

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITÉ AMAR TÉLIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTÉ DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Projet de Fin d'Étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Pharmacotoxicologie

Thème

Évaluation de l'effet anti lithiasique de l'extrait d'*Astragalus armatus*

Présenté par :

- Melle MAZOUZI Safaa
- Melle SOUICI Ikram
- Melle TALHA Ikram

Soutenu publiquement le 28/06/2025 devant les membres de jury :

- Président : M. LEBOUKH Mourad MAA UAT-Laghouat
- Examineur : M. BOUKEROUIS Djoudi MAA UAT-Laghouat
- Promoteur : Dr. SIFI Ibrahim MCA UAT-Laghouat

Année universitaire 2024-2025

Remerciement

Ce travail n'aura jamais pu être réalisé sans l'aide, le soutien et l'accompagnement de plusieurs personnes à qui je tiens à exprimer ma profonde gratitude.

*Je remercie tout d'abord Monsieur **Dr. Sifi Ibrahim**, directeur de ce mémoire, pour sa patience, ses conseils éclairés et son encadrement constant tout au long de ce travail. Sa disponibilité et son soutien ont été précieux à chaque étape.*

*Mes remerciements les plus sincères vont à Monsieur **Pr. Gouzi Niche**, qui nous a généreusement accueillis dans son laboratoire et nous a accompagnés avec beaucoup de bienveillance et de professionnalisme. Grâce à son aide précieuse et ses indications techniques, nous avons pu mener à bien notre travail dans les meilleures conditions*

Je remercie également l'ensemble des enseignants du Master Pharmacotoxicologie pour la qualité de leurs enseignements et leur dévouement tout au long de notre formation.

Enfin, je n'oublie pas de remercier ma famille et mes proches pour leur soutien moral, leur patience et leur encouragement continu.

Dédicace

Louange à Allah, source de toute sagesse, de toute patience et de toute réussite. Par Sa grâce, ce travail a pu voir le jour. Que la paix et les bénédictions soient sur notre Prophète Muhammad modèle de persévérance et d'humilité.

Je dédie ce mémoire, avec tout mon amour, ma reconnaissance et mon respect :

À mes chers parents, pour leurs prières, leur soutien inconditionnel, leurs sacrifices silencieux et leur amour infini. Ce travail est avant tout le fruit de leur patience et de leur foi en moi.

À mes frères et sœurs, pour leur présence rassurante, leurs encouragements sincères et leur affection, qui ont été pour moi une source de force et de motivation.

À mes amis fidèles, qui ont su être là dans les moments de fatigue, de doute ou de découragement, apportant toujours une parole réconfortante et une énergie positive.

À mes enseignants et encadrants, pour leur transmission du savoir, leur disponibilité, et leurs conseils précieux tout au long de ce parcours académique. Leur dévouement reste pour moi une source d'inspiration.

Enfin, à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à l'élaboration de ce travail. Que Dieu les récompense pour leur bienveillance et leur soutien

Résumé

L'Astragalus armatus, connu localement en Algérie sous le nom de *Keddad*, fait l'objet de cette étude visant à évaluer l'activité anti lithiasique des extraits aqueux et méthanoliques de ses racines, récoltées dans la région de Laghouat. Dans ce cadre, une analyse spectrophotométrique a été réalisée pour déterminer la teneur en composés phénoliques, ainsi qu'un test de turbidité pour évaluer l'activité anti-cristallisation. L'extraction a donné un rendement de 9 % pour l'extrait aqueux et de 14 % pour l'extrait méthanolique à partir de la matière sèche. L'analyse spectrophotométrique a révélé une teneur plus élevée en polyphénols dans l'extrait méthanolique par rapport à l'extrait aqueux. Quant aux flavonoïdes, leur taux était relativement faible dans l'extrait méthanolique, et encore plus faible dans l'extrait aqueux. L'évaluation de l'activité anti lithiasique a montré une efficacité marquée de l'extrait aqueux dans l'inhibition de la cristallisation de l'oxalate de calcium et du phosphate de calcium, notamment lors de longues périodes d'incubation, comparé à l'extrait méthanolique. Ces résultats ont été confirmés par l'analyse microscopique et la méthode turbidimétrique.

Mots clés : *Astragalus armatus*, activité anti lithiasique, polyphénols, flavonoïdes, oxalate de calcium.

Abstract

Astragalus armatus, locally known in Algeria as *Keddad*, is the focus of this study, which aims to evaluate the antilithiatic activity of both aqueous and methanolic root extracts collected from the Laghouat region. In this context, spectrophotometric analysis was performed to determine the phenolic compound content, along with a turbidity test to assess the anti-crystallization activity. The extraction process yielded 9% for the aqueous extract and 14% for the methanolic extract from the dry plant material. Spectrophotometric analysis showed a higher polyphenol content in the methanolic extract compared to the aqueous one. Flavonoids were relatively low in the methanolic extract and even lower in the aqueous extract. The evaluation of antilithiatic activity revealed significant effectiveness of the aqueous extract in inhibiting the crystallization of calcium oxalate and calcium phosphate, especially during prolonged incubation periods, in comparison with the methanolic extract. These results were confirmed using both microscopic analysis and the turbidimetric method.

Keywords: *Astragalus armatus*, antilithiatic activity, polyphenols, flavonoids, calcium oxalate.

المخلص

نبات القتاد الشوكي المعروف محليًا في الجزائر باسم الكدّاد، يهدف هذا العمل إلى تحديد النشاط المضاد لتكوّن حصى الكلى لكل من المستخلص المائي والمستخلص الميثانولي لجذور هذا النبات من منطقة الأغواط. في هذا السياق، تم إجراء تحليل طيفي ضوئي لتحديد محتوى المركبات الفينولية، بالإضافة إلى اختبار النشاط المضاد للتبلور باستخدام اختبار العكارة. أظهرت عملية الاستخلاص مردودًا قدره 9% للمستخلص المائي و14% للمستخلص الميثانولي من المادة الجافة، أظهر التحليل الطيفي أن محتوى البوليفينولات أعلى في المستخلص الميثانولي مقارنة بالمائي. بينما كانت الفلافونويدات ذات نسبة منخفضة نسبيًا في المستخلص الميثانولي، وكانت أقل في المستخلص المائي، أما تقييم النشاط المضاد لتكوّن الحصى فقد أظهر فعالية كبيرة للمستخلص المائي في تثبيط تبلور أوكسالات الكالسيوم، الكالسيوم وتثبيط تبلور فوسفات خاصة عند أوقات الحضانة الطويلة، مقارنة بالمستخلص الميثانولي. وقد تم تأكيد هذه النتائج باستخدام كل من التحليل المجهرى وطريقة التورب ديمتري.

الكلمات المفتاحية: عشبة القتاد، نشاط مضاد لتكوين الحصوات، بوليفينول، فلافونويد، أكسالات الكالسيوم.

Sommaire

Remerciement.....	ii
Dédicace	iii
Résumé.....	iv
Abstract	v
المخلص.....	vi
Liste des figures	ix
Liste des tableaux	x
Liste des abréviations	xi
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS SUR LA LITHIASE URINAIRE.....	3
1. Définition de la lithiase urinaire	4
2. Les types de lithiase urinaire.....	4
2.1. Lithiases minérales	5
2.2. Lithiases organiques	5
3. Lithogénèse urinaire.....	7
3.1. Les étapes de la lithogénèse.....	7
4. Facteurs favorisant la formation du calcul	8
5. Les promoteurs et inhibiteurs de la lithogénèse.....	9
5.1. Les promoteurs de la lithogénèse	9
5.2. Les inhibiteurs de la lithogénèse	9
6. Les symptômes de lithiase urinaire.....	10
7. Diagnostic, traitements et la prévention des calculs rénaux (lithiase urinaire).....	10
7.1. Diagnostic.....	10
7.2. Traitement.....	11
7.3. Prévention.....	11
CHAPITRE II : LITHIASE URINAIRE et LA PHYTOTHÉRAPIE.....	12
1. La phytothérapie dans le traitement des calculs rénaux.....	13
2. La plante étudiée <i>Astragalus armatus</i>	14
2.1. Description botanique.....	15
2.2. Classification d' <i>Astragalus armatus</i> :.....	16
2.3. Les composants biologiquement actifs des espèces d' <i>Astragalus</i>	16
2.4. Intérêt médicinal de la plante.....	16

CHAPITRE III : MATÉRIELS et MÉTHODES.....	18
1. Matériel végétale.....	19
2. Réactifs et produits chimiques	19
3. Préparation des extraits végétales	19
3.1. Préparation de la poudre végétale.....	19
3.2. Préparation d'extrait aqueux par décoction	20
3.3. Préparation de l'extrait méthanolique par Macération	20
3.4. Détermination du rendement (R%).....	20
4. Dosages des polyphénols et flavonoïdes.....	21
4.1. Dosages des polyphénols totaux.....	21
4.2. Dosages des flavonoïdes totaux.....	21
5. Evaluation de l'activité anti lithiasique.....	21
5.1. Étude de la cinétique de cristallisation de l'oxalate de calcium par la méthode turbidimétrique	22
5.2. Etude de la cristallisation par microscope optique	25
CHAPITRE IV : RÉSULTATS et DISCUSSION.....	27
1. Résultat du rendement d'extraction	28
2. Résultats du dosage des polyphénols et flavonoïdes	28
3. Résultat du pouvoir anti-lithiasique	29
3.1. Suivie cinétique de la cristallisation oxalo-calcique par turbidimétrie.....	29
3.2. Suivi de la cristallisation de l'oxalate de calcium par microscopie.....	32
3.3. Suivi de la cristallisation de phosphate ammoniaco-magnésien par microscopie.....	33
CONCLUSION.....	35
Conclusion et perspectives	36
Références bibliographiques	37

Liste des figures

Figure 1: Schéma des voies urinaires avec des calculs (https://urologie-archette.fr/)	4
Figure 2: principales étapes de la lithogénèse (Tostivint & Jungers, 2019)	7
Figure 3 : Les principales plantes reconnues pour leurs propriétés antilithiasiques	14
Figure 4 : Photographies originales de <i>Astragalus armatus</i>	15
Figure 5: Photographies originales de racine de plant (à gauche) préparation de la poudre (à droite)	19
Figure 6 : Courbe turbidimétrie de la cristallisation oxalo-calcique.....	22
Figure 7 : Photo de Spectrophotomètre UV-visible utilisé pour la lecture de l'absorbance...	23
Figure 8 : Photo de microscope utilisé pour la lecture.....	25
Figure 9 : La teneur en polyphénols, et flavonoïdes (g/Eq Standard/mg) dans l'extrait aqueux et méthanolique	28
Figure 10 : Évolution de la turbidimétrie en absence d'inhibiteur.....	30
Figure 11 : Cinétique de l'effet de l'acide citrique de 0.5 et 1 mg/ml. Sur la cristallisation oxalo-calcique.....	30
Figure 12 : Cinétique de l'effet de l'extrait aqueux sur la cristallisation oxalo-calcique à différentes concentrations	30
Figure 13 : Cinétique de l'effet de l'extrait méthanolique sur la cristallisation oxalo-calcique à différentes concentrations	31
Figure 14 : Pourcentage d'inhibition d'extrait aqueux et méthanolique de racine à la différente concentration en face de l'acide citrique	31
Figure 15 : Evolution du taux d'agrégation et du pourcentage d'inhibition d'extrait aqueux.	32
Figure 16 : Evolution du taux d'agrégation et du pourcentage d'inhibition d'extrait aqueux.	32
Figure 17 : La cristallisation de l'oxalate de calcium en absence d'inhibiteurs (à gauche) et en présence d'inhibiteurs (à droite)	33
Figure 18 : Evolution du taux d'agrégation et du pourcentage d'inhibition d'extrait méthanolique	33
Figure 19 : Evolution du taux d'agrégation et du pourcentage d'inhibition d'extrait méthanolique	33
Figure 20 : Effet de l'extrait de racine de <i>A. armatus</i> sur les cristaux de struvite. (à gauche : cristaux formés en absence de l'extrait aqueux, à droite : cristaux formés en présence de l'extrait aqueux).....	34

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les différent types d'oxalate de calcium	6
Tableau 2: Les deux grandes catégories d'inhibiteurs de la lithogenèse	9
Tableau 3 : Les symptômes de lithiase urinaire.....	10
Tableau 4 : utilisations thérapeutiques de <i>Astragalus armatus</i> , avec les activités pharmacologiques, les composés responsables.....	17
Tableau 5 : Rendement d'extraction pour les deux méthodes d'extraction à partir des racine <i>A. armatus</i>	28

Liste des abréviations

ExAq :	Extrait Aqueux
MeOH :	Extrait méthanolique
Na₂C₂O₄ :	Oxalate de Sodium
NaCl :	Chlorure de sodium
AlCl₃ :	Trichlorure d'aluminium
FCR :	Réactif de Folin Ciocalteu.
D.O :	Densité Optique
UV :	Ultra-Violet.
SI :	Sans d'inhibiteur
TA	Taux d'Agrégation
(C-SI)	Cristallisation sans inhibiteur
(C-AI)	Cristallisation avec l'inhibiteur
mg EAG/g d'extrait :	Milligramme d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait.
mg EQ/g d'extrait :	Milligramme d'équivalent quercétine par gramme d'extrait

INTRODUCTION

Introduction

La lithiase urinaire est une affection très répandue qui touche 4 à 8 de population selon les pays (Hannache,2014), avec une prévalence d' environ 5 à10 dans la tranche d' âge des 20-60 ans, la lithiase urinaire est reste une pathologie souvent épisodique et sans gravité. La lithiase est la forme plus courante des plusieurs types des calculs (Hess et al., 2003 ; Daudin et al., 2004) présente dans plus 80% des calculs se forme d' oxalate de calcium, ce dernier est la constituant principale environ 50% des calculs chez les femmes et 75% chez les hommes. L'évolution de cette prévalence au cours de temps est fortement liée à la modification des modes de vie, des habitudes alimentaires, des conditions sanitaires et des facteurs environnementaux et de la prévalence des affections qui prédisposent eu risque de lithiase (obésité, diabète, syndrome métabolique).

Diverses approches thérapeutiques ont été explorées dans le traitement des plusieurs type des calculs : les médicaments conventionnels, la chirurgie et la lithotripsie. Ces méthodes sont coûteuses et ne sont pas à la portée de la population. En plus de ces procédures qui s'avèrent inefficace, le taux de récurrence augmente, cependant les méthodes de prévention sont donc le moyen le plus efficace de traiter cette maladie et sa récurrence (Charafi et al.,2012). En effet, les médicaments à base des plantes constituent un patrimoine précieux pour humanité et en particulier pour la plupart des pays pauvres qui dépendent d' eux pour assurer leurs soins de santé. L' Algérie, par sa position biogéographique, offre une grande variété de flore.

Notre travail s'insère dans le cadre du programme destiné à la valorisation de la flore algérienne, par la recherche des composés ou des principes actifs à débouchés thérapeutiques. La sélection des espèces est basée principalement sur l' utilisation éventuelle en médecine traditionnelle en vue d' une investigation curative et biologique. Ainsi, le présent mémoire s'articulera en trois grandes parties :

- **Dans la première partie**, nous avons commencé par une étude bibliographique qui est consacré à la Lithiase urinaire Et à la description et aux propriétés biologique de plante médicinales a activité anti lithiasique.
- **La deuxième partie** traitera la description du matériel et des méthodes utilisés, d' ou nous nous sommes fixés plusieurs objectifs, à savoir :
 - La quantification des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir une partie de plante médicinale algérienne.

- L'évaluation de l'activité anti lithiasique des extraits de *A. armatus*.
- Enfin, dans la troisième partie, nous avons rapporté les résultats obtenus entre autres le rendement les teneurs de composés phénoliques et l'étude de l'activité anti lithiasique des extraits de cette plante.

CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS SUR LA LITHIASE URINAIRE

1. Définition de la lithiase urinaire

La lithiase urinaire – ou urolithiase ou maladie lithiasique est une maladie pathologie fréquente multifactorielle (gêne, alimentation, environnement) (BOUHADOUN & BOUMRAR, 2018). Caractérisée par la formation et la présence de calculs (ou pierres) dans le système urinaire, (reins, uretère, vessie). Ces pathologies pouvant survenir à tout âge, mais prédominant chez l'adulte jeune, avec une légère prédominance masculine. Elle a tendance à récidiver si des mesures préventives ne sont pas mises en place. (Aube et al 2018).

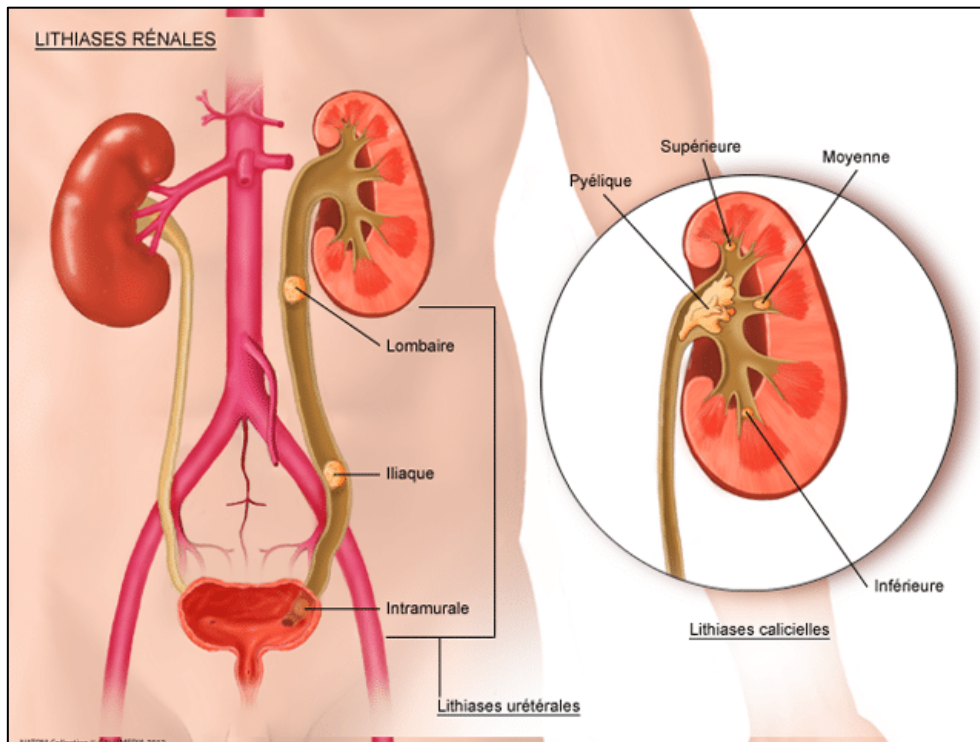


Figure 1: Schéma des voies urinaires avec des calculs (<https://urologie-archette.fr/>)

2. Les types de lithiase urinaire

Un calcul urinaire est un amas solide formé par l'agglomération de cristaux, liés entre eux par une matrice organique. La taille de ces substances varie de quelques millimètres à plusieurs centimètres (Daudon, et al. 2008).

Ces calculs sont des concrétions solides formées à partir de substances cristallisables présentes dans l'urine, comme le calcium, l'oxalate, l'acide urique, la cystine ou le phosphate. Ces substances peuvent précipiter et s'agréger lorsqu'elles sont en concentration élevée dans l'urine, surtout en cas de déshydratation ou de déséquilibre métabolique. Selon leur composition chimique, on distingue plusieurs types de calculs (oxalate de calcium, acide urique, struvite, cystine...) (VIDAL, 2024).

2.1. Lithiases minérales

Les Oxalates de calcium :

- L'oxalate de calcium monohydraté (*whewellite*): se présentent sous forme de mamelonnée ou lisse, brun à brun foncé, qui est liée à une concentration urinaire excessive en oxalates, l'hyper-oxalurie.
- L'oxalate de calcium dihydraté (*weddellite*) : se présentent sous forme de spiculée, aux angles et arêtes vifs, couleur brun-jaune clair (Estrade et al., 2017).et principalement liée à une hypercalciurie.

Phosphates de calcium :

- La plus fréquente est la carbapatite (ou phosphate de calcium carbonate), couleur homogène beige ou brun - jaune clair. Elle peut être liée à une augmentation du pH urinaire, à une hypercalciurie voire à une infection chronique de l'appareil urinaire.

Struvite (Phospho-Ammoniac-Magnésiens) :

- Homogène pseudo-spiculée blanche (Estrade et al., 2017). Elle est liée à la présence d'une infection chronique de l'appareil urinaire par des germes ayant une enzyme appelée uréase.

2.2. Lithiases organiques







Acide urique : Ces calculs se développent à cause d'une l'hyperacidité urinaire pH <5,5.

- Acide urique monohydraté : se présentent sous forme lisse au finement rugueuse, homogène, beige, jaune, orange selon calculs, parfois crémeuse (Estrade et al., 2017).
- Acide urique dihydraté : Couleur hétérogène, beige, ocre , orangée à brun – rouille (Estrade et al., 2017).

Urates d'ammonium : Couleur hétérogène, beige, grège à gris-brun, (Estrade et al., 2017). Les calculs se forment en milieu urinaire alcalin, souvent lors d'infections chroniques à germes uréases comme *Proteus* ou *Klebsiella*.

Cystine : D'aspect cireux couleur homogène, brun, jaune clair (Estrade et al., 2017). Elles sont causées par une maladie héréditaire rare appelée cystinurie, entraînant une accumulation de cystine dans l'urine et la formation de calculs .¹

Tableau 1 : Les différent types d'oxalate de calcium

Les types des calculs	Les sous types	Images
Lithiases minérales	Les Oxalates de calcium : <ul style="list-style-type: none"> - Oxalate de calcium monohydraté (whewellite) - Oxalate de calcium dihydraté (weddellite) 	
	<p>A gauche : Oxalate de calcium dihydraté. A droite oxalate de calcium monohydraté. (Mayo Clinic Staff, 2023)</p>	
	Phosphates de calcium	
	<p>Carbapatite, type Iva1</p>	
	Struvite (Phospho-Ammoniacomagnésiens)	
<p>Struvite, type Ivb 2</p>		
Lithiases organiques	Acide urique <ul style="list-style-type: none"> - Acide urique monohydraté - Acide urique d'hydratée 	
	<p>A gauche : Acide urique monohydraté. A droite : Acide urique d'hydratée Image : (Estrade et al., 2017)</p>	
	Urates d'ammonium	
	<p>Urates d'ammonium, type III</p>	
	Cystine	
<p>Calculs de cystine, type Va : (Urology Care Foundation, 2023)</p>		

3. Lithogénèse urinaire

La lithogénèse est l'ensemble des processus qui vont conduire au développement d'un calcul dans les voies urinaires. La formation de calculs est un processus pathologique complexe qui résulte de multiples événements Physicochimiques (connu sous le nom de lithogénèse) et influencée par des facteurs favorisants (Daudon, et al. 2008).

La lithogénèse proprement dite se définit par la rétention et la croissance secondaire des cristaux et agrégats Cristallins à un niveau quelconque de l'appareil urinaire pour différentes raisons : adhérence à l'épithélium, Piégeage dans une matrice protéique, stase locale dans des zones anatomiquement anormales de l'appareil Urinaire (Daudon, 2012).

3.1. Les étapes de la lithogénèse

La formation d'un calcul se déroule en sept étapes successives :

1. La sursaturation urinaire : l'excès de concentration d'une substance dans les urines par rapport aux capacités de dissolution de celles-ci.
2. Nucléation cristalline (germination) : Formation des premiers noyaux cristallins à partir des ions dissous dans l'urine.
3. La croissance cristalline : les cristaux vont grossir en captant de nouvelles molécules pour arriver à former des particules plus volumineuses.
4. L'agrégation des cristaux : conduit à la formation de particules plus volumineuses mesurant jusqu'à plusieurs centaines de microns.
5. L'agglomération cristalline : apport de nouveaux cristaux pour former l'architecture du calcul.
6. La rétention des particules cristallines : les particules cristallines vont être retenues dans le rein et favorisant leur développement local.
7. La croissance du calcul : se fait à une vitesse variable, selon l'importance des anomalies physicochimiques de l'urine. L'importance des anomalies physicochimiques de l'urine

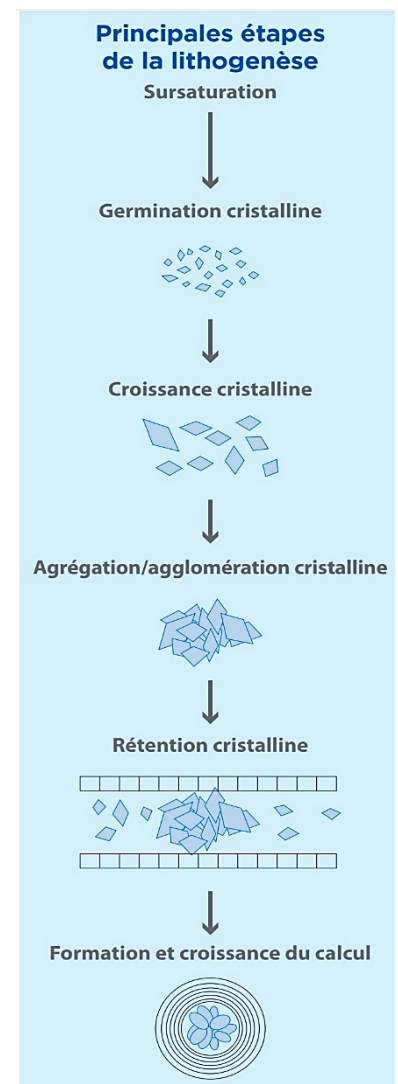


Figure 2: principales étapes de la lithogénèse (Tostivint & Jungers, 2019)

4. Facteurs favorisant la formation du calcul

Plusieurs facteurs de risque lithogènes ont été identifiés (Dalibon, 2015) :

- ✓ **L'âge et le sexe** : Généralement l'incidence de la maladie lithiasique est plus fréquente chez les individus entre 30 et 50 ans, la plupart des études montrent une prédominance masculine : trois hommes/pour une femme ;
- ✓ **Facteurs environnementaux** : Les facteurs climatiques et saisonniers interviennent dans l'épidémiologie de la lithiase urinaire par déshydratation ; donc le risque de lithogénèse augmente avec les déplacements vers des régions à température plus élevées puisqu'un ensoleillement plus fort est associé à la synthèse accrue de vitamine D (Dalibon, 2015);
- ✓ **Facteurs génétiques** : Les lithiases urinaires induites par les maladies héréditaires monogéniques sont relativement rares mais souvent sévères (Khouchlaa, 2017) ;
- ✓ **Facteurs nutritionnels** : Apports alimentaires accrus en protéines animales, sel, produits laitiers, aliments riches en oxalate (le thé et le chocolat), sucres rapides (fructose notamment) ou purines (favorise l'hypercalciurie), élévation de teneur de calcium dans l'eau de boisson. En parallèle, une consommation faible en fibres alimentaires (Dalibon, 2015) ;
- ✓ **Anomalies morpho-anatomiques des voies urinaires** : Au moins 10% de l'ensemble des calculs urinaires sont associés à une anomalie anatomique de l'appareil urinaire (Dalibon, 2015) ;
- ✓ **Anomalies du pH urinaire** : (Cochat et al., 2012);
 - < 5,3 : favorise les calculs d'acide urique, cystine, xanthine.
 - 6,5 : favorise les calculs de phosphate de calcium et struvite.
- ✓ **Facteur médicamenteuse** : qui représentent 1 % des cas « sulfamides, vitamine C et D, supplémentation calcique... » (Dalibon, 2015). Certains médicaments sont lithogènes par précipitation de la substance active dans les urines. Les médicaments le plus souvent incriminés sont *Atazanavir* et *Indinavir*, utilisées dans les trithérapies anti-VIH. Plus rarement, le cotrimoxazole, l'allopurinol, ou l'amiodarone, et les diurétiques thiazidiques. Ces calculs ont comme particularité d'être radio transparents et peu visibles au scanner. D'autres médicaments sont inducteurs de la lithogénèse en modifiant les paramètres biochimiques des urines (ex. : la vitamine D qui favorise l'hypercalciurie).

5. Les promoteurs et inhibiteurs de la lithogénèse

Les urines sont un milieu de composition complexe et variable où la formation de cristaux est le résultat d'un déséquilibre entre deux groupes de substances : des substances cristallisables dites promoteurs, et des substances protectrices de la cristallisation désignées sous le terme d'inhibiteurs (Daudon, 2013).

5.1. Les promoteurs de la lithogénèse

Les ions qui participent à la formation des espèces insolubles (les principaux le calcium, l'oxalate et le phosphate), sont appelés promoteurs de la cristallisation. Don't la concentration urinaire excessive, c'est à dire supérieure à leur produit de solubilité dans l'urine, les conduit à cristalliser, ils s'associent très souvent par deux ou par trois pour former une substance cristallisable qui, elle-même, peut se présenter sous plusieurs espèces cristallines. (Daudon et al., 2008). Les cristaux se forment dans des environnements biologiques différents don't elles témoignent, d'où l'intérêt de les prendre en considération pour identifier les facteurs étiologiques d'une maladie lithiasique (Daudon et al., 2008).

5.2. Les inhibiteurs de la lithogénèse

Les inhibiteurs de la lithogénèse sont des composés présents dans l'urine qui agissent selon divers mécanismes pour contrer l'effet des promoteurs de la cristallisation. Ils élèvent le seuil de sursaturation nécessaire à l'initiation de la nucléation, ralentissent la croissance des cristaux et inhibent également la nucléation secondaire (Bertrand Doré, 2004 ; Abbassene, 2019). Ces molécules peuvent former des complexes chimiques solubles, réduisant ainsi le risque de cristallisation, ou se fixer à la surface des germes cristallins pour en empêcher la croissance et l'agrégation (Daudon et al., 2008). On distingue deux grandes catégories d'inhibiteurs de la lithogénèse : les ions de faible poids moléculaire d'un côté, et les macromolécules, qu'elles soient protéiques ou polysaccharidiques :

Tableau 2: Les deux grandes catégories d'inhibiteurs de la lithogénèse

Catégorie	Exemple(s) principal(aux)	Origine	Mode d'action
Inhibiteurs de faible poids moléculaire	Citrate	Présent naturellement dans les urines	<ul style="list-style-type: none">- Complexant fort du calcium- Réduction de la sursaturation urinaire- Inhibition de la cristallisation (oxalate et phosphate de calcium)- Fixation à la surface des cristaux, empêchant leur croissance et agrégation

Catégorie	Exemple(s) principal(aux)	Origine	Mode d'action
Inhibiteurs macromoléculaires	Polysaccharides Protéines porteuses	Filtration glomérulaire de molécules actives Production locale par les cellules rénales	- Adsorption à la surface des cristaux via groupements acides (COO ⁻ , SO ₄ ²⁻ , PO ₄ ³⁻) - Perturbation des forces électrostatiques - Inhibition de la croissance et de l'agrégation cristalline

6. Les symptômes de lithiase urinaire

La lithiase urinaire est une affection urologique peuvent être asymptomatiques, mais d'autres provoquent des douleurs aiguës (coliques néphrétiques), des infections urinaires ou une obstruction des voies urinaires. (Elsan, 2023)

Tableau 3 : Les symptômes de lithiase urinaire

Situation	Symptômes
Symptômes généraux	Fièvre, nausées, vomissements.
Présence de calcul sans obstruction	Troubles urinaires, difficultés à uriner, hématurie, pesant pelvienne
Obstruction de l'uretère	Colique néphrétique douleurs lombaire intenses

7. Diagnostic, traitements et la prévention des calculs rénaux (lithiase urinaire)

7.1. Diagnostic

- Analyse d'urine : peut détecter la présence de sang ou de pus dans l'urine, Même sans symptômes.
- Uroscanner : localise les calculs et montre l'obstruction des voies urinaires.
- Échographie : est une alternative sans radiation, mais elle détecte mal les petits calculs, surtout dans l'uretère.
- Radiographie de l'abdomen : est moins précise et ne montre que les calculs contenant du calcium seulement (Les Cliniques Marois Urologue, 2023).

7.2. Traitement

Traitement pharmacologique

- Antalgiques et anti-inflammatoires : Pour calmer une crise de colique néphrétique, on utilise : Kétoprofène, Paracétamol, et en cas de douleur forte, la Morphine
- Antispasmodiques : Spasfon® (plus recommandé)
- Tamsulosine : facilite l'évacuation des calculs
- Alcalinisation des urines : eau de Vichy, acide citrique (pour les calculs d'acide urique)
Si les calculs sont faits d'acide urique, on peut essayer de les dissoudre en rendant les urines alcalines avec de l'eau de Vichy ou un médicament à base d'acide citrique, mais cela peut prendre plusieurs semaines pour dissoudre complètement un calcul. (Bron, 2021)

Traitement chirurgical

La majorité des calculs qui ne s'éliminent pas spontanément peuvent être enlevés ou détruits grâce à des techniques mini-invasives

Techniques mini-invasives :

- Lithotritie extracorporelle
- Urétéroscopie (souple ou rigide, avec ou sans laser)
- Chirurgie percutanée

Traitement par phytothérapie

Le traitement phytothérapeutique fait recours à l'utilisation de plantes médicinales à intérêts diurétiques et anti lithiasiques. Plusieurs espèces végétales sont utilisées pour traiter la lithiase qui se diffère selon les pays et les traditions (Wichtl et Anton, 2003). Cette partie est amplement détaillée dans le chapitre 02 et représente l'objectif majeur de ce travail.

7.3. Prévention

Dans tous les types de calculs, les mesures de régime sont la base des traitements préventifs des calculs rénaux. Les principaux éléments recommandés sont :

- Hydratation : augmentation des apports en eau
- Régime alimentaire : réduction du sel, des aliments riches en oxalates et en calcium, sel)

CHAPITRE II : LITHIASE URINAIRE ET LA PHYTOTHÉRAPIE

1. La phytothérapie dans le traitement des calculs rénaux

Le mot "*Phytothérapie*" se compose étymologiquement de deux racines grecques : "phuton" et "therapeia" qui désignent respectivement "plante" ou "végétale" et "traitement" et qui veut dire « Soigner par les plantes » (IESV, 2015/2016).

La phytothérapie dans un but curatif ou préventif de la lithiase urinaire est largement utilisée sans pour autant connaître le rôle aggravant ou bénéfique des plantes.

Plusieurs espèces végétales sont utilisées pour traiter la lithiase qui se diffère selon les pays et les traditions (Wichtl et Anton, 2003).

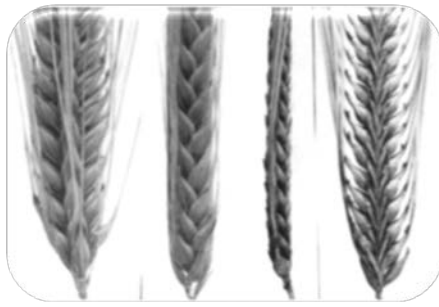
En Algérie, comme dans de nombreux pays moins développés, la phytothérapie est une méthode courante de soins de la santé primaires, car les produits pharmaceutiques sont chers et que la pharmacopée « populaire » offre des remèdes apparemment efficaces à de nombreuses maladies (Beghalia et al., 2008).

Selon la pharmacopée, une plante médicinale est définie comme une « drogue végétale » : Il s'agit de plantes contenant une ou plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou comme précurseurs dans la fabrication de drogues utiles (Chabrier, 2010). Et représentent une ressource riche en principes actifs. Pendant longtemps, les photochimistes, les biologistes et les pharmaciens ont été intéressés par l'étude de la composition en métabolites secondaires biologiquement actifs

L'activité anti lithiasique est l'une des activités biologiques des plantes, c'est pour cela un grand nombre d'espèces végétales décrites dans les pharmacopées de plusieurs pays sont utilisées comme remède pour la lithiase. Ces espèces ont fait l'objet de plusieurs recherches et publications scientifiques.

Donc la majorité des plantes médicinales ayant une activité anti lithiasique appartiennent aux phanérogames, en particulier aux Angiospermes. Grâce à leurs principes actifs, ces plantes peuvent dissoudre les calculs présents dans le corps humain. L'efficacité de ces substances a été démontrée dans diverses études scientifiques (Houhamdi et Chefrour, 2000).

Les principales plantes reconnues pour leurs propriétés anti lithiasiques présentées dans la figure ci-dessous.



• *Hordeum vulgare* الشعير

- L'utilisation de l'extrait aqueux des graines *in vitro* montre une très faible inhibition de la cristallisation de l'oxalate de calcium monohydraté en réduisant la taille (Djaroud et Harrache, 2013)



• *Opuntia ficus indica* التين الشوكي

- la décoction des fleurs ou la plante en poudre associée au miel, est utilisée contre les calculs rénaux (Ghourri et al., 2013). L'extrait aqueux des fleurs montre la dissolution complète des calculs urinaires de cystine (Meiouet et al., 2011)



• *Avena sativa* الشوفان

- La décoction des graines (20 g /l d'eau) montre que la plante assure la dissolution des calculs urinaire (Beloued, 1998 ; Houhamdi et Chefrou, 2000)

Figure 3 : Les principales plantes reconnues pour leurs propriétés antilithiasiques

2. La plante étudiée *Astragalus armatus*

Le genre *Astragalus* est largement distribué dans les régions tempérées et arides du monde, notamment en Asie (avec environ 1500 espèces), en Amérique du Nord (500 espèces), en Amérique du Sud (150 espèces) et en Europe (120 espèces). Ce genre est également présent dans les montagnes d'Afrique (Benchadi et al., 2013). Plusieurs espèces d'*Astragalus* jouent un rôle essentiel en tant que ressources pour la production de plantes médicinales ou comme fourrage pour les animaux sauvages. Environ 90 espèces d'*Astragalus* ont été signalées pour leur capacité à établir des nodules, bien que peu de travaux taxonomiques aient été réalisés sur les micro symbiotes associés à ces espèces (Wei et al., 2003).

Les espèces du genre *Astragalus* sont appréciées dans la médecine traditionnelle à travers le monde, et utilisées comme herbes médicinales contre les ulcères d'estomac, la toux, la bronchite chronique, l'hypertension, les maladies gynécologiques troubles, diabète et morsures venimeuses du scorpion. Certaines plantes du même genre ont été rapporté comme ayant des activités immunostimulantes, cardiovasculaires et antivirales (Benchadi et al., 2013).

L'espèce sélectionné est : *Astragalus armatus*

La plante d'*Astragalus armatus*, connu localement en Algérie sous le nom de Keddad, est une plante sauvage appartenant à la famille des Fabaceae (légumineuses). Elle est répandue dans les régions arides et semi-arides, notamment dans les Hauts Plateaux et le désert algérien. Cette plante se distingue par sa grande capacité à résister à la sécheresse et constitue une espèce fourragère importante dans certaines zones.



Figure 4 : Photographies originales de *Astragalus armatus*

2.1. Description botanique

Astragalus Armatus est un petit buisson épineux. Les feuilles sont paripennées, terminées par une épine ; le rachis persiste en devenant une longue épine. Les fleurs sont blanches et violettes, le calice devient renflé après la floraison. Cet Astragale se rencontre dans les régions prédésertiques du Sahara septentrional (Ozenda, 2004).

2.2. Classification d'*Astragalus armatus*:

Règne : Plante (plantae)

Nom Arab/Berberie : Gdad, goundal, chouk ed derban

Genre : *Astragalus* (Labeled ,2016)

Espèce : *Armatus*

Sous espèce : *Astragalus armatus ssp.numidicus*

Synonyme : *Acanthyllis armata* Pomel

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Dialypétales

Ordre : Fabales

Famille : Fabacées

Sous famille : Papilionacées

Tribu : Galegée

2.3. Les composants biologiquement actifs des espèces d'*Astragalus*

Sont la saponine, les composés phénoliques et les polysaccharides. Composés toxiques, tandis que les composants toxiques sont constitués de nitrotoxines, d'alcaloïdes, d'imidazoline et de sélénium dérivés (Benchadi et al., 2013)

2.4. Intérêt médicinal de la plante

A Ghardaïa, l'écorce et les graines d'*Astragalus armatus* sont fréquemment utilisés pour le traitement de différents types de blessures, la douleur la fièvre et la constipation. Les parties aériennes fraîches broyées d'*Astragalus armatus* sont utilisées pour traiter les morsures de serpents et de scorpions dans le sud du Maroc (application locale) (Labeled,2016). La préparation d'*Astragalus* a été approuvée en cas de collapsus cardiovasculaire et de maladie hypotonique. Il a un effet anti-inflammatoire et diurétique général et peut être utilisé pour le traitement des troubles vasculaires rénaux. L'utilisation d'*Astragalus* dans les lésions du foie chez les patients atteints de tuberculose pulmonaire a été proposée. Elle a des propriétés médicinales dues à la présence de glycosides et de flavonoïdes (Lysiuk et al., 2016).

Tableau 4 : utilisations thérapeutiques de *Astragalus armatus*, avec les activités pharmacologiques, les composés responsables

Propriété thérapeutique	Effets observés	Composés actifs	Références
Antioxydants	Neutralise les radicaux libres, protège les cellules du stress oxydatif	Flavonoïdes, composés phénoliques	Bouaziz et al., 2017
Antimicrobienne	Inhibe la croissance de bactéries et champignons pathogènes	Saponines, flavonoïdes	Mokhtari et al., 2015
Anti-inflammatoire	Réduction des réactions inflammatoires	Polyphénols	Lysiuk & Darmohray, 2016
Immunostimulant	Renforce la réponse immunitaire	Saponines, polysaccharides	Lysiuk & Darmohray, 2016
Antidiabétique (usage traditionnel)	Utilisé pour réguler la glycémie (preuves cliniques limitées)	Non spécifiés	Usages traditionnels rapportés par Mokhtari et al., 2015

CHAPITRE III : MATÉRIELS et MÉTHODES

1. Matériel végétale

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de la partie enterrée d'*Astragalus Armatus*. Les racines de *A. Armatus* ont été récoltées le 24 février 2025 de la région de *El kheneg*-Laghouat. La récolte de la plante a été effectuée très soigneusement de manière à ne pas détériorer les éléments organiques et minéraux présents.

2. Réactifs et produits chimiques

Les réactifs et les produits chimique utilisés sont : carbonate de sodium (Na_2CO_3), trichlorure d'aluminium (AlCl_3), Folin-Ciocalteu, méthanol ; chlorure de calcium (CaCl_2) ; oxalate de sodium ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$), chlorure de sodium (NaCl), potassium dihydrogène phosphate (KH_2PO_4), chlorure de magnésium, chlorure d'ammonium, hydroxyde d'ammonium.

3. Préparation des extraits végétales

3.1. Préparation de la poudre végétale

Après récupération de la plante, les racines ont été bien nettoyées. Le séchage a été effectué naturellement à l'abri de la lumière et de l'humidité, à une température ambiante (environ 24°C), sur du papier durant 15 jours, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules. Le matériel végétal a été broyé dans un broyeur électrique en une poudre très fine, pour augmenter la surface d'échange entre le solide et le solvant et faciliter l'extraction. Par la suite la poudre a été conservée dans un flacon à l'abri de la lumière.



Figure 5: Photographies originales de racine de plant (à gauche) préparation de la poudre (à droite)

3.2. Préparation d'extrait aqueux par décoction

La décoction est une méthode d'extraction utilisée principalement en phytothérapie (médecine par les plantes) et en cuisine, consistant à faire bouillir des substances végétales dans de l'eau pour en extraire les principes actifs (Lagnika, 2005).

L'extrait aqueux a été préparé par décoction en faisant bouillir 10 g de plante sèche (racines) dans 200 mL d'eau distillée pour une durée de 10 min. On laisse refroidir à température ambiante pendant 15 min, ensuite l'extrait aqueux a été filtré sur papier filtre. Le filtrat est évaporé à 40°C dans l'étuve pendant toute la nuit.

3.3. Préparation de l'extrait méthanolique par Macération

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante (Lagnika, 2005).

Donc Une masse de 10g de poudre de la plante (racine) séchée a été dissous dans 200 ml du méthanol. La solution obtenue a suivi d'une macération pendant 24 heures, le mélange hétérogène a été filtré sur papier filtré. Le filtrat obtenu évaporé à 50°C pour éliminer le méthanol.

3.4. Détermination du rendement (R%)

Le rendement d'extraction a été calculé par la formule ci-dessous donnée (Mahmoudi et al., 2012)

$$R (\%) = (M1-M0 / M) \times 100$$

Avec :

R (%) : Rendement en %.

M0 : Masse du bécher vide (g).

M1 : Masse du bécher après évaporation(g).

M : Masse de matière sèche (g)

4. Dosages des polyphénols et flavonoïdes

4.1. Dosages des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques est déterminée selon la méthode décrite par (Sifi, et al. 2024). Un volume de 100 µL de l'extrait est mélangée avec 500 µL de réactif de Folin-Ciocalteu diluée 10 fois. Le mélange est incubé pendant 2 min à température ambiante, puis 2mL de carbonate de sodium Na₂CO₃ (7.5%) a été ajouté. Le mélange a été incubé pendant 30 min à température ambiante. L'absorbance est lue à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. La teneur en composés phénoliques de chaque extrait a été calculée à partir une courbe d'étalonnage de l'acide gallique et exprimée en milligrammes par gramme de la matière sèche équivalent en acide gallique (mg/g EAG).

4.2. Dosages des flavonoïdes totaux

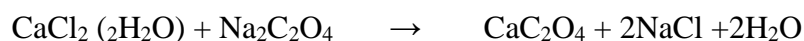
La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode citer par Djeridane et al., (2006). Un millilitre d'extrait est mélangé avec 1 mL de Trichlorure d'aluminium (AlCl₃ 2%), après 30 min d'incubation à la température ambiante, l'absorbance est mesurée à 430 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. La quercétine a été utilisée comme étalon pour tracer la courbe d'étalonnage. La teneur en flavonoïdes de chaque extrait a été exprimée en mg/g d'équivalent quercétine (QE) par poids sec (PS).

5. Evaluation de l'activité anti lithiasique

Dans notre travail, on s'intéresse à évaluer le pouvoir inhibiteur de l'extrait aqueux de partie inférieure de l'*A. Armatus* sur la cristallisation oxalo-calcique in vitro, en reposant sur le principe de turbidimétrie, suivi par une étude microscopique.

Cristallisation de l'oxalate de calcium

L'oxalate de calcium (CaC₂O₄) est un cristal ionique insoluble dans l'eau. Il est le principal composant des calculs urinaires. La cristallisation ou la formation des calculs d'oxalate de calcium se fait par précipitation selon l'équation suivante :



5.1. Étude de la cinétique de cristallisation de l'oxalate de calcium par la méthode turbidimétrique

La turbidimétrie est une méthode optique permettant de suivre la formation de particules en suspension dans une solution, en mesurant l'absorbance de celle-ci. Dans le cas de la cristallisation oxalo-calcique, elle permet de surveiller en temps réel la cinétique de formation des cristaux d'oxalate de calcium (CaC_2O_4), un composé peu soluble à l'origine des calculs urinaires.

Cette méthode repose sur le principe que la formation de cristaux augmente la turbidité de la solution, ce qui se traduit par une augmentation de l'absorbance mesurée par un spectrophotomètre UV-visible (Abdelmale., 2001).

La courbe obtenue lors d'une mesure turbidimétrique se divise généralement en trois phases :

1. **Nucléation** : apparition des premiers germes cristallins, caractérisée par une faible augmentation de l'absorbance.
2. **Croissance cristalline** : multiplication des cristaux, illustrée par une montée rapide de la courbe (pente marquée).
3. **Agrégation** : regroupement des cristaux formés, avec une stabilisation ou diminution de la pente. (Hammouali et al., 2022)

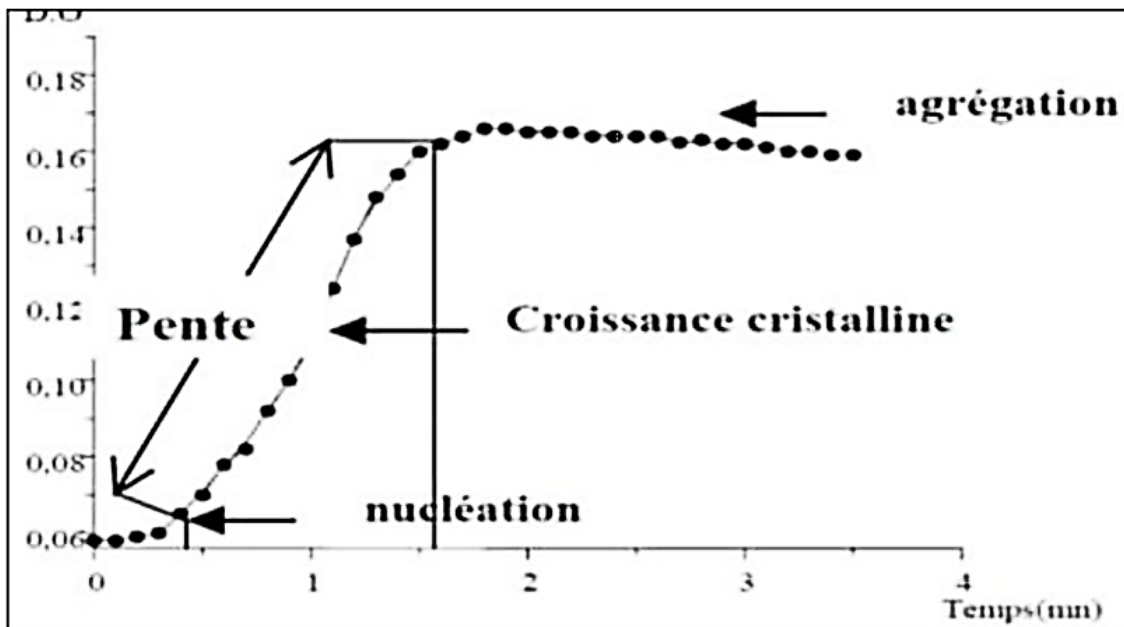


Figure 6 : Courbe turbidimétrie de la cristallisation oxalo-calcique

L'étude de turbidimétrie a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre, visible (voir la photo ci-dessous). Cet appareil mesure la variation d'absorbance au cours du temps.

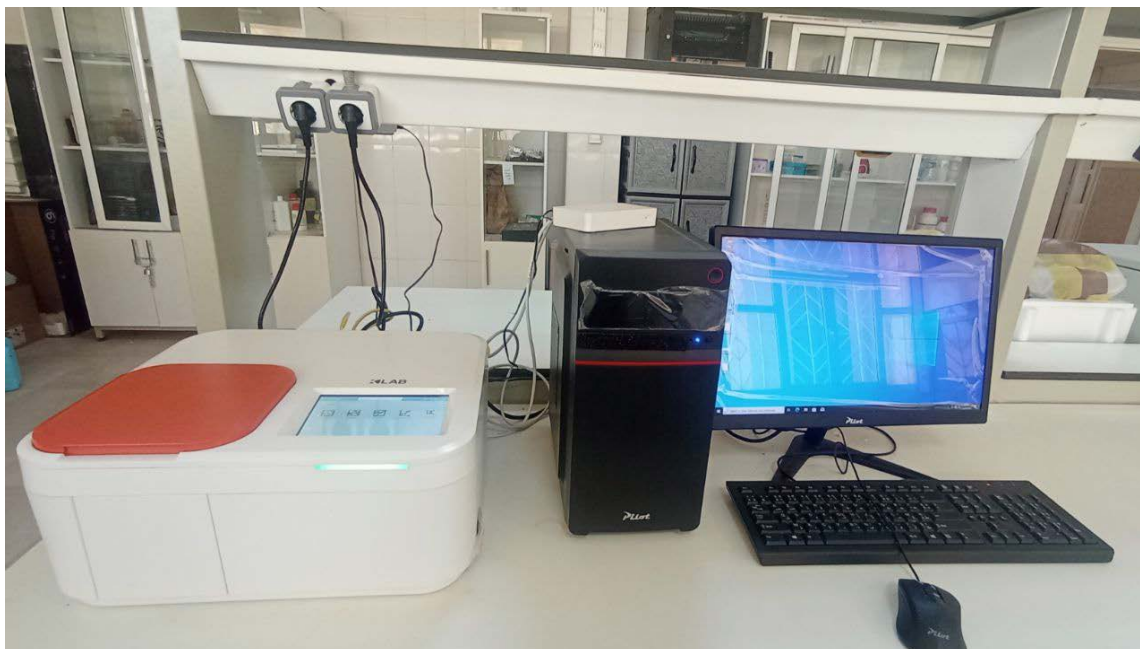


Figure 7 : Photo de Spectrophotomètre UV-visible utilisé pour la lecture de l'absorbance

a) Etude de la cristallisation oxalo-calcique par méthode turbidimétrique avec et sans inhibiteurs

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

➤ ***Cinétique de la cristallisation d'oxalate de calcium en absence des extraits de la plante***

Un volume de 1 ml de CaCl_2 est placé dans une cuve, placé dans un spectrophotomètre et tarer au zéro, aussi tôt 1 ml de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ est versé rapidement sur la solution de CaCl_2 .

La mesure de l'absorbance est déclenchée immédiatement chaque 6s pendant 10 min à 620 nm (Abdelmalek,2001).

➤ *Cinétique de la cristallisation d'oxalate de calcium en présence d'extrait (inhibiteur)*

L'évolution de la cristallisation oxalo-calcique en présence de l'extrait aqueux de l'*A. armatus* est la même que celle utilisée en absence d'inhibiteur. On ajoute 1 ml de la solution inhibitrice d'extrait aqueux à différentes concentrations (1, 0.5, 0.2, 0.1 0.05 mg/ml) à 1 ml de CaCl₂ (20 mM).

Tarer le spectrophotomètre au zéro et un volume de 1 ml de Na₂C₂O₄ (2 mM) est versé rapidement.

La mesure de l'absorbance est déclenchée immédiatement chaque 6s pendant 10 min à 620 nm (Abdelmalek, 2001). La manipulation se fait contre un inhibiteur de référence est l'acide citrique avec les concentrations (0.5 mg/ml et 1 mg/ml).

➤ *Cinétique de la cristallisation d'oxalate de calcium en présence d'acide citrique (Control positif)*

Un mL de solution de chlorure de calcium mélangée avec 1 mL d'acide citrique 6 mM. La cristallisation a été démarrée en ajoutant 1 ml de solution d'oxalate de sodium. La densité optique de la solution a été mesurée à 620 nm (Addou et al., 2001).

➤ *Le pourcentage d'inhibition (PI) :*

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

$$PI \% = [1 - (PAI / PSI)] \times 100$$

PSI : pente turbidimétrique en absence d'inhibiteur

PAI : pente turbidimétrique en présence d'inhibiteur

5.2. Etude de la cristallisation par microscope optique

a) Suivi microscopique de la cristallisation de l'oxalate de calcium

La formation et l'agrégation des cristaux d'oxalate de calcium sont induites par la préparation d'une urine synthétique à partir de solutions aqueuses de KCl (0,2 M), de CaCl_2 (0,1 M) et d'oxalate de sodium (0,1 M). La procédure est la suivante :

Dans un erlenmeyer de 100 ml, on introduit 75 ml de solution de KCl, 15 ml de tampon phosphate (pH = 6,0) et 1,5 ml de solution de CaCl_2 . Le mélange est agité magnétiquement à 150 tours par minute. Ensuite, 5 ml d'eau distillée sont ajoutés pour l'essai sans inhibiteur. Puis, 1,5 ml de solution d'oxalate de sodium est incorporé. Le volume final est ajusté à 100 ml à l'aide de la solution de KCl.



Figure 8 : Photo de microscope utilisé pour la lecture

➤ *La cristallisation en absence d'inhibiteur :*

Après la préparation de l'urine synthétique, celle-ci est maintenue sous agitation magnétique continue, à une température de 37 °C, Au cours de l'expérience, une petite quantité de la suspension (une goutte) est prélevée à intervalles réguliers à l'aide d'une pipette Pasteur, puis déposée entre une cellule de Malassez et une lamelle.

L'échantillon est ensuite observé au microscope optique avec un objectif $\times 40$ afin de :

- Compter le nombre de cristaux d'oxalate de calcium formés.
- Identifier et quantifier les agrégats (groupements de plusieurs cristaux).

Ces observations sont réalisées toutes les 10 minutes pendant 55 minutes, ce qui permet d'étudier la cinétique de formation des cristaux, c'est-à-dire l'évolution de leur nombre et de leur regroupement dans le temps.

➤ ***La cristallisation en présence d'inhibiteur (extrait) :***

Nous allons observer le développement des cristaux d'oxalate de calcium dans la solution aqueuse en présence de l'extrait aqueux de racine avec ces concentrations (1 mg/ml, 0.5 mg/ml, 0.2 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.05 mg/ml). Le volume d'eau distillée (5 ml) est remplacé par 5 ml de l'extrait aqueux à différentes concentrations. De la même façon précédente on suit la cinétique de cristallisation pendant 55 minutes (Aouina & Bounouiga, 2019)

➤ ***Le taux d'agrégation :***

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

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

b) Suivi microscopique de la cristallisation de phosphate ammoniaco-magnésien (la struvite) in vitro :

Le protocole de cristallisation in vitro utilisé dans cette étude est une adaptation de celui décrit par Kaloustian et al.(2018), avec quelques modifications mineures.

La solution A est préparée à partir de phosphate monopotassique (KH_2PO_4) à 0,1 M. La solution B est constituée de 41 g de chlorure de magnésium, 50 g de chlorure d'ammonium, 20 mL d'hydroxyde d'ammonium, le tout complété à 50 mL avec de l'eau bi-distillée, puis dilué au dixième (dilution 1/10). Pour chaque essai, 1 mL de la solution A est distribué dans des tubes en verre, puis 62,5 μL d'extrait de plante, à différentes concentrations, sont ajoutés afin d'obtenir des concentrations finales variant de 0,0625 à 1 mg/mL. Les tubes témoins reçoivent 62,5 μL d'eau distillée au lieu de l'extrait. Ensuite, 1 mL de la solution B est ajouté à chaque tube, et l'ensemble est incubé à 37 °C pendant 30 minutes. À la fin de l'incubation, les cristaux formés dans chaque tube sont analysés au microscope photonique afin d'évaluer l'effet de l'extrait sur la cristallisation.

CHAPITRE IV : RÉSULTATS et DISCUSSION

1. Résultat du rendement d'extraction

Dans cette étude, le rendement de l'extrait sec, obtenu après évaporation, a été déterminé par rapport à 10g de la matière végétale. Les résultats de cette manipulation sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Rendement d'extraction pour les deux méthodes d'extraction à partir des racine *A. armatus*

Organe	Méthodes d'extraction	Rendements (%)
Racine	Par décoction	14 %
	Par macération	9 %

Il ressort à travers l'observation des rendements d'extraction que l'extraction par décoction donne le meilleur rendement soit un pourcentage de 14%, alors que l'extraction par macération donne le rendement 9 %.

Donc Il est essentiel de souligner que la méthode d'extraction employée (notamment le choix des solvants), ainsi que les conditions dans lesquelles cette extraction est réalisée (à chaud ou à froid), influencent de manière significative la quantité totale de métabolites secondaires. En conséquence, ces facteurs impactent les activités biologiques associées à ces métabolites (Lee et al., 2003).

2. Résultats du dosage des polyphénols et flavonoïdes

Un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué afin de caractériser la teneur des extraits aqueux et méthanolique préparés à partir des racines d'*A. armatus*. Les résultats sont représentés dans l'histogramme suivant (figure 9).

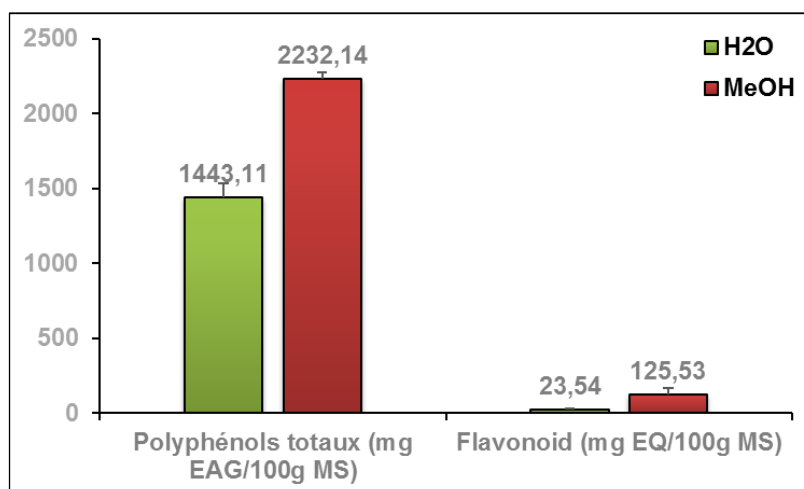


Figure 9 : La teneur en polyphénols, et flavonoïdes (g/Eq Standard/mg) dans l'extrait aqueux et méthanolique

Les résultats obtenus révèlent la présence de polyphénols totaux et de flavonoïdes dans les extraits analysés, avec une variabilité notable des teneurs en fonction du type d'extrait. En effet, la teneur en polyphénols est plus élevée dans l'extrait méthanolique (2232,14mg EAG/100g MS \pm 45,03) tandis qu'elle est faible dans l'extrait aqueux (1443,11 mg EAG/100g MS \pm 93,69).

En revanche, les flavonoïdes présentent une teneur relativement faible dans l'extrait méthanolique (23,54mg EQ/100g \pm 4,76), et une teneur encore plus faible dans l'extrait aqueux (125,53mg EQ/100g \pm 41,15).

Les résultats obtenus montrent clairement que l'extrait méthanolique contient une quantité significativement plus élevée de polyphénols totaux par rapport à l'extrait aqueux. Cette différence pourrait être attribuée à la meilleure capacité du méthanol à extraire les composés phénoliques, en particulier ceux moins solubles dans l'eau. Ainsi, le choix du solvant d'extraction joue un rôle crucial dans la récupération optimale des composés bioactifs d'intérêt.

3. Résultat du pouvoir anti-lithiasique

Plusieurs études expérimentales in vitro ont démontré l'effet des plantes médicinales sur la lithiase urinaire. La plante *A. armatus* est citée dans plusieurs études en Algérie mais aucune étude visant à confirmer ses propriétés anti lithiasiques. Pour cela on a testé l'effet de son extrait aqueux et méthanolique sur la cristallisation oxalo-calcique.

3.1. Suivre cinétique de la cristallisation oxalo-calcique par turbidimétrie

➤ *Test en absence d'inhibiteurs :*

Dans l'étude de cristallisation actuelle, on a choisi le modèle turbidimétrique qui a une Sensibilité et une fiabilité assez importante. Pour suivre la cinétique de la cristallisation et calculer le pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux et méthanolique des racines d'*A. armatus*.

La courbe (figure 10) présente la croissance des cristaux in vitro a été effectuée en l'absence de tout inhibiteur (contrôle négatif), et la turbidité s'est formée immédiatement après le mélange des produits chimiques.

Donc La courbe peut être divisée en trois parties :

- ✓ La première partie correspond à la phase de nucléation, n'apparaît pas, puisque cette étape est caractérisée par un temps de latence durant lequel l'absorbance est pratiquement nulle.
- ✓ La deuxième partie correspond à la croissance cristalline, caractérisée par un paramètre cinétique qui est la pente turbidimétrie.
- ✓ La troisième partie représente l'agrégation cristalline.

Les données recueillies ont servi de référence pour comparer la croissance des cristaux en présence des extraits de racines.

Figure 10 : Évolution de la turbidimétrie en absence d'inhibiteur

➤ **Test avec inhibiteurs (Acide citrique) control positif :**

L'activité anti lithiasique in vitro des extraits a été évaluée à l'aide de la méthode de turbidité, qui consiste à mesurer l'inhibition de la formation d'oxalate de calcium. Dans cette méthode, l'inhibition a été quantifiée en termes de turbidité à l'aide d'un spectrophotomètre.

Donc plus la turbidité est faible, plus l'inhibition est importante, ce qui se traduit par une absorbance réduite dans le spectrophotomètre.

L'inhibition de la formation d'oxalate de calcium en présence des extraits a été comparée à un contrôle positif, à savoir l'acide citrique.

Figure 11 : Cinétique de l'effet de l'acide citrique de 0.5 et 1 mg/ml. Sur la cristallisation oxalo-calcique

➤ **Test avec inhibiteurs :**

Extrait aqueux

L'essai permet de mettre en évidence l'effet de l'extrait aqueux de *A. armatus* à différentes concentrations (1, 0.5, 0.2, 0.1 et 0.05 mg/ml) sur la cristallisation oxalo-calcique par rapport à l'inhibiteur de référence l'acide citrique 0.5, 1 mg/ml. Les résultats obtenus sont présentés dans la (figure 12)

Figure 12 : Cinétique de l'effet de l'extrait aqueux sur la cristallisation oxalo-calcique à différentes concentrations

Les courbes présentées dans la figure montrent que l'absorbance diminue progressivement à mesure que la concentration de l'extrait augmente. On constate également que les valeurs des pentes diminuent avec l'augmentation de la concentration de l'inhibiteur.

En comparaison, nos résultats montrent que l'extrait aqueux des racines atteint un pourcentage d'inhibition maximal de 86,53 % à la concentration de 1 mg/ml, tandis que l'acide citrique présente un pourcentage d'inhibition de 92,75 % à la même concentration. Ces résultats permettent de conclure que notre extrait possède une forte activité inhibitrice sur la cristallisation de l'oxalate de calcium, ce qui témoigne de son effet anti lithiasique.

Ainsi, les résultats de l'analyse de nucléation ont confirmé que l'extrait contient des agents capables d'empêcher la formation des cristaux.

Extrait méthanolique

L'essai permet de mettre en évidence l'effet de l'extrait méthanolique de racine à différentes concentrations (1 mg/ml, 0.5 mg/ml, 0.2 mg/ml, 0.1 mg/ml) sur la cristallisation oxalo-calcique par rapport à l'inhibiteur de référence l'acide citrique 1 mg/ml. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 13.

Figure 13 : Cinétique de l'effet de l'extrait méthanolique sur la cristallisation oxalo-calcique à différentes concentrations

En comparaison, les résultats montrent que l'extrait méthanolique des racines atteint un pourcentage d'inhibition maximal de 79,71 % à la concentration de 1 mg/ml, tandis que l'acide citrique affiche un pourcentage d'inhibition de 92,75 % à la même concentration.

Ces résultats permettent de conclure que l'extrait méthanolique possède une activité inhibitrice élevée sur la cristallisation de l'oxalate de calcium, ce qui témoigne de son effet anti lithiasique (figure 13).

Figure 14 : Pourcentage d'inhibition d'extrait aqueux et méthanolique de racine à la différente concentration en face de l'acide citrique

Les résultats montrent une différence entre l'extrait aqueux et l'acide citrique. En analysant ces résultats, on déduit que l'activité anti-lithiasique est dépendante de la concentration de l'extrait, plus la concentration est élevée plus le pourcentage d'inhibition augmente. Ce dernier est inversement proportionnel à la pente de la courbe turbidimétrique.

Après exploration de ses résultats au niveau de l'extrait aqueux et méthanolique des

racines de plant on constate que l'extrait aqueux présent le pourcentage d'inhibition le plus élevé par rapport à l'extrait méthanolique.

3.2. Suivi de la cristallisation de l'oxalate de calcium par microscopie

Nous avons appliqué une méthode simple de suivi de la cinétique de cristallisation de l'oxalate de calcium par microscopie optique en l'absence et en présence de l'extrait aqueux et méthanolique.

➤ *Cristallisation en absence d'inhibiteurs*

En l'absence d'inhibiteur, selon les résultats obtenus, une augmentation progressive du nombre de cristaux d'oxalate de calcium a été observée jusqu'à atteindre une valeur maximale de 5340 à 60 minutes.

➤ *Cristallisation en présence d'extrait aqueux*

L'évaluation de l'effet anti-lithiasique de l'extrait aqueux à deux concentrations (1 mg/ml et 0,5 mg/ml) a été réalisée à travers le suivi de la cristallisation oxalo-calcique en mesurant la turbidité (C-SI) et (C-AI) à différents temps d'incubation.

Les résultats montrent une inhibition notable de la croissance des cristaux dans les deux concentrations testées, avec des variations selon le temps (figure 15).

Figure 15 : Evolution du taux d'agrégation et du pourcentage d'inhibition d'extrait aqueux

Cela confirme un effet temps-dépendant dans la capacité de l'extrait à limiter l'agrégation cristalline. Cela indique que l'extrait aqueux inhibe efficacement la croissance des cristaux, même à faible concentration

Dans l'ensemble, ces résultats mettent en évidence le potentiel anti-lithiasique de l'extrait aqueux, principalement par inhibition de la croissance cristalline avec aux temps d'Incubation prolongés. Cette activité pourrait être liée à la présence de composés hydrosolubles tels que les polyphénols, capables d'interagir avec les surfaces cristallines

Figure 16 : Evolution du taux d'agrégation et du pourcentage d'inhibition d'extrait aqueux

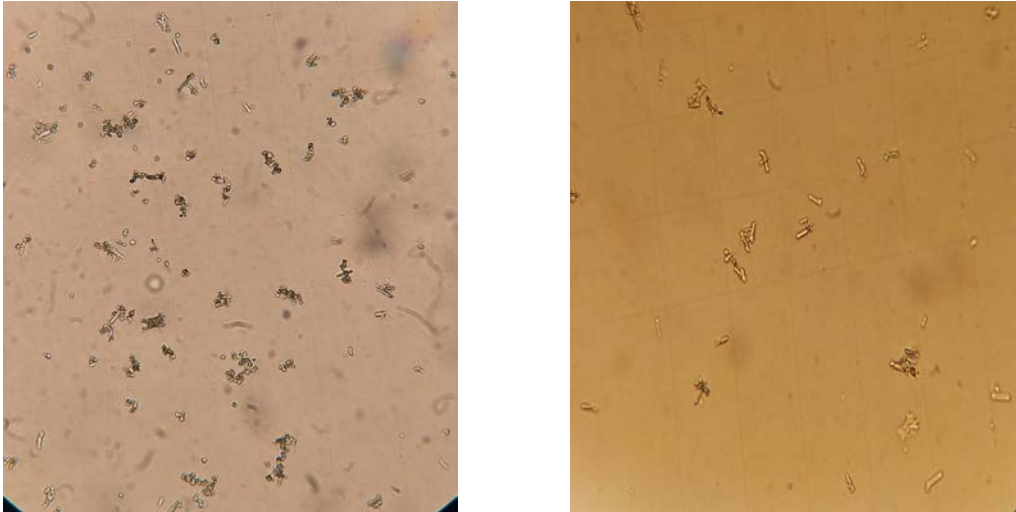


Figure 17 : La cristallisation de l'oxalate de calcium en absence d'inhibiteurs (à gauche) et en présence d'inhibiteurs (à droite)

➤ *Cristallisation en présence d'extrait méthanolique*

L'évaluation de l'effet anti-lithiasique de l'extrait méthanolique à deux concentrations (1mg/ml et 0,5 mg/ml) a été réalisée à travers le suivi de la cristallisation oxalo-calcique en mesurant la turbidité (C-SI) et (C-AI) à différents temps d'incubation. Les résultats montrent une moindre inhibition de la croissance cristalline aux deux concentrations testées, avec des différences dépendantes du temps.

Figure 18 : Evolution du taux d'agrégation et du pourcentage d'inhibition d'extrait méthanolique

Figure 19 : Evolution du taux d'agrégation et du pourcentage d'inhibition d'extrait méthanolique

Enfin l'extrait aqueux de la plante *Astragalus* montre une activité inhibitrice significative contre la formation des cristaux, surtout à haute concentration (1 mg/ml) et après une exposition prolongée. Ces résultats suggèrent que cet extrait pourrait avoir un potentiel thérapeutique en tant qu'agent naturel anti-lithiasique, aidant à prévenir ou à réduire la formation de cristaux rénaux.

3.3. Suivi de la cristallisation de phosphate ammoniaco-magnésien par microscopie

La figure montre l'effet de l'extrait d'*Astragalus armatus* sur le nombre et la taille des cristaux de struvite in vitro. Nous avons observé une diminution du nombre et de la taille maximale des cristaux avec l'ajout de l'extrait. Les cristaux de struvite sont gros et cristallins.

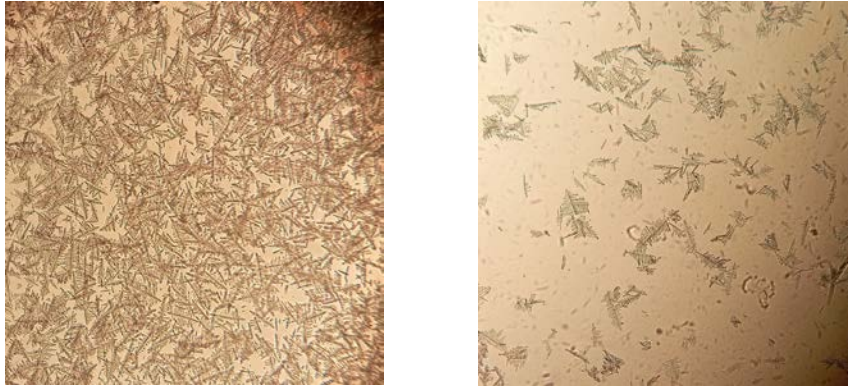


Figure 20 : Effet de l'extrait de racine de *A. armatus* sur les cristaux de struvite. (à gauche : cristaux formés en absence de l'extrait aqueux, à droite : cristaux formés en présence de l'extrait aqueux)

Les résultats de notre étude utilisant l'extrait aqueux d'*Astragalus armatus* sur le modèle de cristallisation de phosphate ammoniaco-magnésien ont montré une activité anti lithiasique notable, caractérisée par une diminution de la taille des cristaux et de leur nombre, traduisant une fragmentation cristalline.

Ces résultats concordent avec ceux rapportés par Sadki et Atmani (2017), qui ont étudié l'effet de l'extrait aqueux d'*Erica multiflora* L. sur le même modèle, observant un effet similaire. Cette convergence suggère l'existence d'un mécanisme inhibiteur commun, probablement lié à la richesse des deux plantes en composés phénoliques et flavonoïdes.

Une telle similitude, en dépit de la différence botanique, renforce la fiabilité du modèle expérimental adopté et encourage l'exploration de nouvelles espèces végétales à potentiel thérapeutique comparable.

CONCLUSION

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales occupent une place importante dans la prévention et le traitement des calculs rénaux, grâce à leurs propriétés diurétiques, anti-inflammatoires et antioxydantes. Cette étude a démontré l'effet inhibiteur d'extraits aqueux et méthanoliques de la partie souterraine d'*Astragalus armatus* sur la cristallisation de l'oxalate de calcium. Les résultats confirment l'intérêt thérapeutique de cette plante, notamment grâce à sa teneur en composés bioactifs tels que les polyphénols et les flavonoïdes.

Les résultats de la cinétique de cristallisation de l'oxalate de calcium et du phosphate ammoniaco-magnésien ont montré que l'extrait aqueux était plus efficace que l'extrait méthanolique, notamment pendant les longues périodes d'incubation. Ces résultats ont été confirmés par l'analyse microscopique et la mesure de la turbidité.

Cette plante représente une source intéressante de composés bioactifs, Il serait donc utile de réaliser des études in vivo pour confirmer cette activité et mieux comprendre son efficacité et sa sécurité dans des conditions proches de celles de l'organisme humain.

Références bibliographiques

1. Abdelmalek, F. (2001). Étude par turbidimétrie de la cristallisation oxalo-calcique en présence de quelques inhibiteurs. *Physico-Chimie News*, 9, 96–107.
2. Abdelmalek, F., Harrache, D., Addou, A., Taleb, S., & Semmoud, A. (2001). Étude par turbidimétrie de la cristallisation oxalo-calcique en présence de quelques inhibiteurs. *Physico-Chimie News*, 4, 96–107.
3. Akowuah, G. A., Zhari, I., Norhayati, I., Sadikun, A., & Khamsah, S. M. (2004). Sinensetin, eupatorin, 3'-hydroxyl-5, 6, 7, 4'-tetramethoxyflavone and rosmarinic acid contents and antioxidant effect of *Orthosiphon stamineus* from Malaysia. *Food Chemistry*, 87, 559-566.
4. Alothman, M., Bhat, R., & Karim, A. A. (2009). Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 115, 785-788.
5. Aouina, A., & Bounouiga. (2019). Évaluation in vitro de l'activité anti-lithiasique de l'extrait aqueux de la partie aérienne de *Retama retam*. M'Sila: Université Mohamed Boudiaf M'Sila.
6. Anthony, O., Nada, E., Youssef, E., Paulette, B. M., Toufic, J. R., & Richard, G. M. (2010). Identification et caractérisation de composés phénoliques extraits du raisin Château Ksara. *Lebanese Science Journal*, 11(2), 119-122.
7. Aube, C., & Daudon, M. (2018). *Lithiase urinaire: Physiopathologie, diagnostic et traitement*. Paris: Lavoisier.
8. Benchadi, W., Haba, H., Lavaud, C., Harakat, D., & Benkhaled, M. (2013). Secondary metabolites of *Astragalus cruciatus* Link. and their chemotaxonomic significance. *Rec. Nat. Prod.*, 7(2), 105-113.
9. Beghalia, M., Ghalem, S., Allali, H., Belouatek, A., & Marouf, A. (2008). Inhibition of calcium oxalate monohydrate crystal growth using Algerian medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2(3), 066-070.
10. Borsato, M. L. C., & Souza, G. E. P. (2000). Analgesic activity of the lignans from *Lychnophora ericoides*. *Phytochemistry*.
11. Bouaziz, M., et al. (2017). Phytochemical analysis and antioxidant activities of *Astragalus armatus* (Fabaceae). *Journal of Medicinal Plants Research*, 11(30), 475-483.
12. Bouhadoun, A., & Boumrar, N. (2018). Identification des différents types de calculs urinaires par spectrophotométrie infra-rouge dans le cadre de l'exploration de la lithiase urinaire.
13. Chabrier, J. Y. (2010). *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie*. Pharmacie: Université Henri Poincaré - Nancy 1: Nancy.

14. Cochât, P., Bacchetta, J., Sabot, J. F., Bertholet-Thomas, A., & Demède, D. (2012). Lithiase urinaire de l'enfant. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, 25(5), 255-268. <https://doi.org/10.1016/j.jpp.2012.07.008>
15. Daudon, M., Traxer, O., Lechevallier, E., & Saussine, C. (2008). La lithogénèse. *Progrès en Urologie*, 18(12), 815-827.
16. Dalibon, P. (2015). La lithiase urinaire, une affection sous surveillance. *Actualités Pharmaceutiques*, 54(542), 23–29.
17. De Felice, M. S. (2004). Prickly pear cactus, *Opuntia spp*: A spine-tingling tale. *Weed Technology*, 18, 869-877.
18. Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Food Chemistry*, 97(4), 654-660.
19. Estrade, V., Daudon, M., Traxer, O., & Méria, P. (2017). Pourquoi l'urologue doit savoir reconnaître un calcul et comment faire? *Progrès en Urologie – FMC*, 27, F26–F35.
20. Elsan. (2023, September 11). Calculs rénaux. Vérifié par Dr. Jacques Philippe LARGERON, Clinique Bon Secours. <https://www.elsan.care/fr/pathologie-et-traitement/maladies-urinaires/calculs-renaux>
21. Ferguson, L. R., Chavan, R. R., & Harris, P. J. (2001). Changing concepts of dietary fiber: Implication for carcinogenesis. *Nutrition and Cancer*, 39(2), 155-169.
22. Ghourri, M., Zidane, L., & Douira, A. (2013). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement de la lithiase rénale dans la province de Tan-Tan (Maroc saharien). *International Journal of Biological and Chemical Science*, 7(4), 1688-1700.
23. Georgé, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M. J. (2005). Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1370-1373.
24. Hammouali, S., Soussou, F. Z., & Ouali, O. (2022). Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antilithiasique de l'extrait aqueux des feuilles de *Capparis spinosa* L. [Mémoire de Master, Université Ahmed Draïa – Adrar].
25. Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1, 3-6.
26. Houhamdi, L., & Chefrou, A. (2000). Étude de la dissolution in vitro des calculs de l'appareil urinaire par la sanguinaire *Paronychia argentea* (Caryophyllacées), Département de Pharmacie – Université Annaba d'Alger, p. 8-24.
27. Huck, C. W., Huber, C. G., Ongania, K. H., Bonn, G. K., & Chromatogr, J. A. (2000). 870, 453-462.
28. IESV Institut Européen des Substances Végétales. (2015/2016). Les plantes médicinales.

29. Khouchlaa, A. (2017). Étude ethnopharmacologique, essais biochimiques de *Zizyphus lotus* L. sur la dissolution de deux types de calculs rénaux et identification des molécules actives. Thèse pour obtention de diplôme de doctorat en biochimie; pharmacologie; ethnopharmacologie. Université Mohammed, Faculté des Sciences, Rabat, Maroc.
30. Lagnika, L. (2005). Étude phytochimique et activité antipaludique de substances naturelles issues de plantes béninoises. Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur de Strasbourg/Université d'Abomey-Calavi, Bénin.
31. Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7292-7295.
32. Les Cliniques Marois Urologue. (2023). Urolithiase (Calculs rénaux). Les Cliniques Marois Urologue. <https://www.lescliniquemaroisurologue.ca/diagnostics/urolithiase-calculs-renaux>
33. Langewald, J., & Schmutterer, H. (1992). Effets du traitement à l'huile de neem sur la phase du criquet pèlerin. In C. J. Lomer & P. Prior (Eds.), *La lutte biologique contre les acridiens* (p. 143-145). CAB International, Wallingford.
34. Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2012). Étude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Revue « Nature & Technologie »*, B-Sciences Agronomiques et Biologiques, 9, 36.
35. Mayo Clinic Staff. (2023). Kidney stones. Mayo Clinic.
36. Meziani, A. (2014). Catalogue culture, céréales, profert, p. 09 PRAT S., 1971: Les céréales 2ème édition, J.B Baillière et fils, Paris, p. 9-23, 315.
37. Mompon, B., Lemaire, B., Mengal, P., & Surbled, M. (1998). Extraction des polyphénols: Du laboratoire à la production industrielle. Édition INRA, Paris, pp. 145-149.
38. Moral, L., Miralles, D., & Slafer, G. A. (2002). Initiation and appearance of vegetative and reproductive structures throughout barley development. In G. A. Slafer, J. L. Molina-Cano, R. Savin, J. L. Araus, & I. Romagosa (Eds.), *Barley Science: Recent Advances from Molecular Biology to Agronomy of Yield and Quality* (pp. 243–268). Haworth Press.
39. Nowakowska, Z. (2007). A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 42, 125-137.
40. Ozenda, P. (2004). *Flore et végétation du Sahara* (3rd ed.). CNR, pp. 279-298.
41. Piquemal, G. (2008). Les flavonoïdes (en ligne). http://www.detoursante.com/index.php?option=com_content&view=article&id=166&Itemid=15.
42. Ragaei, S., Abdel-Hal, E. S. M., & Noaman, K. (2006). Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. *Food Chemistry*, 98, 32-38.

43. Rice-Evans, C. A., & Packer, L. (1998). *Flavonoids in health and disease*. Marcel Dekker.
44. Sadki, C., & Atmani, F. (2017). Évaluation de l'effet antilithiasique, oxalo-calcique et phospho-ammoniac-magnésien d'extrait aqueux d'*Erica multiflora* L. *Progrès en Urologie*, 27(11), 1058–1067. <https://doi.org/10.1016/j.purol.2017.09.011>
45. Sbahi, K. (2017). Étude épidémiologique, paramétrique et phytothérapeutique de la lithiase urinaire. Thèse pour obtention du doctorat en sciences. Mostaganem, Université Abdelhamid Ibn Badis, 189 p.
46. Sifi, I., Kadi, I.-E., & Eloff, J. (2024). Alpha-amylase inhibitory and antioxidant activity of red galls induced by *Forda riccobonii* in *Pistacia atlantica* Desf. leaves: In vitro and in silico studies. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 8(4), 6799-6806.
47. Tostivint, I., & Jungers, P. (2019). *Calculs rénaux: Les aliments à éviter... ou pas!* (Préface du Pr O. Traxer). Éditions Alpen. https://fondation-du-rein.org/wp-content/uploads/2019/11/livre_calculs_renaux.pdf
48. Urology Care Foundation. (2023). Kidney stone types. UrologyHealth.org. <https://www.urologyhealth.org/urologic-conditions/kidney-stones>
49. Vidal. (2024, January 2). Coliques néphrétiques (calculs rénaux). VIDAL. <https://www.vidal.fr/maladies/reins-voies-urinaires/coliques-nephretiques-calculs-renaux.html>
50. Walton, N. J., & Brown, D. E. (1999). *Chemicals from plants: Perspectives on plant secondary products*. World Scientific.
51. Wei, G. H., Tan, Z. Y., Zhu, M. E., Wang, E. T., Han, S. Z., & Chen, W. X. (2003). Characterization of rhizobia isolated from legume species within the genera *Astragalus* and *Lespedeza* grown in the Loess Plateau of China and description of *Rhizobium loessense* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(5), 1575-1583.
52. Wong, S. P., Leong, L. P., & Koh, J. H. W. (2006). Antioxidant activities of extracts of selected plants. *Food Chemistry*, 99, 775-783.
53. Wichtl, M., & Anton, R. (2003). *Plantes thérapeutiques: Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique* (2nd ed.). Tec & Doc, Éditions Médicales Internationales.
54. Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomas-Barberan, F. A., Datta, N., Singanusong, R., & Chen, S. S. (2004). Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Food for Human Nutrition*, 59, 113-122.