

Ce sont les femmes qui sont le plus souvent atteintes de LB.[36] Selon la littérature, le sexe ratio femme/homme s'étend entre 2:1 et 3:1[26]. Cette fréquence est probablement liée à la sursaturation de la bile en cholestérol qui croît avec la puberté chez la fille, et la bile féminine est plus proche de la limite de solubilité que la bile masculine [28].

I.6.3.Hérédité :

Elle a un rôle possible mais non démontré [28]. Les récentes études épidémiologiques montrent que la LB est réputée fréquente dans certains groupes ethniques tels que les tribus indiennes et les blancs des Etats-Unis d'Amérique et dans certaines contrées du monde comme : la Suède, le Chili, la Scandinavie [10].

I.6.4. Régime alimentaire :

On a soutenu que l'alimentation avec trop de substances grasses était une des causes les plus actives de la formation des calculs biliaires [34]. Les personnes obèses ont une bile vésiculaire plus saturée en cholestérol que les personnes non obèses, de même âge et de même sexe [32].

I.6.5.Multiparité :

La grossesse favorise les calculs vésiculaires. En effet la saturation de la bile en cholestérol augmente en fin de grossesse et la progestérone ralentit la motricité et l'évacuation vésiculaire [10].

I.6.6.Médicaments :

De nombreux médicaments peuvent favoriser la LB. Parmi les médicaments utilisés en endocrinologie :

-Les fibrates : Les fibrates diminuent l'excrétion des sels biliaires ; le risque relatif de lithiase varie de 1,58 à 5, selon les études [32].

-Les octréotides : provoquent une stase vésiculaire propice à la formation des calculs [30].

-Les contraceptifs oraux : L'augmentation du risque relatif (RR) de LB chez les femmes prenant des contraceptifs oraux (RR=2), et recevant des œstrogènes après la ménopause ont un risque relatif (RR=2,5).

- Les œstrogènes.

- La progestérone [31].

I.7.Calculs biliaires :

Les CB sont des agrégats et des concentrations solides anormales que l'on rencontre ordinairement dans les voies biliaires [19, 33]. Il ne faut pas les confondre avec les calculs hépatiques qui ont leur siège dans le foie ou ses enveloppes, et qui diffèrent essentiellement des calculs biliaires. Ces derniers se trouvent quelquefois dans les conduits excréteurs de la bile. Morgagni et Walter en ont vu dans le canal hépatique ; Soemmering et Richter dans les conduits cystique et cholédoque ; mais le plus souvent ils sont renfermés dans la vésicule. On voit aussi quelque fois dans la substance même du foie ; c'est qu'alors ils sont sortis des canaux excréteurs après en avoir détruit les parois [33].

Les CB offrent un volume et un nombre variable (en général, plus ils sont nombreux et moins ils sont volumineux) [35, 36], et une taille varie de celle de grains de sable à celle d'une balle de ping-pong (de 1 mm à plusieurs cm) [33, 35], ils peuvent être uniques ou multiples. [35] Leur consistance est loin d'être toujours la même, Ils n'ont pas non plus une couleur constante [33].

I.7.1 Type des calculs biliaires :

Il existe deux types principaux de CB. Les calculs cholestéroliques et les calculs pigmentaires. D'exceptionnels calculs médicamenteux ont été décrits (par précipitation de certains médicaments dans la bile, comme la ceftriaxone ou le dipyridamole [29].

I.7.1.1 Calculs cholestéroliques :

Il existe deux types de calculs de cholestérol : les calculs de cholestérol purs de structure cristalline, qui représentent 20 % de l'ensemble des calculs cholestéroliques, et les calculs mixtes, constitués de couches concentriques de cholestérol et de bilirubinate de calcium, autour d'un noyau central formé de sels biliaires et de cholestérol. Ces calculs de couleur jaunâtre représentent 80 % des calculs cholestéroliques, et 67,5% des calculs biliaires [27].

Tableau 1 : Les caractéristiques des calculs cholestéroliques [18] :

caractéristiques	Cholestéroliques
Couleur	Jaunâtre
consistance	Dure
localisation	Vésicule
Culture	Stérile
Radio-opaque	Oui

I.7.1.2 Calculs pigmentaires :

Les calculs pigmentaires sont les calculs qui sont composés en majorité de bilirubine et de ses dérivés. Il y a deux types principaux de calculs pigmentaires, souvent appelés calculs noirs et calculs bruns. Leurs principales caractéristiques sont indiquées sur le tableau III. Les calculs noirs constitués de polymère de bilirubine siègent dans la vésicule, tandis que les calculs bruns constitués de bilirubinate de calcium siègent au niveau de la voie biliaire [27].

Tableau 2 : Principaux types de calculs pigmentaires (d'après Trotman) [27] :

Caractéristiques	Calculs noirs	Calculs bruns
Couleur	Noire	Brune ou orangée
Consistance	Amorphe	Molle, parfois laminée
Localisation initiale	Vésicule	Voies biliaires
Géographie	Occident, Orient	Orient principalement
Culture de bile	Stérile	infectée
Constituant principal	Polymère de bilirubine	Bilirubinate de calcium
Étiologie	Augmentation de l'excrétion de bilirubine	Hydrolyse bactérienne de bilirubine conjuguée

I.7.2. Formation des calculs biliaires :

La formation des CV, varie en fonction de leur composition, mais trois phases successives sont constantes :

-la sursaturation de la bile en composés insolubles.

-leur précipitation constituant un macrocalcul.

-son augmentation progressive de volume formant un calcul, perceptible, qui continue ensuite à grossir [28].

I.7.2.1. Calculs cholestéroliques :

La sursaturation de la bile en cholestérol est une condition nécessaire – mais non suffisante – à la formation de calculs. Les conditions d'une bile lithogène apparaissent à la suite d'une cascade d'évènements. Le cholestérol étant insoluble dans l'eau, deux autres composants de la bile, les acides biliaires et les phospholipides, permettent le maintien en solution du cholestérol biliaire, grâce à la formation de micelles. Depuis 1968, la composition de ces trois constituants essentiels de la bile (cholestérol, acides biliaires, phospholipides) est représentée par le triangle de Admirand et Small (figure 2). Le point situé à l'intersection des pourcentages des trois constituants indique la composition de la bile :

– lorsque le point est situé dans la zone micellaire, le cholestérol est en solution.

– lorsque le point est situé en dehors de cette zone, la bile est sursaturée en cholestérol. Le cholestérol excédentaire est solubilisé dans des vésicules phospholipidiques, ces vésicules ont tendance à s'agréger avec apparition de cristaux, appelé aussi nucléation, puis les calculs se forment par agglomération de cristaux. Le premier stade de la formation de calculs est donc une augmentation de la sécrétion biliaire de cholestérol, qui peut aussi s'associer à une diminution des phospholipides ou des sels biliaires [29].

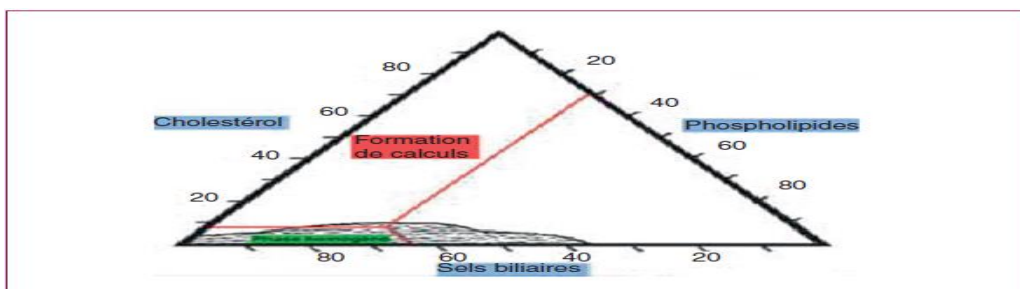


Figure 2 : Lithiase biliaire triangle d'Admirand et Small [29]. Les pourcentages molaires de chacun des trois constituants de la bile sont portés sur les côtés d'un triangle équilatéral. La composition de l'échantillon est située à l'intersection des trois pourcentages. La zone grisée représente la zone normale ou micellaire.

I.7.2.2. Calculs pigmentaires :***Calculs bruns :**

Leur formation a lieu au sein des voies biliaires intra- ou extra-hépatique. En Extrême-Orient, ils sont le plus souvent secondaires à une infection de la bile qui provoque un changement dans sa composition (ascaridiose ou distomatose +++). Les β -glucuronidases bactériennes hydrolysent la bilirubine conjuguée.

En Europe, ils sont secondaires à une stase provoquée par un corps étranger ou un obstacle sur les voies biliaires, une blessure des voies biliaires ou une dilatation congénitale des voies biliaires [18].

***Calculs noirs**

Ils se forment dans la VB. La concentration de bilirubine non conjuguée augmente et la bilirubine précipite en bilirubinate de calcium lorsque les capacités de solubilisation sont dépassées. Cela survient surtout lors des hémolyses chroniques ou dans la cirrhose [18].

I.8. Traitement de la lithiase biliaire :

En fonction du type de complication, le traitement repose sur le traitement de la douleur, la prise en charge du syndrome infectieux, la désobstruction de la voie biliaire principale, l'ablation de la vésicule [36].

I.8.1. lithiase asymptomatique :

Aucun traitement [37].

I.8.2. colique hépatique :

Le traitement de la douleur est réalisé en urgence par voie parenérale. Il associe des antispasmodiques comme le phloroglucinol ou la trimébutine , des antalgique et des anti-inflammatoires en l'absence de contre-indication. Une fois la crise douloureuse calmée et en l'absence d'obstacle de la voie biliaire principale, une cholécystectomie doit être réalisée rapidement (<1 mois) afin d'éviter une récurrence ou une complication .elle est préférentiellement pratiquée sous coelioscopie.la chirurgie ambulatoire est aussi sûre que la chirurgie conventionnelle (avec hébergement la nuit) pour la réalisation d'une cholécystomie par voie laparoscopique chez des patients sans comorbidités [36].

I.8.3.lithiase de la voie biliaire principale (angiocholite) :

Le traitement de l'angiocholite est une urgence qui impose l'hospitalisation en milieu chirurgical. L'antibiothérapie intraveineuse à bonne diffusion biliaire et hépatique doit être débutée immédiatement après les hémocultures.

En fonction de l'état clinique du patient on peut soit réaliser une exploration chirurgicale des voies biliaires avec cholécystectomie dans le même temps, soit proposer une sphinctérotomie sous endoscopie avec extraction des calculs, la cholécystectomie étant réalisée dans un second temps [38].

I.8.4.cholécystite :

Le traitement comporte :

- l'arrêt de l'alimentation, la mise en place d'une perfusion avec du sérum glucosé isotonique.
- l'antibiothérapie par voie générale en urgence.
- la cholécystectomie en semi-urgence, le plus tôt possible dans les jours suivants.
- l'intervention chirurgicale s'impose en revanche en urgence en cas d'hydrocholécystite , c'est-à-dire de distension vésiculaire (vésicule palpable cliniquement et augmentée de volume en échographie) liée à une obstruction du canal cystique par un calcul [35].

I.8.5.pancréatite aiguë :

La CRPE précoce n'est pas indiquée chez les patients présentant une pancréatite biliaire en l'absence d'angiocholite ou d'obstruction des vois biliaires.

Dans le cas d'une pancréatite biliaire avec une suspicion d'angiocholite aiguë coexistante, les antibiotiques doivent être insaturés et la CRPE avec sphinctérotomie et extraction de calculs doit être réalisée selon un délai qui dépend de la sévérité de l'angiocholite mais de préférence dans les 24 h [36].

II. Généralités sur les espèces végétales utilisées

II .1. *Malva sylvestris* :



II.1.1. Description :

Malva sylvestris L connue sous le nom de mauve commune [40], est une espèce des mauves qui appartient à la famille des malvacées [41], annuelle ou vivace [46] à profondeur de 30 cm à 1m50 cm [43]. Les racines souterraines épaisses, grosse tige pubescente et forte, dressée ou étalée, souvent rameuse, dont les grandes feuilles

Figure 3 : la plante de *Malva sylvestris*[39]. caractéristiques, arrondies, isolées, pétiolées, possèdent de 3 à 7 lobes dentés à nervure palmée dressée [44,45], et fleurs violettes qui fleurissent en fin de printemps. Elle préfère les zones humides [46]. Cette plante est originaire d'Europe, Afrique du Nord et Asie du Sud-Ouest [47].

II.1.2. Compositions :

Malva sylvestris contient des polysaccharides, des flavonoïdes, des mucilages, des anthocyanes, tanins, d'autres éléments tels que le calcium, phosphore, fer, potassium, magnésium comme composants principaux.[49, 31] et d'autres constituants comme : acides organique, coumarine, malvolin ...[44,48,51,52].

Les jeunes feuilles du malva sylvestris sont riches en vitamines : A, B1, B2, PP et C [52, 53,31] et mucilages [54]. Elles contiennent une quantité maximale de composés phénoliques et de flavonoïdes, par contre les graines présentent la plus faible quantité de ces deux composants [55, 52].

II.1.3. Propriétés et applications médicinales :

La *Malva sylvestris* a une action anti-oxydante et radicales, propriétés nettoyantes et d'élimination des radicaux libres grâce à la présence de flavonoïdes et composés polyphénolique antioxydants [45, 56]. En particulier les feuilles de *Malva sylvestris* ont révélées des propriétés anti-oxydantes très fortes grâce à sa richesse en composés phénoliques et flavonoïdes [55,45,56,57].

La plupart des effets bénéfiques de *malva sylvestris* sont dues à la présence de flavonoïdes, qui sont des composés phénoliques. Les flavonoïdes inhibent et préviennent la peroxydation lipidique dans la foie, mitochondries et liposome... [31, 56,57].

En réalité la liste des vertus de cette plante médicinale est beaucoup plus grande : elle est employée pour soigner les furoncles et diverses infections cutanées, lavement, en gargarisme, en bains du pied et de mains qu'en cataplasmes, désinfecter la bouche et soigner les aphtes et les infections des gencives, nettoyer les yeux irrités [64], elle facilite le transit intestinal [65], les extraits des feuilles utilisés comme émoullient [60] et aussi pour traiter : les complications hépatiques (elle joue un rôle hépatoprotecteur), la toux et maladies inflammatoires des muqueuses, les infections, la constipation et les hémorroïdes, les voies respiratoires et les calculs biliaires (grâce à sa richesse en saponines) [58, 6, 59,60, 61].

Les anthocyanes de *M. sylvestris* ont provoqué une diminution du cholestérol total, des triglycérides plasmatiques et inhibent *E. Coli*, *Staphylococcus aureus* et *Aspergillus Niger* [62,63].

II.2. *Herniaria hirsuta* :



Figure 4: la plante d'*Herniaria hirsuta* [66].

II.2.1. Description :

Plante annuelle, gris-vert [67], à pubescence dense, possédant une tige ramifiée étalée en cercle de 5 à 15 cm de long, feuilles petites ovales sessiles [68]. Ses petites fleurs sont blanches, le fruit est une capsule qui renferme des graines marron foncé [69].

II.2.2. Composition :

Herniaria hirsuta contient des composés phénoliques, des flavonoïdes, des flavonols et des saponines. La teneur totale en flavonoïdes de *Herniaria hirsuta* était de 4,51% et la teneur en saponine totale de 12,74%, des anthocyanes, des coumarines et des tanins [67] [70].

II.2.3-Propriétés et applications médicinales :

Cette plante est extrêmement diurétique, aseptique et légèrement spasmolytique. Elle est également utilisée à titre préventif contre la formation de calculs rénaux et de sédiment urinaire. Elle est très efficace pour le traitement des inflammations des voies urinaires, de la vésicule biliaire [69]. *Herniaria hirsuta* L. a une efficacité prouvée contre la lithiase urinaire et la cholélithiase grâce à ses compositions : saponine, flavonoïdes et l'acide médicagénique [71].

L'action antioxydante des extraits de *Herniaria* est également mal reconnue. Elle est également utilisée dans le traitement du diabète et de l'hypertension [72].

II.3. *Citrus limon* (citron) :



II.3.1. Description :

Le citron est un agrume, il appartient de la famille *Rutaceae*, fruit du citronnier dont le jus a un pH=2.5 [74]. Le citronnier est un petit arbre (arbuste) vert et aromatique qui appartient à la famille des Rutacées et atteint 2,5 à 3 m de

Figure 5 : l'arbuste de *Citrus limon* [73]. haut. Son fruit est jaune et ovoïde, Ses feuilles sont oblongues lancéolées de couleur verte. Ses fleurs ont des pétales blancs, à teinte violacée, axillaires, réunis en petits groupes. Son fruit est oblong, ovoïde, pointu, de 8 à 12 cm de long. Sa couleur verte vire au jaune à la maturité. Sa pulpe est acide, son écorce (zeste) épaisse contenant une essence à odeur caractéristique. Les graines qu'il contient ont des cotylédons blancs [75].

II.3.2. Composition :

Le citron composé près de 90% d'eau, faible quantité des protéines, lipides, glucides (sucres), et contient les vitamines (principalement la vitamine C : 53mg), sels minéraux et oligo-éléments, les flavonoïdes, les fibres représentent 2,1 du poids total, et beaucoup d'acides organique (surtout l'acide citrique qui est responsable sur le goût acide du citron) [74, 75, 76].

II.3.3. Propriétés et applications médicinales :

*En ce qui concerne ses vertus médicinales, on le reconnaît comme : antiseptique (désinfectants) : contre la grippe, rhumes, maux de gorge , les infections urinaires ,de la vésicule et des reins , les plaies .

*Dépurateur et diurétique, favorise l'élimination des toxines (jus pressé pur).

*Activateur de la digestion, cicatrisant, et antioxydant (contre le vieillissement)

*Aide : à la construction des os et des dents, à l'assimilation du calcium.

*Fluidifiant du sang et régulateur du taux de sucre dans le sang [76].

III. Matériels et méthodes :

I. Matériels :

Cette étude a été réalisée au sein de la Faculté SNV-ST (Université Akli Mohand Oulhadj, Bouira), au niveau des laboratoires d'Agronomie (n°1 et n°9), de Microbiologie (n°8) et de Biochimie (n°4) appartenant aux deux Département des Sciences Agronomiques et des Sciences Biologiques.

I.1 .Matériels végétales :

Les espèces végétales utilisées dans la présente étude sont : *Citrus limon* et deux plantes médicinales : *herniaria hirsuta* et *malva sylvestris*. Le citron et la plante *herniaria hirsuta* ont été acheté, durant la période d'avril à mai 2019, d'un marché dans la wilaya de Bouira alors que la mauve a été cueillie par nous-même durant la période de allant de mars à mai 2019 dans la wilaya de Bouira aussi.

Avant utilisation, le citron est d'abord lavé avec l'eau de robinet puis l'excès d'eau est enlevé avec du papier absorbant. Les parties aériennes de la plante médicinale (*malva sylvestris*) sont lavées, débarrassées d'impuretés, puis séchées à la température ambiante à l'ombre. Par contre, la plante médicinale *Herniaria hirsuta* est achetée sèche et utilisée directement.



(1)



(2)



(3)

Figure 6 : les plantes utilisées : (1) *Herniaria hirsuta* et (2) *Malva sylvestris* sous formes séchées, (3) *Citrus limon*.

I.3. Calculs biliaires utilisés:

Les calculs de la vésicule biliaire (Figure 7) ont été prélevés de deux patients : un patient de 45 ans (5 Mars 2019) qui a été opéré au niveau la clinique privée Lala-khdija et un autre de 80 ans (12 Mai 2019) qui a été opéré à l'hôpital Mohamed Boudiaf de Bouira. Ces calculs ont été conservés dans le formol avant de procéder au test de dissolution

Avant l'étude de l'effet de dissolution par les différents extraits végétaux, les calculs ont été lavés plusieurs fois à l'eau distillée puis séchées dans une étuve pendant la nuit (16h successives) à 40 °C, puis pesées dans une balance de précision.



Figure 7 : les calculs biliaires utilisés dans notre étude.

II. Méthodes d'analyses :

II.1. Caractérisation des calculs :

Les calculs biliaires utilisés dans cette étude sont de type mixte. Ils sont constitués par des couches concentriques (bilirubinate de calcium et surtout de cholestérol). Disposées autour d'un centre plus sombre (sels biliaires et cholestérol), de forme polyédrique, à facettes multiples, de couleur claire (voir tableau 4 ci-dessous).

Tableau 3 : Donnés clinique et morphologique des calculs biliaires utilisés.

Les donnés / Les calculs	Donneur	La couleur	Le poids à sec	La surface	La forme externe	Lieu de provenance	Date d'obtention
Calcul n°1	Sexe : femme Age : 40ans	claire	0,5400	Irrégulière lisse	Irrégulière (polyédrique à facettes multiples	La clinique privée Lala-khdija (Bouira)	Mars 2019
Calcul n°2			0,5544				
Calcul n°3			0,5333				
Calcul n°4			0,4980				
Calcul n°5			0,5125				
Calcul n°6			0,5661				
Calcul n°7			0,1299				
Calcul n°8			0,1969				
Calcul n°9			0,1259				
Calcul n°10	Sexe : homme Age : 80 ans	claire	0,1259	Irrégulière lisse	Irrégulière (polyédrique à facettes multiples	l'hôpital Mohamed Boudiaf (Bouira)	Mai 2019
Calcul n°11			0,1235				
Calcul n°12			0,1163				
Calcul n°13			0,1153				
Calcul n°14			0,1179				
Calcul n°15			0,1094				
Calcul n°16			0,1011				
Calcul n°17			0,1759				
Calcul n°18			0,1037				

II.2. Caractérisations des plantes utilisées :

II.2.1. l'acidité titrable :

L'acidité d'une solution correspond principalement à la présence d'acide citrique. Le principe de la méthode consiste en un titrage de l'acidité de 10 ml de l'échantillon avec une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) 0,1 N en présence d'un indicateur coloré qui est la phénophtaléine à 1%. le point d'équivalence est déterminé lors du virage de la couleur de l'échantillon vers le rose clair. la quantité d'acide citrique est obtenue par la formule suivante [77] :

La quantité d'acide dans l'échantillon (g/l) = (normalité de NaOH × 6,4 × V) / P

V : volume de NaOH versé (ml).

6,4 : l'indice d'acidité.

P : prise d'essai (g)

II.2.2. Le PH :

*Principe :

Dans notre étude, la mesure du pH est réalisée avec un PH-mètre (METTLER TOLEDO) en introduisant la sonde à l'intérieur de l'échantillon, le résultat est directement lu sur l'écran de l'appareil.

*Mode opératoire :

- une quantité de chaque extrait est introduit dans un petit bicher.
- La sonde de PH-mètre est immergée dans le contenu de bicher.
- la valeur de PH est lu sur l'écran de PH-mètre.
- La sonde est rincée avec l'eau distillée.
- On réalise trois essais pour chaque extrait.

II.2.3. La teneur en cendres :

*Principe :

La teneur en cendres est conventionnellement le résidu de l'échantillon après destruction de la matière organique par incinération. Le principe consiste en une incinération dans un four à moufle à une température de 600°C pendant 5 heures jusqu'à ce que les résidus deviennent blancs au refroidissement [78].

$$MO\% = \frac{(M1 - M2)}{PE} \times 100$$

MO% : matière organique.

M1 : poids de la capsule et de l'échantillon avant calcination (g).

M2 : Poids de la capsule et de l'échantillon après calcination(g).

PE : poids de la prise d'essai(g).

$$\% \text{ cendres} = 100 - \text{MO}$$

***Mode opératoire :**

-on met 2 g(PE) de poudre des plantes ou de pulpe de citron dans des capsules.

-On prend le poids des capsules et l'échantillon(M1)

-Les capsules sont introduites dans le four à moufle pendant 5 h à 600°C.

-On retire les capsules du four.

-On laisse refroidir les capsules et on les pèse (M2).

II.2.4.Détermination de la teneur en eau :

La teneur en eau est définie comme étant la perte de poids subie lors de la dessiccation de 2 g de poudre des plantes séchées ou de fruit frais dans des capsules propres dans l'étuve à 103°C +/- 2 jusqu'à l'obtention d'un poids constant [79].

La teneur en eau est calculée par la relation suivante :

$$H\% = (M1 - M2) / P \times 100$$

H% : l'humidité.

M1 : masse en g avant étuvage (échantillon + capsules).

M2 : masse en g de l'ensemble après étuvage.

P : masse en g de la prise d'essai

II.2.5. Caractérisation et quantification des saponosides :

II.2.5.1. Caractérisation des saponosides :

Les saponosides sont des substances très fréquentes chez les végétaux, ils sont caractérisés par leur pouvoir moussant en solution aqueuse qui donne l'indice de mousse [80].

Une décoction à 2% est préparée avec 2g de poudre dans 100 ml d'eau bouillante. L'ébullition est maintenue pendant 15 min puis la suspension est filtrée. Différentes quantités (de 1 à 10 ml) de filtrat ont été introduites dans 10 tubes essais en complétant le contenu de chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Une agitation, pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde, est assurée pour chaque tube en utilisant un vortex (Nahitar). La hauteur de la mousse est mesurée 15 minutes après l'agitation [80].

L'indice de mousse est calculé à partir du numéro de tube (N) dans lequel la hauteur de la mousse est de 1 cm [80].

$$I_m = 1000/N$$

I : L'indice de mousse

N : numéro de tube (N) dans lequel la hauteur de la mousse est de 1 cm.

II.2.5.2. Quantification des saponosides :

*Principe :

La méthode spectro-photométrique a été utilisée car c'est la méthode la plus simple qui permet de quantifier les saponines. Pour cela le mode opératoire décrit par Fiallos-Jurado *J et al*, (2016) a été utilisé avec quelques modifications.

Le principe de base de cette méthode est la réaction de saponine (tritépènes oxydées) avec de la vanilline. L'acide sulfurique est utilisé comme oxydant et la couleur distinctive de cette réaction est violette et parfois perchlorique [81].

Le réactif de libermann-Buchards (LB) était utilisé pour la quantification de saponines, car il est capable de produire une coloration brun clair si ces composés sont présents dans un échantillon [82].

***Mode opératoire :**

Le contenu en saponines des extraits a été déterminé en utilisant le protocole de Fiallos-Jurado J et al., (2016) avec quelques modifications. Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions en utilisant la vanilline comme standard afin de déterminer les concentrations en saponines des extraits exprimées en mg équivalent vanilline /ml d'extrait.

Avant de commencer, une extraction a été réalisée: un gramme d'échantillon séché a été broyé finement en poudre et dissous dans 20 ml de propanol à 20%. Le mélange a été chauffé à 86 ° C pendant 20 min dans une micro-onde (Condor) et filtré (en utilisant Wattman) pour une quantification plus poussée.

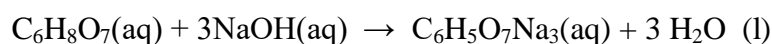
Après avoir mélangé 1 ml de solution d'échantillon avec 3,5 ml de réactif LB (qui est un mélange 1 :5 acide acétique et d'acide sulfurique respectivement), l'absorbance est lue à 580 nm dans tous les échantillons après 10 min [82].

II.2.6.Dosage de l'Acide citrique :

Le dosage de l'acide citrique est réalisé par titrage, qui est une technique d'analyse quantitative qui permet de déterminer la quantité d'une substance nécessaire (acide citrique) pour effectuer complètement une réaction chimique donnée.

Le titrage consiste à verser à partir d'une burette un volume précis d'une solution(NaOH) dont la concentration est connue (0,1 M) dans une solution contenant la substance à doser (20 ml q de jus de citron), de concentration inconnue. La substance contenue dans le titrant réagit de façon continue avec la substance à analyser. Le point atteint quand on a ajouté suffisamment de titrant pour que la totalité de la substance à analyser réagisse est appelé point d'équivalence. On identifie souvent ce point à l'aide du changement de couleur d'un produit chimique appelé indicateur (phénolphthaléine) [83].

La réaction de neutralisation s'écrit :



Concentration(c) (mol/l)= nombre de mole d'acide citrique/volume de NaOH versé(l)

II.2.7. Composés phénoliques :

II.7.2.1. Préparation des extraits :

La méthode d'extraction suivie dans notre étude est l'extraction par macération effectuée selon le protocole de Chiang et al. (1994), avec quelques modifications.

Le principe de cette méthode est basé sur l'extraction sélective liquide-solide des composés phénoliques [50].

*Mode opératoire :

Au début, Les parties séchées des deux plantes étudiées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à obtention d'une poudre très fine. la poudre obtenue a été conservée dans des flacons et stockée à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à l'utilisation [50].

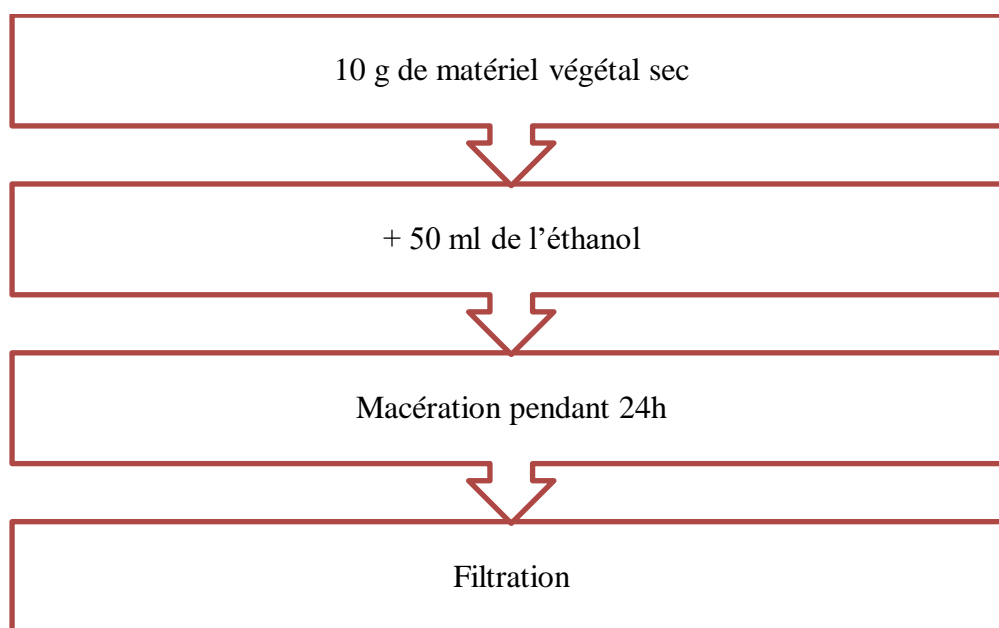


Figure 8: Schéma d'extraction [52].

II.2.7.2. Dosage des polyphénols totaux :

* Principe :

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits a été réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu .

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) 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 [84].

***Mode opératoire :**

Le contenu en phénols totaux des extraits a été déterminé en utilisant le protocole de (Sfahlan Ali Jahanban *et al.*,2009). Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique comme standard afin de déterminer les concentrations en polyphénol totaux des extraits exprimées en μg équivalent acide gallique/ml d'extrait [85].

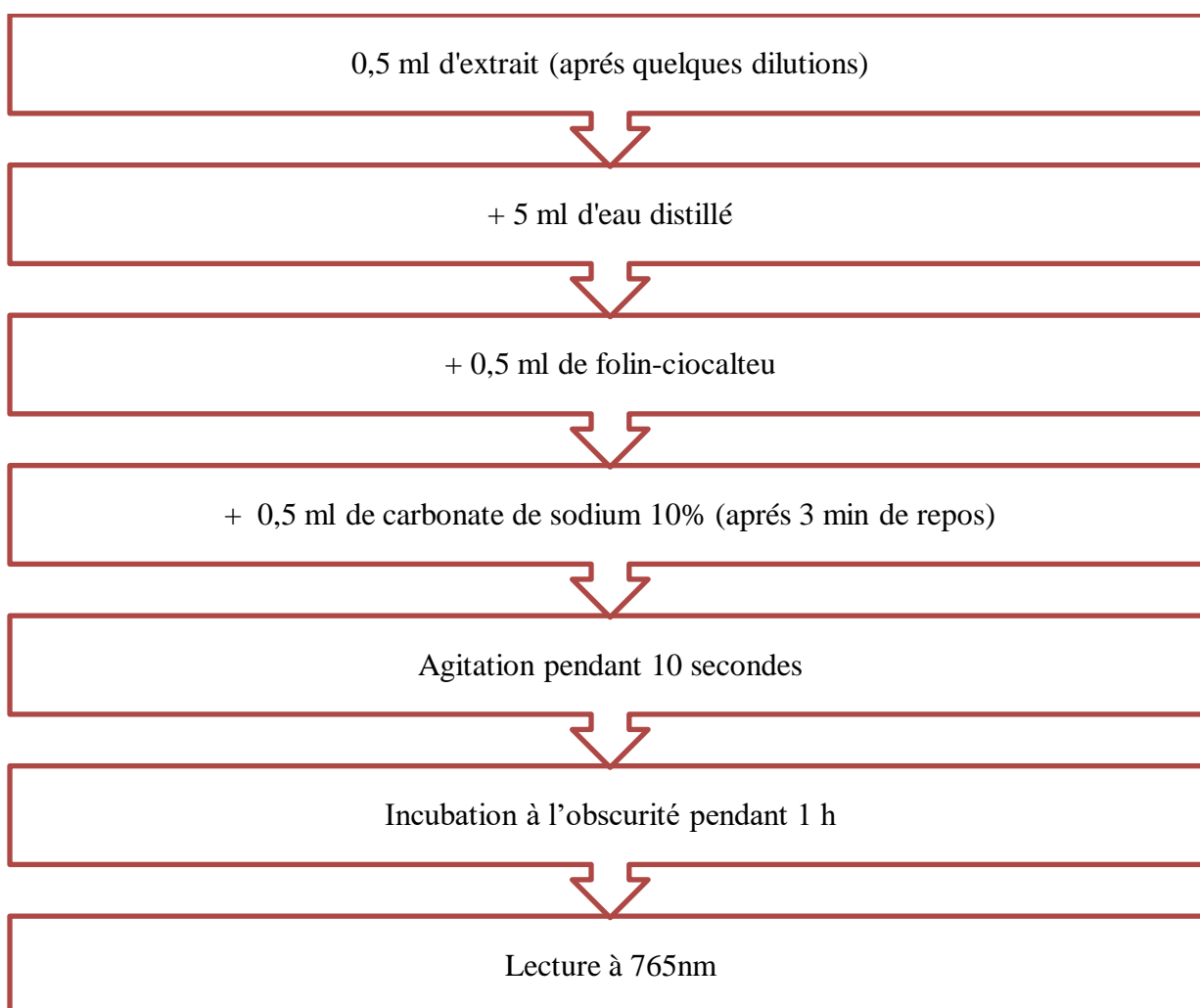


Figure 9 : Dosage des phénols totaux par la méthode de Folin- Ciocalteu [85].

II.2.7.3. Dosage des flavonoïdes :

La quantification du contenu flavonoïdes des différents extraits est estimée par la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$).

* Principe :

La méthode repose sur le principe du dosage direct par le chlorure de l'aluminium. En effet, les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle libre en position 5 susceptible de donner, en présence de chlorure d'aluminium, un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{+3} . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait [86].

* Mode opératoire :

L'évaluation quantitative des flavonoïdes totaux dans les différentes fractions est réalisée selon la méthode du trichlorure d'aluminium, avec quelque modification. Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les différents extraits ont été calculées en se référant à la courbe d'étalonnage (0-40 $\mu g/ml$) obtenue en utilisant la quercétine comme standard, les résultats sont exprimés en μg équivalent en quercétine/ ml d'extrait (μg EQ/ml d'extrait) [87].

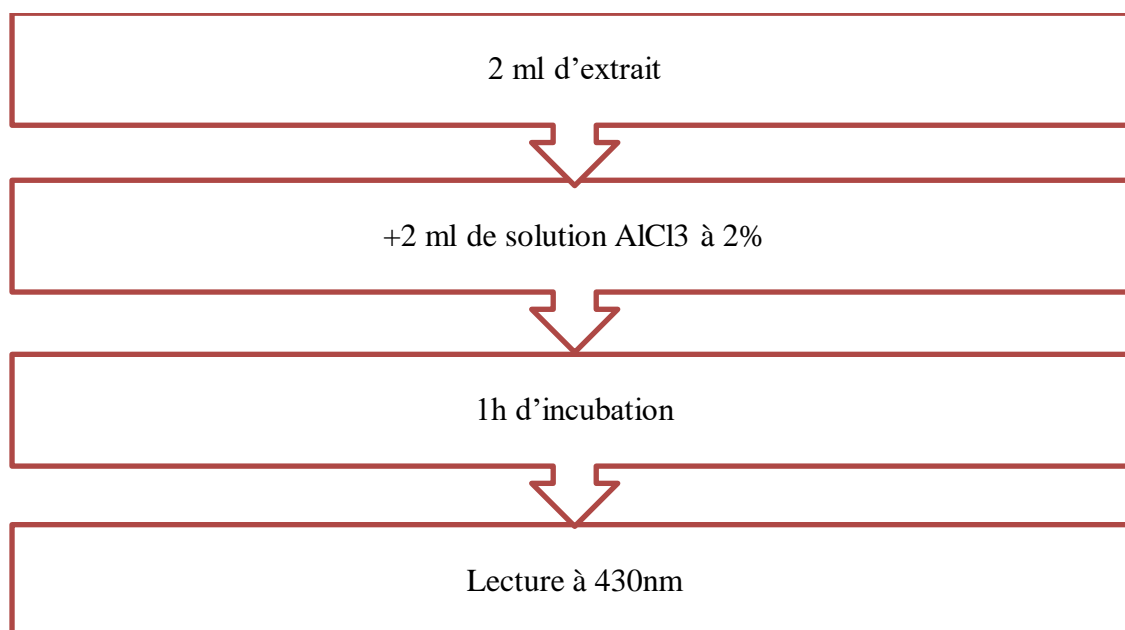


Figure 10: Dosage des flavonoïdes totaux par la méthode du trichlorure d'aluminium [87].

Dont :

Abs_{DPPH}: Absorbance du DPPH à 517nm.

Abs_{éch} : Absorbance de l'échantillon à 517 nm.

II.3 .Etude de la dissolution des calculs :

II.3.1.Méthode d'extraction et préparation des tisanes :

II.3.1.1.jus de citron :

Les fruits ont été nettoyés, lavés, puis coupés en deux le sens de la largeur. Le jus de citron a été extrait par presseur à jus et filtré à l'aide d'un papier filtre.

II.3.1.2.préparation de l'infusion de chaque plante médicinale (d'*Herniaria hirsuta* et *Malva sylvestris*) :

20 g de plante sèche ont été infusé pendant 15 min dans 1 L d'eau distillée bouillie. La plante a été laissée tremper pendant 20 min, puis le mélange a été filtré et laissé refroidir.

II.3.1.3. Test de dissolution :

On réalise deux expériences pour chaque extrait ou jus :

La première expérience consiste à évaluer l'effet des extraits des plantes utilisées ou de jus de citron, en prenant neuf erlenmeyers propres et on verse 100 ml de tisane (trois erlenmeyers pour la mauve, trois pour *Herniaria hirsuta* et les trois autres pour le jus de citron) et mettant les calculs dans l'extrait ou de jus à température ambiante ,et à l'abri de la lumière sous agitation magnétique constante (400t/min) [5]. Les calculs ont été laissés au contact de l'extrait pendant sept semaines. Chaque semaine, ils ont été sortis du milieu expérimental, lavés à l'eau distillée, séchés à 40 °C durant 16 heures [6], puis pesés à l'aide d'une balance de précision pour évaluer la perte de masse. Ensuite, les calculs sont replacés dans le milieu pendant les sept jours suivants. Les pesées ont été réalisées au bout de chaque semaine. Chacune des expériences a été répétées trois fois dans les mêmes conditions, et les résultats ont été exprimés en calculant la moyenne \pm écart-type des valeurs obtenues.

La deuxième expérience est réalisée avec les mêmes étapes de la première expérience et dans les mêmes conditions que celle décrites précédemment, mais sans agitation.

Évaluation de la capacité des extraits aqueux des plantes et de jus de citron à dissoudre les calculs biliaires :

L'activité de l'extrait a été évaluée en calculant le taux de dissolution des calculs après séjour dans le milieu expérimental en comparant le poids résiduel des calculs par rapport à leur poids initial avant l'incubation avec l'extrait.

Le pourcentage de dissolution a été calculé par la formule suivante :

$$A \% = (W_{\text{initial}} - W_{\text{final}}) \times 100 / W_{\text{initial}}$$

A % : est le taux de dissolution du calcul.

W_{initial} : le poids du calcul avant l'incubation avec l'extrait de la plante ou de jus .

W_{final} : le poids du calcul après l'incubation avec l'extrait de la plante ou de jus.

IV. Résultats et discussion :

Dans cette étude, l'effet anti-lithiasique des extraits : *d'Herniaria hirsuta L.*, *Malva sylvestris.L* et *Limon citrus.L* ont été étudiés dans le cas de la dissolution des calculs biliaires.

IV.1. Caractérisations des extraits végétaux utilisés :

IV.1.1. Détermination de l'acidité titrable :

L'acidité titrable obtenue pour les différents extraits est donnée par la figure 12 suivante :

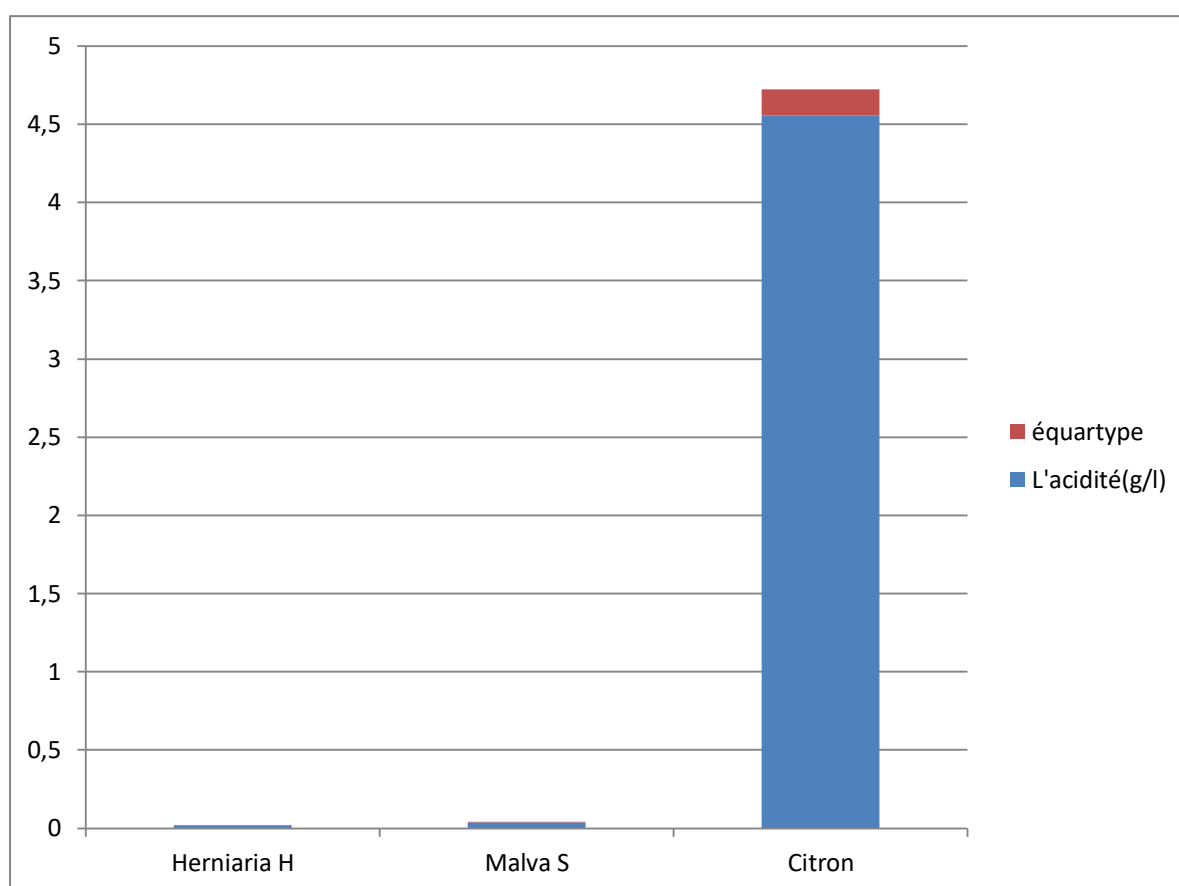


Figure 12: L'acidité titrable du jus citron, de l'extrait de *malva sylvestris* et de l'extrait d'*herniaria hirsuta L.*

L'acidité trouvée pour les extraits végétaux étudiés est de 4,5568g/L \pm 0,1, 0,03626667 g/L \pm 0,003, 0,01706667 g/L \pm 0,003 pour le jus de citron, l'extrait de la mauve et l'extrait d'*Herniaria hirsusta L.*, respectivement.

En comparant ces résultats, la valeur trouvée dans le cas du jus de citron est inférieure aux résultats signalés par **Hasim Kelebek et al. (2007)** dans le cas de l'orange moro et l'orange

sanguine ($11,3 \text{ g/l} \pm 1,1$ et $13,4 \text{ g/l} \pm 1,8$, respectivement). Cependant l'acidité des extraits de plantes étudiées est très faible.

IV.1.2. Le pH :

Le pH de jus de citron est de $2,47 \pm 0,06$. **Hassiba et Bouzid (2016)**, ont trouvés un pH de jus de citron proche de celui trouvé dans la présente étude ($1,98 \pm 0,01$) [92]. Par ailleurs, des études réalisées par **Abbas et Khoudi (2016)** sur le jus de citron et la purée de la pomme, ont révélés des pH de 2,62 et 3,74 [93].

Le pH des deux plantes médicinales *Malva S.* et *herniaria H.* est plutôt basique : $6,54333333 \pm 0,005$ et $6,95666667 \pm 0,005$, respectivement. D'après l'étude réalisée par **Abdul Haleem et al , (2015)**, le pH de la poudre de *Malva sylvestris* en solution aqueuse à 1% et 10% est de 6.94 et 7.2, respectivement, ce qui est proche au résultat trouvé dans la présente étude [94].

De son côté, **Kotzekidou ,(1997)** a trouvé une valeur de pH égale à 6 dans le cas de la plante *Saponaria officinalis* de la famille des Caryophyllaceae [95]. .

IV.1.3. Le taux de cendre :

Les résultats du taux de cendre pour les différents extraits étudiés sont représentés dans la figure ci-après :

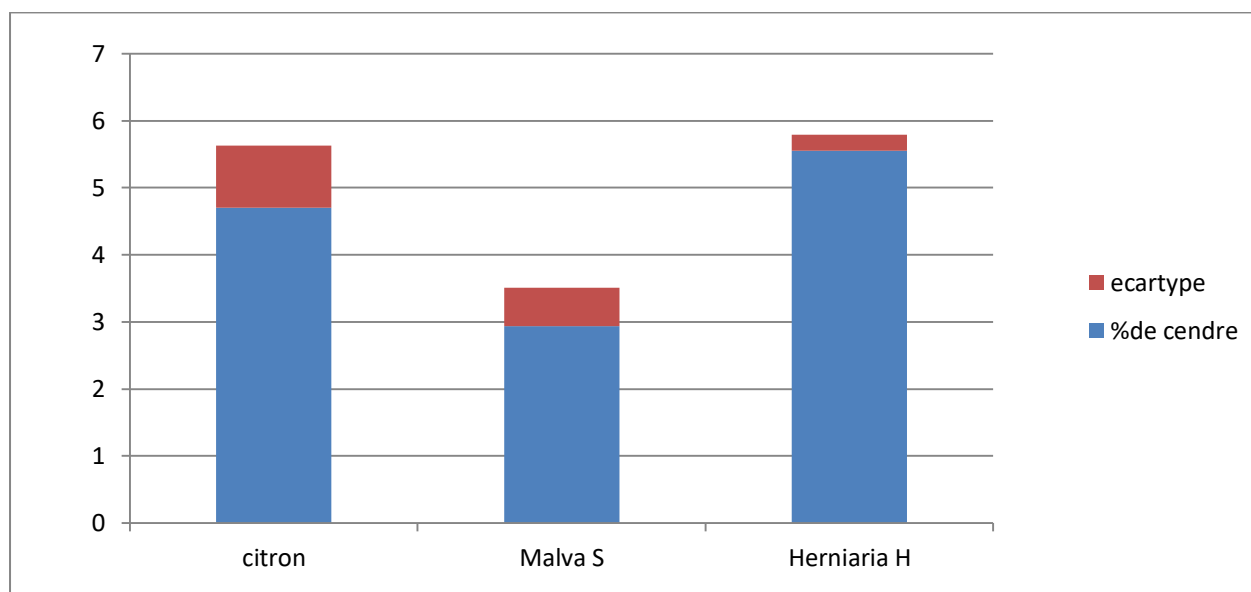


Figure 13: Taux de cendre de jus de citron, des extraits de *Malva sylvestris* et d' *Herniaria hirsuta*.

La détermination de la teneur en matière minérale nous renseigne sur la qualité nutritionnelle de l'échantillon à analyser. En effet, la teneur en cendres des aliments doit avoir un seuil à ne pas dépasser pour la consommation humaine et animale [94].

La figure13 montre que le taux de cendre des trois échantillons étudiés varie de : 5,54%±0,2 pour *Herniaria hirsuta*, 4,7% ±0,9 pour le citron et 2,93%±0,5 pour Malva S.

Les études de **J.Bounnemaire et al. (1975)** sur *Malva verticillata* ont montré un pourcentage des cendres variant entre 13,97% et 24,37% [96]. Cependant les études de **Barros et al. (2010)** sur *Malva silvestris* ont signalé un pourcentage de 13,53 % ±0,11 [97]. **Abdul Haleem et al. (2015)** ont trouvé à leur tour un taux de cendre de la mauve de 14.15 %. Ces résultats sont largement supérieurs au résultat de l'extrait de *Malva S* de la présente étude [94].

Les travaux d'**Abd-Elmonem et al. (2015)**, donne une valeur de 16,7% ±0,26 pour la plante d'*Hernaria Cinereaa* appartenant à la famille des *Caryophyllacea*, valeur supérieure à celle trouvé dans la présente étude [98].

Cette résultat est inférieur à notre resulta [99].

Le taux de cendre du jus de citron est supérieur à celui de l'extrait de la mauve. Cette différence entre les différents extraits est due à la différence des familles des extraits végétaux étudiés (agrume et cariophylacée).

IV.1.4.Teneur en eau:

Les résultats de taux d'humidité obtenus pour les trois plantes utilisés dans notre étude sont présentés dans la figure suivante :

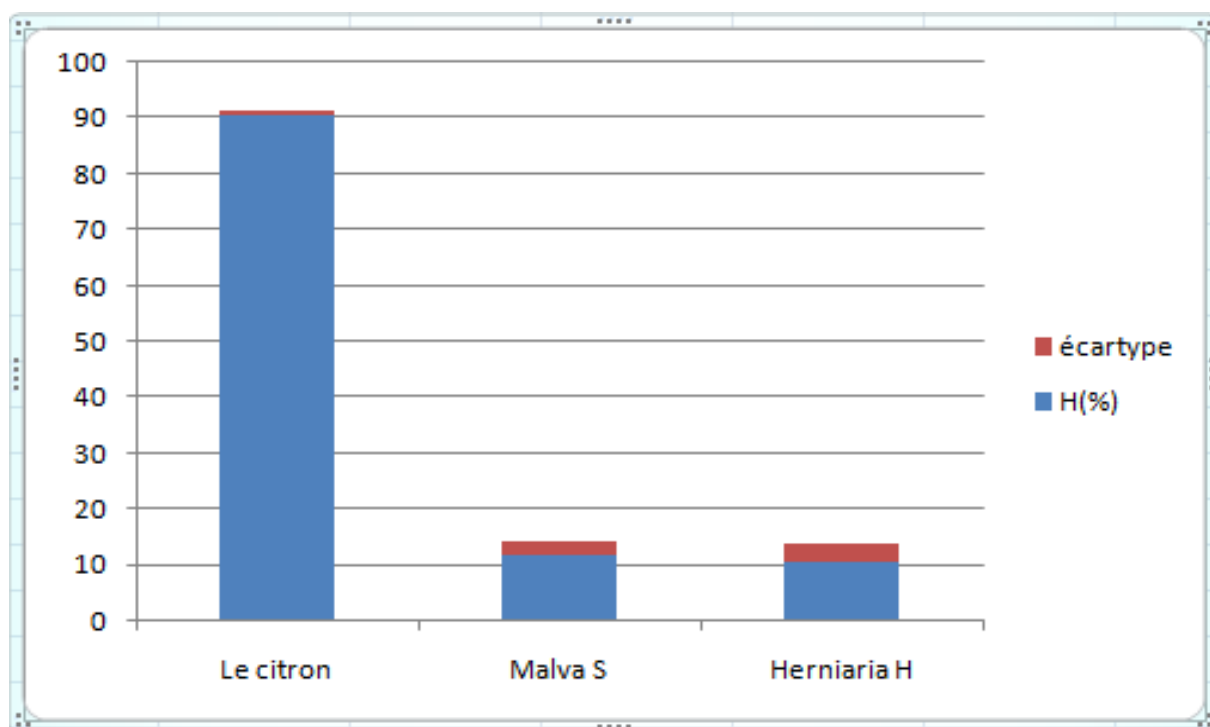


Figure 14: Taux d'humidité de citron, *Malva sylvestris* et *Herniaria hirsuta*.

D'après les résultats présentés dans la figure 15, les teneur en eau de la pulpe de citron, *Malva.S* et *Herniaria H* sont $90,56\% \pm 0,8$, $11,94\% \pm 2,41$ et $10,85\% \pm 3,24$, respectivement. On remarque que la teneur en eau est importante dans la pulpe de citron par rapport à *Malva sylvestris* et *Herniaria hirsuta*. Ceci s'explique par l'état séché des deux plantes.

En comparant les résultats de la présente étude avec les valeurs trouvées par **Hama et Asloun (2017)** sur le citron et l'orange, ces dernières sont proches ($85,33\%$ et $91,67\%$, respectivement) du résultat de la pulpe de citron étudiée [101].

Selon **Beghdad (2009)** la teneur en eau de *Malva Sylvestris* (fraîche) est de $82,5\%$ [54]. Le résultat trouvé dans ce travail pour la mauve séchée ($11,94\%$) est supérieur à celui trouvé par **Abdul Haleem et al. (2015)** pour la poudre de la mauve séchée ($2,56\%$).

Les études réalisées par **Foudah (2017)** ont signalé une teneur en eau d'*Herniaria hirsuta* de $6,94\%$, valeurs inférieure au résultat trouvé ($10,85\%$). Ceci s'explique par l'état plus ou moins sec de la plante [94].

IV.1.5. Caractérisation et quantification des saponosides :

IV.1.5.1. Caractérisation des saponosides :

Par la présence des mousses dans les 10 tubes avec des hauteurs comprises entre 0,6 et 2,7 cm et entre 0,3 à 2,5 cm, pour les extraits de plantes *Herniaria hirsuta* et *Malva sylvestris*, respectivement, Nous pouvons conclure la présence des saponines dans ces extraits.

Ce test définit un indice de mousse $I_m = 200$ pour *Herniaria hirsuta* et de $I_m = 146,58$ pour la mauve. La même valeur de l'indice de mousse a été trouvée par **Khitri et al. (2016)** dans le cas de la plante *Herniaria hirsuta* [102].

L'indice de mousse trouvé dans le cas de la mauve confirme également sa richesse en saponines [94].

IV.5.b. Quantification des saponosides :

La teneur des saponines contenue dans les deux plantes médicinales : *Malva sylvestris* et *Herniaria hirsuta* est donnée par la figure (15) :

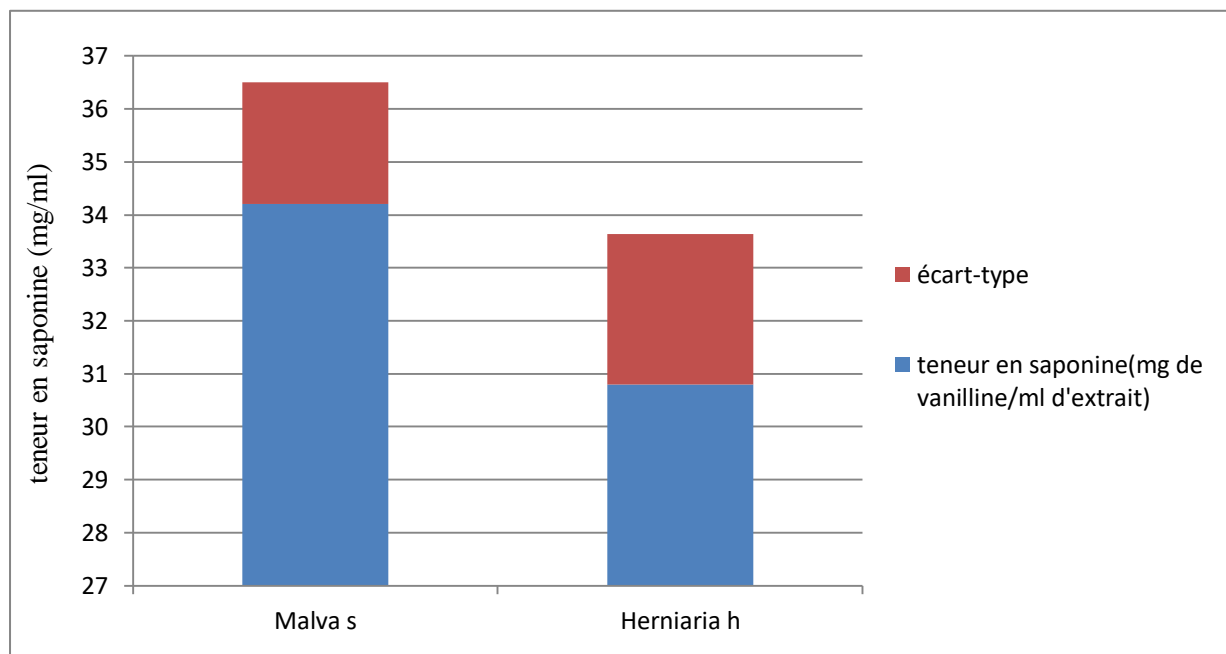


Figure 15 : teneur en saponine de *Malva sylvestris* et *Hurniaria hirsuta*.

D'après les résultats présentés dans la figure, le teneur en saponines du *Malva sylvestris* et *Herniaria hirusta* sont : 34,2 (mg/g) \pm 2,3 et 30,8 (mg/g) \pm 2,84 respectivement.

Une étude réalisée par **Al-Snafi, (2018)** a montré que le taux de saponines contenu dans *Herniaria hirsuta* est de 12,74 %. Selon le même auteur l'extrait éthanolique et aqueux de cette plante représentent des teneurs respectives de 16.2 et 8.4 mg QSE/g d'extrait [67]. Ces résultats sont légèrement inférieurs à la valeur trouvée dans la présente étude.

Selon l'étude de **Cengiz Sarikurkcu et al. (2017)**, les saponines dans la mauve se trouvent à une teneur de 305.31 ± 6.87 mg QSE/g dans l'extrait. Ce résultat est largement supérieur au résultat trouvé dans ce travail [103].

IV.1.6. Dosage de l'acide citrique dans le jus de citron :

La teneur en acide citrique trouvée dans le jus de citron est de $14,792 \text{ g/l} \pm 1,02$. D'après les études de **Kristina et al. (2017)** sur le jus de citron et jus de citron vert, les concentrations en acide citrique trouvées sont 48 g/l et 46 g/l, respectivement [104]. Ces valeurs sont supérieures au résultat trouvé. Cependant, **Agbota. (2017)** a trouvé une valeur moyenne de 16 g/l d'acide citrique dans le jus. Valeurs proches de la valeur trouvée [83].

Iv.7. Dosage des composés phénoliques :

IV.7.1. Dosage des polyphénols totaux :

Les polyphénols sont des composés ubiquistes, ils attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétés antioxydantes. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices [84].

Au cours du dosage des polyphénols, après l'addition du réactif de Folin-Ciocalteu, une couleur bleue est apparue, ce qui confirme la présence des polyphénols dans les extraits de : *Malva sylvestris*, *Herniaria hirsuta* et dans le jus de citron pur.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux obtenus pour les extraits éthanoliques des deux plantes et du jus de citron pur, (exprimés en mg EAG/ml d'extrait), sont présentés dans la figure (16).

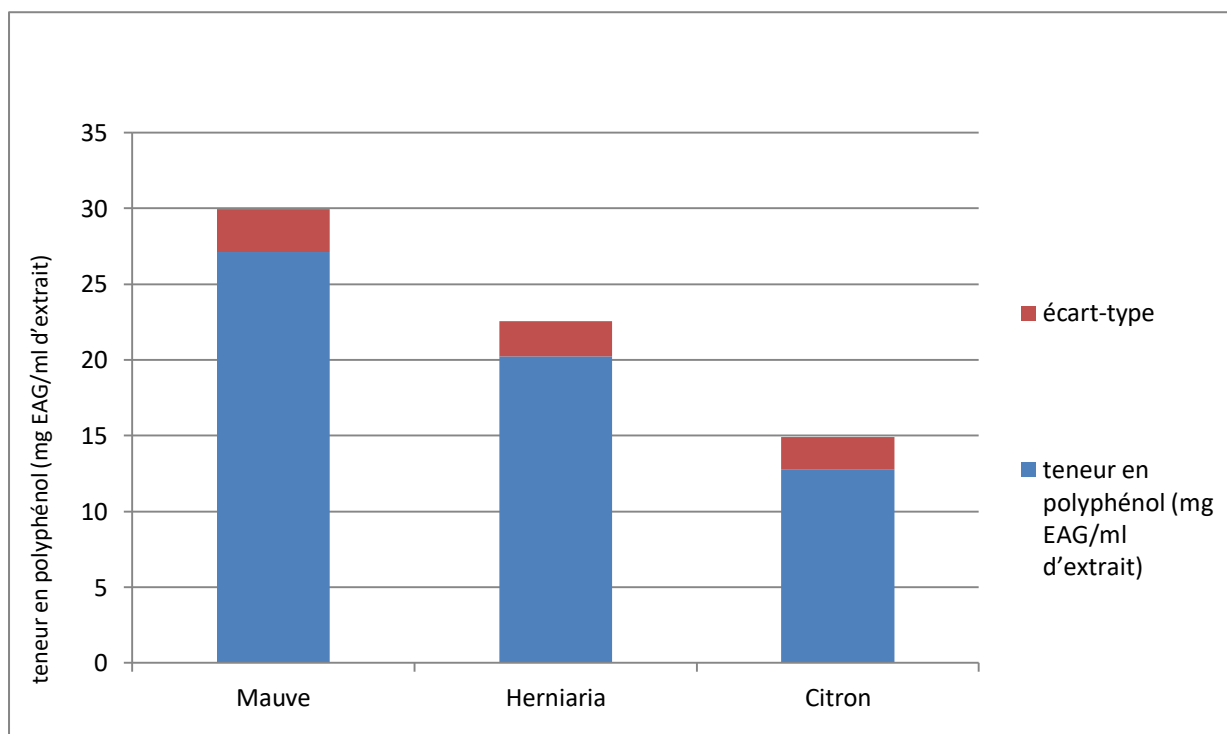


Figure 16 : Teneur en polyphénols de *Malva sylvestris*, *Herniaria hirsuta* et de jus de citron.

D'après la figure ci-dessus, on constate que le taux le plus élevé de polyphénols se trouve dans l'extrait de *Malva sylvestris* avec un taux (27,13mg EAG/ml d'extract \pm 2,82) suivis d'*Herniaria hirsuta* et de jus de citron pur avec des teneurs de 20,21 EAG/ml d'extract \pm 2,34 et 12,76 EAG/ml d'extract \pm 2,15, respectivement.

Les résultats obtenus pour l'extrait de *Malva sylvestris* ont été confirmés par **Beghdad et al, (2014)** en donnant une teneur de (24.123 \pm 0.718 mg EAG/g d'extract des feuilles) en utilisant l'éthanol à 96% comme solvant par la méthode de macération [55]. D'après l'étude d'**Al-Snafi, (2018)**, la concentration d'*Herniaria hirsuta* en polyphénols est de 28,2 mg EAG/g dans l'extrait éthanolique et de 22,4 mg EAG/g dans l'extrait aqueux [67].

La teneur en PPT des jus de pamplemousse (rouge) et (blanc) est de 8,26 \pm 1,2 et 5,62 \pm 0,5 mg EAG/ml respectivement Tsai et al, (2007) sont légèrement inférieurs à nos résultats

(12,76 \pm 2,15mg EAG/ml MF ou bien 12,76 \pm 2,15 mg EAG/ g de MS) [105].

Selon **Tounsi et al, (2010)** les teneurs en PPT dans le jus des différents agrumes sont de : 784.67 pour l'orange amer ; 333 pour le citron; 255 pour la sanguine ; et 106.22 mg/l pour la mandarine) [106].

D'après **Balasundram et al, (2005)** et **Li et al, (2006)** les différences observés entre les résultats trouvés et ceux des différents travaux peuvent être liées à la méthode d'extraction, la saison, les conditions de l'environnement, le degré de maturation des fruits, le réactif adopté pour le dosage ou également au standard. Les composés phénoliques subissent une réaction redox complexe avec le réactif de Folin-Ciocalteu [107,108].

IV.7.2.Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des molécules très importantes en phytothérapie qui proviennent du métabolisme végétal, on les retrouve dans les différentes parties de la plante.

Les teneurs en flavonoïdes obtenues à partir des extraits éthanoliques des feuilles de *Malva sylvestris*, *Herniaria hirsuta* et de jus de citron pur sont présentées dans la figure (17).

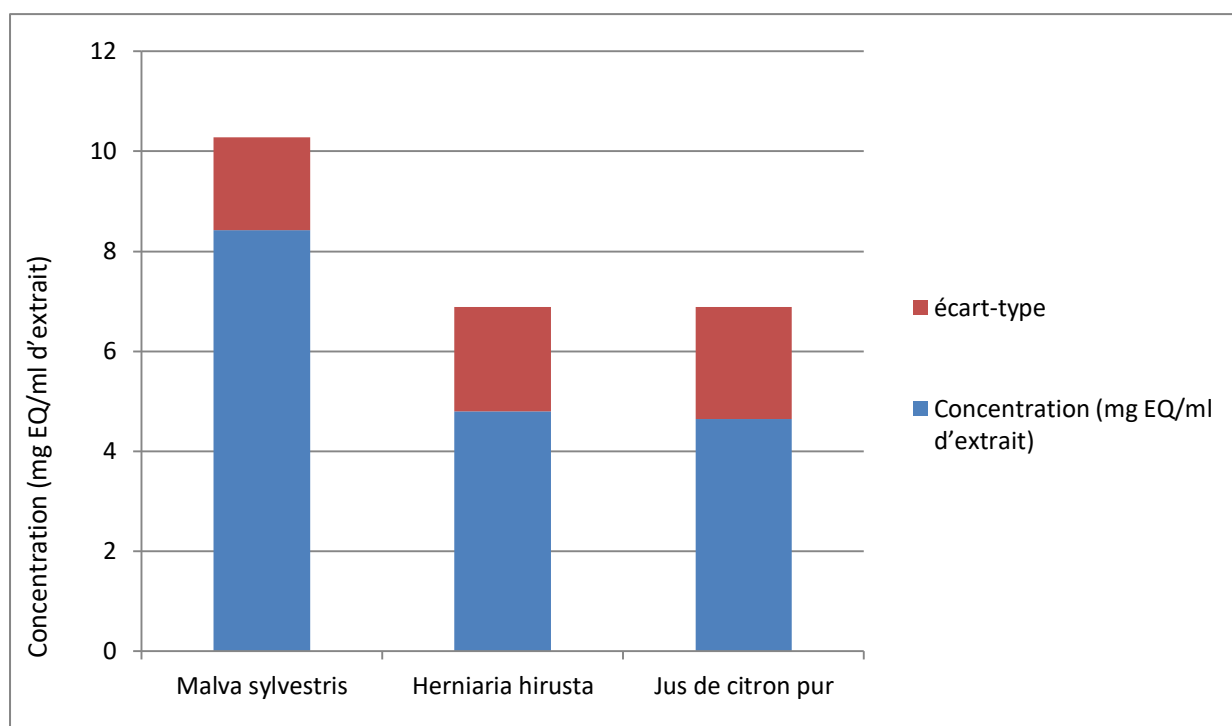


Figure 17 : Teneur en flavonoïdes de *Malva sylvestris*, *Herniaria hirsuta* et de jus de citron.

D'après ces résultats, l'extrait de *Malva sylvestris* montre la plus grande concentration en flavonoïdes ($8,42 \pm 1,86$ mg EQ /ml d'extrait), suivie de l'extrait d'*Herniaria hirsuta* avec une concentration de ($4,8 \pm 2,09$ mg EQ/ml d'extrait). Par ailleurs une teneur de ($4,65 \pm 2,24$ mg EQ/ml d'extrait) est déterminée dans le jus de citron pur.

D'après l'étude d'**Al-Snafi, (2018)**, la concentration d'*Herniaria hirsuta* en flavonoïdes est de 4,8 mg EQ/g dans l'extrait éthanolique et de 3.7 mg EQ/g dans l'extrait aqueux, ce qui est proche aux résultats obtenus [67].

Beghdad et al (2014) ont trouvés, pour les feuilles de *Malva sylvestris*, une teneur de 5.694 ± 0.017 mg équivalent de rutine / g d'extrait en utilisant comme l'éthanol 96% comme solvant [55]. **Tounsi et al. (2010)** ont noté que les flavonoïdes dans les jus de la mandarine et de citron constituaient les groupes le plus élevé 85,33 ; 82.01 mg EC.L⁻¹, respectivement [106].

IV.7.3. Etude du pouvoir anti-radicalaire (DPPH) :

La figure suivante donne les résultats de l'activité anti-radicalaire pour les trois extraits étudiés.

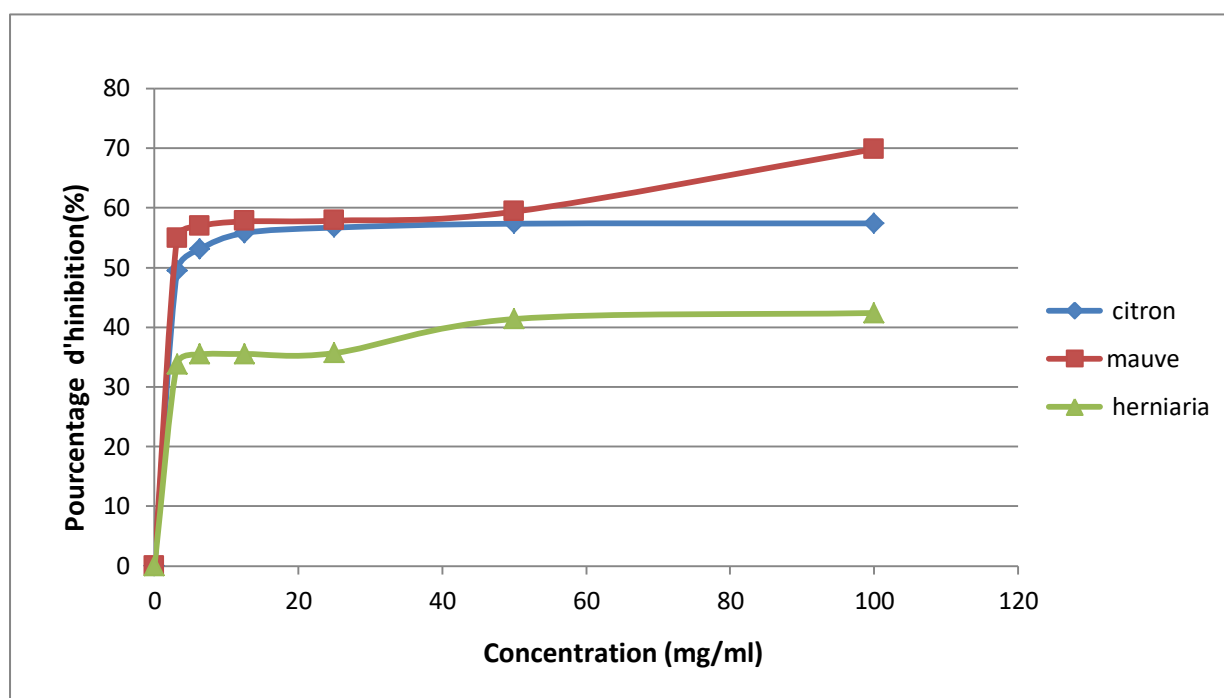


Figure 18 : Activité anti-radicalaire de citron, *Malva sylvestris* et *Herniaria hirsuta*.

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits.

D'après les résultats de la figure (18), on remarque que tous les extraits des plantes ont exhibés des effets contre le radical DPPH. En effet, l'extrait éthanolique de *Malva sylvestris* montre l'activité la plus élevée avec un pourcentage d'inhibition de $69,846\% \pm 1,09$ à une

concentration de 100 mg/ml, suivi de jus de citron et de l'extrait d'*Herniaria hirsuta* avec des pourcentages respectifs de 57,406% \pm 0,48 et 42,321% \pm 0,6 à une concentration de 100 mg/ml aussi.

Des études réalisées par **Baghdad et al. (2014)**, sur la mauve, ont montré que la pouvoir anti-radicalaire est situé entre 98,52% et 62,01%. Dans le cas du jus de citron [55], **Haddad & Bouzid (2016)**, ont donné un pourcentage d'inhibition de 50,83% [92]. **Borhane et al. (2015)** ont trouvé une valeur de 729 \pm 50 μ g/ml dans le cas d'*Herniaria hirsuta*, ce qui est largement inférieur à notre résultat [109].

La valeur IC₅₀ est définie comme étant la concentration d'extrait pour laquelle l'absorbance à 517 nm est égale à 0,5*A₀. Autrement dit, plus la valeur d'IC₅₀ est faible plus l'activité anti-oxydante est élevée. Le logiciel OriginPro 8.5 SR1 a été utilisé afin de déterminer avec plus d'exactitude les valeurs d'IC₅₀ pour l'extrait de *Malva sylvestris* et de jus de citron, dont les valeurs sont rapportées par le Tableau 4.

Beghdad, (2017) et Yoon J,(2009) ont signalé qu' une activité anti-oxydante très significative a été obtenue avec des valeurs d'IC₅₀ de 3,10 mg/ml et de 3,18 mg/ml pour l'extrait de *M. sylvestris* et le jus de citron, respectivement. Cette activité est presque la même à celle calculée dans la présente étude pour l'extrait de la mauve (3,115 mg/ml) et pour le jus de citron (3,125mg/ml) [55,110].

Tableau 4 : Les valeurs des IC₅₀ des extraits de *M.sylvestris* et *L.citrus*.

Nature de l'extrait	Extrait de <i>M. sylvestris</i>	Ju de citron
IC ₅₀ (mg/ml)	3,115	3,125

IV.2. Etude de l'effet dissolvant des calculs biliaires par les extraits végétaux :

L'effet dissolvant des calculs biliaires par les trois extraits de plantes (citron, Herniaria et la mauve) a été étudié in vitro.

IV.2.1. Dissolution des calculs biliaires dans le cas où l'agitation n'est pas assurée

Le tableau 5 et la figure 19 montrent l'évolution du taux de dissolution (pourcentage de la perte de poids) des calculs biliaires (dans le cas sans agitation) en présence de jus de citron et des extraits aqueux des deux plantes : *Herniaria hirsuta* et *Malva sylvestris*.

Tableau 5: la perte de poids (en %) des calculs biliaires à la fin de l'expérience (le cas sans agitation).

L'extrait	Jus de citron	<i>Herniaria hirsuta</i>	<i>Malva sylvestris</i>
A(%)	70,96± 4,2	68,17± 11,73	57,69± 3

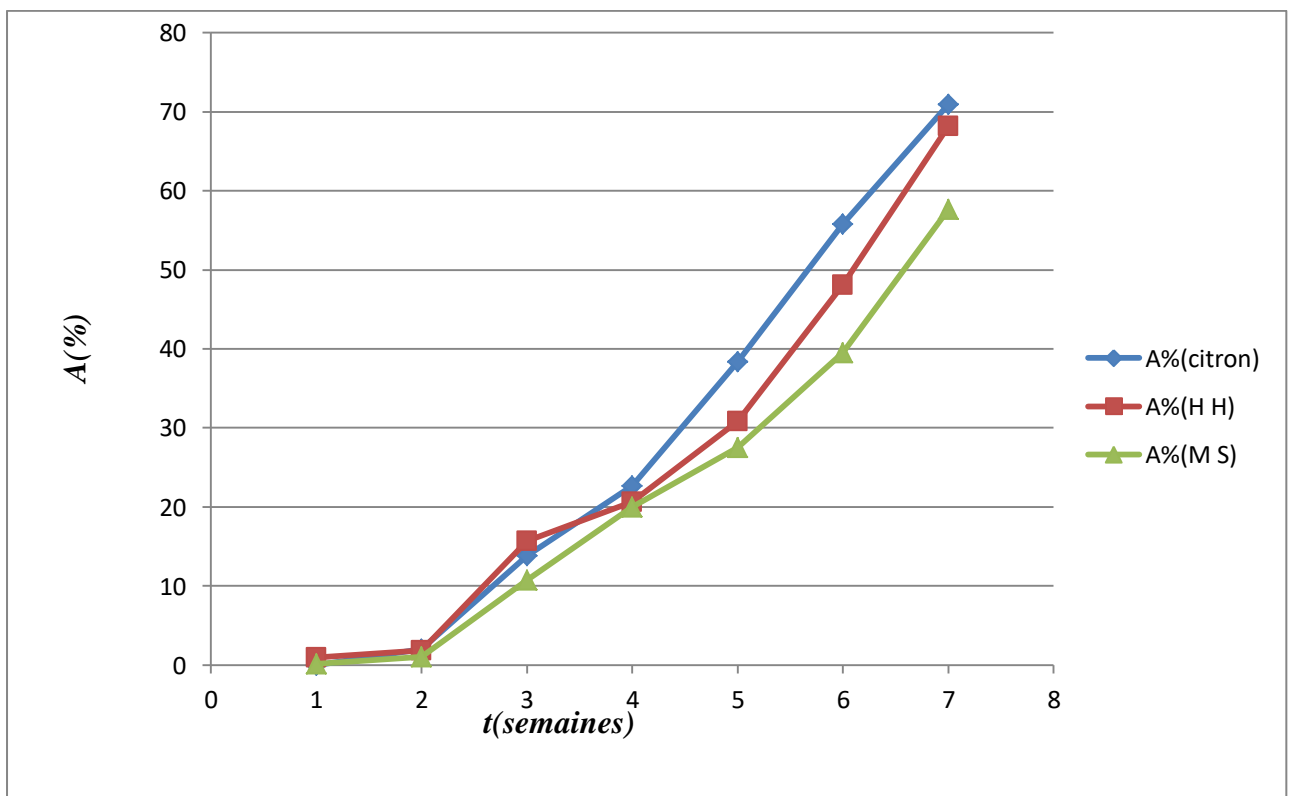


Figure 19: Taux de dissolution des calculs biliaires en fonction de temps (sans agitation).

D’après la figure (19), et pour les trois extraits étudiés, sans agitation, on remarque une progression de taux de dissolution des calculs dans les milieux expérimentaux.

Au cours de la première semaine, le taux de dissolution était faible pour *Herinaria hirsuta* et *Malva sylvestris*. Pour le jus citron la dissolution était inexistante. A partir de la deuxième semaine, le taux de dissolution a augmenté jusqu’à atteindre les valeurs mentionnées dans le tableau (5) à la fin de la septième semaine. D’après les résultats trouvés, le jus de citron (70,96) a un effet plus important par rapport aux autres extraits de plantes (la mauve et *Hernaria hirsuta*).

VII.2. Etude de l’effet dissolvant dans le cas de l’agitation:

Les valeurs du taux de dissolution des calculs biliaires dans le jus de citron et les deux extraits, dans le cas où l’agitation du milieu réactionnel est assurée, sont représentées par le tableau et la figure ci-après:

Tableau 6 .Taux de dissolution des calculs biliaires à la fin de l’expérience (cas de l’agitation).

L’extrait	Jus de citron	<i>Herniaria hirsuta</i>	<i>Malva sylvestris</i>
A(%)	100±4,02	86,87±5,14	82,66±7,84

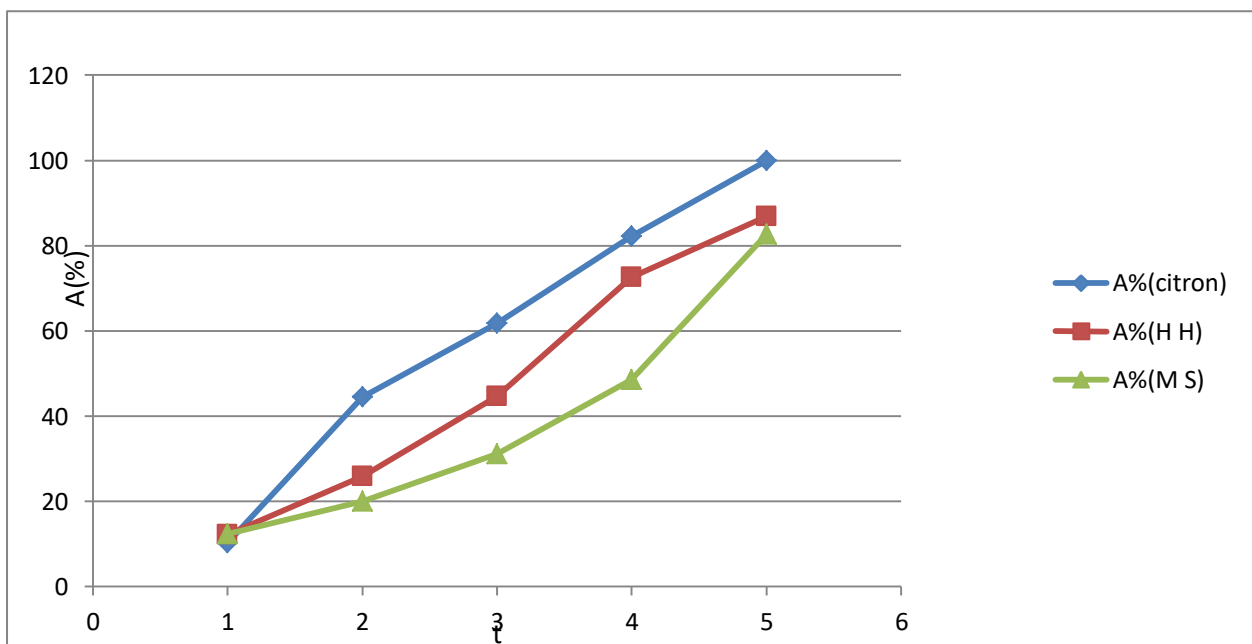


Figure20 : Taux de dissolution des calculs biliaires en fonction du temps (Cas de l’agitation).

D'après les résultats trouvés l'agitation (réalisée à l'aide d'un barreau magnétique à 400rpm) a un effet sur la dissolution des calculs biliaires in vitro. Dans le cas du jus de citron une dissolution de 100% a été atteinte après environ 5 semaines de contact du calcul avec le jus. La dissolution des calculs dans les deux autres extraits été importante dans le cas de l'extrait d' *Herniaria hirsuta*.

Un résultat similaire (dissolution à 100%) a été trouvé par Chekroune et Benamara (2017) en étudiant la dissolution du même type des calculs dans une émulsion à base de jus de citron. Selon les mêmes auteurs des dissolutions de 26% et 72% ont été enregistré dans le cas du jus de citron et l'extrait d' *Herniaria hirsuta*, respectivement après 13 jours d'immersion [5].

La dissolution observée dans le cas du jus de citron peut être expliqué par la richesse de ce dernier en acide citrique. Dans le cas des extraits de plantes médicinales étudiées, cette dissolution est expliquée par la richesse de ces derniers en saponines [71, 94, 103, 102].

Conclusion :

La plupart des espèces végétales possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme.

Le présent travail élabore un test de dissolution, *in vitro*, des calculs biliaires en présence de jus de citron et des extraits aqueux de deux plantes : *Malva sylvestris*.L et *Herniaria hirusta* L. Il permet d'étudier la solubilisation de ces calculs dans les extraits aqueux de ces deux plantes et le jus de citron.

Suite aux résultats trouvés, la dissolution des calculs biliaires sous agitation était plus rapide, elle était totale avec le jus de citron, et importante pour les extraits aqueux des deux plantes : 86,87% pour *Herniaria hirusta* et 82,66 % pour la mauve. Par contre la dissolution des calculs biliaires sans agitation, n'a pas atteint une dissolution complète. En effet le jus de citron présente un effet de dissolution significatif de 70,96 % sur les calculs biliaires grâce à leur teneur élevée en acide citrique qu'est le principe actif de la dissolution , suivis par *Herniaria hirusta* .L et *Malva sylvestris* avec un pourcentage de dissolution de 68,17 % et 57,69 % respectivement. Cet effet est dû à des taux élevés en saponines dans les deux plantes médicinales utilisées dans la présente étude.

Plusieurs études expérimentales, *in vitro*, ont démontré l'effet de diverse plantes médicinales sur la lithiase rénale, par contre dans le cas de la lithiase biliaire l'utilisation des plantes médicinales et leurs extraits pour traiter cette maladie, a fait l'objet de peu d'études.

En perspectives, diverses études peuvent être proposées pour compléter ce travail, à savoir :

- *Refaire les essais sur d'autres types des calculs biliaires.
- * Faire une étude *in vivo* sur des patients lithiasiques par l'administration des extraits aqueux de ces plantes.
- *Travailler avec des doses différentes que celle de notre travail (> 20 g/l) et des durées différentes plus prolongée.
- *Travailler sur des plantes du même genre récoltées par des différentes aires biogéographiques d'Algérie.
- * Doser les autres éléments chimiques et organiques des tisanes d'infusion, avec une meilleure caractérisation physique, chimique et biologique des calculs testés.

Liste de références :

1. Ernest S, Paul M. Les cultures médicinales canadiennes , 2000,281p.
2. Tabuti JR, Lye KA, Dhillion SS. Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *Journal of Ethnopharmacology*. 2003 Sep 1;88(1):19-44.
3. Bouziane Z. Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales de la région d'Azail (Tlemcen–Algérie) (Doctoral dissertation).2017.75p.
4. Shah K, Shah A et al. Preliminary phytochemical analysis and antibacterial activity of ranunculus laetus leaf extract .2017, vol.4 , p.718 –721 .
- 5 . Chekroune M, Benamara S. Gallstones-dissolving capacity of lemon (Citrus limon) juice, *Herniaria hirsuta* L. extract and lemon juice-based natural vinaigrette in vitro. 2017 ,vol.16 , p. 197-202.
6. Amoura NB, el Imene Benkirat N, Boughendjioua H, Adjailia-Farah I. Évaluation de la capacité de dissolution des calculs biliaires de *Malva sylvestris* L. Evaluation of the dissolving capacity of gallstones of *Malvasylvestris* L. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 2018,vol.87, p. 56-61.
7. Bartoli É, Capron JP. Du cristal au calcul biliaire.2017.
8. Benmehdi H, Hasnaoui O, Benali O, Salhi F. Phytochemical investigation of leaves and fruits extracts of *Chamaerops humilis* L. *J Mater Environ Sci*. 2012 Dec;3:320-37.
9. Maxime L. Vésicule biliaire : symptômes, calculs, ablation, qu'est-ce que c'est ? A quoi ça sert ? [En ligne] . Disponible sur :
https://www.maxisciences.com/vesicule-biliaire/vesicule-biliaire-symptomes-calculs-ablation-qu-est-ce-que-c-est-a-quoi-ca-sert_art35162.html (Consulté le 14 octobre 2015)
10. Christian T. Lithiase biliaire dans le service de chirurgie générale du CHU Gabriel TOURE .2009.135p.
11. Sanogo DM. Cholecystectomies laparoscopiques à Bamako pratique de 9 ans.2011.
12. Chauffard A. La lithiase biliaire. Masson; 1922.

13. Regent D, Laurent V, Meyer-Bisch L, Barbary-Lefèvre C, Corby-Ciprian S, Mathias J. La douleur biliaire: comment la reconnaître? comment l'explorer?. *Journal de radiologie*. 2006 Apr 1;87(4):413-28.
14. Collins P, Wagner-Ballon J. *L'essentiel en hépato-gastro-entérologie*. Elsevier Health Sciences; 2013 May 16.
15. Lamri-Senhadji MY, Bouchenak M, El Kebir B, Bachir-Bouiadjra N, Belleville J. Consommation et habitudes alimentaires chez des femmes de l'ouest algérien atteintes de lithiase cholestérolique. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. 2004 Apr 1;39(2):153-8.
16. Edmond S, *Mieux comprendre par bien guérir Votre santé de A à Z*. 2003 .
17. *IRM en pratique clinique*. 2017 , 792 P.
18. Jean D , Ariane C . *Hépatologie gastrologie enterologie chirurgie viscerale 6e edition*. Paris, 2017.
19. *Encyclopédie familiale de la santé: comprendre, prévenir, soigner*. Canada : Québec Amérique ; 2010 , 608 p.
20. Lachaux A, Lacaille F. *Hépatologie de l'enfant*. Elsevier Health Sciences; 2018 Oct 16.
21. Pierce G, Neil B . *Chirurgie* .Paris : Boeck supérieur 2^{ème} ed ; 2002 , 176 p .
22. Bouchard C. *Maladies par ralentissement de la nutrition: cours de pathologie générale, professé à la Faculté de médecine de Paris pendant l'année 1879-1880*. Paris : Librairie F. Savy; 1882.
23. *La Lancette française: Gazette des hôpitaux civils et militaires, Volume 71* .Paris ,1898 .
24. Brooker C. *Le corps humain: Étude, structure et fonction*. De Boeck Supérieur; 2000 Nov 30, 592p.
25. Saidani M. *La Lithiase de la voie biliaire principale(LVBP)*. Thèse : Médecine, Tlemcen, 2017, 90p.
26. MELLIANI S. *Carcinome épidermoïde de la vésicule biliaire: A propos d'un cas et revue de la littérature (Doctoral dissertation)* ,Rabat, 2016 , 129p .

27. El Ouadghiri R. Lithiase de la vésicule biliaire : complications et aspects évolutifs(à propos de 2297 cas) . Thèse : Médecine, Maroc ,2016 ,156p, 176/16.
- 28.Lithiase biliaire medicamenteuse .Thèse :Pharmacie,Landes,2002,176p .
29. allaye a.o. cholecystectomies laparoscopiques a bamako pratique de 8 ans. Thèse : Médecine,Mali ,2008,124p.
30. HAMIM F et al. Contribution à l'étude de la lithiase biliaire dans la région de Ouargla . Mémoire Master , Ouargla,2006,56p.
31. Benrahal S. Prise en charge de la lithiase de la vésicule biliaire à l'hôpital Ibn Tofail de Marrakech. Thèse : Médecine, Marrakech.2018.231p.
32. Buffet C. Lithiase biliaire: facteurs environnementaux et génétiques. Médecine des Maladies Métaboliques. 2014 Sep 1;8(4):402-7.
33. Jean F .Dissertation sur les calculs biliaires. Thèse : Médecine, Paris, 1830 aout 26.
34. Dujardin-Beaumont Z, Carpentier-Méricourt E. Lecons de clinique therapeutique: professees a l'hospital saint-antoine. Doin; Paris ,1883.
- 35.Processus obstructifs 2^{eme} ed [en ligne].Lmarra.Paris :Doin , 2013 .Disponible sur : <https://books.google.dz> .
36. Hépto-gastro-entérologie - Chirurgie digestive. France :Elsevier Health Sciences 4éme ed, 2018 ,536 .Disponible sur : <https://books.google.dz> .
37. Somogyi A. ECNi Le Tout-en-un. Elsevier Health Sciences; 2017 Nov 21 ,1416 p. Disponible sur : <https://books.google.dz> .
38. Fabrice M. Urgences abdominales: conduite pratique. Heures de France ; 1999 , 286 p . Disponible sur : <https://books.google.dz> .
39. Getty Image .Mauve sauvage. 2015 27 mai .In : Istocks . Disponible sur : <https://www.istockphoto.com>.

40. Gasparetto JC, Martins CA, Hayashi SS, Otuky MF, Pontarolo R. Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L.: a millennial herbal medicine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2012 Feb;64(2):172-89.
41. Touami O . Etude des propriétés phyto thérapeutique de la plante médicinale *Malva Sylvestris* . Memoire de master : Sciences de la matière . Tébessa , 2016 , 80p .
42. Zohra SF, Meriem B, Samira S, Muneer MA. Phytochemical screening and identification of some compounds from mallow. *J Nat Prod Plant Resour*. 2012;2(4):512-6.
43. Flores M. *Malva sylvestris* L. et autres mauves de France (Doctoral dissertation).2011.221p.
44. Ghédira K, Goetz P. *Malva sylvestris* L.(Malvaceae): Mauve. *Phytothérapie*. 2016 Feb 1;14(1):68-72.
45. Burrows I. La nature comestible. Delachaux et Niestlé, 2005 - 144 p .
46. Razavi SM, Zarrini G, Molavi G, Ghasemi G. Bioactivity of *Malva sylvestris* L., a medicinal plant from Iran. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2011 Nov;14(6):574.
47. Azadpour M, Azadpour N, Bahmani M, Hassanzadazar H, Rafieian-Kopaei M, Naghdi N. Antimicrobial effect of Ginger (*Zingiber officinale*) and mallow (*Malva sylvestris*) hydroalcoholic extracts on four pathogen bacteria. *Der Pharmacia Lettre*. 2016;8(1):181-7.
48. Classen B, Blaschek W. High molecular weight acidic polysaccharides from *Malva sylvestris* and *Alcea rosea*. *Planta medica*. 1998 Oct;64(07):640-4.
- 49 . Jayalakshmi NR, Saraswathi KJ, Vijaya B, Raman DN, Shreenivas DP. Effect of UV-B radiation on growth and anthocyanin production in *Malva sylvestris* L. *International Journal of Agriculture Sciences*. 2011 Jan 1;3(2):97.
50. Benidiri S , Benmammam S . Dosage des Composés Phénoliques et Détermination de L'activité Antioxydante de *Rhamnus alaternus* L et *Malva sylvestris* L . Mémoire de Master : Sciences Biologiques , pharmacologie Moléculaire . Bejaia , 2016 , 91p .
51. Pirbalouti AG, Azizi S, Koohpayeh A, Hamedi B. Wound healing activity of *Malva sylvestris* and *Punica granatum* in alloxan-induced diabetic rats. *Acta Pol Pharm*. 2010 Sep 1;67(5):511-6.

52. Bremness L, Fletcher N, Ward M, Griggs P, Desgranges T, Baudoux M, Garnaud V. Les plantes aromatiques et médicinales:[700 espèces]. Larousse; 1996, 304p .
53. DellaGreca M, Cutillo F, Abrosca BD, Fiorentino A, Pacifico S, Zarrelli A. Antioxidant and radical scavenging properties of *Malva sylvestris*. Natural product communications. 2009 Jul;4(7):1934578X0900400702.
54. Jabri MA, Wannas D, Hajji N, Sakly M, Marzouki L, Sebai H. Role of laxative and antioxidant properties of *Malva sylvestris* leaves in constipation treatment. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2017 May 1;89:29-35.
55. Beghdad MC, Benammar C, Bensalah F, Sabri FZ, Belarbi M, Chemat F. Antioxidant activity, phenolic and flavonoid content in leaves, flowers, stems and seeds of mallow (*Malva sylvestris* L.) from North Western of Algeria. African Journal of Biotechnology. 2014;13(3).
56. Marouane W, Soussi A, Murat JC, Bezzine S, El Feki A. The protective effect of *Malva sylvestris* on rat kidney damaged by vanadium. Lipids in health and disease. 2011 Dec;10(1):65.
57. Barros L, Carvalho AM, Ferreira IC. Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: a comparative study of the nutraceutical potential and composition. Food and Chemical Toxicology. 2010 Jun 1;48(6):1466-72.
58. Nawwar MA, Buddrus J. A gossypetin glucuronide sulphate from the leaves of *Malva sylvestris*. Phytochemistry. 1981 Jan 1;20(10):2446-8.
59. Classen B, Blaschek W. High molecular weight acidic polysaccharides from *Malva sylvestris* and *Alcea rosea*. Planta medica. 1998 Oct;64(07):640-4.
60. Jaradat NA, Abualhasan M, Ali I. Comparison of anti-oxidant activities and exhaustive extraction yields between wild and cultivated *Cyclamen persicum*, *Malva sylvestris* and *Urtica pilulifera* leaves. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2015 Apr;5(04):101-6.
61. Billeter M, Meier B, Sticher O. 8-Hydroxyflavonoid glucuronides from *Malva sylvestris*. Phytochemistry. 1991 Jan 1;30(3):987-90.
62. Samavati V, Manoochehrizade A. Polysaccharide extraction from *Malva sylvestris* and its anti-oxidant activity. International journal of biological macromolecules. 2013 Sep 1;60:427-36.

63. Cheng CL, Wang ZY. Bacteriostatic activity of anthocyanin of *Malva sylvestris*. Journal of Forestry Research. 2006 Mar 1;17(1):83-5.
64. Kaddem S . Les plantes médicinales en Algérie . 1990 Aout 20 , 181p .
65. Ducerf G. L'encyclopédie des plantes bio-indicatrices alimentaires et médicinales: guide de diagnostic des sols 3^{ème} éd. Promonature; 2007 ,351p .
66. *Herniaria hirsuta* L. / Herniaire hirsute . preservons la nature. 2019 Avril 04.Disponible sur : <https://www.preservons-la-nature.fr> .
67. Al-Snafi A , 2018. Pharmacological importance of *Herniaria glabra* and *Herniaria hirsuta*- a review. INDO AMERICAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, 5(4), pp.2167-2175
68. Fourment P, Roques H. Répertoire des plants médicinales et aromatiques d'Algérie. Documents et renseignements agricoles. Bull. 1941;61.
69. EDDOUKS M, OUAHIDI, M. L, FARID, O. L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. Phytothérapie, 2007, vol. 5, no 4, p. 194-203.
70. van Dooren, I., Faouzi, M.E.A., Foubert, K., Theunis, M., Pieters, L., Cherrah, Y. and Apers, S., 2015. Cholesterol lowering effect in the gall bladder of dogs by a standardized infusion of *Herniaria hirsuta* L. Journal of ethnopharmacology, 169, pp.69-75.]
71. van Dooren I, Foubert K, Bijttebier S, Theunis M, Velichkova S, Claeys M, Pieters L, Exarchou V, Apers S. Saponins and Flavonoids from an Infusion of *Herniaria hirsuta*. *Planta medica*. 2016 Dec;82(18):1576-83.
72. Kozachok, S., Pecio, Ł., Kolodziejczyk-Czepas, J., Marchyshyn, S., Nowak, P., Mołdoch, J. and Oleszek, W., 2018. γ -Pyrone compounds: flavonoids and maltol glucoside derivatives from *Herniaria glabra* L. collected in the Ternopil region of the Ukraine. *Phytochemistry*, 152, pp.213-222]
73. Pfeiffer . Citrus limon images . Shutterstock .Disponible sur : <https://www.shutterstock.com>.

74. BOUCHACHIA A. Mesure de la vitamine C et de l'activité anti-radicalaire et anti-oxydante des citroflavonoïdes de l'écorce du citron (Doctoral dissertation). Mémoire de master : physiologie cellulaire et physiopathologie . Tlemcen , 2017 ,71p.
75. Goetz P. Citrus limon (L.) Burm. f.(Rutacées) citronnier. *Phytothérapie*. 2014 Apr 1;12(2):116-21.
76. Nathalie C . Le citron: Maison - Cuisine - Santé - Beauté - 100% nature- Mes petites mixtures. Fleurus , 64p .
- 77 . Abbas S, Khoudi A. Essai de formulation d'une boisson à base de fruits (orange, citron et pomme) et légumes (concombre et carotte) au niveau de NCA Rouïba. Mémoire de Master, Université M'Hamed Bougara Boumerdes, République Algérienne Démocratique et Populaire, 68p. 2016.
78. Laurent E. Eléments minéraux In: *Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires*. Edition Lavoisier. Paris. 1991:p78-98.
79. CHALABI N. Caractéristiques physico-chimiques de quelques extraits d'une plante (Doctoral dissertation, 14-01-2018).
- 80.Najjaa H, Zouari S, Arnault I, Auger J, Ammar E, Neffati M. Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L. *Acta Botanica Gallica*. 2011 Jan 1;158(1):111-23.
81. Cheok CY, Salman HA, Sulaiman R. Extraction and quantification of saponins: A review. *Food Research International*. 2014 May 1;59:16-40.
82. Fiallos-Jurado J, Pollier J, Moses T, Arendt P, Barriga-Medina N, Morillo E, Arahana V, de Lourdes Torres M, Goossens A, Leon-Reyes A. Saponin determination, expression analysis and functional characterization of saponin biosynthetic genes in *Chenopodium quinoa* leaves. *Plant Science*. 2016 Sep 1;250:188-97.
83. Titration of citric acid in juice – St Ignatius College Geelong. laboratory learning Activity.
84. BOIZOT, N. et CHARPENTIER, J. P. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, préoraux et aquatiques. 2006.



85. Sfahlan, A. J., Mahmoodzadeh, A., Hasanzadeh, A., Heidari, R., & Jamei, R. (2009). Antioxidants and antiradicals in almond hull and shell (*Amygdalus communis* L.) as a function of genotype. *Food Chemistry*, 115(2), 529-533.
86. Basli, A., Chibane, M., Madani, K., & Oukil, N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, 10(1), 2-9.
87. Bahorun T, Gressier B, Trotin F, Brunet C, Dine T, Luyckx M, Vasseur J, Cazin M, Cazin JC, Pinkas M. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*. 1996 Nov;46(11):1086-9.
88. Dieng M, Fall AD, Diatta K, Diatta W, Bassene E. Dosage des polyphénols et activité anti-oxydante de feuilles et d'inflorescences mâles de *Borassus aethiopum*, Mart.(Arecaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 2015;9(2):1067-71.
89. Talbi H, Boumaza A, El-mostafa K, Talbi J, Hilali A. Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). *Environ. Sci.* 6 (4) .(2015) ; 1111-1117.
90. DJERRAD, Z., KADIK, L. & DJOUAHRI, A. 2015. Chemical variability and antioxidant activities among *Pinus halepensis* Mill. essential oils provenances, depending on geographic variation and environmental conditions. *Industrial Crops and Products*, 74, 440-449
91. Kelebek H, Canbas A, Selli S. Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of blood orange juices obtained from cvs. Moro and Sanguinello (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) grown in Turkey. *Food Chemistry*. 2008 Apr 15;107(4):1710-6.
92. HADDAD H, BOUZID L. Activités antioxydantes des écorces, feuilles, pépins et de jus de citron. Mémoire de Master, Université A. MIRA – Bejaia,75.2016.
93. ABBAS F, ZERROUKI W. Formulation d'une nouvelle boisson à base du concentré du citron, orange et carotte par le plan de mélange (Doctoral dissertation, Université de Bouira).
94. Haleem A, Rehman S, Latif A, Rauf A, Siddiqui N. Standardization of Khubazi-a fruit of *Malva sylvestris* Linn.–A Unani Drug. *International Journal*. 2015;3(6):2459-66.

95. Kotzekidou P. Microbial stability and fate of Salmonella Enteritidis in halva, a low-moisture confection. *Journal of food protection*. 1998 Feb;61(2):181-5.
96. Bonnemaire J, Roux M, Teissier JH, Cordelet C, Grenet L. Composition chimique et valeur alimentaire d'une mauve (*Malva verticillata* L.)(premiers resultats). In *Annales de zootechnie* 1975 (Vol. 24, No. 3, pp. 565-570).
97. Barros L, Carvalho AM, Ferreira IC. Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: a comparative study of the nutraceutical potential and composition. *Food and Chemical Toxicology*. 2010 Jun 1;48(6):1466-72.
98. Sharf AE, Sofy MR, Elhaw MH, Elsaid MS. Chemical Constituents and Biological Activity of *Hernaria Cinerea*, Family Caryophyllacea. 2015;7(8).
99. Foudah AI. Pharmacognostic Standardization, Phenolic and in Vitro Antioxidant Activity of *Silene villosa* (Family: Caryophyllaceae). *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Health Care*. 2017 Jul 10;9(3):106-11.
100. Doukani K, Tabak S. Profil Physicochimique du fruit "Lendj" (*Arbutus unedo* L.). *Nature & Technology*. 2015(12):51.
101. Hama F, Asloune H, Issaadi OE. Effet d'association d'extrait de pulpe d'orange et citron sur l'activité Antioxydante. 2017.
102. Abraham TF, EDOUN M, KUITCHE A, ZEGHMATI B. ETUDE EXPERIMENTALE DU SECHAGE DE LA MANGUE EN REGIME INTERMITTENT.
103. Sarikurkcü C, Targan S, Ozer MS, Tepe B. Fatty acid composition, enzyme inhibitory, and antioxidant activities of the ethanol extracts of selected wild edible plants consumed as vegetables in the Aegean region of Turkey. *International journal of food properties*. 2017 Mar 4;20(3):560-72.
104. Ammor K, Bousta D, Jennan S, Bennani B, Chaqroune A, Mahjoubi F. Phytochemical Screening, Polyphenols Content, Antioxidant Power, and Antibacterial Activity of *Herniaria hirsuta* from Morocco. *The Scientific World Journal*. 2018;2018.
105. Tsai HL, Chang SK, Chang SJ. Antioxidant content and free radical scavenging ability of fresh red pummelo [*Citrus grandis* (L.) Osbeck] juice and freeze-dried products. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2007 Apr 18;55(8):2867-72.

106. Tounsi MS, Wannan WA, Ouerghemmi I, Jegham S, Njima YB, Hamdaoui G, Zemni H, Marzouk B. Juice components and antioxidant capacity of four Tunisian Citrus varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2011 Jan 15;91(1):142-51.
107. Xu G, Liu D, Chen J, Ye X, Ma Y, Shi J. Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. *Food chemistry*. 2008 Jan 15;106(2):545-51.
108. Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*. 2006 Jan 1;99(1):191-203.
109. Ziani BE, Calhelha RC, Barreira JC, Barros L, Hazzit M, Ferreira IC. Bioactive properties of medicinal plants from the Algerian flora: Selecting the species with the highest potential in view of application purposes. *Industrial Crops and Products*. 2015 Dec 23;77:582-9.
110. Lee YJ, Hwang IG, Joung EM, Kim HY, Park ES, Woo KS, Jeong HS. Physiological activity and antiproliferation effects of citron seed extracts on cancer cells. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 2009;38(12):1672-8.

Annexe 1 :

Appareillages :

<p>Etuve de type Venticell FSNV/5072/16</p>	 A white laboratory oven with a blue top section. The brand name 'Venticell' is printed vertically on the right side. The control panel at the top features a digital display showing '80' and several icons.
<p>PH- mètre De type METTLER TOLEDO</p>	 A white digital pH meter with a glass electrode. The display shows a reading of 7.84. A 'METTLER TOLEDO' logo is visible on the side.
<p>Four à moufle De type Wise Therm</p>	 A white laboratory furnace with a blue base. The brand name 'WiseTherm' is printed on the top left. The control panel on the front has a digital display and several buttons.
<p>Spectromètre De type OPTIZEN 3220 UV</p>	 A white laboratory spectrophotometer with a blue top section. The brand name 'OPTIZEN 3220 UV' is printed on the front.

<p>Balance analytique De type OHAUS</p>	
<p>Vortex de type Nahita 681/5</p>	

Matériels de laboratoire :

- Etuve (venticell).
- Balance de précision(OHAUS adventurer).
- Plaque chauffante.
- Plaque agitatrice.
- PH-mètre (METTLER TOLEDO).
- Four a moufle (Wise Therm).
- Vortex (Nahita)
- Micropipette .
- Bareau magnetique.
- Papier filter.
- Bécher.
- Erlenmeyer.
- Entonnoir.
- Burette.
- Tubes a éssai .
- epindophe

Annexe 2 :

Préparation des réactifs :

Manipulations	Réactifs	Préparations
-Acidité titrable+Acide citrique	-NaOH(0,1N) -Phénolphtaléine	-4g d'hydroxide de sodium+1L d'eau distillée. -0,1g de phénolphtaléine +60ml d'éthanol .compléter jusqu'à 100ml avec l'eau distillée
-Dosage des polyphénols totaux	-Folin-Ciocalteu (1 /2) -Carbonate de sodium (20%) -Acide gallique	-1ml de Folin +9ml d'eau distillée -20g de NaCo3+100 ml d'eau distillée -0,2 mg d'acide gallique + 1 ml d'éthanol
-Flavonoïdes	-Chlorure d'aluminium (2%) -Quercitine	-2g de chlorure +100 ml d'éthanol -1mg de quercitine+ 10 ml d'éthanol
-Activité anti-radicalaire	-DPPH	-0,012g de DPPH+100ml d'éthanol
-Saponines	-Liebermann-Burchards(LB) -vanilline	-(1:5)d'acide acétique et acide sulfurique. -0,01 mg de vanilline + 1 ml de propanol

Annexe 3 :

Les courbes d'étalonnages :

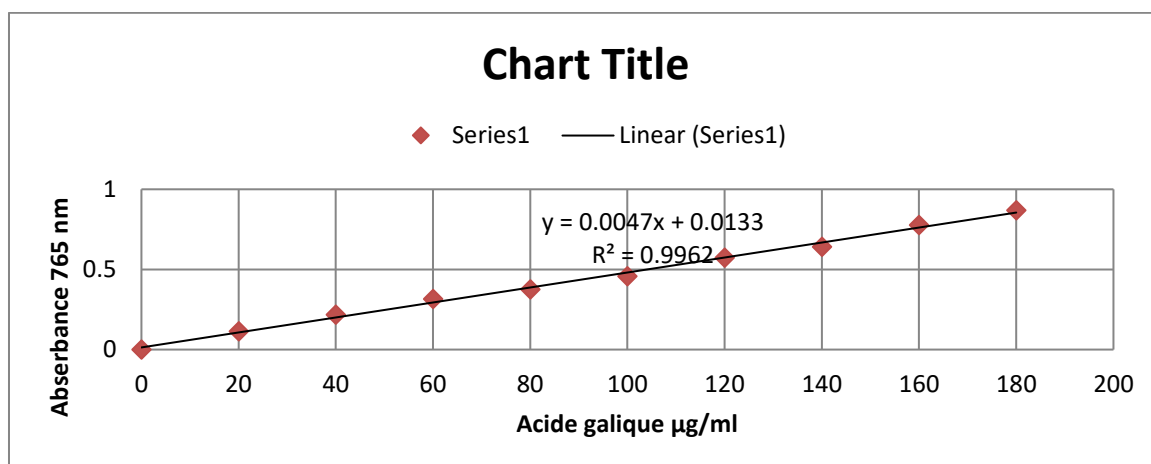


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (µg/ml) pour le dosage des phénols totaux.

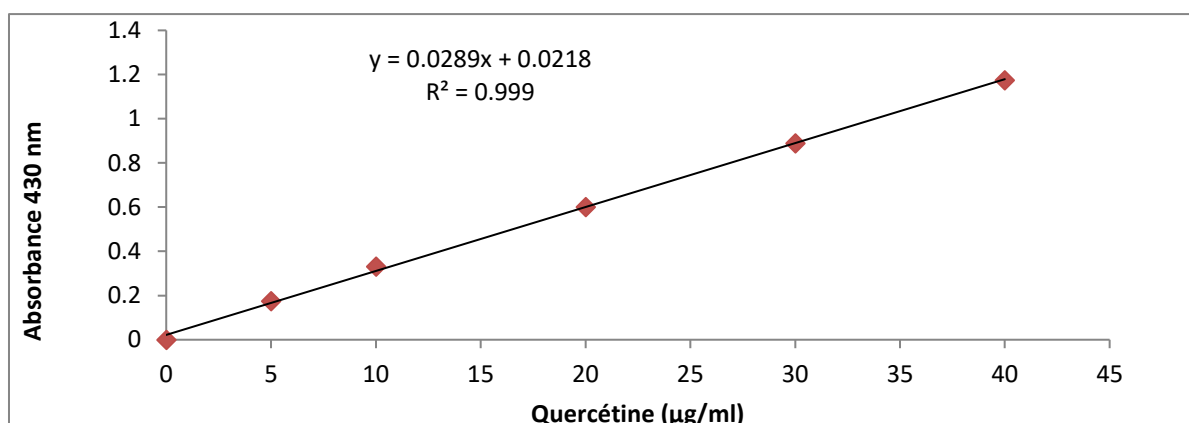


Figure 23 : Courbe d'étalonnage de la quercitrine (µg/ml).

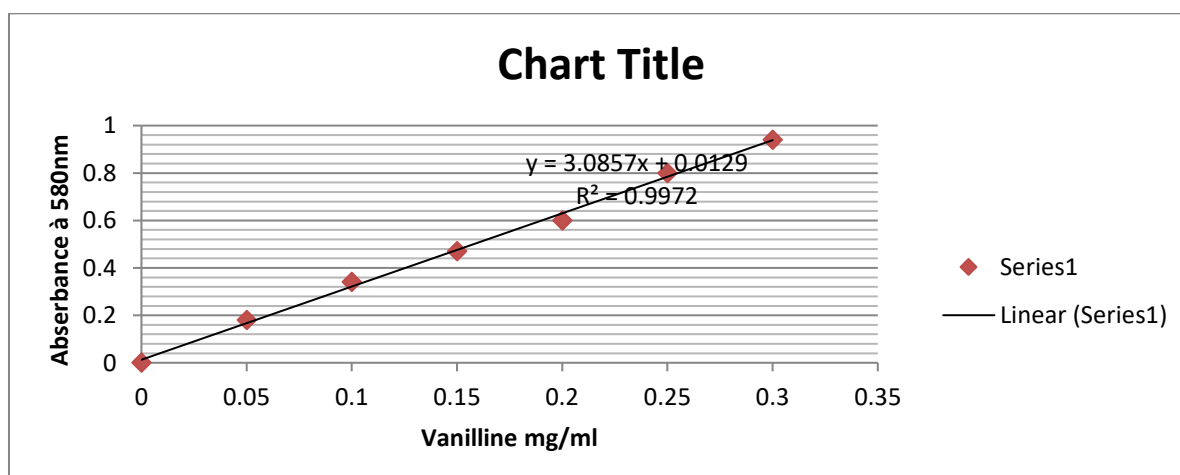
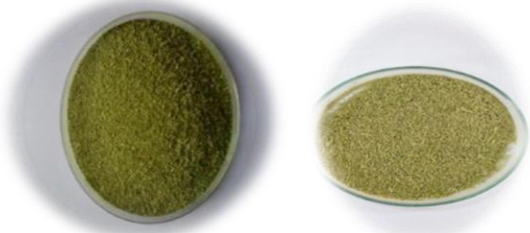


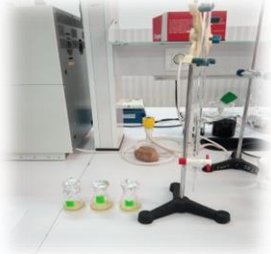
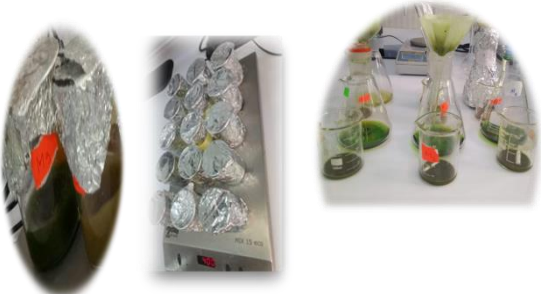
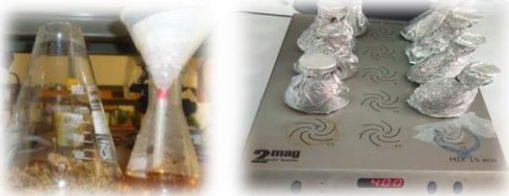


Figure24 : Courbe d'étalonnage de la vanilline (mg/ml) pour le dosage des saponines.

Annexe 4 :

<p><i>Malva sylvestris</i> et <i>Herniaria hirsuta</i> sous forme d'une poudre.</p>	
<p>Les résidus de nos échantillons après incinération.</p>	
<p>La mesure de PH des tisanes.</p>	
<p>La mesure de l'acidité des tisanes par titrage volumétrique.</p>	
<p>L'extraction éthanolique de <i>Malva sylvestris</i> et <i>Herniaria hirsuta</i>.</p>	
<p>La préparation des tisanes et la mise en test de dissolution sous agitation magnétique.</p>	

Annexe 5:

Définitions :**Les flavonoïdes :**

1.2.2. Les flavonoïdes : Les flavonoïdes ont un squelette de base formé par deux cycles en C6 (A et B) reliés entre eux par une chaîne en C3 qui peut évoluer en un hétérocycle (cycle C) (Figure). Ils donnent des couleurs allant du jaune clair au jaune or. Selon les détails structuraux les flavonoïdes se divisent en 6 groupes : flavones, flavonols, flavonones, isoflavones, chalcones, aurones. Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est-à-dire liée à des oses et autres substances [113].

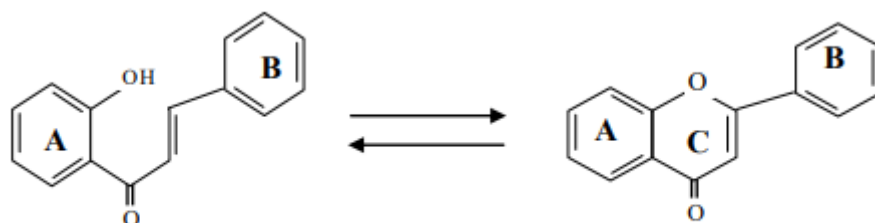


Figure 25 : Structure de base d'un flavonoïde [113].

Les saponines :

Les saponosides sont des substances dont la particularité est de mousser avec l'eau. Ces substances, généralement caustiques et irritantes, probablement toxiques, rendent les plantes qui en contiennent tout à fait immangeables. Plusieurs drogues à saponosides sont utilisées par l'industrie pharmaceutique pour l'obtention de formes galéniques, d'autres ont des applications en phytothérapie.

L'acide citrique :

L'acide citrique (acide 2-hydroxy-1,2,3-propanetricarboxylique) est un acide tricarboxylique faible qui est naturellement concentré en agrumes, il est fréquemment utilisé comme additif alimentaire pour acidité et goût acidulé des aliments et des boissons. Parmi les fruits, l'acide citrique est le plus concentré dans les citrons et les limes.

Résumé :

Dans cette étude, l'effet de dissolution des calculs biliaires par le jus de citron pur et des extraits aqueux de deux plantes à savoir *Herniaria Hirsuta L.* et *Malva Sylvestris L.* a été étudié, *in vitro*. Ce travail s'est basé sur l'étude de 18 calculs biliaires de patients algériens pesés de 0,1755 à 0,5661 g de type cholestéroliques qui ont été mis en contact avec le jus de citron pur et les extraits aqueux de deux plantes avec ou sans agitations continue. Différents dosages ont été effectués pour les extraits végétaux: le pH, l'humidité et taux de cendre, la teneur en polyphénols, flavonoïdes et l'activité anti-radicalaire de jus de citron et des extraits de dissolution, la caractérisation et la quantification de saponosides dans les extraits aqueux de ces deux plantes et l'acide citrique dans le jus de citron pur. Le taux de dissolution des calculs biliaires est évalué en mesurant le pourcentage de la perte de poids. Les résultats obtenus ont montré que les deux plantes médicinales et le citron contiennent des polyphénols, des flavonoïdes, et se caractérisent par une importante activité anti-radicalaire. Les principes actifs responsables de la dissolution des calculs biliaires sont: les saponines dans le cas des deux plantes médicinales et l'acide citrique pour le citron. Le test de dissolution *in vitro* montre que le citron a un effet dissolvant plus important que celui d'*Herniaria hirsta* et *Malva sylvestris*.

Mots clés : lithiase, calculs biliaires, *Citrus limon*, *Herniaria hirsta*, *Malva sylvestris*, dissolution *in vitro*, saponoside, acide citrique.

Abstract :

In this study, the effect was evaluated *in vitro* of pure lemon juice and aqueous extracts of two plants namely: *Herniaria Hirusta L.* et *Malva Sylvestris L.* prepared by infusion on the dissolution of gallstones. Our work is based on 18 gallstones of Algerian patients weighed 0.1755 to 0.5661 g of cholesterolic type that have been in contact with pure lemon juice and aqueous extracts of two plants with or without continuous agitations, after which various assays were: the weight of the stones and the dissolution rate, pH, humidity and ash rate, the content of: polyphenols, flavonoids and antiradicular activity of lemon juice and the aqueous extracts of these two plants, and the characterization of the contents of saponosides the aqueous extracts of these two plants, and citric acid in pure lemon juice. The results indicate that both medicinal plants and lemon contain polyphenols, flavonoids and are characterized by significant antiradicular activity. The active ingredients found in these used plants are responsible for the dissolution of gallstones: saponin for both medicinal plants and citric acid for lemon. The *in vitro* dissolution test shows that lemon has a greater dissolution effect than that of *Herniaria hirsta* and *Malva sylvestris*.

Key words: cholelithiasis, gallstones, *Citrus limon* (lemon), *Herniaria hirsta*, *Malva sylvestris*, *in vitro*, saponoside, citric acid.

الملخص:

في هذه الدراسة قمنا بتقييم تأثير عصير الليمون، والمستخلص المائي لنبتة الخبيز و فئات الحجر على تحلل حصى المرارة. يستند عملنا التجريبي على 18 حصى مرارة مأخوذة من مرضى جزائريين يتراوح وزنها بين 0,1755 و 0,6561 غ، والتي وضعت على اتصال مع عصير الليمون و المستخلص المائي لنبتتين مع او بدون حركة، ولقد تم تقييم ذلك باجراء عدة فحوصات: وزن الحصوات، نسبة التفتت، درجة الحموضة، نسبة الرطوبة، معدل المعادن، كمية كل من: البوليفينول، الفلافونويد، النشاط المقاوم للجذور، السابونين بالنسبة للمستخلص المائي للنبتتين و حمض السيتريك لعصير الليمون. اظهرت النتائج ان كل منالنباتاتالطبية و الليمون تحتوي على البوليفينول، الفلافونويد و ان لديها نشاط مقاوم للجذور. المكونات النشطة: السابونين و حمض السيتريك مسؤولة عن تحلل الحصى. الليمون لديه ذوبان اكبر من المستخلص المائي للنبتتين.

الكلمات المفتاحية: تحصى صفراوي، حصى مرارة، الليمون، فئات الحجر، الخبيز، سابونوزيد، حمض السيتريك.