

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد بوقرة-بومرداس
Université M'hamed bougara de Boumerdes
كلية العلوم
Faculté Des sciences



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master En Biologie

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologique

Spécialité : Biologie des populations et des organismes

Thème

L'effet antilithiasique de l'extrait aqueux des racines de
silybum marianum (chardon Marie) (Baghlia-Boumerdes))

Réalisé par

Zerrouni chaima & Bouarab lilia

Membre de jury :

- | | | |
|--------------------------------------|-------------------|--------------|
| ➤ M ^{me} Yahyaoui Karima | Professeur (UMBB) | Présidente |
| ➤ M ^{me} Benhabyles Narimen | MCB (UMBB) | Examinatrice |
| ➤ M ^{me} Laoufi Razika | MCB (UMBB) | Promotrice |

Année universitaire 2020/2021



Remerciements

En préambule à ce mémoire nous remercions Allah qui nous a aidé et nous donné la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes Qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

Ces remerciement vont tout d'abord au corps professoral et administratif du Département de biologie, nous tenons à remercier sincèrement madame Benhabyles Narimen , adame Yahyaoui Karima ; les membres de jury et Madame Laoufi Razika se sont montrés à l'écoute et très disponible tout au long De la réalisation de ce mémoire, ainsi que pour l'inspiration, l'aide et le temps Qu'ils ont bien voulu nous consacrer. On n'oublié pas nos parents pour leur Contribution, leur soutien et leur patience.

Enfin, nous devons beaucoup à tous ceux qui nous ont aidés et qui de près ou de Loin ont participé à la réalisation de ce travail :

- Les personnes de laboratoire de faculté de science (UMBB)

➤ Mimouni sihem

➤ Feriel hateb

- Les personnes de laboratoire au CRD et surtout madame Hadaddi Samia.



Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à :
mon très chère père Ali : pour ses
encouragements son soutien, surtout pour son amour et son
sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.*

La lumière de mes yeux :

*Ma très chère mère , Karima
, qui m'a soutenu toujours par son
amour sa compréhension et son encouragement , qu'elle
trouve ici l'expression de ma vive reconnaissance*

A mes très chères sœurs : Amina

*A mes très chères frères : hamza , Aïman
tous les membres de la famille petits et grands
à mes meilleurs amis Siham , marwa , soumia , hiba
est ma chère binôme chaïma*

*l'ensemble des étudiants de la promotion M2 Bpo de l'année
2020/2021*

lilia

Dédicace

Au nom d'Allah le très Miséricordieux, le tout Miséricordieux, et avant de remercier quiconque, je voudrais avoir pitié de nos martyrs en Palestine qui nous ont laissés le jour de l'Aïd, donc leur aïd était au paradis, dieu nous a fait et eux dans le paradis.

Je dédie ce modeste travail à :

A la personne la plus chère dans mon cœur et qui ma entouré d'affections, et d'amour et de beaucoup de courage ma chère grand-mère.

J'adresse ma plus profonde gratitude et tout mon amour à ma très chère mère « Kamila » qui a su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances, qui n'a pas cessée de m'encourager durant tout mes années d'études, les mots ne suffiront pas et n'exprimeront pas tout ce que j'aimerais te dire, tu es la personne la plus chère du monde.

A mon cher père « Saïd » que j'aime beaucoup, qui été toujours à mes cotés, sans confiance, ta compréhension, ton soutien et surtout la bonne éducation que tu nous as donnée, je nous serais jamais ce que je suis aujourd'hui.

A mes chers frères : Mohamed, en particulier mon frère aîné Zaki que je considère comme mon deuxième père et mon ami proche.

A tous mes amis surtout ma chère binôme et ma sœur « Lília ».

A tous mes enseignants de pbo.

*En fin je dédie ce mémoire à tous mes collègues de la promotion
2020/2021*

Chaïma

Résumé

La lithiase urinaire est une pathologie fréquente dans tous les pays du monde. Elle se caractérise par la formation de concrétions cristallines qui se développe dans les voies urinaires. Le traitement de cette maladie par les plantes médicinales est une alternative au traitement par les moyens médicamenteux ou chirurgicaux coûteux et ayant des effets secondaires. Dans ce contexte, le Chardon Marie ou *Silybum marianum* une plante spontanée de la famille des Astéracées, connue par sa valeur estimable en thérapie, donc nous sommes intéressés à l'étude phytochimique de l'extrait de ces racines, de son pouvoir antilithiasique et antioxydant. Le screening phytochimique a révélé la richesse de la plante en molécules bioactives, notamment en glucosides, saponosides, mucilages. La teneur en polyphénols totaux a été déterminée, un taux très important des polyphénols dans l'extrait aqueux des racines de *Silybum marianum* de 361.35 mg EAG/g extrait sec, suivi d'un rendement d'extraction des polyphénols de 19.75% pour 4g de poudre végétale. L'évaluation de l'activité antiradicalaire par DPPH a prouvé que l'extrait des racines de chardon Marie est doté d'un potentiel antioxydant plus actif avec une IC_{50} de 2.64 μ g /ml par rapport au BHT (IC_{50} =3.37 μ g/ml). Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux a un effet antilithiasique, en particulier la cristallisation de l'oxalate de calcium dans l'urine. En fait, l'observation au microscope électronique à balayage a révélé que l'augmentation de la concentration en extrait a favorisé la réduction de la taille de cristaux. On déduit que l'extrait aqueux des racines de *silybum marianum* possède des propriétés antioxydante et antilithiasique significatives, mérite d'être valorisé par son intégration dans des applications thérapeutiques.

Mots clés : *Silybum marianum*, racine, polyphénols, activité antioxydante, activité antilithiasique

Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I. Plantes médicinales	
I.1.Généralité sur chardon Marie (<i>silybum marianum</i>)	3
I.1.1. Présentation du chardon Marie	3
I.1.2. Noms vernaculaires de la plante	3
I.1.3. Position systématique.....	4
I.1.4. Habitat est origine	4
I.1.5. Description morphologique	5
I.1.6. Constitution chimique de <i>silybum marianum</i>	7
I.1.7. Intérêt médicinaal et pharmaceutique du chardon marie	7
I.2.les polyphénols	9
I.2.1. Classification des phénoliques	9
I.2.1.1. Acides phénoliques	9
I.2.1.1.1 .Acides hydroxybenzoïques.....	9
I.2.1.1.2. Acides hydroxycinnamiques.....	10
I.2.1.2. Lignines	11
I.2.1.3. Lignanes	11
I.2.1.4. Flavonoïdes.....	12
I.2.1.5. Tanins	12
I.2.1.6. Stilbènes.....	12
I.2.1.7. Coumarines.....	13
I.2.2. Biosynthèse de polyphénols.....	13
I.2.2.1. Voie de l'acide shikimique.....	13
I.2.2.2. Voie de l'acétate /malonate	14
I.3.Lithiase urinaire	15
I.3.1. Définition	15
I.3.2 Epidémiologie.....	15
I.3.3. Lithogenèse urinaire	16
I.3.4. Etapes de lithogenèse.....	16
I.3.4.1. Cristallogénèse.....	16
I.3.4.1.1. Sursaturation des urines.....	16

I.3.4.1.2. Germination cristalline	17
I.3.4.1.3. Croissance cristalline.....	17
I.3.4.1.4. Agrégation cristalline.....	17
I.3.4.1.5. Agglomération cristalline.....	18
I.3.4.2. Calculgenèse	18
I.3.4.2.1. Rétection des particules cristallines	18
I.3.4.2.2. Croissance de calcul.....	18
I.3.5. Différents types de calculs	19
I.3.5.1. Calculs minéraux.....	19
I.3.5.1.1. Oxalate de calcium.....	19
I.3.5.1.2. Phosphate de calcium	20
I.3.5.1.3. Phosphate ammoniaco-magnésien ou struvite.....	21
I.3.5.2. Calculs organiques	21
I.3.5.2.1. Acide urique	21
I.3.5.2.2. Cystine	22
I.3.5.3. Calculs médicamenteux.....	22
I.3.6. Méthodes d'analyses des calculs urinaires	24
I.3.6.1. Méthodes chimique	24
I.3.6.2. Méthodes chromatographique.....	24
I.3.6.3. Méthodes cristallographique	24
I.3.6.4. Méthodes spectroscopiques (spectroscopie UV-Visible).....	25

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel	26
II.1.1. Matériel biologique	26
II.1.2. Matériel végétal.....	26
II.1.3. Matériel non biologique.....	26
II.2. Méthodes	26
II.2.1. Séchage, broyage et conservation	26
II.2.2. Screening phytochimique.....	28
II.2.3. Extraction des polyphénols	30
II.2.4. Dosage des polyphénols totaux	31

II.2.5. Test des activités biologiques	32
II.2.5.1. Activité antioxydante.....	32
II.2.5.1.1. Méthodes de piégeage du radical libre DPPH	32
II.2.5.2. Activité antilithiasique.....	33
II.2.5.2.1. Mode opératoire.....	33
II.2.5.2.2. Observation au MEB	34
II.2.6. Analyse statistique	34

Chapitre III: Résultats et discussion

III.1. Screening phytochimique.....	35
III .2 . Rendement	38
III. 3. Dosage des polyphénols.....	39
III.4. Evaluation de l'activité antioxydante.....	40
III.5. Evaluation de l'activité antilithiasique	42
IV. Conclusion et perspectives	50
V. Références bibliographiques.....	52

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
pH	Potentiel hydrogène
FeCl₃	Chlorure de fer
HCl	Acide chlorhydrique
H₂SO₄	Acide sulfurique
KOH	Hydroxyde de potassium
MS	Matière sèche
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
MEB	Microscope électronique à balayage
Mg EAG/g	Milligramme équivalent acide gallique par gramme
IC₅₀	Concentration inhibitrice à 50%
UV	Ultra-Violet
VIH	Hépatite virale

Numéro	Figure	Page
1	Répartition de <i>Silybum marianum</i> en Afrique (a), en Europe (b) et en Amérique (c)	5
2	Morphologie des différentes parties de <i>silybum marianum</i> (chardon marie)	6
3	Structure du noyau phénol	9
4	Structure d'acides hydroxybenzoïques communs	10
5	Structure d'acides hydrocinnamique communs	10
6	Principaux constituants de la lignine	11
7	Structure de base des lignanes (a) : phénylpropane (b) lignane	11
8	Structure de base des flavonoïdes	12
9	Structure du benzo-2-pyrone	13
10	Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols	14
11	Oxalate de calcium monohydraté (Whewellite) a : Cristaux de Whewellite b: calcul de Whewellite	19
12	Oxalate de calcium dihydraté (Weddellite) a : Cristaux de Weddellite b: Calcul de Weddellite	20
13	Différents types des calculs : a -les calculs les phosphates de calcium ; b-les calculs carbatites ; c- les calculs brushite	20
14	Calculs Struvites	21
15	Calcul d'acide urique. (a) : aspect brut d'une section coupée (b) : micrographie électronique.	21

16	Calcul de cystine ; a : apparence grossière ; b : micrographie électronique.	22
17	Lithiases médicamenteuses: (a) : Calcul de métabolites du triamtèrene, (b) : Calcul d'amoxiciline, (c) : Cristaux d'amoxiciline di-hydratée	22
18	Schéma récapitulatif des différentes étapes du travail	27
19	Forme réduite du radical DPPH	32
20	Microscope électronique à balayage (MEB) Zeiss SUPRA55VP/Gemini (LPS)	34
21	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	39
22	Variation de l'inhibition de DPPH en fonction de la concentration d'extrait aqueux des racines Chardon Marie et de BHT.	41
23	Activité anti-radicalaire de l'extrait aqueux des racines de chardon marie et le BHT	41
24	Photo d'échantillon de référence sans extrait.	43
25	Photo de l'échantillon en présence d'extrait chardon marie prise par MEB	43
26	Photo de l'échantillon 2 en présence de l'extrait chardon marie à la concentration $C_1=0,06g/l$ prises par le MEB	43
27	Photo de l'échantillon 3 traité par l'extrait chardon marie à la concentration $C_2=0,12g/l$ prise par MEB (vue globale)	43
28	Photo de l'échantillon 3 traité par l'extrait chardon marie à la concentration $C_2=0,125g/l$ prises par le MEB	44
29	Photo de l'échantillon 4 en présence d'extrait chardon Marie à la concentration $C_3=0,25g/l$ prises par MEB	44
30	Photo de l'échantillon 5 en présence d'extrait chardon Marie à la concentration	45

Liste des figures

31	Photo de l'échantillon 5 en présence d'extrait chardon Marie à la concentration $C_4=0,5\text{g/prises}$ par le MEB	45
32	Photo de l'échantillon 6 en présence d'extrait de chardon Marie à la concentration $C=1\text{g/l}$ prises par MEB (vue globale)	45
33	Photos de l'échantillon 6 en présence d'extrait de chardon Marie à la concentration $C_5=1\text{g/l}$ prises par MEB	46

Numéro	Titre	Page
1	Classification de <i>Silybum marianum</i>	4
2	Caractéristiques et morphologie des différents types de calculs	23
3	Résultats de la phytochimie qualitative des extraits de la partie racines de <i>Silybum marianum</i> par décoction.	35
4	Tableaux comparatif des études réalisées sur le pouvoir antioxydant de <i>silybum marianum</i>	42
5	Comparaison des études réalisées par des extraits végétaux sur la cristallisation oxalocalcique	48

A decorative floral wreath is centered on the page. It features a thin gold circular border. Pink cherry blossom branches with various stages of flowers (buds, partially open, and fully open) are arranged around the circle. The background is white with scattered gold dots and soft pink watercolor washes behind the flowers.

Introduction

Le monde végétal de part sa richesse en végétaux représente une source inépuisable de composés actifs capables de synthétiser par voie métabolique des molécules bioactives afin de faire face aux stress biotiques et abiotiques. Ces molécules grâce à leurs activités biologiques sont une réponse concrète à plusieurs maladies qui touchent l'humanité. Ces maladies mettent en exergue le rôle néfaste des processus oxydatifs de type radicalaire dans la genèse et le suivi d'un nombre de plus en plus croissant de maladies mortelles (**Ben rahal, 2012**).

2

La lithiase urinaire est une pathologie fréquente qui se caractérise par la formation de concrétions cristallines se développant dans le bassinet et/ou les calices d'un rein et provoquant une obstruction partielle ou totale à l'écoulement normal de l'urine, elle affecte 4 à 18% de la population. En progression dans tous les pays industrialisés depuis la seconde guerre mondiale, c'est aussi une pathologie qui se transforme avec le temps selon l'évolution du niveau socio-économique des populations (**Daudon, 2000**). Elle est devenue un problème de santé publique majeur dans tous les pays du monde, du fait qu'elle conduit à une immobilisation prolongée et une perte de la fonction rénale dans certains cas.

En Algérie, de plus en plus de personnes ont recours à la médecine traditionnelle dans le traitement de cette maladie car d'une part, le coût des médicaments conventionnels est relativement élevé et d'autre part, ces derniers peuvent avoir un effet limité. A titre d'exemple, les diurétiques, les anti-inflammatoires et les inhibiteurs de certains métabolites sont les seuls médicaments utilisés dans le traitement de la lithiase oxalo-calcique, avec des effets secondaires inévitables (**Khitri et al., 2016**).

La richesse et la diversité en végétaux du contour méditerranéen et surtout la particularité de son climat et de ses sols lui confère une place privilégiée pour l'exploitation des plantes, certaines d'entre elles poussent spontanément et ceci représente un intérêt primordial dans le domaine agronomique et médicinal. C'est le cas du *Silybum marianum.L* (chardon Marie) qui autrefois a été employé dans des préparations culinaires. Aujourd'hui, des pouvoirs hépatoprotecteur, sédatif, digestif, hémostatique, anti-inflammatoire et diurétique ont été attribués à ce végétal et des études récentes ont démontré que cette plante possède des propriétés anti-tumorales et anti-cancérigènes. Elle est la base de plusieurs médicaments et de préparations pharmaceutiques en cours d'essais cliniques agissant contre les lésions hépatiques causés par le VIH qui fait de plus en plus de ravage dans le monde et qui crée un réel danger pour l'humanité (**Ben rahal , 2012**).

Par conséquent , compte tenue de l'absence de travaux approfondis et d'études scientifiques portant sur le potentiel médicinal et l'effet réel des racines du chardon Marie dans le traitement naturel de la lithiase urinaire , en particulier dans la prévention des calculs d'oxalate de calcium , nous nous sommes proposés de déterminer l'effet de cette plante sur la sursaturation urinaire de type oxalocalcique.

L'objectif principal de cette étude, est de déterminer si une cure à base des racines du chardon Marie prévient le risque de cristallisation de l'oxalate de calcium dans l'urine, en testant l'infusion de la plante afin de se rapprocher au mieux de la procédure utilisée par le maladie lithiasique.

Notre présente étude s'inscrit dans cet objectif et elle a porté sur :

- une étude phytochimique qui a permis d'identifier certains groupes chimiques bioactifs contenus dans l'extrait aqueux de racines de la plante étudiée ;
- Une étude de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de la racine du chardon Marie.
- Une évaluation de l'activité antilithiasique de l'extrait aqueux des racines du chardon Marie.

Cette étude sera subdivisée en deux parties :

- Une revue bibliographique où nous apportons des données générales sur l'espèce étudiée et la lithiase.
- Une seconde partie dans laquelle nous rapportons les méthodes utilisées, les résultats obtenus suivi des discussions et nous finirons par une conclusion.



*Synthèse
bibliographique*

I .Plantes médicinales

Une plante médicinale est définie selon la pharmacopée 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**). Autrement dit, on appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. En raison de leurs propriétés préventives ou curatives elles sont présentées à l'égard des maladies humaines ou animales (**Chabrier, 2010**).

I.1. Généralités sur chardon Marie (*silybum marianum*) :

I.1.1.Présentation du chardon Marie (*Silybum marianum*) :

Chardon Marie est une plante spontanée ou encore mauvaise herbe identifiée depuis deux mille ans par sa valeur estimable en thérapeutique (**Ben rahal, 2012**). C'est une plante annuelle à bisannuelle appartenant à la famille des *Astéracées*. Son nom latin *Silybum* signifie chardon, *marianum* fait référence à la vierge Marie. Dans la légende, lors de son voyage en Egypte, elle aurait caché son fils Jésus sous un buisson de chardons où elle lui donna le sein. Les nervures blanches caractéristiques des feuilles de cette espèce servaient le vestige des gouttes de lait de la vierge d'où le terme de « Milk » en anglais (**Mouillé et Richard, 2014**).

I.1.2- Noms vernaculaires :

Les différentes appellations de la plante en français, arabe, berbère, anglais et allemands sont les suivants :

- **Noms vernaculaires en arabe :** Chouk el djemel, Bou-zeroual, Ousûkez-zerwal, Chouqboutli, Hacoub et Lichilich, Qortom, Harshaf barri, Shouk el-nasara (**Benchaachoua, 2019**)
- **Noms vernaculaires en anglais :** Milk thistle, Holy thistle, Lady's thistle, Marian thistle, st Mary thistle, Silybum. Blessed milk thistle, Mediterranean milk thistle, Variegated thistle (**Benchaachoua,2019**)
- **Noms vernaculaires en français :** Chardon-Marie, artichaut sauvage, chardon argenté, chardon notre-dame, chardon marbré, épine blanche, lait de notre-dame, silybe de Marie (**Amrani, 2006**).
- **Noms vernaculaires en targui ou berbère :** Tawra, Douj-n'ilour man (**Beloued,2009**).
- **Noms vernaculaires allemands :** Mariendistel(**Fournier, 1947 ; Beloued, 1998**).

I.1.3-position systématique :

La systématique du chardon Marie selon **Deysson(1979) ; Guignard et al. (1996) ; Spichiger et al.(2000)** (Tab1) est comme suit :

Tableau 1 : classification de *silybum marianum* (**Deysson, 1979 ; Spichiger et al., 2000 ; Guignard et al., 1996**)

Embranchement :	Phanérogames
Sous-embranchement :	Angiospermes
Classe :	Magnoliopsida
Ordre :	Astrales
Famille :	<i>Asteraceae</i> (composées)
Sous-famille :	Tubuliflores
Genre :	Silybum
Espèces :	Silybum marianum.

I.1.4-Habitat et Origine :

Le chardon Marie est une plante spontanée originaire du bassin méditerranéen (**Bezanger et al., 1980**), Selon **Bayer et Buller (1990)**, il s'étend de la mer à 700-1100 m d'altitude sur les terrains incultes secs et rocailleux de toute l'Europe occidentale et méridionale, ainsi qu'en Afrique du Nord. Le chardon marie est cultivé dans les jardins ornementaux (**Roche ,1991**).Selon **Quezel et Santa (1963)** cette plante est cosmopolite, préfère les sols secs et les endroits chauds et ensoleillés. On la trouve dans les champs, les terrains incultes, les décombres et les bords des routes. En Algérie, d'après **Belouahem (2009)**, le chardon marie est particulièrement répandue dans les hauts plateaux, la steppe, le sud de l'Atlas saharien, les pâturages sablonneux et les lieux un peu humides.

Selon **Sindel (1991) et Gabay et al. (1994)**, le chardon marie est aujourd'hui répandu en Amérique du Nord, si bien qu'on le trouve tant au Canada qu'au Mexique, la Nouvelle, l'Australie, l'Afrique du Sud, le Chili et l'Argentine (Fig.1).

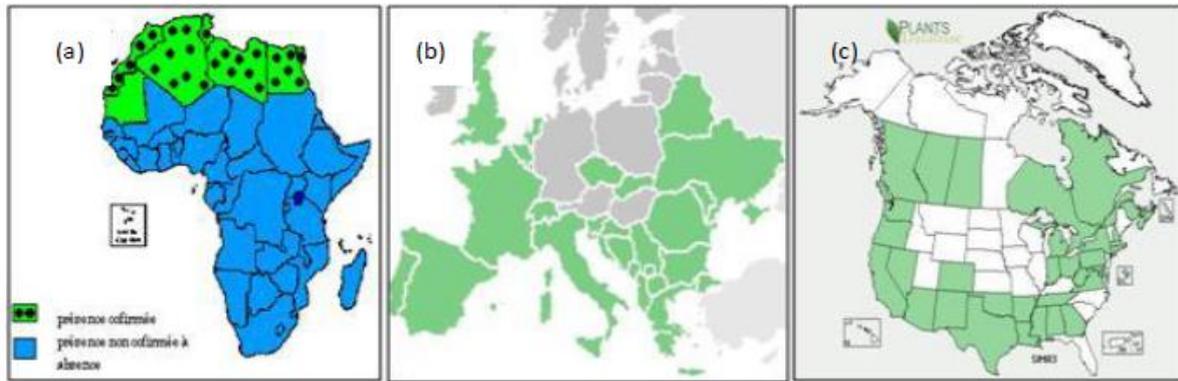


Figure 1 : répartition de *Silybum marianum* en Afrique (a), en Europe (b) et en Amérique (c)
(Ben rahal. 2012)

I.1.5-Description morphologique

➤ Racines

D'après **Sindel (1991)**, la plante est caractérisée par une racine pivotante, forte, longue, épaisse et fibreuse (Fig.2.a).

➤ Tiges

Généralement ramifiés, atteignant environ 20 à 150 cm de haut (**Couplan, 2007**), dressées, très souvent rameuses vers le haut (**Bezanger et al., 1980**), portent peu de feuilles sur la partie supérieure (**Ditomaso, 2007**) (Fig.2.b).

➤ Feuilles

Selon **Bayer et al (1990)**, le chardon Marie est caractérisé par ses grandes feuilles vertes pâles brillantes, tachées de blanc lobées et ondulées, et bordées de dents épineuses à pointe jaune très acérée (**Quezel et al., 1963**). Les feuilles de la base sont pétiolées, découpées en lobes à bords dentés épineux, en rosettes (**Sindel, 1997**). Les feuilles supérieures sont plus petites et plus étroites réduites et embarrassantes, à bord moins découpé, mais très épineux, avec des marbrures laiteuses caractéristiques (**Morazzoni et al. ,1995**) (Fig.2.c).

➤ Fleurs

Sont toutes tubuleuses réunies en capitules terminaux, solitaires, dépassant souvent 6 cm de diamètre, sont pourvues d'une forte épine atteignant jusqu'à 5 cm et se réfléchissent vers

l'arrière. Corolle dentée de couleur pourprée. 5 étamines formant un tube autour du style (Beniston,1984) (Fig 2.d).

➤ **Fruits**

Selon **Guittonneau et Huon, (1983)**, les fruits sont des akènes luisants, de 6 à 7 mm, plats, lisses, et brillants et la couleur s'étend du noir au brun chiné ou marbré de jaune, surmontés d'une aigrette blanche. D'après **Sindel (1991)**, les graines ont une aigrette, tombent quand graines mûrissent (Fig2.e).

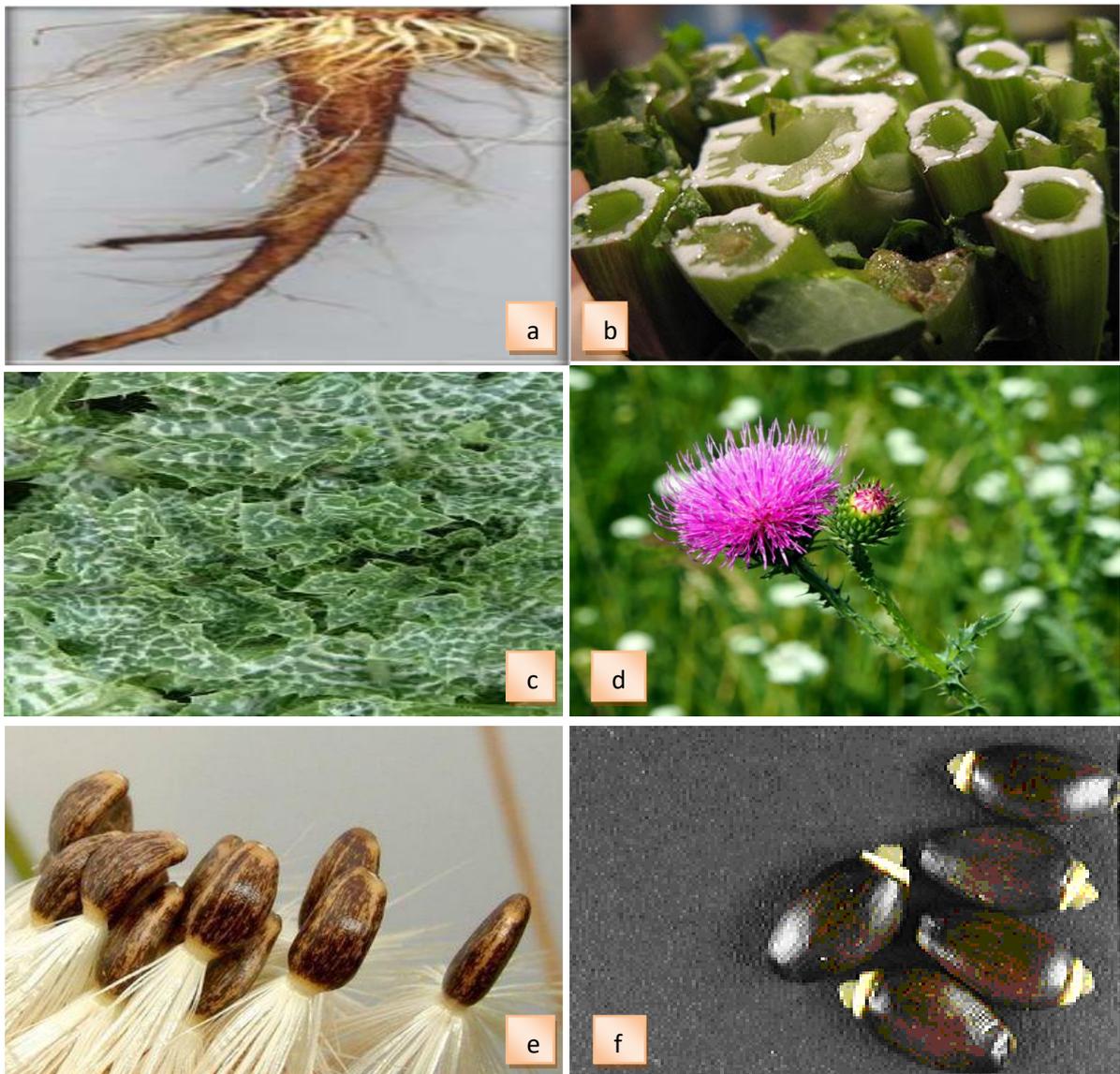


Figure 2 : morphologie des différentes parties de *silybum marianum* (chardon Marie)

a : la racine , b : la tige , c : la feuille , d : la fleur e : akènes de chardon marie avec leur aigrette
e : les graines (**Benchaachoua, 2004**)

I.1.6-Constituants chimiques de *Silybum marianum*

I.1.6.1. Principaux composants du fruit

Le fruit du chardon Marie contient entre 1,5 à 3 % de silymarine, un mélange de différents flavanolignanes, issus de la taxifoline et de l'alcool coniférylique (**Saller, 1995**). Il s'agit notamment de la silybine (silybine A , silybine B) , la silychristine, la silydianine et l'isosilybine. Ce sont les principaux composés responsables de l'action thérapeutique de la plante (**Dube, 2010**).

Il contient aussi des flavonoïdes : quercétol, taxifoline, éryodictyol, chrysoériol, naringine et quelques autres (notamment du dihydrokaempférol, du kaempférol, de l'apigénol et du naringéol...) qui présentent eux aussi des propriétés intéressantes (**Ramawat et Merillon, 2008**).

Le fruit renferme des lipides (20 à 30 %) avec prédominance d'acide linoléique (60 %), oléique (30 %) et palmitique (9 %)). Ainsi que du tocophérol, les stérols, des protéines qui représentent environ 25 à 30 %, des sucres, et des minéraux (**Ramawat et Merillon, 2008 ; Bruneton, 2016 ; Charrié et al., 2017**).

I.1.6.2. Les principaux composants de la partie aérienne

La partie aérienne renferme des flavonoïdes tels que l'apigénine, le kaempférol, le lutéolol et leurs hétérosides. On trouve des stérols dont le campesterol, stigmastérol, sitostérol et des dérivés polyacétyléniques. Divers composés : acide fumarique, céramide, asperglaucide sont aussi présents (**Charrié et al., 2017**). Selon **Amrani(2006)** le chardon Marie présente des teneurs élevées en calcium dans tous les organes du végétal (feuilles, graines, tige et racines).ce qui donne à cette plante une valeur alimentaire très important.

I.1.7. Intérêt médécinal et pharmaceutique de *Silybum marianum*

Le chardon Marie est une plante médicinale antique employée pour épurer et protéger le foie, elle est maintenue dans les hôpitaux allemands pour le traitement de secours des intoxications (**Turner et Szczawinski, 1991**). En Europe, on trouve de nos jours le chardon Marie dans plusieurs préparations pharmaceutiques destinées au traitement de divers troubles hépatiques et biliaires (**Morazzoni et Bombardelli, 1995**).

Les allemands ont isolé un principe actif des fruits du chardon, la silymarine , qui est contenu dans les fruits dans les concentrations s'échelonnant de 1à4% .Ce substrat a un pouvoir hépatoprotecteur (**Talaj et al., 1989 ; Foster,1995 et Ody,2002**).

Les mécanismes d'action du chardon Marie ne sont pas encore élucidés. On lui reconnaît un effet antioxydant, anti-inflammatoire et anti-prolifératif, anticancéreux, l'action hépatoprotectrice (**Jiang et al., 2000 ; Bhatia et Agarwal, 2001**).

D'après **Compos(1989), Schandalik et Peruca (1994), Venkataraman et al. (2000) et Anderson et al. (2000)**, le chardon Marie est utilisé dans les applications suivantes : hépatites et hépatopathies latentes, stéatoses, cirrhoses, meilleurs effets de l'administration prophylactique, protection de la cellule hépatique lors des chimiothérapies anticancéreuses, dépression nerveuse, stimulation de la lactation ...etc.

I.2. les polyphénols

Les polyphénols sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (**Mompon *et al.*, 1996**). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante (**Richter *et al.*, 1993**), ils représentent une large gamme potentielle d'agents thérapeutiques, largement exploitée par l'homme dans différents domaines comme la santé et l'alimentation (**Croteau *et al.*, 2000 ; Cragg et Newman , 2010 ; Ncube *et al.*, 2012**). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un phénolique à 6 carbones (Fig. 3), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, hétéroside ou ester (**Bruneton *et al.*, 1999**).

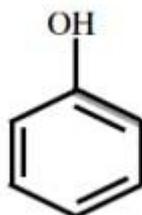


Figure 3 : structure du noyau phénol (**Sarni-Manchado *et al.*, 2006**)

I.2.1. Classification des phénoliques

Les polyphénols peuvent être subdivisés en plusieurs catégories : anthocyanes, coumarines, lignanes, flavonoïdes, tannins, quinones, acides phénoliques.

I.2.1.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont caractérisées par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (**Bruneton, 1999**). Les acides phénols comprennent deux sous classes :

I.2.1.1.1 .Acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxybenzoïques sont très communs aussi bien sous forme libre que sous forme combinée à l'état d'esters ou hétérosides (**Bruneton *et al.*, 2008 ; Skerget , 2005**). Cette catégorie est abondante dans les végétaux et les aliments notamment les épices, les

fraises, certains fruits rouges et l'oignon dans lesquels les concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de fruits frais (Manach *et al.*, 2004).

Les principaux acides hydroxybenzoïques retrouvés dans les végétaux sont les acides phydroxybenzoïque, protocatéchiq, vanilliq, galliq et salicyliq (Chanforan, 2010).

(Fig. 4) illustre la structure de quelques exemples de ce groupe.

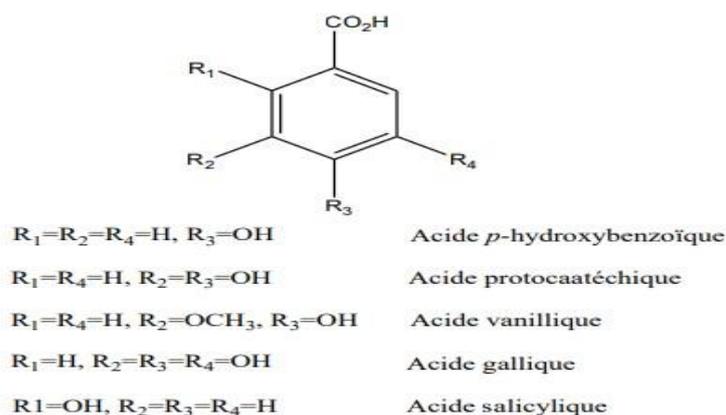


Figure 4: Structure d'acides hydroxybenzoïques communs (Chanforan , 2010)

I.2.1.1.2. Acides hydroxycinnamiques

Les acides hydroxycinnamiques représentent un groupe très important dont la structure possède un cycle aromatique associé à trois carbones C6- C3 (Fig.5). Le degré d'hydroxylation du cycle benzénique et son éventuelle modification par des réactions secondaires sont un des éléments importants de la réactivité chimique de ces molécules. (Macheix , 2005).

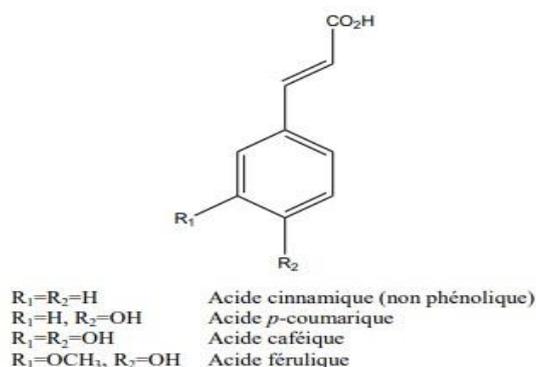


Figure 5: structure d'acides hydrocinnamique communs (chanforan ,2010)

I.2.1.2. Lignines

La lignine est un polymère fortement ramifié, formés par trois alcools phénoliques simples (Fig.6). Les alcools sont oxydés en radicaux libres par une enzyme ubiquiste chez les plantes ; la peroxydase. Les radicaux libres réagissent ensuite spontanément et au hasard pour former la lignine (**Hopkins *et al.*, 2003**) .

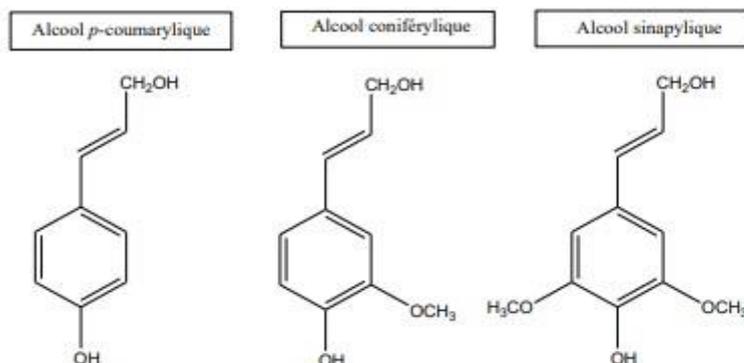


Figure 6 : principaux constituants de la lignine (**Hopkins, 2003**)

I.2.1.3.Lignanes

Ces composés de haut poids moléculaire contribuent à former, avec la cellulose et les dérivés héli-cellulosiques, la paroi des cellules végétales. Leur distribution botanique est large, plusieurs centaines de composés ont été isolés dans environ soixante dix familles. Ce sont des polymères tridimensionnels résultant de la condensation (co-polymérisation) de trois alcools phénylpropéniques (Fig.7) (**Nkhili *et al.*, 2009**).

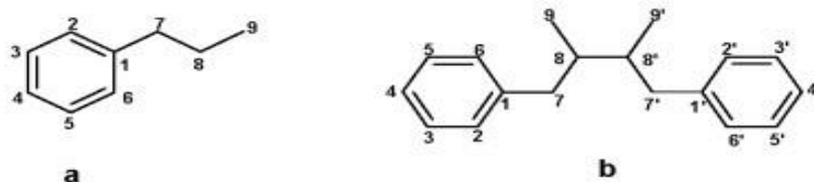


Figure 7:structure de base des lignanes (a) : phénylpropane (b) lignane (**Garcia-Pérez, 2008**)

I.2.1.4. Flavonoïdes

Le terme « flavonoïde » désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (**Jensen, 1992**). Tous les flavonoïdes possèdent la même structure de base (C₆-C₃-C₆), ils contiennent quinze atomes de carbone dans leur structure de base: deux cycles aromatiques A et B à six atomes de carbones (Fig.8). liés avec une unité de trois atomes de carbone qui peut ou non être une partie d'un troisième cycle C (**Tapas et al., 2008**).

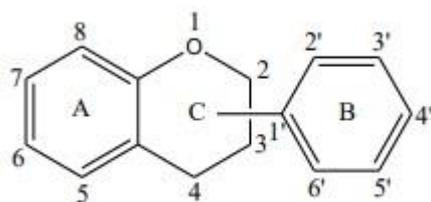


Figure 8 : structure de base des flavonoïdes (**Crozier , 2003**)

I.2.1.5.Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes et les dicotylédones (**Konig et al., 1994**). Ils ont la capacité de se combiner et précipiter les protéines. Ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinités, ce qui leur procure la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de rendre imputrescible. (**Dangles et al., 1992 ; Hemingway et Karchesy, 2012**). Sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvés dans toute les parties de la plante: l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines (**Scalbert, 1991**).

I.2.1.6. Stilbènes

Les stilbènes présentent une structure en C₆-C₂-C₆, avec un cycle A portant deux fonctions hydroxyles en position méta et un cycle B portant des fonctions hydroxyles ou méthoxyles en méta, ortho et para . se trouvent en petites quantités dans l'alimentation humaine (**Belkheiri, 2010**). Ils sont généralement isolés des plantes sous formes hydroxylés, méthylés, esterifiés, glycosylés ou même prenylés. Leur solubilité est négligeable dans l'eau et accrue dans la

plupart des solvants organiques (**Jean-Denisj , 2005**) . Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (**Crozier *et al.*, 2006**).

I.2.1.7.Coumarines

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone (Fig.9). Aujourd'hui, près de 1000 composés coumariniques sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les microorganismes. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (**Cowan, 1999**).

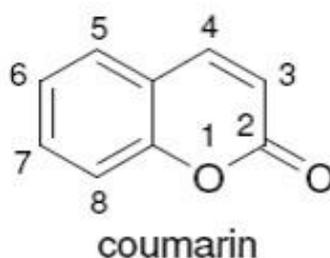


Figure 9 : structure du benzo-2-pyrone (**Muanda, 2010**)

I.2.2. Biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques sont issus par deux grandes voies métaboliques : la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate/malonate.

I.2.2.1.Voie de l'acide shikimique

La voie de l'acide shikimique est la voie la plus importante pour la biosynthèse des composés aromatiques dans les plantes et les micro-organismes, y compris les acides aminés aromatiques : la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane. Ce sont des métabolites primaires qui servent de précurseurs pour de nombreux produits naturels tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, les alcaloïdes... (**Ghasemzadeh et Ghasemzadeh , 2011**). Dans cette voie, l'érythrose 4-phosphate et le phosphoénol pyruvate sont produits par les hydrates de carbones lors de leur dégradation par la voie des pentoses phosphate et la glycolyse respectivement. Ces derniers sont à l'origine des composés phénoliques C6-C1 formant les tannins hydrolysables et de la chalcone qui est la molécule de base de tous les flavonoïdes et tannins condensés (**Haslam, 1994 ; Dewick ,1995**).

I.2.2.2. Voie de l'acétate /malonate

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétylCoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (Fleeger et Flipse, 1964 ; Richter, 1993) (Fig. 10).

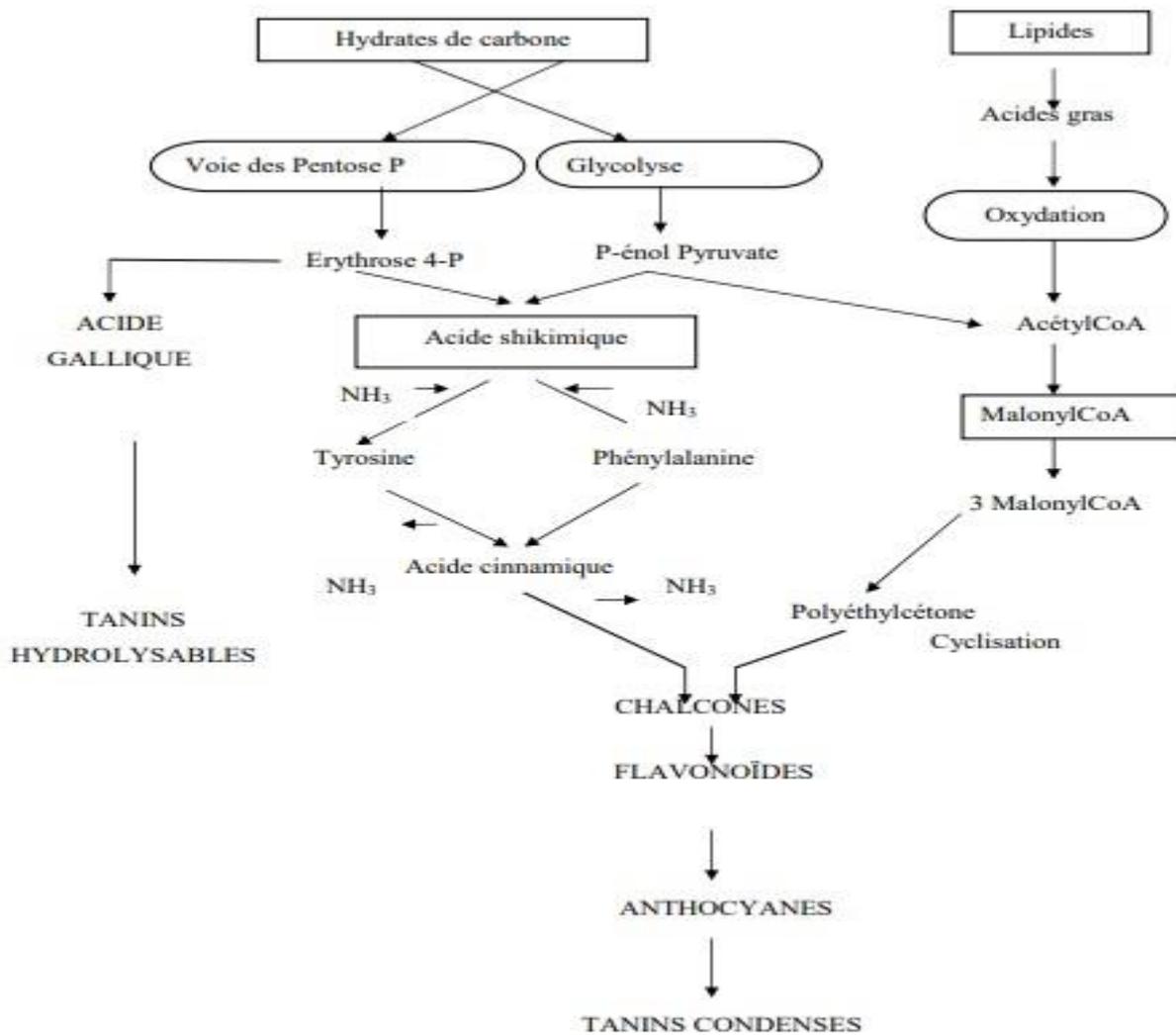


Figure 10 : représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (Akroum, 2011)

I.3.Lithiase urinaire

La lithiase urinaire est connue depuis les temps les plus reculés et s'avère indissociable de l'histoire de l'humanité. Reflet des conditions sanitaires, des habitudes alimentaires et de niveau de vie des populations, la lithiase évolue sans cesse tant du point de vue de ses caractéristiques épidémiologiques que de ses facteurs étiologiques. Les modifications de la maladie lithiasique sont comparables dans tous les pays du monde, avec un rythme propre à chaque pays ou chaque groupe de population considéré (**Asper, 1984**). La lithiase urinaire est évoluée avec le niveau socio-économique et sanitaire des populations. Dans les pays en développement, comme pour les pays industrialisés depuis la fin de la 2^{ème} guerre mondiale, la fréquence de la maladie lithiasique semble augmenter parallèlement avec l'augmentation du niveau de vie (**Fournier et al., 1991**) .

I. 3.1. Définition

Le terme « lithiase urinaire » désigne la maladie caractérisée par la formation de calcul dans les reins ou dans les voies urinaires (les calices, les uretères, la vessie, l'urètre). Le mot lithiase vient du grec : lithos (pierre) et celui de calcul vient du latin : calculus, (**Hymam et al., 1996**). Est une pathologie fréquente dans la plupart des pays développés (**khitir et al., 2016**). Elle a un impact économique et sanitaire négatif sur la population car elle affecte préférentiellement une population active (**Sadki et Atmani, 2017**). La majorité des calculs relève de mauvaises habitudes alimentaires mais certains sont la conséquence de maladies métaboliques génétique ou acquises (**Cotton et al., 2014**).

I.3.2 Epidémiologie

La lithiase des voies urinaires est devenue un problème de santé publique majeur dans tous les pays du monde du faite quelle conduise une immobilisation prolonge et peut conduire la perte de la fonction rénale dans certain cas. De fait, une crise de colique nephretique est le signe révélateur de plus des deux tiers des cas. Elle consiste en une précipitation de cristaux conglomères de taille et de formes variées dans les cavités du rein. Le recueil de données épidémiologiques de cette maladie se heurte de multiples difficultés, qui tiennent la diversité des critères retenues pour apprécier la prévalence et l'incidence de cette maladie (**besancenat , 1992 ; tosukhowong et al., 2007**).

I.3.3.Lithogenèse urinaire

La lithogenèse regroupe l'ensemble des processus qui conduisent à la formation d'un calcul dans les voies urinaires. Le calcul est une agglomération de cristaux liés par une matrice organique (Alsheyab *et al.*,2007).

Elle comporte plusieurs phases qui s'expriment successivement ou simultanément. Certaines étapes, qui concernent les premières étapes de la lithogenèse et que l'on peut désigner sous le terme de cristallogenèse, correspondent à la formation de cristaux à partir de substances initialement dissoutes dans les urines et ne constituent pas en soi un processus pathologique. Il est en effet bien connu que la cristallisation s'observe dans de nombreuses urines normales (Ryall *et al.* ,2005), traduisant l'État de sursaturation de celles-ci vis-à-vis de plusieurs solutés urinaires.

I.3.4. Etapes de lithogenèse

Le processus de la lithogenèse peut à être décomposé en neuf étapes qui se succèdent s'entremêlent au cours de la formation d'un calcul. Ces étapes sont les suivantes : la cristallogenèse, la sursaturation des urines, la germination cristalline, la croissance des cristaux, l'agrégation des cristaux, l'agglomération cristalline, la Calculgenèse, la rétention des particules cristallisées, la croissance du calcul.

I.3.4.1. Cristallogenèse

La cristallogenèse, qui correspond aux différentes étapes de formation des cristaux. Est considérée comme un processus multifactoriel non pathologique en soi (Daudon, 2013). D'un point de vue strictement physicochimique, la cristallogenèse a pour objet de diminuer sursaturation des urines en un ou plusieurs solutés dont la concentration est excessive. Elle comporte les phases de : la sursaturation, la germination, la croissance et de l'agrégation cristalline (Sbahi ,2017).

I.3.4.1.1. Sursaturation des urines

La sursaturation traduit un excès de concentration d'une substance dissoute dans l'urine par rapport aux capacités solvants de celle-ci. Dans des conditions physicochimiques définies (température, pression, pH...), une substance peut être dissoute dans un solvant, en l'occurrence l'eau, jusqu'à une certaine concentration qui représente le produit de solubilité

de cette substance dans le solvant. Dans les urines où pression et température peuvent être considérées comme constantes, le pH est le principal modificateur de la solubilité des substances qui y sont sensibles. Le produit de solubilité est une caractéristique physique de la substance considérée. Lorsque la concentration de la substance égale son produit de solubilité, On dit que la solution est saturée vis-à-vis de cette substance. Lorsque la concentration de la substance excède son produit de solubilité, la solution est sursaturée vis-à-vis de cette substance et des cristaux de celle-ci peuvent en principe se former (**Werness et al., 1981**).

I.3.4.1.2. Germination cristalline

Le niveau de sursaturation à partir duquel les cristaux se forment rapidement, c'est-à-dire pendant le temps de transit de l'urine au travers du rein, définit un seuil de risque désigné sous le terme de produit de formation.

A partir de ce seuil peuvent se manifester toutes les conséquences de la cristallisation, y compris la rétention cristalline, donc la lithogénèse. Le produit de formation dépend de la composition de l'urine et varie d'un individu à l'autre et, dans de moindres proportions, chez un même individu, d'un prélèvement à l'autre. Ce seuil est propre à chaque substance cristalline. Il diffère donc pour les oxalates de calcium, les phosphates de calcium, les acides uriques ou les urates (**Werness et al., 1981**).

I.3.4.1.3 Croissance cristalline

Les cristaux grossissent par captation de nouvelles molécules ou de nouveaux ions de la substance en sursaturation pour former des particules dont la taille varie du micromètre au dixième de millimètre (**Dalibon, 2015**).

I .3.4.1.4.Agrégation cristalline

Contrairement la croissance, l'agrégation cristalline, qui met en jeu des phénomènes d'attraction électrostatique en fonction de la charge superficielle des cristaux, est un processus rapide. Elle peut, de ce fait, engendrer des particules volumineuses dans un délai très court, inférieur au temps de transit de l'urine travers le rein.

A cause de leur taille, mais aussi de leur forme très irrégulière et de la présence de nombreuses aspérités (cristaux anguleux), les agrégats ainsi formes sont susceptibles d'être retenus dans les segments terminaux des néphrons, sur l'épithélium papillaire ou dans les cavités excrétrices du rein. L'agrégation cristalline est considéré aujourd'hui comme une étape importante de la lithogénèse et plusieurs travaux ont montré que les urines de

sujets lithiasiques avaient une moindre aptitude à réduire l'agrégation des cristaux que les urines de sujets normaux (**Daudon *et al.*, 2008**).

I.3.4.1.5. Agglomération cristalline

L'agglomération des cristaux implique des macromolécules urinaires protéiques chargées négativement, pouvant se fixer à la surface des cristaux et servant de point d'ancrage à de nouveaux cristaux (**Dalibon , 2015**).

I.3.4.2. Calculgenèse

Elle conduit au processus lithiasique proprement dit et rend compte des processus de rétention, d'accrétion et de conversion cristalline responsables de la formation, de la croissance et de la transformation du calcul. Par définition, cette phase, contrairement à la cristallogenèse, ne s'observe que chez les patients lithiasiques (**Daudon, 2013**).

I.3.4.2.1. Rétention des particules cristallines

Cette étape peut être considérée comme la première étape du processus lithogène proprement dit, à partir de laquelle des particules cristallines formées au cours des différentes phases de la cristallogenèse vont être retenues dans le rein ou les voies urinaires et vont croître pour former un calcul. Elle est favorisée par la présence d'aspérités liées aux arêtes pointues de certains cristaux qui s'accrochent facilement ou par la création d'une zone de stase due à une déformation tubulaire ou un étranglement des conduits excréteurs (**Daudon ,2008**).

I.3.4.2.2. Croissance de calcul

La vitesse de croissance du calcul initié par la rétention cristalline est ensuite très variable, dépendant du niveau de sursaturation des urines et donc de la nature des anomalies métaboliques présentes . Lorsque la lithogenèse résulte de fautes diététiques, son expression est intermittente et la croissance du calcul se fait par pousses au gré des sursaturations urinaires (**Alsheyab *et al.* , 2007**).

Lorsque la cause est une maladie génétique, le calcul se développe de manière plus régulière et de nouvelles particules retenues dans le rein sont le point de départ de nouveaux calculs qui grossissent généralement au même rythme que les premiers, ce qui explique la différence de taille observée entre les calculs les plus anciens, généralement les plus volumineux, et les calculs plus récents. Parfois, pour des raisons anatomiques ou de flux urinaire, certains

calculs ont la possibilité de capter de nouvelles molécules plus facilement que d'autres et vont alors croître plus rapidement (**Low et al., 1997**).

I.3.5. Différents types de calculs

Les calculs sont classés selon leur nature chimique, admise par les différentes sociétés savant d'urologie, environ 10% des calculs sont constitués d'un seul composants chimique (**Daudon et al., 2004**). Les principaux types de calculs sont les suivants :

I .3.5.1. Calculs minéraux :

I.3.5.1.1. Oxalate de calcium

L'oxalate de Calcium c'est le composant le plus fréquent (près des 75 % des calculs). Sont de petite taille, irréguliers, très durs spéculés ou muriformes, ils sont radioopaques (**Coulibaly ,2000**) connu dans les urines sous trois formes cristallines distinctes. Mono, di et tri- hydratée Il est aussi l'espèce chimique dont la sursaturation est la plus prédominant dans l'urine (**Daudon M, 1999**).

➤ La whewellite , ou oxalate de calcium monohydraté :

On le voit quand le rapport calcium /oxalate est inférieur à 5. C'est une forme rare de cristallisation d'oxalate de calcium (**Daudon, 1987 ; Daudon et al., 1992**). Elle se présente sous forme de feuillets monocliniques mais dans la majorité des cas celle-ci précipite sous forme de lamelles ovales. La Whewellite se rencontre dans des situations de précipitation massive d'oxalate de calcium. Son pH est compris entre 5,2 et 7,8 (Fig.11).

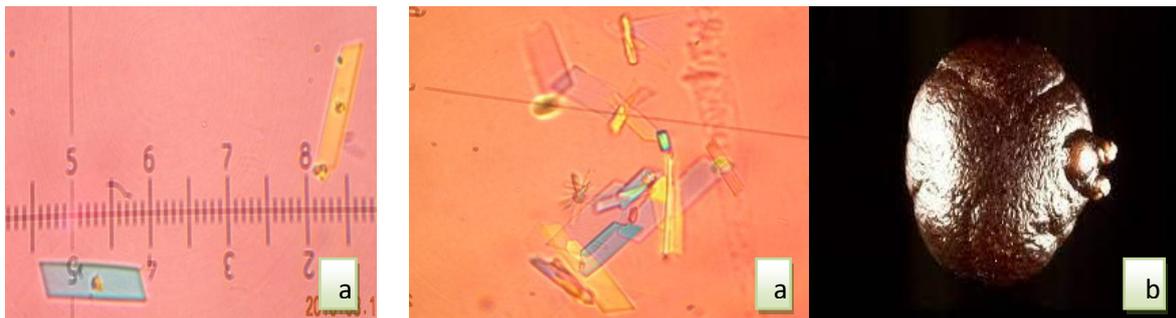


Figure 11: oxalate de calcium monohydraté (Whewellite) (**Benabbou, 2011**)

a : Cristaux de Whewellite

b: calcul de Whewellite

➤ **La weddellite, ou oxalate de calcium dihydraté**

La weddellite est observé quand le rapport calcium/oxalate est supérieur à 14 (Daudon, 1987 ; Daudon *et al.*,1992). La forme classique de celle-ci est la tétragonal bi-pyramide à huit faces. Au microscope. Oxalate de calcium dihydraté se reconnaît facilement par sa forme qui rappelle une enveloppe. Son pH est compris entre 5,2 et 5,6 (Fig.12).

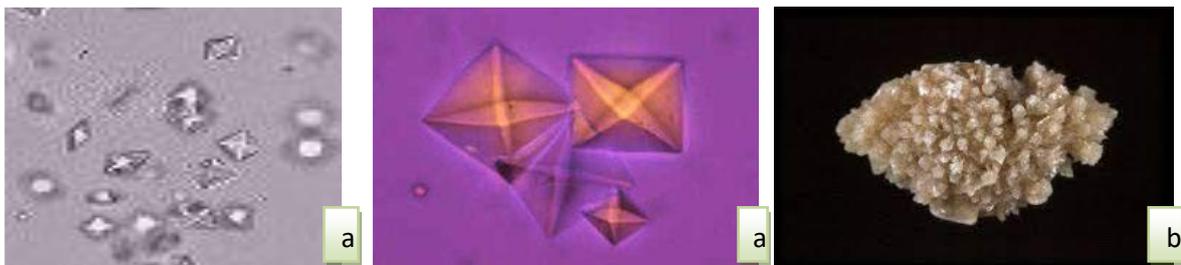


Figure 12: oxalate de calcium dihydraté (Weddellite) (Benabbou, 2011)

a : Cristaux de Weddellite

b: Calcul de Weddellite

➤ **Forme trihydratée**

Elle présente une forme des aiguilles ou forme triclinique (très rarement observé dans l'urine) (Bimbenet *et al.*, 2002).

I.3.5.1.2.Phosphates de calcium :

La lithiase phosphocalcique se présente principalement sous la forme de deux espèces moléculaires, la carbatite (Fig.13.b) et la brushite (Fig.13.C). Dans la majorité des cas la phosphate de calcium(Fig.13.a) carbonaté est associée à l'oxalate de calcium dihydraté, et signe une hyper calciuri, lorsque elle est associée à la phosphate ammoniac magnésien elle indique une infection urinaire (Graf et Féraille, 2000). Il est observé lorsque le PH est alcalin, supérieur à 7 (Beygrine, 2011).

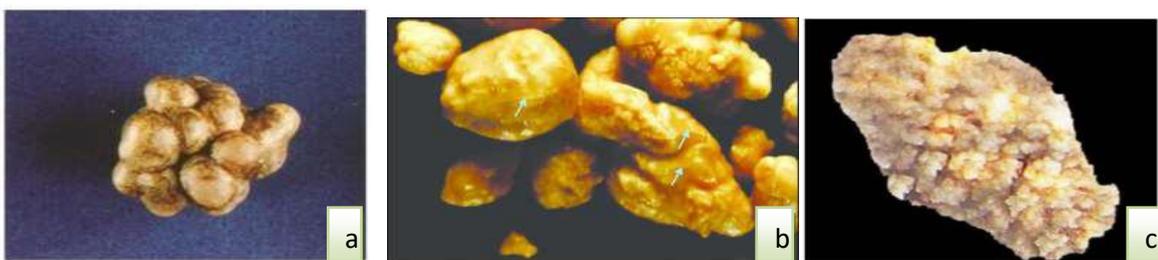


Figure13 : différents types des calculs : a- les calculs les phosphates de calcium ; b- les calculs carbatites ; c- les calculs brushite (Daudon, 2008)

I.3.5.1.3. les calculs de sturvite ou Phosphate ammoniaco-magnésien

ces calculs sont formés au cours d'infections urinaires à germe uréasique en pH alcalin (Dalibon, 2015), les calculs de sturvite représentent 10% à 15% de tous les calculs, causes principales des calculs coralliformes, sont plus fréquentes chez les femmes (Cynthia et al., 2011) (Fig.14).



Figure14 : les calculs Struvites (Al-Mamari, 2017)

I.3.5.2. Calculs organiques

I.3.5.2.1. Acide urique

L'acide urique est le produit du métabolisme des bases puriques dont la solubilité urinaire dépend du pH. Lorsque le pH urinaire est acide (5-6) on note la cristallisation de l'acide urique (Traxer, 2007), les calculs d'acide urique comptent pour 5 à 10% des lithiases, mais dans les pays méditerranéens, ils interviendraient dans près de 30% de cas (Cynthia et al., 2011). Il existe sous deux formes cristallines, une forme anhydre et une forme dihydratée (Merigot, 2013) (Fig.15).

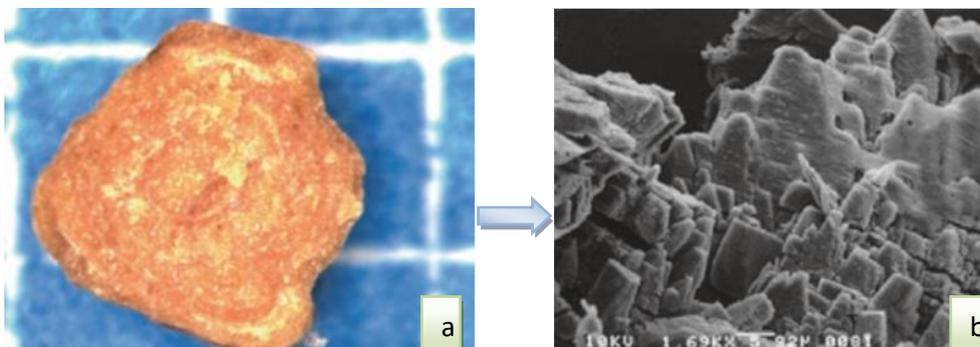


Figure15 : calcul d'acide urique. (a) : aspect brut d'une section coupée

(b) : micrographie électronique. (Al-Mamari, 2017)

I.3.5.2.2.Cystine

Ces calculs résultent d'une anomalie héréditaire du transport transépithélial rénal et intestinal de la cystine et des acides aminés dibasiques, l'excrétion urinaire excessive de cystine, le moins soluble de tous les acides aminés, entraîne la formation répétée de calculs de cystine (Jungers *et al.*, 2001) (Fig.16).

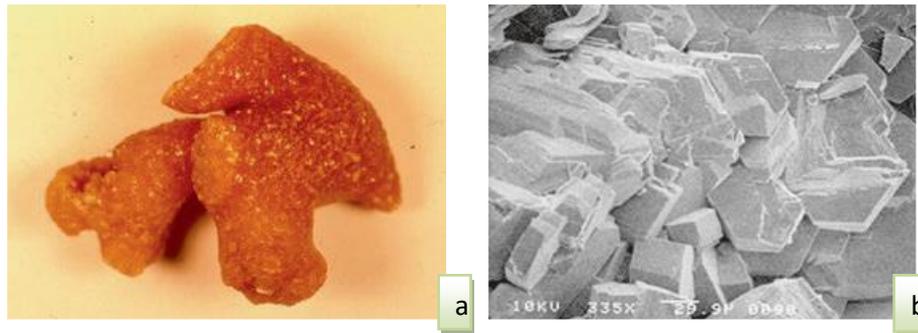


Figure16 : calcul de cystine ; a : apparence grossière ; b : micrographie électronique. (Al-Mamari, 2017)

I.3.5.3.Calculs médicamenteux

Les lithiases médicamenteuses représentent 1 à 2% d'ensemble des calculs urinaires (Daudon et Knebelman, 2011). Il existe deux voies de formation des calculs médicamenteux qui sont:

- Calculs induits par les effets des médicaments sur l'excrétion de solutés lithogènes ou sur le pH urinaire contribuant aussi à augmenter la sursaturation en composés habituels des urines (Servais *et al.*, 2006).
- Calculs constitués en tout ou partie d'un médicament «sulfamides, glafenine, triamterène, amoxicilline...» ou de ses métabolites urinaires (Servais *et al.*, 2006).(Fig.17).

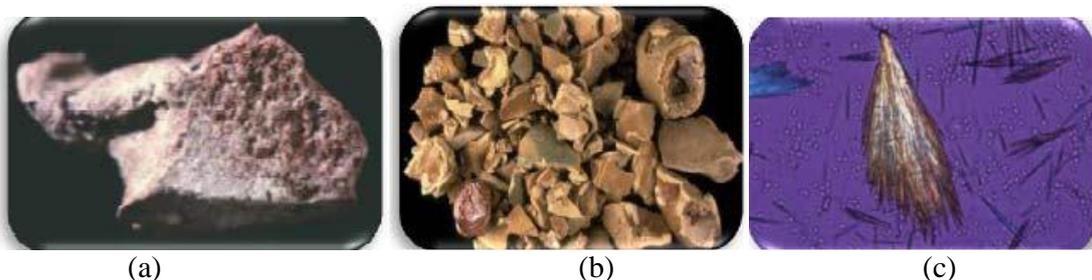
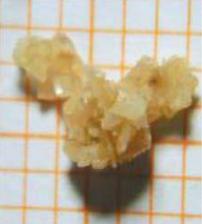
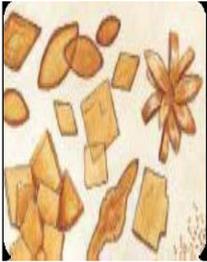
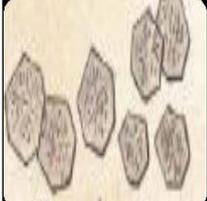


Figure17 : lithiases médicamenteuses: (a) Calcul de métabolites du triamterène, (b) Calcul d'amoxicilline, (c) Cristaux d'amoxicilline di-hydratée (Servais *et al.*,2006)

Tableau 2 : caractéristiques et morphologie des différents types de calculs

Type	Sous type	Dénomination chimique	Nom cristallin	morphologie	Caractéristiques
Lithiase minérale	Oxalate de calcium	Oxalate de calcium monohydraté (COM)	whewellite		Bruns ou jaune pâle, petits, et bien circonscrits sur les radiographies. Elles peuvent apparaître comme des haltères ou des pyramides. (Cotton et al., 2014)
		Oxalate de calcium déshydraté (COD)	weddellite		
	Phosphate de calcium		Carbatite ou brushite		Couleur blanche ou beige généralement très durs. (Cotton et al., 2014)
	Phosphate ammoniacomagnésien		Sturvite		Brun clair à la radiographie, feuilletée. Ils sont associés à des infections des voies urinaires par des bactéries productrices d'uréase. (Sekkoum, 2011)
Lithiase organique	Lithiase urique		Anhydre		Jaune ou orange, transparents sur les radiographies standard. Elles prennent plusieurs formes, losanges, rosettes, aiguilles. Jaune-vert et homogènes à la radiographie. (Denu-Ciocca et al., 2011)
			dihydraté		
	Lithiase cystinique				Les cristaux de cystine prennent une forme hexagonale ; les lithiases sont souvent bilatérales et peuvent être coralliformes. (Denu-Ciocca et al., 2011)

I.3.6.Méthodes d'analyses des calculs urinaires

L'analyse du calcul urinaire est l'étape primordiale de l'enquête étiologique chez un patient lithiasique. elle est indispensable, car permet au clinicien de poser le bon diagnostic est donc de mettre en route un traitement thérapeutique adéquat (**Abbassene , 2019**) .

I.3.6.1.Méthodes chimiques

Ces techniques classiques conventionnelles présentent plusieurs inconvénients dans l'analyse des calculs urinaires (**Nayer, 2002**)

- Ne permettent pas d'analyser les petits calculs à cause de la quantité de prise d'échantillon nécessaire à cette technique (Herring, 1962) ;
- Ne donnent aucune information sur le système cristallin (**Daudon, 2000**) ;
- Ne différencie pas entre les zones de nucléations ;
- Les réactifs utilisés ne supportent pas une longue durée de conservation ;
- Le pourcentage d'erreur est important dans ces techniques (**Nayer ,2002**)

I.3.6.2.Méthodes chromatographiques

La chromatographie est une technique basée sur les différences dans les rapports de distribution des composants d'un mélange entre une phase stationnaire (solide) et une phase mobile (non miscible) . cette technique peut être appliquée dans l'analyse des calculs organiques (acide urique, xantine ,) elle présente quelques inconvénients comme l'inadéquation à l'analyse des calculs minéraux , l'appareillage couteux et un protocole analytique long et délicat mais elle peut être utilisée comme méthode complémentaire de l'analyse (**Ochmanski et al., 1999**).

I.3.6.3. Méthodes cristallographiques

Avec un microscope optique à polarisation, il est possible d'établir la présence du matériel cristallin et d'obtenir les constantes optiques qui sont utiles dans son identification, le microscope à polarisation peut également être le seul moyen disponible pour observer et identifier des cristaux. quelques propriétés optiques qui peuvent être déterminées sont le système cristallin, le signe optique, l'indice de réfraction, l'angle de l'extinction, et la présence de la biréfringence (**Rosenfeld , 2001 ; Kaloustian et al., 2002**).

Ces propriétés peuvent être comparées aux données connues, ainsi l'utilisation appropriée du microscope à polarisation exige beaucoup de compétence, de patience et d'expérience.

La microscopie à polarisation n'est pas applicable à l'analyse des calculs qui contiennent seulement les composés amorphes, tels que les phosphates amorphes de calcium et les protéines, ce qui limite la validité de cette méthode (**Kaloustian *et al.*,2003**) .

I.3.6.4.Méthodes spectroscopiques (Spectroscopie UV-Visible)

La spectrophotométrie UV-Visible est une méthode spécifique et avantageuse pour la détermination des médicaments et /ou des métabolites des médicaments dans les calculs urinaires. Leur intérêt se voit dans sa capacité de détecter et identifier les composants du calcul qui sont solubles dans l'eau , des alcools , des acides minéraux dilués et d'autres solvants .Les composés solubilisés peuvent être détecté et identifier avec des concentrations aussi faibles que des microgrammes par millilitre , lui faisant une des plus sensibles de toutes les méthodes spectroscopiques pour l'analyse des calculs urinaires (**Houlgatte et fournier , 2004**).

A decorative floral wreath composed of pink blossoms and buds, arranged in a circular pattern. The wreath is set against a background of soft pink watercolor washes and scattered gold dots. The text "Matériel et méthodes" is centered within the wreath.

*Matériel et
méthodes*

Notre étude s'inscrit dans l'objectif de la caractérisation phytochimique de l'extrait végétal des racines de *Silybum marianum*, et de l'évaluation de son pouvoir antioxydant et antilithiasique. Elle englobe deux aspects :

- Le premier est d'ordre phytochimique, comporte d'un côté une extraction et une mise en évidence et d'un autre côté une quantification des composés phénoliques ;
- Le second aspect est consacré à une évaluation de deux activités biologiques, l'activité antioxydante et l'activité antilithiasique.

Ces deux parties sont élaborées au niveau du laboratoire de Biologie des Populations de la Faculté des sciences de l'Université M'hamed Bougara de Boumerdès et le Centre de Recherche et de Développement (CRD)

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

- Les racines de chardon Marie ;
- Les urines humaines.

II.1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué des racines de l'espèce *Silybum marianum*, la cueillette d'échantillon a été faite avant la période de floraison au mois de Février 2021 dans la région d'baghlia, située à 79 ,6 Km à l'est de la wilaya de Boumerdes.

II.1.3. Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé est composé de verrerie, d'équipements et d'appareil. Il comprend aussi un ensemble de réactifs et de produits chimiques.

II.2.Méthodes

II.2.1. Séchage, broyage et conservation

Après récupération de la plante, les racines ont été bien nettoyées et séchées naturellement à l'ombre dans un endroit sec et aéré durant 15 jours. Après séchage, le matériel végétal a été finement broyé jusqu'à l'obtention d'une poudre afin de procéder à l'extraction. Par la suite, la poudre obtenue a été conservée dans des flacons fermés, à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'au moment d'utilisation. Les différentes étapes du travail sont résumées dans la figure 18.

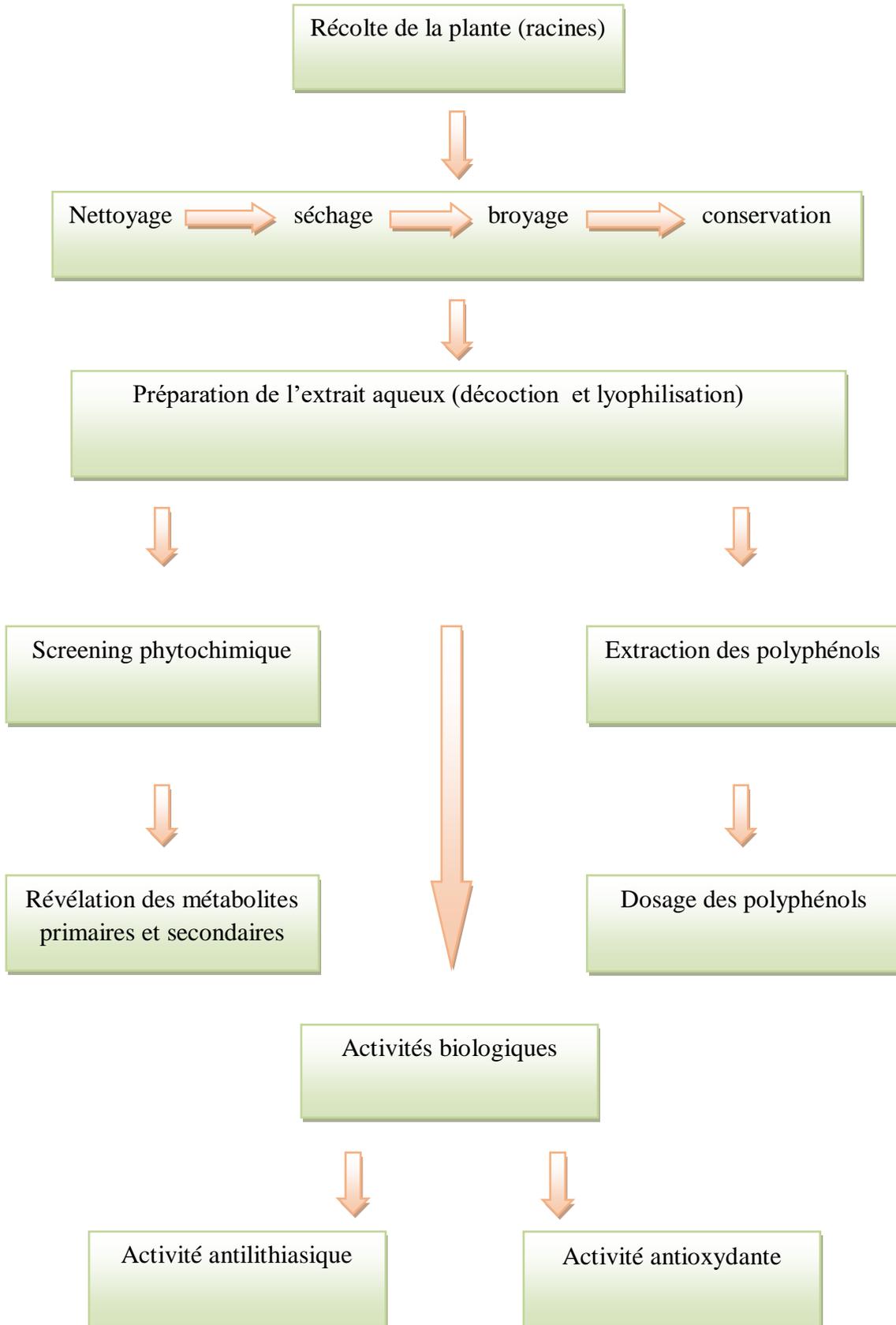


Figure 18 : schéma récapitulatif des différentes étapes du travail

II.2.2. Screening phytochimique

Le test phytochimique réalisé sur la plante de chardon Marie est un test qualitatif qui permet de mettre en évidence les substances bioactives (les métabolites primaire et secondaire) de cette plante basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation. Ces tests s'effectuent soit sur la poudre de la plante soit sur son infusé à 5%. Les méthodes d'identification utilisées dérivent de celle décrites par **Paris et Nothis (1978)**.

- **Préparation de l'infusé à 5%**

5g de poudre végétale ont été mélangés avec 100 ml d'eau distillée bouillante. Le mélange est filtré après 15 à 20 min. puis on ajuste à 100 ml d'eau distillée pour préparer l'infusé à 5 % des racines de chardon Marie.

- **Identification des tanins totaux**

A 5 ml d'infusé, on ajoute quelques gouttes de chlorure ferrique (FeCl_3) à 5%. La réaction positive donne une couleur bleu-noir en présence de tanins.

- **Identification des tanins galliques**

A 5 ml d'infusé, on ajoute 2g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl_3 . La coloration bleue foncée indique la présence des tanins galliques.

- **Identification des tanins catéchiques**

Pour 15 ml de l'infusé, on ajoute 7 ml de réactif de Stiansy. La réaction positive donne une coloration rouge.

- **Identification des glucosides**

On ajoute quelques gouttes de l'acide sulfurique (H_2SO_4) à 2g de la poudre végétale. La présence des glucosides se manifeste par l'apparition d'une coloration rouge brique.

- **Identification des coumarines**

2g de poudre végétale et 20 ml d'alcool éthylique sont laissés bouillir à reflux pendant 15 min puis filtrer. On ajoute 5 gouttes d'hydroxyde de potassium (KOH) 10% et quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) 10% au filtrat obtenu. La présence des coumarines donne la formation des troubles.

- **Identification des sénosides**

On introduit respectivement 2,5g de poudre végétale, 50 ml d'eau distillée et 2 ml d'HCl concentré. Le mélange obtenu est chauffé au bain Marie pendant 15 min. Après refroidissement le mélange est agité avec 40 ml d'éther qui sera par la suite séparé, séché avec le sulfate de sodium anhydre et évaporé à siccité. Au résidu refroidi sont ajoutés 5 ml d'ammoniaque 50% générant une coloration jaune ou orange. L'apparition d'une couleur violette indique la présence des sénosides après chauffage de la solution au bain Marie pendant 2 min.

- **Identification anthocyanes**

Quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) à 1 ml d'infusé, une coloration rouge indique la présence d'anthocyane.

- **Identification alcaloïdes**

5 g de poudre végétale sont humecté avec l'ammoniaque 50% ensuite pendant 24 heures macérés dans 50 ml du mélange éther/chloroforme (3 volumes/1 volumes). Le filtrat récupéré est épuisé par HCl 2N, et enfin on ajoute quelques gouttes de réactif de Dragendorff. La présence d'alcaloïdes se manifeste par l'apparition d'une coloration rouge.

- **Identification des flavonoïdes**

On mélange 5 ml d'infusé, 5 ml d'HCl, 1 ml d'alcool iso-amylque et un coupon de zinc. La coloration rouge orangée indique la présence des flavonoïdes.

- **Identification du mucilage**

1 ml d'infusé est ajouté à 5 ml d'éthanol absolu, le mélange est laissé 10 min. L'apparition d'un précipité floconneux indique la présence du mucilage.

- **Identification de l'amidon**

Dans un bain Marie, chauffé 5 ml de l'extrait aqueux avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée jusqu'à l'ébullition. Puis on ajoute la solution d'amidon. La présence d'amidon se manifeste par l'apparition d'une coloration bleue violacée.

- **Identification des quinones libres**

2g de poudre sont humectés par 2 ml d'HCl et 20 ml de chloroforme. Après 3 heures, le mélange est filtré puis agité en présence de 5 ml d'ammoniaque 50%. La présence des quinones libres donne une coloration rouge.

- **Identification des iridoïdes**

2 ml d'infusé sont chauffés en présence de quelques gouttes d'HCl concentré. La présence des iridoïdes donne une coloration bleue.

- **Identification des saponosides**

Quelques gouttes d'acétate de plomb sont ajoutées à 2 ml d'infusé. La présence des saponosides se lit sur la formation d'un précipité blanc.

II.2.3. Extraction des polyphénols

L'extraction des polyphénols a été effectuée en utilisant la méthode décrite par **Laoufi et al. (2020)** légèrement modifiée.

La plante est lavée plusieurs fois à l'eau distillée pour la débarrasser de la poussière et des résidus de terre. Ensuite, une solution mère de la plante, à 40 g/l dans l'eau distillée bouillante, a été préparée. Après infusion durant dix minutes, la solution est filtrée sous vide et sur membrane 0,2 µm. Des solutions filles dans l'eau distillée à différentes concentrations (0,0625–1 g/l) ont été préparées.

- **Calcul du rendement de l'extraction**

Le rendement d'extraction est calculé en pourcentage du rapport de la masse de l'extrait obtenu sur la masse totale de la poudre végétale utilisée dans l'extraction selon la formule suivante :

$$R\% = (m - m_0) \times 100 / m_T$$

Avec :

m : La masse du ballon après extraction ;

m₀ : La masse du ballon vide (avant l'extraction) ;

(m-m₀) : La masse de l'extrait sec ;

m_T : La masse totale de poudre végétale utilisée dans l'extraction.

II.2.4. Dosage des polyphénols totaux

- **Détermination de la teneur en polyphénols**

La quantification des polyphénols totaux est effectuée par un spectrophotomètre « Optizen 2120/U », en utilisant le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par **Wong *et al.*(2006)**.

- **Principe**

Le principe de cette méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif, dans une solution alcaline. 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(W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}). La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (**Charpentier et Boizot, 2006**).

- **Mode opératoire**

Une quantité de 0.5ml de chaque échantillon est prélevée dans des tubes à essai, 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois) est ajouté, après 3 à 5 min d'incubation, 1ml de carbonate de sodium à 20% est additionné. L'ensemble est bien mélangé et incubé pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance de l'extrait est mesurée à 760 nm contre un blanc. Le blanc est représenté par 0,5 ml d'éthanol additionné à 1 ml du Folin-Ciocalteu et 1ml de bicarbonate de sodium 20%.

- **Expression des résultats**

Le taux de polyphénols totaux a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire établie avec des concentrations précises de l'extrait d'étalon « acide gallique », dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent acide gallique par extrait sec de poudre végétale.

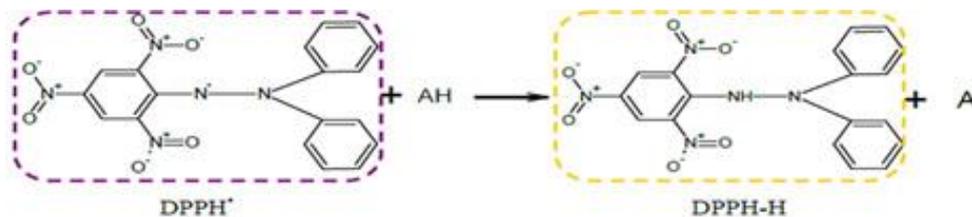
II.2.5. Tests des activités biologiques

II.2.5.1. Activité antioxydante

II.2.5.1.1. Méthode de piégeage du radical libre DPPH

- **Principe**

Le 2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. Le test consiste à mettre le radical DPPH de couleur violette en présence des molécules dites antioxydants afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical (Fig.19). La forme réduite de couleur jaune n'absorbe plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde (**Haddouchiet al.,2016**).



Ou AH est un composé antioxydant capable de céder un H^+ au radical DPPH.

Figure 19 : forme réduite du radical DPPH (**Haddouchi et al., 2016**)

- **Mode opératoire**

Le protocole expérimental suivi est celui de **Sanchez-Moreno et al. (1998)**. 1ml de chaque solution éthanolique des extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 2 ml de la solution éthanolique du DPPH (1mM).

- **Expression des résultats**

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc à 517nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à une température ambiante.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'antioxydante, calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, selon la formule accordée à **Yen et Duth (1994)** ;**Benrahal(2012)** :

$$I\% = \frac{A_0 - A_i}{A_0} \times 100$$

Avec :

A_0 : Absorbance moyenne du radical seul ;

A_i : Absorbance du radical libre en présence d'antioxydante après trente minutes de contact ;

$I\%$: pourcentage d'inhibition.

II.2.5.2. Activité antilithiasique

Dans notre travail, on s'est intéressé à évaluer l'effet de l'extrait aqueux des racines de *Silybum marianum* sur la cristallisation oxalocalcique *in vitro*.

II.2.5.2.1. Mode opératoire

La méthodologie utilisée est analogue à celles de travaux antérieurs de **Laoufi et al. (2020)** sur l'étude des feuilles de la plante d'*Urtica dioica*. Les urines de 24 heures, de sujet masculin sans antécédents lithiasiques, ont été collectées et conservées dans une bouteille en plastique, sans ajout d'agent antibactérien. Une aliquote de 4 ml d'urine et de 100 µl d'infusion de la plante à différentes concentrations ($C_5 = 1$ g/l, $C_4 = 0,5$ g/l, $C_3 = 0,25$ g/l, $C_2 = 0,125$ g/l, $C_1 = 0,0625$ g/l) ont été placés dans plusieurs tubes. En parallèle, un tube sans extrait de plante est laissé comme référence. Tous les tubes sont incubés à 37 °C. La cristallisation de l'oxalate de calcium est induite par l'addition de 100 µl de solution d'oxalate de sodium à 0,1 mol/l, préalablement conservée à 37 °C. Puis, tous les tubes sont incubés à nouveau à 37 °C, pendant 30 minutes. La lecture de la densité optique (DO) de chaque échantillon se fait à 620 nm. Enfin, les échantillons ont été filtrés sous vide et sur membranes 0,2 µm. Les filtres ont été observés par microscopie électronique à balayage (MEB)

II.2.5.2.2. Observation au MEB

L'observation au MEB a nécessité une préparation préalable des échantillons afin de pallier au caractère isolant de ces derniers. Dans un premier temps, les échantillons constitués de morceaux de 1 cm de côté environ (papier-filtre) ont été collés avec de la laque d'argent sur un porte-échantillon adaptable au porte-objet du MEB. Une métallisation par pulvérisation cathodique a été ensuite réalisée afin de déposer une couche d'or d'environ 20 nm sur l'ensemble, ce qui permet l'évacuation des charges électriques lors de l'observation. Le MEB utilisé est un LEO Gemini 982 à canon à effet de champ (FEG) pouvant obtenir des images très résolues à basse tension (< 5 kV), ce qui a l'avantage d'éviter d'endommager les échantillons.

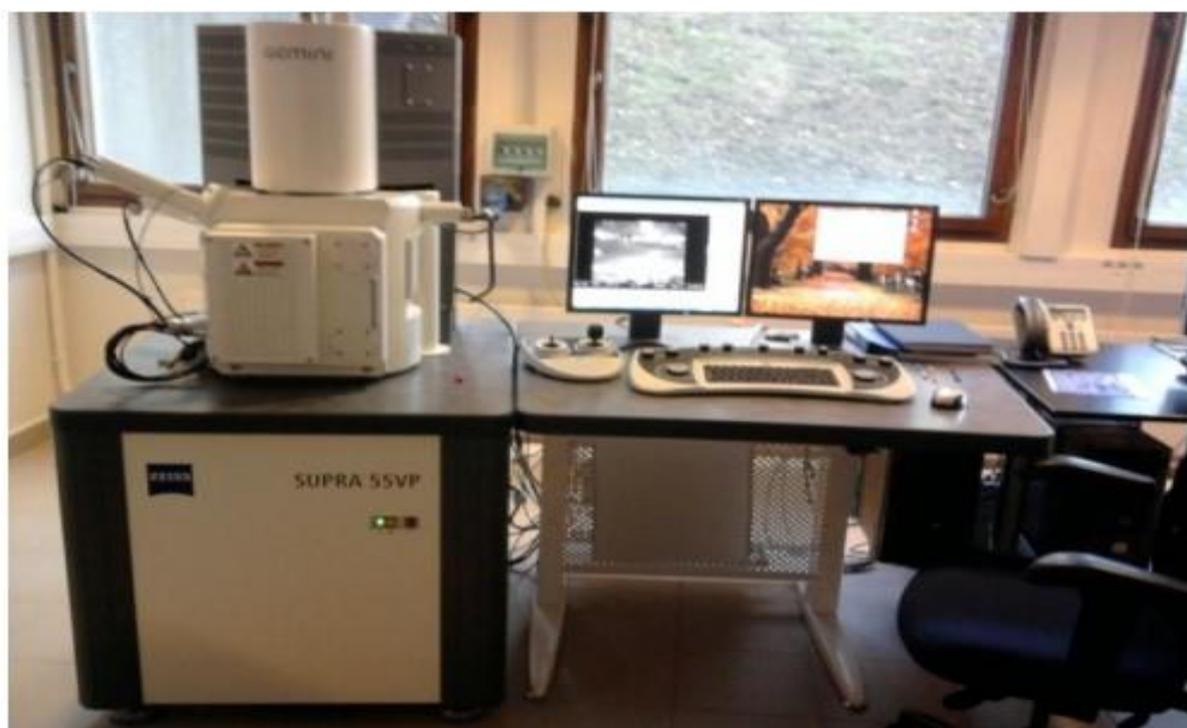


Figure 20 : microscope électronique à balayage (MEB) Zeiss SUPRA55VP/Gemini (LPS) (Hannache, 2014)

II.2.6. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été faite par le logiciel Statistica (6). Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm ES (erreur standard). Une différence significative est représentée par un $p < 0,05$.

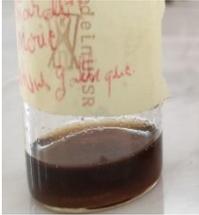
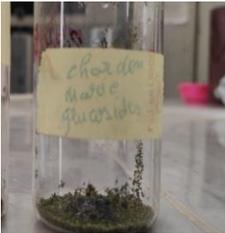
A decorative floral wreath composed of a thin gold circle. The wreath is adorned with delicate pink blossoms and buds, some with visible stamens, and is surrounded by soft, watercolor-like pink washes and scattered gold dots of varying sizes. The overall aesthetic is elegant and feminine.

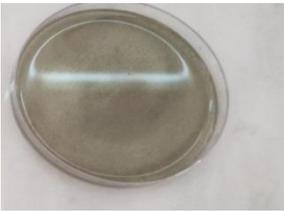
*Résultats et
discussion*

III.1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique effectué a pour objectif la mise en évidence de familles de composés phénoliques existant dans les extraits. Les résultats de ce criblage phytochimique sont reportés dans le tableau 3. Il révèle la présence ou l'absence d'un groupe de métabolites secondaires.

Tableau 3: résultats de la phytochimie qualitative des extraits des racines de *Silybum marianum* par décoction.

Groupe chimique	Indicateur	Résultats
Tanins totaux	Couleur bleu-noir	 -
Tanins galliques	Couleur bleu -foncé	 -
Tanins catéchique	Coloration rouge	 -
Glucosides	Rouge brique	 +++

Coumarines	Formation des troubles		-
Anthocyanes	Coloration rouge		-
Flavonoïdes	Rouge orangée		-
Mucilage	Apparition d'un Précipité floconneux		+++
Amidon	Bleu violacée		-
Quinones libres	Coloration rouge		-
Iridoïdes	Coloration bleu		-

Saponosides	La formation d'un précipité blanc		+++
--------------------	-----------------------------------	--	-----

(-) : absence de substance

(+) : faible présence de substance

(++) : présence moyenne de substance

(+++): fort présence de substance

Les résultats phytochimiques réalisés sur les extraits de la racine de *Silybum marianum* obtenus par décoction, ont révélé la présence de trois groupes de composés bioactifs, la présence des glucosides, des mucilages, et des saponosides.

nous observons une absence totale de tanins totaux, tanins galliques, tanins catéchiqes coumarines, anthocyanes, flavonoïdes, amidon, quinones libre, iridoïdes.

Sur l'ensemble des résultats obtenus, nous remarquons que la plante étudiée est plus ou moins riche en métabolites secondaires. Les tests phytochimiques réalisés nous ont permis d'avoir une idée générale sur la composition chimique de la plante étudiée.

Le travail mené par **Akhtar et al., (2015)**, sur 61 espèces collectées au Pakistan montre que les résultats du screening phytochimique effectué sur l'extrait aqueux obtenu par macération des parties aériennes de la plante *Silybum marianum*, révèlent la présence de tanins et d'alcaloïdes et l'absence des terpènes, des glucosides, des saponines et des coumarines.

Shah et al., (2011) ont rapporté la présence de flavonoïdes, de phénols et de tanins de l'extrait aqueux de cette plante.

Les travaux de **Syed Muhammad et al., (2011)**, montrent que les fleurs de *Silybum marianum* sont riches en flavonoïdes, en phénols et en tanins, alors que les saponines et les alcaloïdes n'ont pas été détectés.

Cette différence dans la richesse en métabolites est attribuée à l'adaptation évolutive liée étroitement aux conditions biotique (l'espèce elle-même) et abiotique (milieu). selon **Fadili et al., (2015)** . les conditions climatiques (température élevée, exposition solaire , sècheresse ,

salinité ,qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires influencent la composition chimique à différents lieu de croissance , tout au long du développement de la plante .

Ces différences peuvent être dues à certains facteurs écologique, en particulier l'âge de la plante, la période du cycle végétatif , et les caractères édaphiques des sols ou même à des facteurs génétiques (**Athamena, 2009**) .

Les résultats précités, prouvent que la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires varie selon les parties de la plante. Pour chaque espèce végétale et au sein de la même espèce, la nature des composants phytochimiques est à l'origine des activités biologiques de chaque extrait ou fraction. Ces activités dépendent aussi de la teneur de la substance ou des substances biologiquement actives (**Mohammedi, 2013**).

III .2 . Rendement

Le rendement d'extraction par décoction des racine de *Silybium marianum* est de l'ordre de 19.75%.

Selon étude de **Ikhtiar Khan et al., (2007)** ont trouvé que la racine de *Silybium marianum* a un rendement de 26.05%, ce rendement est supérieure par rapport au résultat trouvé dans notre étude.

Cette différence dans le rendement peut être expliquée par les conditions environnementales, climatiques et période de collecte ainsi que par les facteurs génétiques et les conditions expérimentales.

Selon **benchachouaa (2019)**, les extractions par décoction montrent que l'extrait aqueux présente le rendement le plus élevé (24.65%) et l'extrait hydroéthanolique présente le plus faible rendement (12.13%).

Plusieurs travaux montrent que les rendements sont plus élevés pour l'extrait aqueux que l'hydro-méthanolique (**Bonnaillie et al., 2012**). Cela peut s'expliquer par le fait que l'eau est un solvant fortement polaire connu pour extraire une large gamme de molécules dont une quantité importante de composés non phénoliques. En effet, l'eau est le solvant universel utilisé pour l'extraction (**Scalbert, 1992 ; Cowan, 1999**).

Selon **Békro et al., (2007)**, les substances solubles dans l'eau sont présentes en quantité importante. Elles sont l'une des causes essentielles de l'augmentation du rendement correspondant à la méthode d'extraction à l'eau chaude ou par décoction. Ces substances peuvent être de nature protéique ou glucidique. Il a été démontré que l'extraction par solvants à température élevée permet d'obtenir des rendements plus élevés en extraits secs qu'à température ambiante et aussi plus élevés pour les extraits aqueux que méthanolique (**Majhenic et al., 2007**).

Le rendement d'extraction varie non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais la diversité structurale de chaque plante est aussi responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols (Koffi *et al.*, 2010 ; Mahmoudi *et al.*, 2013).

Selon Perva-Uzunalic *et al.*, (2006) ; Penchev (2010) et Michel (2011). Le rendement d'extraction varie en fonction de plusieurs paramètres, tels que les paramètres de l'extraction solide- liquide des polyphénols, la nature du solvant et de sa polarité, la température, le temps de contact du matériel végétal avec le solvant d'extraction ainsi que la diminution de la taille des particules pour augmenter le coefficient de diffusion du solvant et le degré d'agitation.

III.3. Dosage des polyphénols

La quantification et l'identification des polyphénols des extraits végétaux sont considérées comme la première étape vers l'évaluation de la capacité antioxydante.

Dans ce contexte, nos extraits ont été caractérisés quantitativement par spectrophotométrie, afin de déterminer leurs teneurs en polyphénols totaux.

La concentration en polyphénols totaux de l'extrait aqueux de Chardon Marie, déterminée selon la procédure de Folin-Ciocalteu, est calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Fig.21).

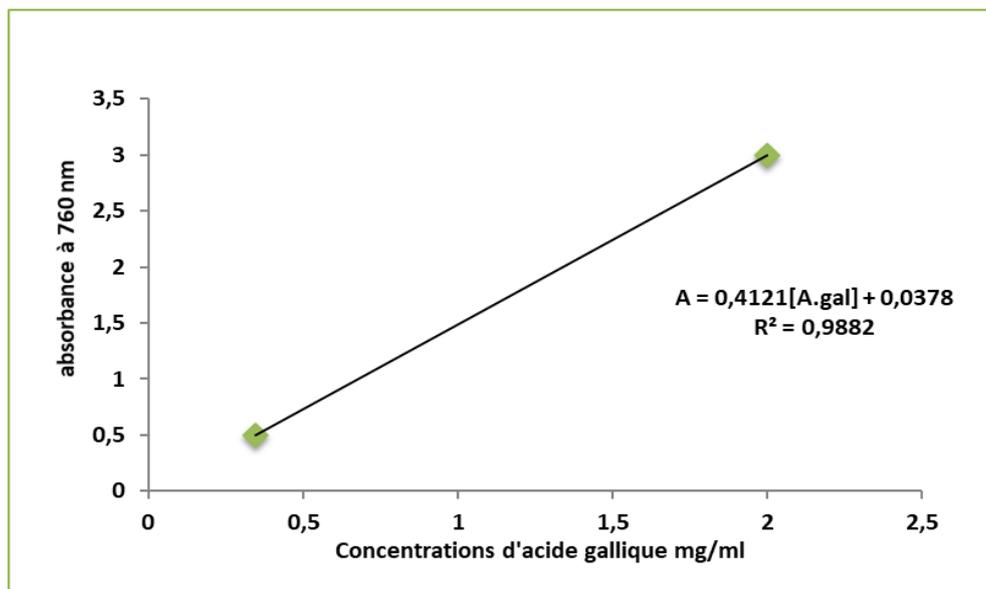


Figure 21 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

Les résultats révèlent que la teneur en polyphénols de l'extrait aqueux des racines de chardon Marie est de 361,35 mg EAG/g extrait sec.

Le travail réalisé par **Alaoui (2016)** a révèlé un taux des polyphénols de 45. 31mg EAG/ g MS .dans l'extrait éthanolique des graines de *silybum marianum* récoltées en mois d'octobre au bord des champs à Rabat. Les résultats de **Ben rahal (2012)** ont montré un taux de polyphénols égale à 14.7 mg EAG/g dans l'extrait des graines de *silybum marianum* récoltées en mois de mai jusqu' au mois d'août au sud de la Tunisie obtenu par le soxhlet, une méthode classique pour l'extraction solide-liquide.

Ces différences notées sont probablement dues à la partie de la plante utilisée, le type et la concentration du solvant, la méthode d'extraction, la période et la région de récolte (**Benchaachoua, 2019**).

III. 4. Activité antioxydante

L'activité anti radicalaire est réalisée par la méthode du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) qui est une méthode fréquemment utilisée pour sa simplicité. Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron, la forme non radicalaire DPPH-H est formée (**Bortolomeazzi et al., 2007**). L'inhibition de la décoloration du radical DPPH est en fonction de la concentration des différents extraits utilisés et du témoin BHT (antioxydante de référence).

L'activité antioxydante des extraits est exprimée en IC₅₀, elle définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH.. Tous les extraits ont un pouvoir anti-radicalaire envers le DPPH. , plus la valeur de l'IC₅₀ est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydante puissant.

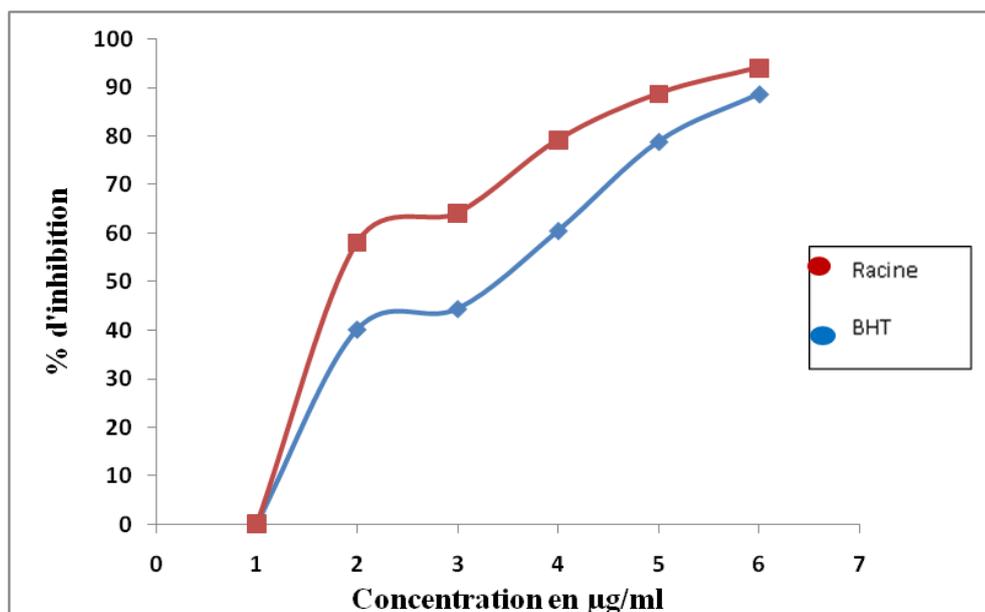


Figure 22 : variation de l'inhibition de DPPH en fonction de la concentration d'extrait aqueux des racines de chardon Marie et de BHT

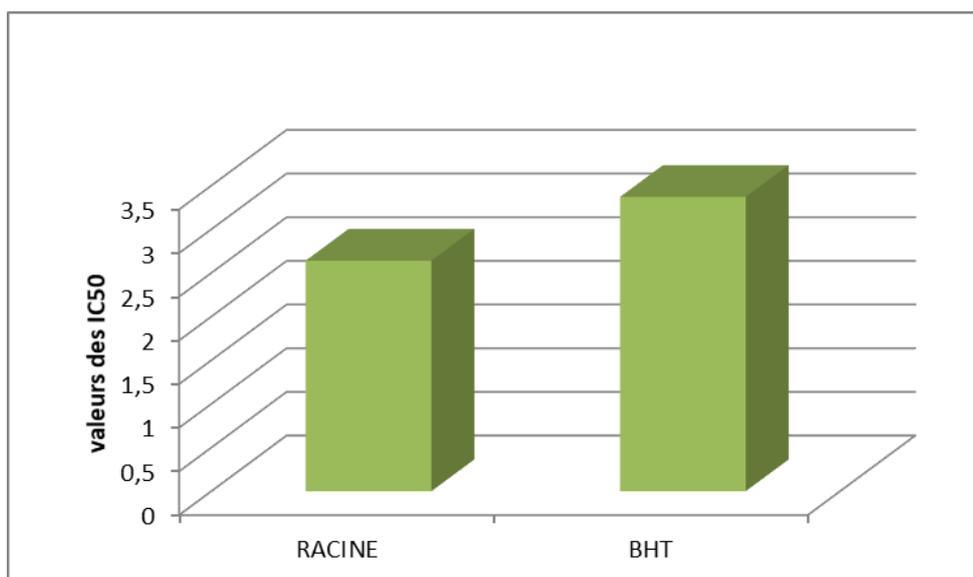


Figure 23 : activité anti-radicalaire de l'extrait aqueux des racines de chardon Marie et de BHT

En conclusion, nos données *in vitro* ont prouvé que les racines de Chardon Marie possèdent une puissante propriété antioxydante avec une $IC_{50} = 2,64 \mu\text{g/ml}$ et le BHT il a montré aussi une activité anti radicalaire intéressante avec une $IC_{50} = 3,37 \mu\text{g/ml}$. mais le BHT s'avère moins actifs que l'extrait des racines de *silybum marianum*.

Selon **Benchaachoua (2019)**, l'extrait aqueux des feuilles par macération a donné une IC₅₀ de 133,75 µg/ml. Cette valeur est quatre fois supérieure à celle trouvée par **Gamil et al., (2013)** indiquant une valeur de IC₅₀ de 30,34 µg/ml. Par contre l'extrait aqueux de feuilles par décoction a donné une valeur d'IC₅₀ de 48,64 µg/ml (Tab.4).

Tableau 4 : comparaison des études réalisées sur le pouvoir antioxydant de *silybum marianum*

Nom de la plante	La partie utilisée	Méthode d'extraction	Solvant d'extraction	Résultats IC50	Références
<i>Silybum marianum</i>	Feuille	macération	Eau	133,75µg/ml	Benchaachoua(2019)
<i>Silybum marianum</i>	Feuille	macération	Eau	30,34µg/ml	Gamil et al.,(2013)
<i>Silybum marianum</i>	Feuille	décoction	Eau	48, 64µg/ml	Gamil et al.,(2013)
<i>Silybum marianum</i>	Racine	décoction	Eau	2,64µg/ml	Etude présentée

Cette différence entre les résultats peut-être due à la méthode d'extraction ou expliquer par la composition, la teneur en composés phénoliques et respectivement l'activité antioxydante qui varient selon les organes de la plante, l'origine géographique et à la période de la récolte.

Benchaachoua(2019).

III .5 . Activité antilithiasique

Les observations faites par le microscope électronique à balayage ont fait ressortir selon les échantillons les résultats suivants : Pour l'échantillon 1, la référence (non traité par l'extrait phénolique), on note une absorbance de $0,404 \pm 0,001$. L'observation au MEB des cristaux retenus dans le filtre de cet échantillon a révélé la présence de deux sortes de cristaux : des cristaux d'oxalate de calcium monohydraté arrondis avec un centre légèrement plus foncé, ou Whewellite, et quelques cristaux d'oxalate de calcium dihydraté, ou weddellite de forme octaédrique (en enveloppe carré), de taille comprise entre **11-17µm** (Fig. 24)

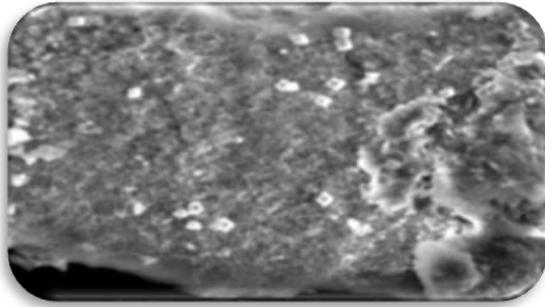


Figure 24 : photo d'échantillon de référence sans extrait.

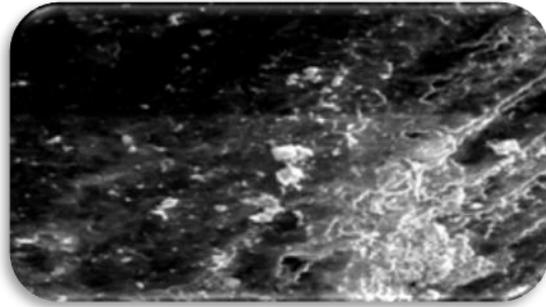
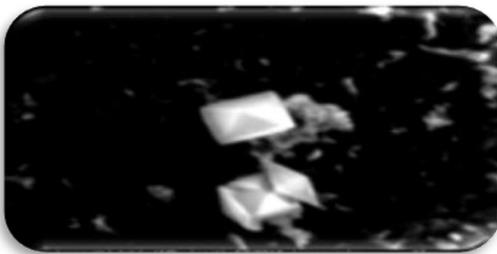
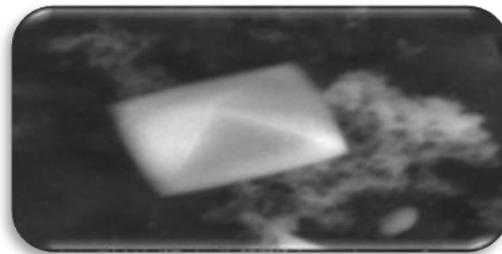


Figure 25 : photo de l'échantillon en présence d'extrait chardon marie prise par MEB

La valeur relevée lors de la lecture de l'absorbance de l'échantillon 2 en présence d'extrait chardon marie à une concentration de $C_1=0,0625\text{g/l}$ est de $0,403\pm 0,002$. Les cristaux observés étaient de taille plus élevée que celle observée pour le reste des échantillons, soit **13-15 μm** (Fig. 25 et 26).



(a) : agrandissement 1000x



(b) : agrandissement 5000x

Figure 26 : photos de l'échantillon 2 en présence de l'extrait chardon marie à la concentration $C_1=0,06\text{g/l}$ prises par le MEB

La valeur de l'absorbance relevée sur l'échantillon 3 traité par l'extrait chardon marie à une concentration $C_2=0,12\text{g/l}$ est de $0,383\pm 0,001$. L'observation en MEB des cristaux retenus dans le filtre de cet échantillon a montrée la présence de cristaux de taille allant de **9 à 11 μm** (Fig. 28a et 28b).

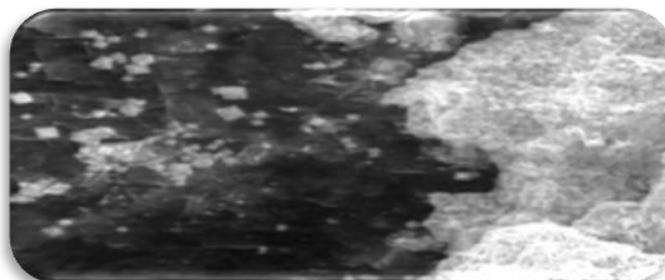
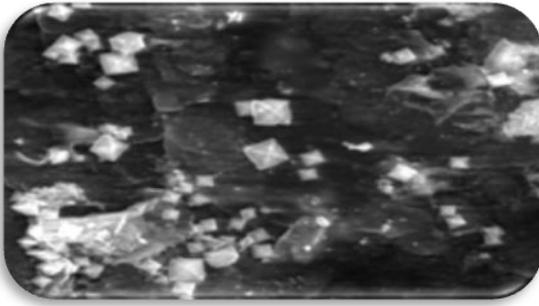
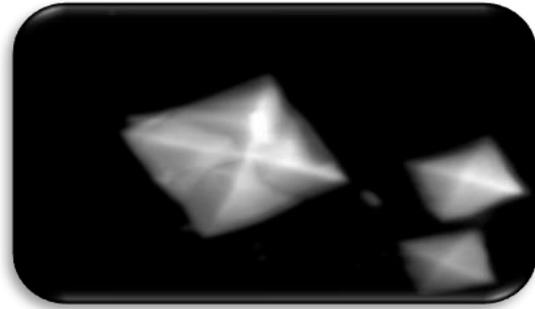


Figure 27 : photo de l'échantillon 3 traité par l'extrait chardon marie à la concentration $C_2=0,125\text{g/l}$ prise par MEB (vue globale)



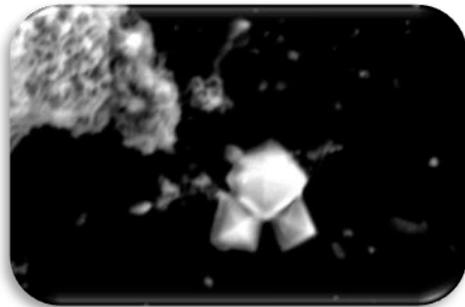
(a) : grandissement 1000x



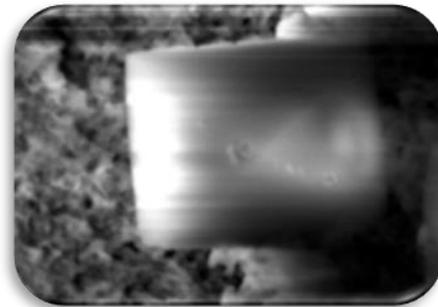
(b) : agrandissement 5000x

Figure 28(a.b) : photos de l'échantillon 3 traité par l'extrait chardon marie à la concentration $C_2=0,125\text{g/l}$ prises par le MEB

En présence d'extrait chardon marie à la concentration $C_3=0,25\text{ g/l}$ (échantillon 4), l'absorbance retenue est de $0,325\pm 0,001$. Les cristaux et les agrégats observés sont illustrés dans la figure 29a- 29b. La taille des cristaux varie entre **9 et 11 μm** .



(a) : agrandissement 4000x



(b) : agrandissement 8000x

Figure 29 : photos de l'échantillon 4 en présence d'extrait chardon marie à la concentration $C_3=0,25\text{g/l}$ prises par MEB

En présence d'extrait de chardon marie à la concentration $C_4=0,5\text{ g/l}$, l'absorbance relevée est de 0,236. Des cristaux de Weddellite sont observés dans la figure 32, dont la taille est comprise entre **7 et 10 μm** . D'autres cristaux sont observés dans les Fig. 31a et 31b.

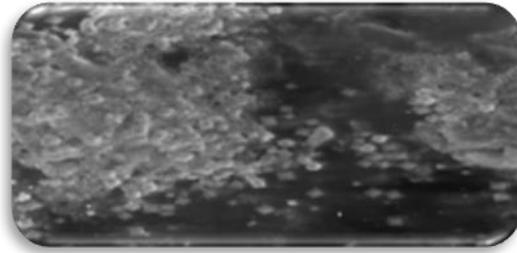
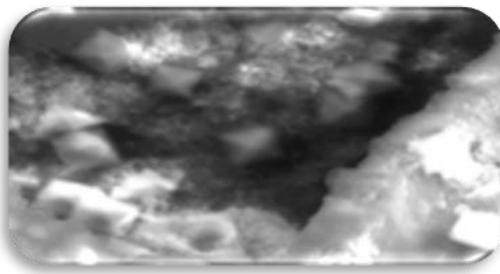
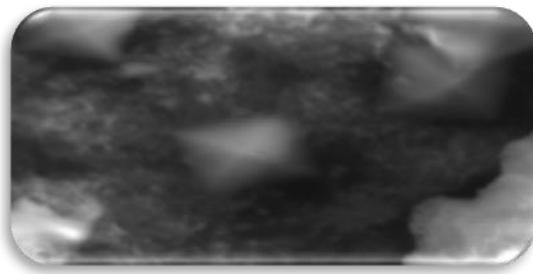


Figure 30 : photo de l'échantillon 5 en présence d'extrait chardon marie à la concentration



(a) : agrandissement 2000x



(b) : agrandissement 4000x

Figure 31(a.b) : photos de l'échantillon 5 en présence d'extrait chardon marie à la concentration $C_4=0,5\text{g}$ /prises par le MEB

La lecture de l'absorbance de l'échantillon 6, en présence d'extrait chardon Marie à la concentration $C_5=1\text{g/l}$ est de $0,220\pm 0,002$. Plusieurs cristaux Weddellite ont été observés dans la figure 33a -33b avec une taille inférieure à $5\ \mu\text{m}$.

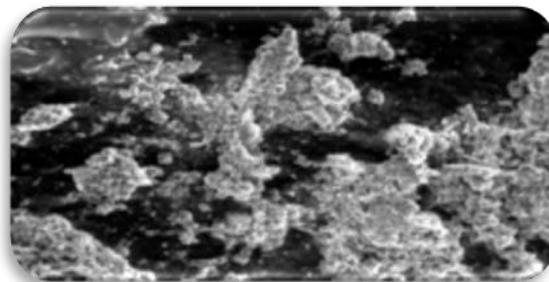


Figure 32 : photo de l'échantillon 6 en présence d'extrait de chardon marie à la concentration $C=1\text{g/l}$ prises par MEB (vue globale)

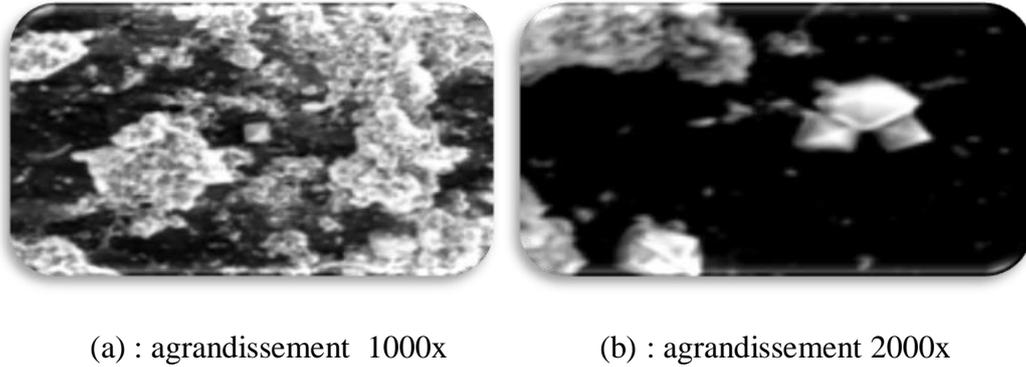


Figure 33(a.b) : photos de l'échantillon 6 en présence d'extrait de chardon Marie à la concentration C5=1g/l prises par MEB

A l'issue de ces observations, il ressort une évolution forte intéressante en passant de l'échantillon de référence aux échantillons en présence de différentes concentrations de l'extrait chardon Marie. Il s'agit de la disparition complète de l'oxalate de calcium monohydrate Whewellite suite à l'ajout de l'extrait polyphénolique chardon marie, et ce à toutes les concentrations prises. La présence de la Whewellite dans l'urine est un paramètre de risque lithogène (**Daudon et al., 2004**). Cette modification de la composition des urines est en faveur de corroborer l'effet antilithiasique chardon marie à différentes concentrations prise dans cette étude.

L'extrait de la plante pourrait contenir des substances inhibitrices de la croissance de l'oxalate de sodium monohydrate. Cette propriété chardon marie pourrait être très intéressante dans la prévention des lithiases oxalocalcique dont la fréquence est élevée (**Harrache et al., 1996 ; Harrache et al., 1997**). En effet, plus la concentration de l'infusion de la plante augmente et plus la DO augmente, à cause de l'augmentation du nombre de cristaux et par conséquent la sursaturation diminue. Ainsi, l'augmentation de la concentration de l'extrait testé favorise une réduction de la taille des cristaux dans l'urine.

Les travaux réalisés par **laoufi et al.(2020)** sur l'extrait polyphénolique des feuilles d'*urtica dioica* ont montré la disparition complète de l'oxalate de calcium monohydraté Whewellite suite à l'ajout de l'extrait végétal et ce à toutes les concentrations prises .On constate que l'extrait de la plante pourrait contenir des substances inhibitrices de la croissance de l'oxalate de sodium monohydraté. Cette propriété d'*urtica dioica* pourrait être très intéressante dans la prévention des lithiases oxalocalcique. cependant, les cinq échantillons en présence de l'extrait de la plante contiennent des cristaux de Weddellite , ce qui a permis de constater que

l'infusion d'*Urtica dioica* a un effet inducteur de la cristallisation de l'oxalate de calcium dihydraté dans des urines de sujets sains , puisque sa présence à concentration élevée a eu pour effet l'augmentation du nombre de cristaux . Cependant, la seule présence de cristaux dans les urines est une condition insuffisante pour développer un calcul urinaire, puisque toutes les urines peuvent en contenir. En outre, la présence d'agrégats cristallins de weddellite , en présence de l'extrait aqueux de la plante , quelle que soit la concentration , peut être un indice d'un déficit en inhibiteurs de cristallisation qui s'ajoute à la sursaturation du milieu . dans ce modèle biologique qui est l'urine totale, *Urtica dioica* a montrée des propriétés controversées, elle est d'une part inhibitrice de la cristallisation de l'oxalate de calcium monohydrate, et présent d'autre part un effet promoteur amoindri à des concentrations diluées, sur la cristallisation de la weddellite(Laoufi *et al.*, 2020)

Selon les travaux menés par **Atmani et Khan (2000)** afin d'évaluer l'efficacité d'un extrait de *Herniaria hirsuta* sur la cristallisation de l'oxalate de calcium in vitro, ont révélé que l'extrait végétal a favorisé la précipitation des particules d'oxalate de calcium dans l'urine totale. Les observations au MEB ont montré qu'il y avait plus de cristaux, mais plus petits, avec des concentrations croissantes d'extrait. Ces résultats ont été codés dans une expérience indépendante de nucléation, qui a montré que l'extrait contenait des agents nucléateurs .L'extrait de *Herniaria hirsuta* induit plus de cristaux dans l'urine totale, ce qui réduit la sursaturation et la taille des particules. Cette propriété est donc avantageuse pour prévenir la formation des calculs urinaires, en induisant l'excrétion des petits cristaux et réduire le risque de leur rétention dans les voies urinaires. De plus, l'extrait de la plante favorisé la formation de l'oxalate de calcium dihydraté plutôt que de cristaux monohydratés , donc il peut contenir des substances qui inhibent la croissance des cristaux whewellite . IL peut également contenir des substances qui inhibent l'agrégation des cristaux de l'oxalate de calcium .Ces propriétés de *Herniaria hirsuta* pourraient être bénéfiques pour prévenir la formation de calculs rénaux.

Tableau 5 : tableau comparatif des études réalisées par des extraits végétaux sur la cristallisation oxalocalcique

Nom de la plante	La partie utilisée	Méthode d'extraction	Résultats	références
<i>Urtica dioica</i>	feuilles	infusion	-inhibe la cristallisation de l'oxalate de calcium monohydraté. -favorise la cristallisation de l'oxalat de calcium dihydraté.	Laoufi et al.(2020)
<i>Herniaria hirsuta</i>	La plante entière	décoction	-favorise la nucléation des cristaux. -inhibe la formation de l'oxalate de calcium monohydraté -favorise la formation de l'oxalate de calcium dihydraté.	Atmani et Khan (2000)
<i>Silybum marianum</i>	Les racines	décoction	-favorise la cristallisation de l'oxalate de calcium dihydraté. -inhibe la formation de l'oxalate de calcium monohydraté.	Etude présentée

Malgré la différence de plante, de la partie utilisée et de la méthode d'extraction, on remarque que les résultats constatés sont presque les mêmes. les trois extraits végétaux sont inhibiteurs de l'oxalate de calcium monohydraté et promoteurs de l'oxalate de calcium dihydraté, de plus *L'herniaria hirsuta* favorise la nucléation des cristaux.



Conclusion

Pour combattre les diverses pathologies, l'homme a utilisé des différents médicaments, mais ces derniers peuvent causer quelques complications graves. C'est pour cela qu'il a recouru à la médecine traditionnelle par l'utilisation des substances naturelles assimilables par l'organisme et qui représentent le premier réservoir de nouveaux médicaments.

Dans ce travail, nous avons tenté de traiter un problème de santé (la lithiase urinaire) par l'utilisation des racines de la plante de *silybum marianum* de la région de baghlia (Boumerdes). L'effet de l'extrait aqueux des racines de cette plante a été étudié sur la formation des calculs d'oxalate de calcium et sur l'activité antioxydante *in vitro*.

Le screening phytochimique de *silybum marianum* a révélé sa richesse en polyphénols, saponosides, mucilage et en glucosides.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adaptant la méthode colorimétrique de Folin-ciocalteu a révélé un taux très important des polyphénols (361,35 mg EAG/g) dans l'extrait des racines de chardon Marie, suivi d'un rendement d'extraction de polyphénols égale à 19.75%.

L'activité antioxydante des extraits de *silybum marianum* a été évaluée par méthode de piégeage de radicaux libres DPPH. Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux des racines de *silybum marianum* possède une grande activité antioxydante (2.67 µg/ml) par rapport au témoin positif (3.37 µg/ml). Cela est peut-être lié à sa richesse en composés phénoliques qui possèdent la propriété de piéger les radicaux libres et de réduire les oxydants.

L'extrait aqueux des racines de chardon Marie a montré des résultats significatifs pour l'effet antilithiasique en particulier la cristallisation de l'oxalate de calcium dans l'urine. En fait l'observation au microscope à balayage a révélé que l'augmentation de la concentration en extrait a favorisé la réduction de la taille des cristaux, inhibe la cristallisation de l'oxalate de calcium monohydraté et favorise la formation de l'oxalate de calcium dihydraté.

Enfin, l'ensemble des résultats obtenus ont démontré l'efficacité de l'extrait aqueux des racines de *Silybum marianum* dans l'inhibition de la cristallisation de l'oxalate de calcium. Ce résultat prometteur est un grand pas vers la recherche d'un remède efficace contre la

formation de lithiase urinaire dans l'avenir et ceci par la caractérisation et la détermination des substances bioactives responsables à cette activité.

Afin de compléter ce travail, il serait intéressant de :

- ✓ Valoriser l'extrait de la plante par des tests sur autre activités biologiques ;
- ✓ Donner plus d'importance aux racines de chardon Marie puisque à notre connaissance, c'est la première mention de cette partie dans une approche phytochimique ;
- ✓ Elargir l'étude du pouvoir antilithiasique aux autres parties de la plante ;
- ✓ Accompagner cette étude *in vitro* avec une autre *in vivo*.



*Références
bibliographiques*

A

- Abdulmajed, K., Mcguigan, C., Heard, C. M. (2005).** Topical delivery of retinyl ascorbate: 4. Comparative anti-oxidant activity towards DPPH. *Free Radic. Res.* ; 39: 491-498.
- Ahmad, N., Fazal, H., Abbasi, B. H., Anwar, S., Basir, A. (2012).** DPPH free radical scavenging activity and phenotypic difference in hepatoprotective plant (*Silybum marianum* L.). *Toxicol. Ind. Health.*
- Akhtar, N., Ihsan, UH., Bushra. M. (2015).** Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 medicinal plant species, *Arabian Journal of Chemistry* ; 1-13.
- Akroum, S. (2011).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. Thèse de doctorat en sciences. Option physio-toxicologie. Constantine, 4p
- Alaoui, IS. (2016).** Valorisation de deux plantes marocaines *Melia azedarach* et *silybum marianum*. Thèse de doctorat. Université Mohamed V, 150p.
- Al-Mamari, S. A. (2017).** Urolithiasis in Clinical Practice. Springer International Publishing.
- Alsheyab, F., Bani hani, I., Mosameh, Y. (2007),** Chemical composition of calculi in north Jordan í *J. Boil. Scie.* Vol. 7 (7) p.1292.
- Amrani, O. (2006).** Valeur nutritive du chardon marie (*silybum marianum* (I) gaerthn)'Tawra' (Doctoral dissertation, Batna, Université El Hadj Lakhdar. Faculté des sciences).
- Anderson, P. L., Brundage, R. C., Kakuda, T. N., & Fletcher, C. V. (2002).** CD4 response is correlated with peak plasma concentrations of indinavir in adults with undetectable human immunodeficiency virus ribonucleic acid. *Clinical Pharmacology et Therapeutics*, 71(4), 280-285.
- Asper R. (1984).** Epidemiology and socioeconomic aspects of urolithiasis. *Urol Res* ; 12:1-5.
- Athamena, S. (2009).** *Etude quantitative des flavonoïdes des graines de Cuminum cyminum et les feuilles de Rosmarinus officinalis et l'évaluation de l'activité biologique* (Doctoral dissertation, université de Batna 2).
- Atmani, F., Khan, S. R. (2000).** Effects of an extract from *Herniaria hirsuta* on calcium oxalate crystallization in vitro. *Bju International*, 85(6), 621-625.

B

Balasundram, N., Sundram, K., et Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*.99 : 191–203.

Bayer, E., Finkenzeller, JGR., Buller k. (1990). Guide de la flore méditerranéenne: caractéristiques, habitats, distributions et particularités de 536 espèces. Paris : Edition. De la chaux et Nestlé : 222p.

Békro, YA., Békro, MJA., Boua, BB., TraBi, FH., Ehile, EE.(2007), Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. Et Zarucchi (*Caesalpinaceae*). *Sciences et Nature*; 4 (2) : 217-225.

Belkheiri, N. (2010). Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes. Thèse de Doctorat : Université de TOULOUSE.

Belouahem, AD.(2009) Biodiversité Floristique et Vulnérabilité des Aulnaies Glutineuses de la Numidie Algérienne (N.E Algérien). *European Journal of Scientific Research* ; 32 (3) p 345.

Beloued, A. (1998). Medicinal plants of Algeria. Alger: Office of University Publications, 62p.

Beloued, A. (2009). Plantes médicinales *d'Algérie*. 5eme Edition, office des publications universitaires INA El-Harrach ,68p.

Ben rahal, N. (2012). Extraction, identification et caractérisation des molécules bioactives de la graine et de l'huile de *Silybum marianum*. Étude de leurs activités antioxydante et antitumorale (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

Benabbou, K. (2011). Elaboration d'une eau synthétique pour l'inhibition de l'oxalate de calcium.

Benchachoua, A. (2019). Caractérisation et Valorisation d'une plante de la famille des astéracées de la région de Sidi Bel Abbès: Évaluation des substances bioactives de *Silybum marianum* (Doctoral dissertation).

Beniston, N. T., Beniston, W. S. (1984). *Fleurs d'Algérie*. Entreprise nationale du livre.

Besancenat, J. P., (1992), è sècheresses et lithiases urinaires í sècheresse, 3.p. 211-217.

Bettaieb Rebey IJ., Sriti B., Besbess K., Mkaddmini HI., Hamrouni SB., Marzouk RK.(2016) .Effet de la provenance et du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes des graines de fenouil (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology* ; 27(4): 1478-1487.

Beygrine, A. (2011). Corrélation entre la composition chimique, l'aspect radiologique et le résultat de la lithotritie extracorporelle pour les calculs rénaux et urétéraux. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Mohammed V (Rabat).

Bezanger, BJ., Pinkas, M0., Torck, M., Trot, F. (1980). Plantes médicinales des régionstempérées. Edition. Vlaloine S.A. Paris : 416 p.

Bhatia, N., Agarwal, R. (2001). Detrimental effect of cancer preventive phytochemicals silymarin, genistein and epigallocatechin 3-gallate on epigenetic events in human prostate carcinoma DU145 cells. *The Prostate*,

Bianco, A., Chiacchio, M.A., Grassi, G., Iannazzo, D., Piperno, A., et Romeo R. (2006). Phenolics compounds of *Olea europaea* : Isolation of new tyrosol and hydroxytyrosolderivatives. *Food Chemisty*. 95: 562-565.

Bimbenet, J.J., Duquenoy, A., et Trystram, G. (2002). Génie des procédés alimentaires : Des bases aux applications, *Dunod*.

Boizot, N., Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.

Bonnaillie, C., Mathieu, S., Elena V. (2012), Ilonka S. Étude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.). *Revue de génie industriel* ; 7 :35-45.

Bortolomeazzi, R., Sebastianutto, N., Toniolo, R., Pizzariello, A. (2007). Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potential. *Food Chem.*; 100: 1481-1489.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. Edition Technique et documentation, 233.

Bruneton, J. (1999). Phytochimie. Plantes médicinales. Pharmacognosie. 3eme édition, Paris, France. Pp : 125165.

Bruneton, J. (2008). Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. Pp 198-260.

C

Campos, R., Garrido, A., Guerra, R., Valenzuela, A. (1989). Silybin dihemisuccinate protects against glutathione depletion and lipid peroxidation induced by acetaminophen on rat liver. *Planta medica*, 55(05), 417-419.6(2), 98-107.

Chabrier, J. Y. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).

Chanforan, C. (2010). Stabilité de micro-constituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate. Thèse de Doctorat : Université d'Avignon et des pays de vaucluse.

Charrié, J.C., Chastel, B., Cieur, C., Combe, P., Damak, M., Hedayat, K., Saigne-Soulard C. (2017). Plantes médicinales Phytothérapie clinique intégrative et médecine endobiogénique. Tec et Doc Lavoisier Ed Paris : 256p.

Clifford, M.N. (1999). Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to tea Washington, DC, CRC Press, Boca Raton Florida. 41 (5): 393-397.

Cotton, F., Wolff, F., Simon, I., Idrissi, M., Tielemans, C., VandenBossche, M., Roumeguère, T., et Pozdzik, A. (2014). Apport de la biologie clinique dans l'exploration étiologique et le suivi de l'urolithiase. *Revue médicale de Bruxelles*, (35) 4, 243-249.

Coulibaly, M. (2007). Etude des lithiases du haut appareil urinaire dans le service d'urologie du CHU du point « G » à propos 53 cas. Thèse de Doctorat ; Université de Bamako : 53-76.

Couplan, F. (2007). Reconnaître facilement les plantes. Philippe Brunet Ed : 98p.

Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12(4): 564-582.

Cragg, G.M., Newman, D.J. (2010). Comprehensive Natural Products II. Chemistry and Biology, 2, 5 - 39.

Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G. (2000). Natural Products (Secondary Metabolites). Biochemistry and molecular biology of plants, 24, 1250-1319.

Crozier, A. (2003). Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In Plants' Diet and Health". Ed. Goldberg. pp: 27- 48.

Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. (2006). Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Edt Blackwell Publishing Ltd.

Cynthia, J., Denu-Ciocca., Romulo, E., Colindres, F. (2011). calculs urinaires (néphrolithiase), Elsevier Masson S.A.S, 1059-1065.

D

D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., et Masella R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. Annali-dell'Istituto-Superiore-di-Sanità. 43(4) : 348-361.

Dalibon, P. (2015). La lithiase urinaire, une affection sous surveillance. Actualités Pharmaceutiques, 54(542): 23-29.

Dangles, O., Stoeckel, C., Wigand, M.C., Brouillard, R. (1992). Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion. Tetrahedron letters, 33(36), 5227-5230.

Daudon, M. (2000). L'analyse morphoconstitutionnelle des calculs dans le diagnostic étiologique d'une lithiase urinaire de l'enfant, Arch.Pédiatr, 7 : 855-865.

Daudon, M., Jungers, P., Lacour, B. (2004). Intérêt clinique de l'étude de la cristallurie. Ann Biol Clin ; 62:379-93.

Daudon, M. (1999). L'analyse morpho constitutionnelle des calculs dans le diagnostic Étiologique d'une lithiase urinaire de l'enfant. 2000 éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS.

Daudon, M. (2008). Apport de l'analyse morpho-constitutionnelle des calculs urinaires et des cristalluries au diagnostic étiologique des pathologies lithiasiques ; Hôpital Necker-enfant malades Paris.

Daudon, M. (1987). Cristallurie: signification clinique et critères d'interprétation. La biotechnologiste international N 9.

Daudon, M. (2013). Cristallurie. Service des explorations fonctionnelles, Hôpital Tenon, AP-HP, 4, rue de la Chine, 75020 Paris, France.- Doi : 10.1016/S1762-0945(13)54738-3.

Daudon, M., Bounxouei, B., Santa cruz, F., Leite da Silva, S., Diouf, B.,et Angwafoo III,F.(2004). Composition des calculs observés aujourd'hui dans les pays non industrialisés.Prog urol, 14 :1151-61.

Daudon, M., et Doré, B., (1999). Cristallographie des calculs urinaires,Aspects néphrologiques.Néphrologie-Urologie, 18-104-A-25 : 1-17.

Daudon, M., Knebelman, B. (2011). Epidémiologie de la lithiase urinaire. La revue du Paricien, 61: 372-78.

Daudon, M., Traxer, O., Lechevallier, E., et Saussine, C. (2008). Épidémiologie des lithiases urinaires. Progrès En Urologie, 18(12), 802–814.

Daudon, M., Traxer, O., Lechevallier, E., Saussine, C. (2008). lithogenese urinaire Progrès en urologie, 18, p. 815-827.

Daudon, M., Valognes, A., Hennequin, C., et Jungers, P. (1992). Importances de l'analyse morpho-constitutionnelle des calculs et des cristaux urinaires pour le diagnostic étiologique et le suivi thérapeutique de la maladie lithiasique. Spectra biologie, (5), 33-51.

Denu-Ciocca, C. J., Colindres, R. E. (2011). Calculs urinaires (néphrolithiase). *Médecine Interne de Netter*, 1059–1065.

Dewick, PM. (1995). The biosynthesis of shikimate metabolites. Nat. Prod. Rep, 12: 579-607.

Deysson, G.(1967). Organisation et classification des plantes vasculaires 2éme partie. CAUDSES ED, p.108-111.

Ditomaso, JT. (2007). Weeds of California and other western states. California weed science society Ed : p 391-394.

F

Fadili, K ., Amalich, S ., N'Dedianhoua, S.K ., Bouachrine ,M .,Mahjoubi , M., EL hilali,F .and Zair T.(2015). *Polyphenols content and antioxidant activity of two species from Moroccan High Atlas : Rosmarinus officinalis and Thymus satureioides ; International journal of Innovation and Scientific Research .5 (17) ,24-33.*

Fleeger, JL, Flipse, IJ.(1964). Metabolism of bovine semen XIII. Malonic acid metabolism by bovine spermatozoa.J.Dairy Sci. 1964,47 (5) :535-8.

Foster,S. (1995). Milk thistle : herbal seeds and medicinal needs . Better Nutrition for Today's Living .p64-71.

Fournier A., Bataille P., (1991), Monographie Lithiase rénale : Avant-propos. Rev. Prat., 1991, 21, 2011-2012.

Fournier, P. (1947). Encyclopédie Biologiques, éditeur Paul le chevalier.

G

Gabay, R., Plitmann, U., Danin, A. (1994). Factors affecting the dominance of *Silybum marianum* L.(Asteraceae) in its specific habitats. *Flora, 189(3), 201-206.*

Gamil, EI., Mohamed, AE., Omayma, AE., Ahmed, MAS. (2013). Effect of extraction on phenolic content, silymarin and antiradical activities of artichoke leaves and roots, *European Scientific Journal ; 9(6):100-110.*

Garcia-Perez, M.E. (2008). Caractérisation de composés phénoliques des extraits de ramilles du bouleau jaune: Etude de leur capacité antioxydante. Université Laval.

Ghasemzadeh, A., et Ghasemzadeh, N. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research 5 (31), 6697-6703.*

Graf, J.D., Féraille, E. (2000). Importance de l'analyse du calcul dans l'exploration de la lithiase rénale. *Médecine et hygiène, 58 :431-433.*

Guingard, JL.(1996). Biochimie végétale. Lavoisier Ed Paris : p175-192.

Guittonneau, G. G., et Huon, A. (1983). Connaître et reconnaître la flore et la végétation méditerranéenne. Ouest-France, Rennes : 334 p

H

Haddouchi, F., Chaouche, T. M., Halla, N. (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 1-9.

Hannache, B. (2014). La lithiase urinaire : Épidémiologie, rôle des éléments traces et des plantes médicinales .

Harrache, D, Mesri, Z, Addou, A, Semmoud, A, Lacour, B, Daudon, M. (1996). Analyse des calculs urinaires de l'adulte dans l'ouest Algerien par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier. *L'Eurobiologiste* ; 31:11-6. 26.

Harrache, D, Mesri, Z, Addou, A, Semmoud, A, Lacour, B, Daudon, M. (1997). La lithiase urinaire chez l'enfant dans L'Ouest-Algerien. *Int Ann Urol* ; 31:84-8.

Haslam E. (1994). Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod.* 11: 41-66.

He, Z., Xia, W., et Chen J. (2008). Isolation and structure elucidation of phénolics compounds in Chinese olive (*Cnarium album* L.) fruit. *European Food Research and Technology*. 226:1191-1196.

Herring, L.C. (1962). Observations on the analysis of ten thousand urinary calculi, *journal of urology* , 88 :545-562.

Hopkins, W. G. (2003). *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur, p 280.

Houlgatte, A., Fournier, R. (2004, April). Calculs et corps étrangers de la vessie et de l'urètre. In *Annales d'urologie* (Vol. 38, No. 2, pp. 45-51). Elsevier Masson.

Hymam, J., Kenfer, A., Leglicier, B., Peraldi, M-M., Rance, B. Rondeau, E., Rossert, J., Spar J-D., (1996). *Néphrologie 2ème édition* ; Service néphrologie-Hôpital Tenon-Pris ; p 307-308.

J

Jean-Denis, J. B. (2005). Caractérisation de polyphénols stilbéniques et de dérivés induits ou constitutifs de la vigne impliqués dans sa défense contre l'agent pathogène du mildiou de la vigne, *Plasmopara viticola* (Berk. and Curt.). Thèse de Doctorat : Université de Neuchâtel.

Jensen, S. R. (1992). Systematic implications of the distribution of iridoids and other chemical compounds in the Loganiaceae and other families of the Asteridae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 284-302.

Jiang, C., Agarwal, R., et Lü, J. (2000). Anti-angiogenic potential of a cancer chemopreventive flavonoid antioxidant, silymarin: inhibition of key attributes of vascular endothelial cells and angiogenic cytokine secretion by cancer epithelial cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 276(1), 371-378.

Jungers, P., Marie-France Gagnadoux, D. J., Daudon, M. (2001). Lithiase cystinique : physiopathologie et traitement médical. *Progrès en Urologie*, 11: 122-126.

K

Kaloustian, J., El-Moselhy, T. F., Portugal, H. (2003). Determination of calcium oxalate (mono-and dihydrate) in mixtures with magnesium ammonium phosphate or uric acid: the use of simultaneous thermal analysis in urinary calculi. *Clinica chimica acta*, 334(1-2), 117-129.

Kaloustian, J., Pauli, A. M., Pieroni, G., Portugal, H. (2002). The use of thermal analysis in determination of some urinary calculi of calcium oxalate. *Journal of thermal analysis and calorimetry*, 70(3), 959-973.

Khan, SR., Hackett, RL. (1993) , Role of organic matrix in urinary stone formation: an ultrastructural study of crystal matrix interface of calcium oxalate monohydrate stones í. *J. Urol*; 150 p. 239-45.

Khitri, W., Lachgueur, N., Tasmaout, A., Lardjam, A., & Khalfa, A. (2016). Plantes antilithiasiques utilisées en médecine traditionnelle dans la ville d'Oran, Algérie. doi: 10.4000/ethnoecologie.2511. *Revue d'ethnoécologie* ,9(9).

Koffi, E., Sea, T., Dodehe, Y., Soro, S. (2010) . Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty-three Ivorian plants. *Journal of Animal and Plant Sciences* ; 5: 550-558.

Konig, M., Seholz, E., Hartmann, R., Lehmann, W., Rimpler, H. (1994). Ellagitannins and complex tannins from *Quercus patrae* bark. *Journal of Natural Product*, 57, 1411-15.

L

Laoufi, R., Yahiaoui, K., Bouchnak, O., Benhbiles, N., Lefkir, S., Arab, K. (2020). Beneficial effect of the *Urtica dioica* aqueous extract on the crystallization of calcium oxalate in urine. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 14(1), 6-10.

Low, R.K., Stoller, M.L. (1997) , ‘ Endoscopic mapping of renal papillae for Randall’s plaques in patients with urinary stone disease ’. *J. Urol.* ; 158 p.2062-4.

M

Macheix, J.J., Fleuriet, F. et Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d’importance économique. PPUR presses polytechniques, 134.

Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N.(2013), Etude de l’extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d’artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Journal of Nature and Technologie* ; p 36-40.

Majhenic, L., Knez, Z., Kerget, MS.(2007), Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry* ; 104 :1258–1268.

Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79: 727-747.

Merigot, O.(2013).Urétro-renoscopie pour calculs du rein et de l’urètre : Résultat d’une série prospective de 213 cas. Thèse de Doctorat, Université Toulouse III.8-9.

Michel, T. (2011), Nouvelles méthodologies d’extraction, de fractionnement et d’identification : Application aux molécules bioactives de l’argousier (*Hippophae rhamnoides*). Thèse de doctorat. Université d’Orléans : p28, 50,183, 288.

Mohammedi, Z., Atik ,F. (2013), Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from tamarix aphylla (l.) karst. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* ; 2 :609-615.

Mompon, B., Lemaire, B., Mengal, P., et Surbel D. (1996). Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. IN « Polyphénols 96 ». Ed INRA. 31-35.

Morazzoni, P., Bombardelli, E. (1995). *Silybum marianum (Carduus marianus)*.

Mouillé-Richard, T. (2014). Utilisation du chardon-marie (*Silybum marianum*) dans les affections hépatiques chez les oiseaux et le furet: présentation de quelques cas cliniques (Doctoral dissertation).

Muanda, F.N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de l'Université Paul Verlaine-Metz.

N

Nayer, A. (2002). Determination of urinary caculi by binocular stereoscopic microscopy *Pediatr Nephrol.* 17 p.425-432

Ncube, B., Finnie, J.F., Van Staden, J. (2012). Quality from the field: The impact of environmental factors as quality determinants in medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 2, 11–20.

Nkhili, E. (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de l'Université Cadi Ayyad, Mrrakac

O

Ochmański, W., Kmiecik, J., et Sułowicz, W. (1999). Analysis of chemical composition of urinary stones. *International Urology and Nephrology*, 31(6), 743-750.

Ody, P. (2002). Les plantes médicinales : Encyclopédie pratique. 2^{ème} Ed. Ed selection du Readers Digest p120.

P

Paris, R., et Nothis, A. (1978). Plantes médicinales, phytothérapie. Ed Masson.

Penchev, P. (2010), Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de doctorat. Université de Toulouse : p1-239.

Perva-Uzunalic, A., Skerget, M., Knez, Z., Weinreich, B., Otto, F., Grunner S.(2006), Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chemistry* ; 96(4): 597-605.

Q

Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques. CNRS Éd 1011 p.

R

Ramawat, KG., Mérillon, JM. (2008) Bioactive Molecules and Medicinal Plants. Edition: *Springer -Verlag Berlin Heidelberg* , 5p.

Ranga, R. R., Tiwari, A. K., Prabhakar, R., Suresh, B. K., Ali, A. Z., Madhusudana, K., and Madhusudana, R. J. (2009). New furanoflavanoids, intestinal alpha-glucosidase inhibitory and free-radical (DPPH) scavenging, activity from antihyperglycemic root extract of *Derris indica* (Lam.). *Bioorg. Med. Chem.*; 17: 5170-5175.

Richter, G. (1993). Composés phénoliques in *Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie*. Ed Presse polytechnique et universitaire romande. pp: 317-339.

Roche, C. (1991). Milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.). PNW-Pacific Northwest Extension Publication, Washington, Oregon, and Idaho State Universities, Cooperative Extension Service (USA).382p

Rosenfeld, L. (2001). The chemical work of Alexander and Jane Marcet. *Clinical chemistry*, 47(4), 784-792.

Ryall RL., Chauvet MC., Grover PK., (2005), Intracrystalline proteins and urolithiasis: a comparison of the protein content and ultrastructure of urinary calcium oxalate monohydrate and dihydrate crystals í. *BJU Int* 96 ; p.654-63.

S

Sadki, C., et 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(16), 1058–1067. doi:10.1016/j.purol.2017.09.011.

Saller, R. (1995). Phytothérapie. Haug, Heidelberg Ed p 267-274.

Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. Journal of the Science of Food and Agriculture, 76(2), 270-276.

Sarni-Manchado, P., et Cheynier V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Tec et Doc Lavoisier. pp : 02-11.

SbahiK, (2017). Etude épidémiologique, paramétrique et phytothérapeutique de la lithiase Urinaire. Thèse de Doctorat en Sciences, Université de Mostaganem.6-8.

Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry, 30: 3875-3883.

Schandalik, R., Perucca, E. (1994). Pharmacokinetics of silybin following oral administration of silipide in patients with extrahepatic biliary obstruction. Drugs under experimental and clinical research, 20(1), 37-42.

Sekkoum, K. (2011). *Composition phytochimique et effet, in vitro, des extraits de quelques plantes médicinales du Sud-Ouest Algérien sur la cristallisation lithiasique oxalocalcique.* Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat en Sciences. Sidibela abbes. Université djillali liabes de sidi bela-abbes, 108p.

Servais, A., Daudon, M., Knebelman, B. (2006). Lithiases médicamenteuses. Annales d'Urologie, 40(2): 57-68.

Shah, S. M. M., Khan, F. A., Shah, S. M. H., Chishti, K. A., Pirzada, S. M. S. S., Khan, M. A., & Farid, A. (2011). Evaluation of phytochemicals and antimicrobial activity of white and blue capitulum and whole plant of *Silybum marianum*. World Appl Sci J, 12(8), 1139-1144.

Sindel, B. M. (1997, August). The persistence and management of thistles in Australian pastures. In Proceedings of the New Zealand Plant Protection Conference (Vol. 50, pp. 453-456).

Sindel, B.M. (1991). A review of the ecology and control of thistles in Australia. Weed Research ; (31): 189-201.

Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, B., Hras, A.-R., Simonic, M., et Knez Z. (2005). Phenols, Proanthocyanidines, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. 89: 191-198.

Spichiger, R. E., Savolainen, V., et Figeat, M. (2000). Botanique systématique des plantes à fleurs: une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. 1^{ère} Ed. Press polytechniques et universitaires romandes. 372p.

Syed Muhammad, MS., Khan, AK., Syed Muhammad, HS., Kamran, AC., Syed Muhammad, SSP., Muhammad Asif, K., Arshad, F. (2011) , Evaluation of Phytochemicals and Antimicrobial Activity of White and Blue Capitulum and Whole Plant of *Silybum Marianum*. *World Applied Sciences Journal*; 12 (8): 1139-1144.

T

Talaj, S., and Czechowicz, A. S. (1989). Herbal Remedies Harmful and Beneficial Effects, Hill of Content, Melbourne, p 221.

Tapas, A. R., Sakarkar, D. M. et Kakde, R. B. (2008). Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 7 (3), 1089-1099.

Tosukhowong, P., Boonla C., Ratchanon, S., Tantanuch, M., Poonpirone, K., Suparavanich, P., Dissayabutra, T. (2007) , Kriangtungsanga Crystalline composition and etiologic factors of kidney stones in Thailand *Asian Biomedicine* Vol. 1 n° 1 p. 87-95.

Traxer, O. (2007). Lithiase urinaire. *La revue du praticien*, 57: 1805-1815

Turner, N. J., et Szczawinski, A. F. (1991). Common poisonous plants and mushrooms of North America. Timber Press Inc.

V

Venkataramanan, R., Ramachandran, V., Komoroski, B. J., Zhang, S., Schiff, P. L., et Strom, S. C. (2000). Milk thistle, a herbal supplement, decreases the activity of CYP3A4 and uridine diphosphoglucuronosyl transferase in human hepatocyte cultures. *Drug metabolism and disposition*, 28(11), 1270-1273.

W

Werness, P.G., Bergert, J.H., Smith, L.H., & Crystalluria, I. J., Crystal Growth. (1981) ;
53 p.166-81.

Wong, C. C., Li, H. B., Cheng, K. W., and Chen, F. (2006). A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food chemistry*, 97(4), 705-711.

Y

Yen, G. C., Duh, P. D. (1994). Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active-oxygen species. *Journal of agricultural and food chemistry*, 42(3), 629-632.

ملخص :

التحصن البولوي هو مرض شائع في جميع دول العالم. يتميز بتكوين خرسانات بلورية تتطور في المسالك البولية. علاج هذا المرض بالنباتات الطبية هو بديل للعلاج بالأدوية باهظة الثمن أو الجراحة ذات الآثار الجانبية. في هذا السياق ، كان شوك الحليب ، وهو نبات عفوي من عائلة *Asteraceae* ، المعروف بقيمته التقديرية في العلاج ، موضوع دراسة كيميائية نباتية لمستخلص هذه الجذور وقوتها المضادة للتحصي ومضادات الأكسدة. كشف الفحص الكيميائي النباتي عن ثراء النبات في الجزيئات النشطة بيولوجياً ، ولا سيما في الجلوكوزيدات ، والصابونوزيدات ، والصبغ. تم تحديد محتوى البوليفينول الكلي ، وهو معدل مرتفع جداً من مادة البوليفينول في المستخلص المائي لجذور شوك الحليب بمقدار 361.35 mg EAG/g متبوعاً بإنتاجية استخلاص البوليفينول بنسبة 19.75% مقابل 4 جم من مسحوق نباتي. أثبت تقييم النشاط المضاد للجذور الحرة بواسطة DPPH أن مستخلص جذور شوك الحليب لديه إمكانات مضادة للأكسدة أكثر نشاطاً مع تركيز $2.64 \mu\text{g/ml}$ بنسبة IC_{50} مقارنة بـ BHT ($3.37 \mu\text{g/ml}$) تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن المستخلص المائي له تأثير مضاد ، ولا سيما تبلور أكسالات الكالسيوم في البول. في الواقع ، كشفت الملاحظة باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح أن زيادة تركيز المستخلص ساعد في تقليل حجم البلورات. استنتج أن المستخلص المائي لجذور شوك الحليب له خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للحساسية، يستحق التعزيز من خلال تكامله في التطبيقات العلاجية.

الكلمات الأساسية:

شوك الحليب ، الجذر البوليفينول ، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للتحصي

Summary:

Urolithiasis is a common pathology in all countries of the world. It is characterized by the formation of crystalline concretions that develop in the urinary tract. The treatment of this disease with medicinal plants is an alternative to treatment with expensive drugs or surgery with side effects. In this context, Milk Thistle or silybum marianum, a spontaneous plant of the Asteraceae family, known for its estimable value in therapy, has been the subject of a phytochemical study of the extract of these roots, of its antilithiasic and antioxidant power. The phytochemical screening revealed the richness of the plant in bioactive molecules, in particular in glucosides, saponosides, mucilages. The total polyphenol content was determined, a very high rate of polyphenols in the aqueous extract of the roots of Silybum marianum of $361.35 \text{ mg EAG / g ms}$, followed by a polyphenol extraction yield of 19.75% for 4 g of vegetable powder. . The evaluation of the anti-free radical activity by DPPH proved that the extract of the roots of milk thistle has a more active antioxidant potential with an IC_{50} of $2.64 \mu\text{g / ml}$ compared to BHT ($\text{IC}_{50} = 3.37 \mu\text{g / ml}$). The results obtained show that the aqueous extract has an antilithiasis effect, in particular the crystallization of calcium oxalate in the urine. In fact, observation with a scanning electron microscope revealed that increasing the concentration of the extract helped to reduce the size of the crystals. It is concluded that the aqueous extract of the roots of silybum marianum has significant antioxidant and antilithiasis properties, deserves to be enhanced by its integration in therapeutic applications.

Key words: silybum marianum, root, polyphenols, antioxidant activity, antilithiasis activity.

