

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département de Chimie

Mémoire de Master

Filière : Chimie-Spécialité : Chimie Pharmaceutique

Formulation d'une tisane phytothérapeutique pour la prise en charge des calculs biliaires «*Bio-HerbalClean*»

Présenté par : ROUAG Rayane

Devant le jury

Président	A. MAHMOUDI	MCA. Université 20 Août 1955-SKIKDA
Rapporteur	M.E. BENSSASSI	MCA. Université de Constantine 3
Examinatrice	H. CHABANE	MCB. Université 20 Août 1955-SKIKDA

Soutenu le : 29 Juin 2025

Remerciements...

Je commence par remercier Allah Tout-Puissant, qui a choisi pour moi les deux plus beaux domaines et m'a placée en eux : la biochimie et la chimie pharmaceutique, et qui a semé en moi la passion pour l'étude et la recherche scientifique. Grâce à Lui, j'ai pu achever mon projet d'études final, et je suis fière de cet accomplissement.

*J'adresse mes sincères remerciements à mon oncle **Riyad**, qui a toujours cru en mes réussites et jamais en mes échecs.*

*Je remercie aussi **mes professeurs à toutes les étapes de mon parcours scolaire**, en particulier **Warda et Souhila** à l'école primaire, **les professeurs de sciences au collège** qui m'ont fait aimer cette matière, ainsi que **mon professeur de sciences sociales** qui a dit à ma mère : « Ne t'inquiète pas pour elle, qui a la volonté peut réussir ».*

*Dans mon parcours universitaire, je tiens à remercier tout particulièrement mon encadrant, le **Dr. BENSSASSI Mohamed El Hadi**, qui a accueilli mon idée alors qu'elle n'était qu'une graine, et l'a arrosée de ses soins jusqu'à ce qu'elle fleurisse. Bien que distant, il a toujours maintenu un lien étroit avec moi, présent dans ses conseils, généreux dans son comportement et patient dans son suivi.*

*Je remercie sincèrement **ma camarade Salssabil** pour son aide précieuse dans la réalisation de ce mémoire, notamment pour m'avoir fourni la quantité nécessaire de la plante étudiée.*

*J'adresse également mes remerciements chaleureux à **mes cousines**, en particulier **Yamina**, ainsi qu'à **mes camarades du cercle du Coran : Souad, Lamia et Samia**, pour leur aide précieuse dans l'obtention des calculs biliaires, geste sans lequel cette étude n'aurait pu être menée à bien.*

*Je n'oublie pas non plus **Madame Samira et Madame Houda**, ingénieures du laboratoire : la première qui a fait du laboratoire de chimie une vraie maison pour moi, et la seconde que Dieu m'a envoyée dans les derniers jours pour achever le travail restant. Je remercie aussi tous mes collègues qui ne m'ont jamais refusé leur aide et m'ont toujours fourni les outils nécessaires.*

***Enfin, je remercie Monsieur A. MAHMOUDI, président du jury**, pour l'honneur de sa présence, ainsi que **Madame H. CHABANE, examinatrice**, pour avoir accepté d'évaluer ce travail et pour ses remarques constructives.*

Dédicace ...

À moi-même, qui n'a jamais marchandé son rêve, et qui a transformé les brisures en force, et chaque chute en un nouveau départ. Ce succès n'est pas le fruit du hasard, mais celui d'une volonté tenace et d'une détermination inébranlable.

À Piccola, ce pilier silencieux et cette âme douce qui m'a accompagnée sans bruit, sa présence fut une paix dans les instants de solitude. Je lui dédie le second battement de ce travail, en reconnaissance de ce qui ne se dit pas, mais ne s'oublie jamais.

À ma mère et à mon père, source de ma persévérance et de ma détermination, à mes frères, mes sœurs et leurs époux et épouses, qui ont été mon soutien à chaque étape de ma vie.

À Ahmed Aymen, la force qui ne m'a jamais quittée, jour et nuit, durant l'année du baccalauréat, sa main tendue en mathématiques et en physique fut un appui inestimable. Et aujourd'hui, grâce à toi, j'atteins un objectif longtemps rêvé, avec persévérance et courage.

À mon amie Hanene, dont la main a touché mon cœur avec délicatesse à travers chaque page de ce mémoire.

À Aridj, mon amie d'enfance, et à tous mes amis proches, qui m'ont soutenue sans conditions.

Et enfin, à ceux qui pensaient que je n'étais qu'une simple vague passagère sous un ciel dégagé : j'ai été le tsunami qui a bouleversé vos équilibres et réveillé le silence de vos certitudes.

ROUAG Rayane

Table des matières

Remerciements	i
Dédicace	ii
Table des Matières	iii
Liste des Abréviations	vi
Liste des Figures	vii
Liste des Tableaux	ix
Introduction Générale	1

Chapitre I : Revue Bibliographique

I.1. Généralité sur la lithiase biliaire (LB)	3
I.1.1. Vésicule biliaire : anatomie et voies excrétrices	3
I.1.2. Fonction physiologique de la vésicule biliaire dans la digestion	4
I.1.3. Aspects cliniques de la lithiase biliaire	5
I.1.4. Facteurs de risque et épidémiologie	6
I.2. Approche diagnostique de la lithiase biliaires	6
I.2.1. Diagnostic clinique	6
I.2.2. Examens complémentaires	7
I.2.2.1. Analyses biologiques	7
I.2.2.2. Examens d'imagerie	7
I.3. Classification et types de calculs biliaires	8
I.3.1. Type des calculs biliaire	9
I.3.1.1. Calculs cholestérolique	9
I.3.1.2. Calculs pigmentaires	10
I.3.2. Processus de formation des calculs biliaires	10
I.3.2.1. Stade chimique	11

I.3.2.2. Stade physique (ou nucléation)	11
I.3.2.3. Stade de croissance	11
I.3.2.4. Stade symptomatique	11
I.4. Traitement de lithiase biliaires	12
I.4.1. Traitement chirurgical de la lithiase biliaires	12
I.4.2. Traitement médicamenteux et prévention de la lithiase biliaires	12
I.4.3. Approches phytothérapeutiques	13

Chapitre II : Méthode Analytiques et protocoles Expérimentaux

II.1. Réactifs utilisés	17
II.2. Protocole d'extraction des plantes	17
II.2.1. Séchage du matériel végétal	18
II.2.2. Conservation	18
II.2.3. Broyage	18
II.2.4. Tamisage	19
II.2.5. Préparation des extraits aqueux	19
II.2.5.1. Infusion de <i>Rosmarinus officinalis</i>	19
II.2.5.2. Infusion de <i>Herniaria hirsuta</i>	19
II.3. Analyse qualitative : screening phytochimique	20
II.3.1. Détection des phénols	20
II.3.2. Détection des flavonoïdes	21
II.3.3. Détection des anthocyanes	21
II.3.4. Détection des tanins galliques	22
II.3.5. Détection des glucosides	23
II.4. Analyse quantitative : dosage des composés bioactifs	24
II.4.1. Dosage des composés phénoliques totaux	24
II.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux	25
II.4.3. Dosage des tanins condensés	26

II.5. Étude in vitro de la dissolution des calculs biliaires	27
II.5.1. Origine des calculs	27
II.5.2. Séchage et pesée des calculs	27

Chapitre III : Résultats et discussions

III.1. Tests phytochimiques qualitatifs	29
III.1.1. Détection des composés phénoliques	29
III.1.2. Détection des flavonoïdes	30
III.1.3. Détection des anthocyanes	31
III.1.4. Détection des tanins galliques	31
III.1.5. Détection des glucosides	32
III.2. Dosage des composés bioactifs	33
III.2.1. Dosage des composés phénoliques totaux	33
III.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux	34
III.2.3. Dosage des tanins condensés	35
III.3. Étude in vitro de la dissolution des calculs biliaires	36
Conclusion Générale	38
Références	39

Liste Des Abréviations

Abréviation	Signification complète
LB	Lithiase biliaire
VB	Vésicule biliaire
DO	Densité optique (Absorbance)
EAG	Équivalent acide gallique
Na_2CO_3	Carbonate de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
CH_3OH	Méthanol
CH_3COONa	Acétate de sodium
FeCl_3	Chlorure de fer
HCl	Acide chlorhydrique
HSO_4	Acide sulfurique
NH_3	Ammoniac
AlCl_3	Chlorure d'aluminium
Mg	Magnésium
$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$	Vanilline
$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$	Éthanol anhydre
$\text{H}_3[\text{P}(\text{Mo}_{12}\text{O}_{40}) \cdot (\text{W}_{12}\text{O}_{40})]$	Réactif de Folin-Ciocalteu (complexe molybdotungstate)
UV	Ultra-violet (Spectrophotométrie UV-Visible)
nm	Nanomètre
%	Pourcentage
g	Gramme
mL	Millilitre
μg	Microgramme
in vitro	Expériences réalisées hors d'un organisme vivant

Liste Des Figures

Chapitre I : Revue Bibliographique		
Figure I.1	a) Anatomie de la vésicule biliaire, (b) Variations de la vésicule biliaire.	03
Figure I.2	(a) Vaisseaux intrahépatiques (distribution segmentaire), (b) Voies biliaires extra hépatiques.	04
Figure I.3	Échographie d'un calcul avec ombre postérieure	07
Figure I.4	Diagnostic écho-endoscopique des calculs vésiculaires a-b	08
Figure I.5	Calcul biliaire	08
Figure I.6	Calculs cholestérolique	09
Figure I.7	Les stades de formation des calculs cholestéroliques	10
Chapitre II : Méthode Analytiques et protocoles Expérimentaux		
Figure II.1	Plante de Romarin avant et après séchage	18
Figure II.2	Plante de <i>Herniaria hirsuta</i> avant et après séchage	18
Figure II.3	Poudres de Romarin et <i>Herniaria</i> après broyage et tamisage	19
Figure II.4	Préparation de l'extrait aqueux de Romarin par infusion.	19
Figure II.5	Préparation de l'extrait aqueux par infusion de <i>Herniaria</i> .	20
Figure II.6	Détection des phénols dans le <i>Romarin</i> par test au FeCl ₃	20
Figure II.7	Détection des phénols dans <i>Herniaria</i> par test au FeCl ₃	20
Figure II.8	Détection des flavonoïdes dans le <i>Romarin</i> .	21
Figure II.9	Détection des flavonoïdes dans <i>Herniaria</i> .	21
Figure II.10	Détection des anthocyanes dans le <i>Romarin</i>	21
Figure II.11	Détection des anthocyanes dans <i>Herniaria</i>	22
Figure II.12	Détection des tanins galliques dans le <i>Romarin</i> .	22
Figure II.13	Détection des tanins galliques dans <i>Herniaria</i> .	23
Figure II.14	Détection des glucosides dans le <i>Romarin</i> .	23
Figure II.15	Détection des glucosides dans <i>Herniaria</i> .	23
Figure II.16	Dosage des composés phénoliques totaux de <i>Romarin</i>	24
Figure II.17	Dosage des composés phénoliques totaux de <i>Herniaria</i>	24
Figure II.18	Dosage colorimétrique des flavonoïdes totaux de <i>Romarin</i> .	25
Figure II.19	Dosage colorimétrique des flavonoïdes totaux de <i>Herniaria</i>	25

Figure II.20	Dosage colorimétrique des tanins condensés de <i>Romarin</i>	26
Figure II.21	Dosage colorimétrique des tanins condensés de <i>Herniaria</i>	26
Figure II.22	Calculs biliaires cholestéroliques prélevés chez une patiente.	27
Figure II.23	Aspect des calculs avant et pendant séchage à 45 °C	27
Chapitre III : Résultats et discussions		
Figure III .1	Présence des phénols dans le <i>Romarin</i>	29
Figure III .2	Présence des phénols dans <i>Herniaria</i>	30
Figure III .3	Présence de flavonoïdes dans le <i>Romarin</i>	30
Figure III .4	Présence de flavonoïdes dans le <i>Herniaria</i>	30
Figure III .5	Absence des anthocyanes dans le <i>Romarin</i>	31
Figure III .6	Absence des anthocyanes dans le <i>Herniaria</i>	31
Figure III .7	Présence des tanins galliques dans l'extrait de <i>Romarin</i>	32
Figure III .8	Présence des tanins galliques dans l'extrait de <i>Herniaria</i>	32
Figure III .9	Présence des glucosides dans l'extrait de <i>Romarin</i> .	32
Figure III .10	Présence des glucosides dans l'extrait de <i>Herniaria</i>	33
Figure III .11	Dosage des composés phénoliques totaux dans les deux extraits <i>Romarin et Herniaria</i>	34
Figure III .12	Dosage des flavonoïdes totaux	34
Figure III .13	Dosage des tanins par la méthode vanilline	35
Figure III .14	Dissolution in vitro des calculs biliaire de cholestérol	36
Figure III .15	Dissolution in vitro des calculs biliaire de cholestérol	37

Liste Des Tableaux

Chapitre I : Revue Bibliographique		
Tableau I.1	Les caractéristiques des calculs cholestéroliques	09
Tableau I.2	Principaux types de calculs pigmentaires	10
Tableau I.3	La classification botanique du <i>Herniaria hirsuta</i>	15
Tableau I.4	Classification botanique du <i>Romarin</i>	16
Chapitre II : Méthode Analytiques et protocoles Expérimentaux		
Tableau II .1	Réactifs utilisés	17



Introduction Générale

Introduction Générale

La médecine traditionnelle à base de plantes médicinales occupe une place importante dans les systèmes de soins de nombreuses cultures à travers le monde, en raison de leur efficacité, l'accessibilité, la disponibilité, la faible toxicité. Le recours à la médecine à base des plantes est profondément ancré dans notre culture, car l'Algérie est réputée par la richesse de sa flore médicinale qui comprend des centaines d'espèces végétales. Un grand nombre d'affections et de maladies ont été traitées à l'aide des herbes médicinales comme la lithiase biliaires.

La lithiase biliaire (LB) est une pathologie menant à la formation de calculs dans la vésicule ou les voies biliaires, provoquant des douleurs abdominales, des troubles digestifs et, dans certains cas, des complications graves nécessitant une intervention chirurgicale. La lithiase biliaire est devenue une « anomalie métabolique » extrêmement répandue dans le monde, touchant de 15 à 20% de la population en Europe et en Amérique du Nord, et supérieurs à 25 % en Algérie. Pour la traiter ou la prévenir, de nombreuses populations à travers le monde ont recours aux la phytothérapie, vue que les traitements conventionnels souvent invasifs et parfois coûteux. Plusieurs plantes médicinales ou bien espèces végétales sont traditionnellement reconnues pour leurs propriétés cholérétiques, cholagogues, antispasmodiques ou encore litholytiques, susceptibles de jouer un rôle dans la prévention ou l'atténuation des troubles liés aux calculs biliaires.

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail, qui vise à développer une tisane phytothérapeutique formulée à partir de plantes médicinales (*Herniaria hirsuta* et *Romarin*) sélectionnées pour leurs effets bénéfiques sur le système biliaire. L'objectif est de proposer une solution naturelle, potentiellement efficace et bien tolérée, pouvant contribuer à la prise en charge des calculs biliaires.

Dans la première partie de ce manuscrit nous présenterons une revue de la littérature sur la lithiase biliaire et leur traitement, ainsi les propriétés de plantes médicinales étudiée. Nous dégagerons ensuite les grandes problématiques et présenterons les diverses solutions technologiques actuellement en développement et celles qui nous semblent les plus intéressantes à suivre.



Introduction générale

Une description des dispositifs utilisés et des différentes techniques expérimentales employées figure dans la deuxième partie.

La troisième partie de ce manuscrit est consacré à la présentation et à la discussion des résultats issus des différentes études réalisées.

Enfin, nous avons terminé le manuscrit par une conclusion générale relatant les principaux résultats de ce travail.



Chapitre I
Revue Bibliographique

Chapitre I : Revue Bibliographique

Ce premier chapitre est consacré à la revue bibliographique réalisée dans le cadre de notre projet de recherche de fin d'études. Il présente, dans un premier temps, des généralités sur la lithiase biliaire (LB), en abordant l'anatomie et physiologie de la vésicule biliaire, types de calculs biliaires, leurs processus de formation ainsi que leurs traitements.

I.1. Généralité sur la lithiase biliaire (LB)

I.1.1. Vésicule biliaire : anatomie et voies excrétrices

La vésicule biliaire (VB) est un organe en forme de poire mesurant environ 8 à 12 cm de longueur, avec une capacité de 30 à 50 mL. Elle est logée dans une fossette située à la face inférieure du foie (Nguyen et Bourouina, 2008). Sur le plan cadastral, le fundus de la vésicule biliaire se projette au niveau du point vésiculaire, situé sur la ligne ombilico-axillaire droite (Kamina, 2012) (**Figure I.1a**). Selon Kamina (2012), il existe plusieurs variations anatomiques de la vésicule biliaire, telles que l'absence congénitale, la duplication cloisonnée, la position intra- ou rétro-hépatique, ou encore la présence de diverticules (**Figure I.1b**).

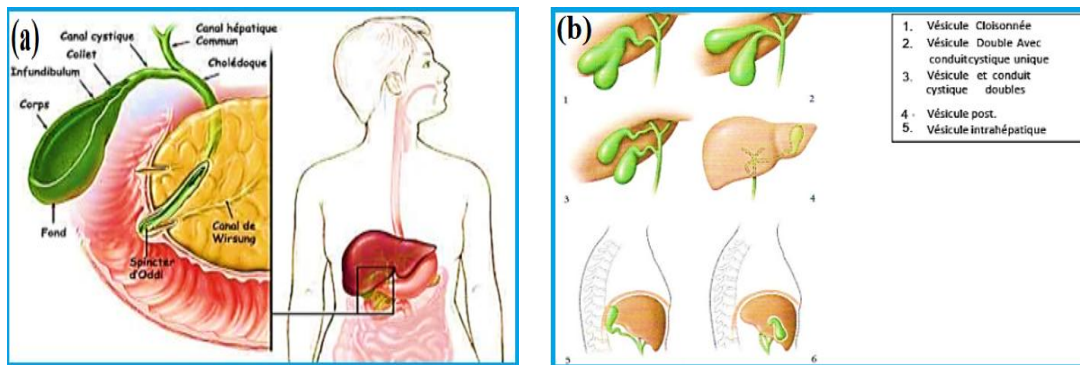


Figure I.1 : (a) Anatomie de la vésicule biliaire (IDRISSI, 2020), (b) Variations de la vésicule biliaire (KAMINA, 2012).

Sur le plan cytologique, la vésicule biliaire se compose de trois parties anatomiques distinctes : le fundus, le corps et le col. Sa paroi est constituée d'une muqueuse prismatique plissée, d'une couche musculaire formée de myocytes lisses, et d'une couche externe recouverte de péritoine (Marieb, 2008).

Les voies biliaires, quant à elles, assurent le transport de la bile du foie vers le duodénum. Elles sont divisées en deux segments : les voies biliaires intra-hépatiques et les voies biliaires extra-hépatiques (Loghmari, 2020) (**Figure I.2**).

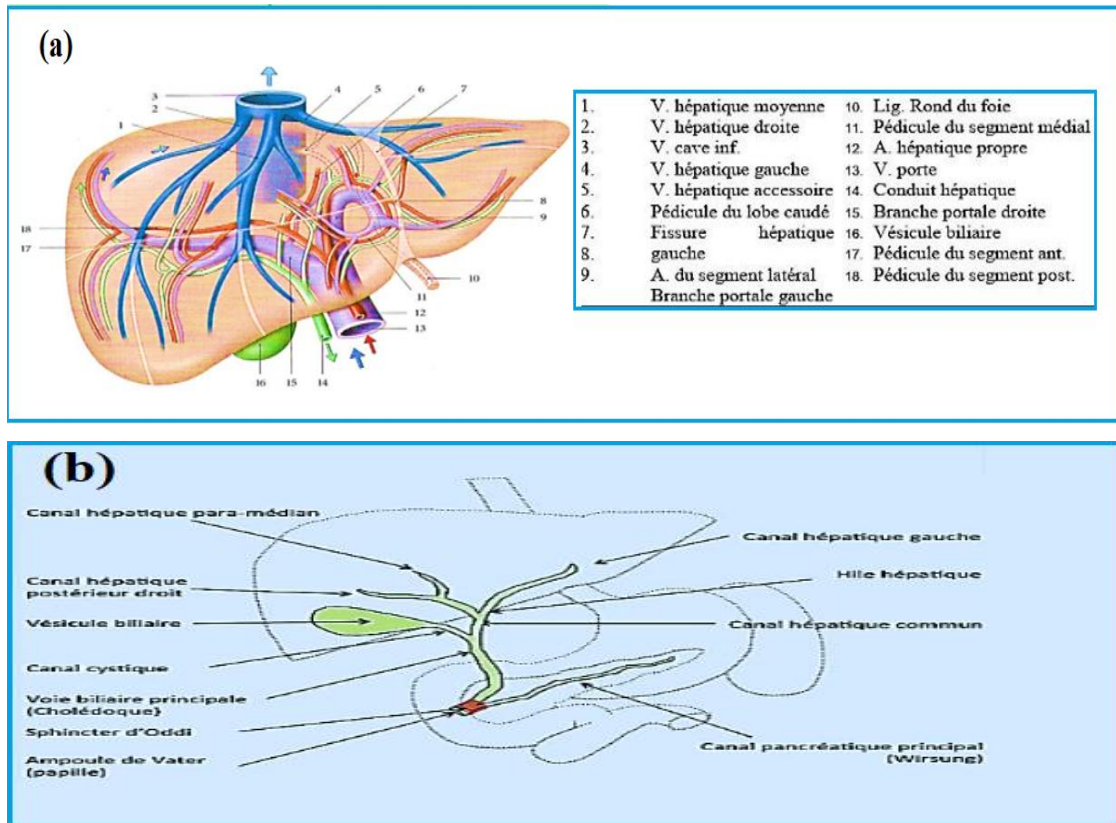


Figure. I.2 : (a) Vaisseaux intrahépatiques (distribution segmentaire) (KAMINA, 2012), (b) Voies biliaires extra hépatiques (Ophélie, 2019)

Les voies biliaires intra-hépatiques débutent au niveau des tubules biliaires intralobulaires, lesquels convergent pour former les canaux biliaires droit et gauche. Ces derniers s'unissent pour constituer le canal hépatique commun (Maali, 2020).

Les voies biliaires extra-hépatiques s'étendent du hile hépatique jusqu'au duodénum. Elles comprennent principalement le canal hépato-cholédoque, ainsi que des structures accessoires comme la vésicule biliaire elle-même et le canal cystique qui la relie au canal principal (Therra, 2009).

I.1.2. Fonction physiologique de la vésicule biliaire dans la digestion

La vésicule biliaire (VB) assure une fonction essentielle dans la digestion des lipides en stockant et en concentrant la bile entre les repas (Bartoli et al., 2000). Cette bile, sécrétée en continu par les hépatocytes, est temporairement conservée dans la vésicule où elle subit un processus de concentration par ré-absorption active de l'eau et des électrolytes. Lors du passage du chyme lipidique dans le duodénum, la libération de cholécystokinine (CCK) par les cellules entéro-endocrines induit une contraction réflexe de la vésicule biliaire et une ouverture du sphincter d'Oddi, permettant l'excrétion de la bile dans la lumière intestinale

(Talbi, 2020 ; Allileche et al., 2021). Les sels biliaires contenus dans la bile jouent alors un rôle crucial dans l'émulsification des graisses, en augmentant leur surface de contact avec les enzymes lipolytiques pancréatiques, facilitant ainsi leur hydrolyse et leur absorption au niveau de l'intestin grêle.

I.1.3. Aspects cliniques de la lithiase biliaire

La lithiase biliaire, communément appelée « maladie de la pierre », se caractérise par la présence d'un ou plusieurs calculs au sein des voies biliaires. Ces concrétions, de taille et de composition variables, peuvent obstruer l'écoulement normal de la bile, provoquer des infections et entraîner une inflammation chronique des parois biliaires.

Dans la majorité des cas, la lithiase biliaire (LB) demeure asymptomatique (El Ouadghiri, 2016). Elle est souvent découverte de manière fortuite, lors d'un examen d'imagerie réalisé pour une autre pathologie ou au cours d'une autopsie (Collins et Wagner-Ballon, 2013). Toutefois, environ 20 % des patients développent des symptômes, dont la plus fréquente est la colique hépatique. Celle-ci résulte du passage d'un calcul dans le canal cystique ou le cholédoque, provoquant une douleur aiguë, brutale et intense localisée dans l'épigastre ou l'hypochondre droit, irradiant vers l'omoplate ou l'épaule droite. Cette douleur peut s'accompagner d'une inhibition inspiratoire et tend à s'atténuer en position immobile (Lachaux & Lacaille, 2018).

Les principales manifestations cliniques de la lithiase biliaire sont les suivantes :

- **Colique biliaire** : douleur abdominale haute, de type spasmodique, souvent postprandiale, irradiant vers l'hypochondre droit ou la région scapulaire.
- **Cholécystite aiguë obstructive** : inflammation aiguë de la vésicule biliaire, secondaire à l'obstruction du canal cystique. Elle se manifeste par une douleur persistante dans l'hypochondre droit, de la fièvre, des nausées, une intolérance aux graisses, une sensibilité à la palpation (signe de Murphy) et une leucocytose. Sans traitement, elle peut évoluer vers un empyème vésiculaire.
- **Cholangite aiguë** : infection bactérienne des voies biliaires généralement liée à une obstruction. Le tableau clinique typique est représenté par la triade de Charcot : fièvre élevée, frissons et ictère (Collins & Wagner-Ballon, 2013 ; Bartoli & Capron, 2017).

I.1.4. Facteurs de risque et épidémiologie

La formation des calculs biliaires résulte d'une interaction complexe entre des facteurs génétiques, métaboliques, hormonaux et environnementaux. L'âge constitue un facteur déterminant : les lithiases sont rares avant 20 ans, leur fréquence augmentant progressivement avec l'âge pour culminer entre 51 et 60 ans (Saidani, 2017 ; Melliani, 2016 ; El Ouadghiri, 2016). Le sexe féminin est plus exposé, avec un ratio femme/homme allant de 2:1 à 3:1, ce déséquilibre étant en partie attribué à l'effet œstrogénique post-pubertaire qui augmente la sécrétion hépatique de cholestérol (Melliani, 2016 ; Anonyme, 2002). L'hérédité, bien que non formellement établie, semble jouer un rôle, certaines populations comme les Amérindiens ou les Scandinaves présentant des prévalences plus élevées (Chikhi & Mokdad, 2019).

Sur le plan nutritionnel, un régime riche en graisses et pauvre en fibres est reconnu comme facteur favorisant, notamment par son effet sur la saturation biliaire en cholestérol, un mécanisme accentué chez les personnes obèses (Dujardin-Beaumont & Carpentier, 1883 ; Buffet, 2014). L'obésité, par son influence sur la composition de la bile, est ainsi considérée comme un facteur lithogène important, bien que certaines études sur les effets protecteurs des fibres ou des graisses polyinsaturées restent contradictoires (Frexinos et al., 1989). Enfin, certains médicaments (œstroprogestatifs, hypolipémiants) ou pathologies digestives comme la maladie de Crohn peuvent également accroître le risque lithiasique, soit en modifiant la composition de la bile, soit en induisant une stase biliaire (Buxail & Frexinos, 1997 ; Frexinos et al., 1989).

I.2. Approche diagnostique de la lithiase biliaires

I.2.1. Diagnostic clinique

Le diagnostic de la lithiase biliaire repose en premier lieu sur des éléments cliniques. Il est souvent suspecté devant une douleur aiguë de l'hypochondre droit ou de l'épigastre, notamment lors de complications, mais peut également être posé fortuitement à l'occasion d'examens d'imagerie réalisés pour d'autres motifs (Kracht, 1988). L'examen physique peut révéler un signe de Murphy (arrêt inspiratoire à la palpation de l'hypochondre droit) (Balian, 2005), une vésicule biliaire palpable, de forme piriforme, rénitente et mobile avec la respiration, ou encore un subictère apparaissant 12 à 24 heures après une crise douloureuse (Andjouza, 2008).

I.2.2. Examens complémentaires

Les examens complémentaires permettent de confirmer le diagnostic, de rechercher une étiologie sous-jacente, et de détecter d'éventuelles complications.

I.2.2.1. Analyses biologiques

Les examens biologiques aident à identifier des causes sous-jacentes telles qu'une hémolyse ou une dyslipidémie, et à dépister des complications comme une infection, une cholestase ou une pancréatite (Debray, 2012). Le bilan biologique comprend généralement :

- Une numération formule sanguine (NFS), les réticulocytes et l'hémoglobine ;
- Un bilan hépatique complet incluant les marqueurs de cytolyse, de cholestase et un profil lipidique (Oussama, 2010).

I.2.2.2. Examens d'imagerie

L'échographie abdominale est l'examen de première intention. Elle permet une évaluation de la paroi vésiculaire, la détection des calculs et l'analyse des voies biliaires (**Figure I.3**). Sa sensibilité est estimée entre 84 et 97 %, et sa spécificité entre 95 et 99 % (Dubois, 1993 ; Borie & Milat, 2003 ; Finech et al., 2008).

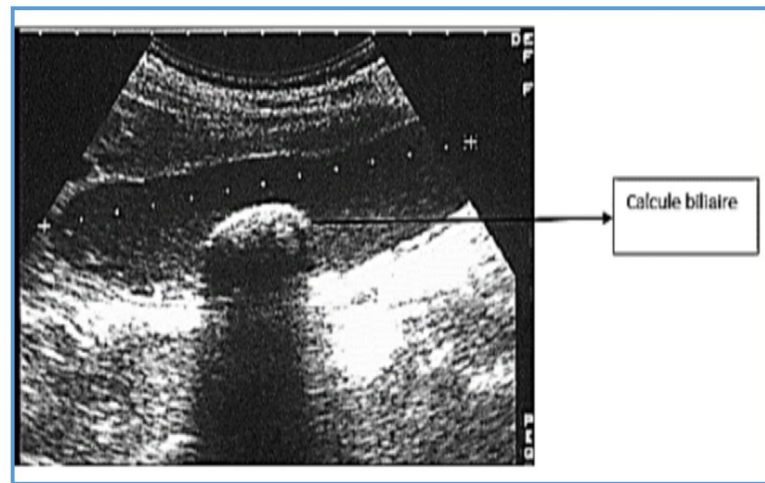


Figure I.3 : Échographie d'un calcul avec ombre postérieure (AYMARD, 2010).

En cas de suspicion de calculs dans le canal cholédoque, la bili-IRM est une méthode d'imagerie non invasive et très précise, limitant le recours à des techniques invasives et donc la morbidité (Benrahal, 2018). Enfin, l'écho-endoscopie, technique semi-invasive, est particulièrement utile pour détecter les micro-lithiases de 1 à 3 mm, souvent responsables de coliques biliaires ou de pancréatites (Palazzo, 1997 ; Tijani, 2014) (**Figure I.4**).

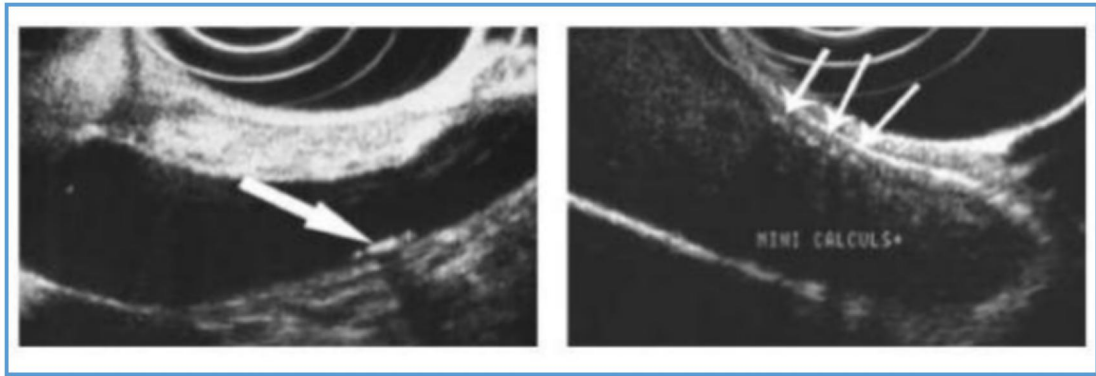


Figure I.4 : Diagnostic écho-endoscopique des calculs vésiculaires a-b
(REGENT et al., 2006)

I.3. Classification et types de calculs biliaires

Les calculs biliaires (CB) sont des formations solides anormales, constituées d'agrégats de substances présentes dans la bile, que l'on retrouve habituellement au niveau des voies biliaires (**Figure I.5**). Ils ne doivent pas être confondus avec les calculs hépatiques, localisés dans le parenchyme hépatique ou ses enveloppes, et qui diffèrent fondamentalement des calculs biliaires par leur origine et leur composition. Les CB peuvent également migrer et se loger dans les canaux excréteurs de la bile. Leur nombre et leur volume sont très variables ; généralement, plus les calculs sont nombreux, plus leur taille individuelle est réduite. Leur dimension peut varier de quelques millimètres (comparable à un grain de sable) jusqu'à plusieurs centimètres, atteignant parfois la taille d'une balle de ping-pong. Ces calculs peuvent être uniques ou multiples, et leur consistance ainsi que leur coloration présentent également une grande hétérogénéité.

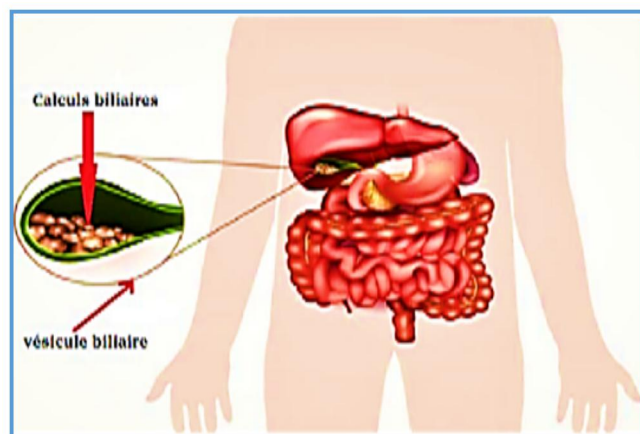


Figure I.5 : Calcul biliaire (Chibout, 2021).

I.3.1. Type des calculs biliaire

Il existe principalement deux types de calculs biliaires : les calculs cholestéroliques et les calculs pigmentaires. Plus rarement, des calculs médicamenteux peuvent se former, résultant de la précipitation de certains principes actifs dans la bile, tels que la ceftriaxone ou le dipyridamole. Les calculs cholestéroliques et les calculs pigmentaires.

I.3.1.1. Calculs cholestérolique

Les calculs cholestéroliques (**Figure I.6**) se divisent en deux catégories :

- Les calculs de cholestérol purs, à structure cristalline bien définie, qui représentent environ 20 % des calculs cholestéroliques ;
- Les calculs mixtes, plus fréquents, formés de couches concentriques alternant cholestérol et bilirubinate de calcium, organisées autour d'un noyau central composé de sels biliaires et de cholestérol.

Ces derniers, de couleur jaunâtre, constituent environ 80 % des calculs cholestéroliques, et près de 67,5 % de l'ensemble des calculs biliaires.



Figure I.6 : Calculs cholestérolique (BOUALITEN, 2019).

Les caractéristiques détaillées des calculs cholestérolique sont résumées dans le **tableau I.1**.

Tableau I.1 : Les caractéristiques des calculs cholestéroliques (Jean D et.al 2017)

Caractéristiques	Cholestéroliques
Couleur	Jaunâtre
Consistance	Dure
Localisation	Vésicule
Culture	Stérile
Radio-opaque	Oui

I.3.1.2. Calculs pigmentaires

Les calculs pigmentaires sont principalement composés de bilirubine et de ses dérivés. On distingue deux types principaux : les calculs noirs et les calculs bruns, dont les caractéristiques sont résumées dans le **tableau I.2**.

Les calculs noirs, formés essentiellement de polymères de bilirubine, se localisent généralement dans la vésicule biliaire. En revanche, les calculs bruns, constitués de bilirubinate de calcium associé à des lipides et des protéines, se forment principalement dans les voies biliaires, souvent en contexte infectieux ou parasitaire.

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

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

I.3.2. Processus de formation des calculs biliaires

La formation des calculs biliaires suit un processus en plusieurs étapes : un stade chimique, un stade physique (ou de nucléation), un stade de croissance, et enfin un stade symptomatique.

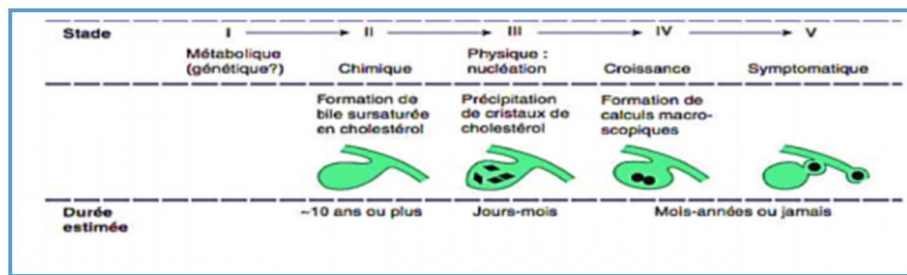


Figure I.7 : Les stades de formation des calculs cholestéroliques (EL KADI, 2016).

I.3.2.1. Stade chimique

Ce stade est caractérisé par la sécrétion, par le foie, d'une bile sursaturée en cholestérol. Chez les patients atteints de lithiase cholestérolique, la bile vésiculaire contient une concentration excessive de cholestérol. Cette sursaturation résulte généralement d'une augmentation de la sécrétion hépatique de cholestérol. Elle peut également être aggravée par une diminution de la sécrétion des acides biliaires, comme c'est le cas en cas de résection de l'iléon terminal, de certaines maladies intestinales (ex. : maladie de Crohn), ou encore de mucoviscidose.

I.3.2.2. Stade physique (ou nucléation)

Ce stade correspond à la précipitation du cholestérol sous forme de cristaux microscopiques à partir de la bile sursaturée. Cependant, la sursaturation biliaire en cholestérol, bien que nécessaire, n'est pas suffisante à elle seule : près de la moitié des individus sans lithiase possèdent à jeun une bile sursaturée sans formation de calculs.

La formation des cristaux (nucléation) dépend alors d'autres facteurs :

- La présence de promoteurs de nucléation (protéines favorisant l'agrégation cristalline) ;
- Ou bien l'absence d'inhibiteurs naturels de la nucléation, appelés agents anti-nucléants, normalement présents dans la bile.

Un rôle important est également joué par le mucus biliaire : son hypersécrétion favorise à la fois la nucléation et l'agrégation des cristaux. Cette hypersécrétion pourrait être stimulée par la bile sursaturée elle-même.

I.3.2.3. Stade de croissance

La croissance des calculs résulte de l'agglomération progressive des cristaux de cholestérol. Ce phénomène est favorisé par une diminution de la motilité vésiculaire, qui ralentit l'évacuation de la bile et facilite la sédimentation et la fusion des cristaux.

I.3.2.4. Stade symptomatique

Les premiers stades du processus sont généralement asymptomatiques. Les calculs ne deviennent symptomatiques que lorsqu'ils migrent et obstruent les voies biliaires, en particulier au niveau du canal cystique ou de la portion distale de la voie biliaire principale. Cette obstruction peut entraîner des manifestations cliniques telles que la colique hépatique, la cholécystite ou l'angiocholite.

I.4. Traitement de lithiase biliaires

I.4.1. Traitement chirurgical de la lithiase biliaires

I.4.1.1. Cholécystectomie chirurgicale

Le traitement de référence de la lithiase vésiculaire symptomatique repose sur la cholécystectomie, c'est-à-dire l'ablation complète de la vésicule biliaire avec son contenu. Cette intervention peut être réalisée par voie chirurgicale classique (laparotomie) ou par voie mini-invasive (cœlioscopie) (Gainant et al., 1997).

La laparotomie utilise une incision médiane sous-ombilicale ou sous-costale droite, impliquant une hospitalisation prolongée (environ 5 jours), une reprise lente des activités (jusqu'à un mois), ainsi qu'un risque accru d'éventration (Prudhomme et Brun, 2006).

La cœlioscopie, aujourd'hui largement privilégiée, consiste à extraire la vésicule à l'aide d'instruments introduits dans la cavité abdominale sous contrôle vidéo. Cette méthode présente plusieurs avantages : des douleurs postopératoires moindres, une reprise rapide du transit intestinal, une durée d'hospitalisation réduite (48 heures), un faible traumatisme pariétal et un excellent résultat esthétique (cicatrices discrètes, voire invisibles) (Dubois et al., 1995 ; Sanogo, 2011). Toutefois, certaines contre-indications existent, notamment chez la femme enceinte en raison du risque d'accumulation de CO₂ fœtal, et des complications iatrogènes peuvent survenir, telles que des hémorragies ou des lésions biliaires (Berrebi, 2003).

Le taux de traumatisme de la voie biliaire principale est estimé à environ 2 %, avec une mortalité très faible (0,1 %) mais qui peut augmenter en cas d'urgence, de complexité des lithiases ou chez les patients âgés (Singleton et al., 1996 ; Révolte, 2002). La morbidité globale varie entre 12 et 14,7 %, avec des complications telles que des fistules biliaires, sepsis pariétaux, infarctus, pneumonies ou infections urinaires. Les facteurs de risque associés à ces complications incluent un âge supérieur à 65 ans, des antécédents cardiaques, une immunodépression, le sexe masculin, l'obésité, ainsi qu'une exploration préopératoire de la voie biliaire principale (Gainant et al., 1995).

I.4.2. Traitement médicamenteux et prévention de la lithiase biliaires

En complément ou en alternative à la chirurgie, plusieurs méthodes non invasives ont été proposées pour la dissolution des calculs biliaires, bien que leur efficacité soit souvent limitée à des cas très spécifiques.

Les méthodes de Pribam et Gardner, utilisant l'héparine, ont montré une certaine efficacité, mais leur utilisation reste marginale en raison de leur caractère douloureux et de leur effet principalement mécanique. L'acide cholique, un acide biliaire utilisé pour dissoudre les calculs cholestéroliques, a également été testé, mais ses effets secondaires ont freiné son emploi en pratique courante. Le lavage mécanique par perfusion biliaire constitue une autre technique destinée à faciliter l'évacuation des calculs, notamment dans des contextes spécifiques comme les lithiases résiduelles. Enfin, la sphinctérotomie oddienne endoscopique, technique consistant à inciser le sphincter d'Oddi pour faciliter l'évacuation des calculs, a démontré une grande efficacité dans le traitement des calculs de la voie biliaire principale, avec des résultats cliniques très satisfaisants (Azouaou, 2020).

Ces approches doivent cependant être bien sélectionnées selon la nature des calculs, leur localisation et l'état général du patient, et s'inscrivent souvent dans une stratégie de prévention des récurrences, en association avec des mesures hygiéno-diététiques.

I.4.3. Approches phytothérapeutiques

I.4.3.1. Usage traditionnel des plantes médicinales

Les plantes anti-chocholéliatiques sont utilisées depuis l'Antiquité pour favoriser la dissolution ou l'élimination des calculs biliaires, ainsi que pour prévenir leur récurrence, en raison de leur efficacité et de leurs effets secondaires généralement moindres comparés aux traitements conventionnels (Joy et al., 2012). Bien que leur action soit souvent plus lente, ces remèdes naturels présentent l'avantage d'être plus accessibles, économiques et mieux acceptés par les patients, ce qui explique l'intérêt croissant pour la médecine traditionnelle (Ahmed et Singh, 2011).

Avec l'essor des thérapies naturelles, la recherche sur les plantes médicinales s'est imposée comme un axe prioritaire de la recherche scientifique contemporaine. Les travaux actuels visent à évaluer l'efficacité et l'innocuité de ces plantes, à identifier leurs principes actifs, et à élucider les mécanismes biochimiques impliqués dans leur action thérapeutique.

L'optimisation des procédés d'extraction, couplée à des essais pharmacologiques et cliniques rigoureux, pourrait conduire à la découverte de nouvelles molécules à potentiel anti-chocholéliatique, tout en enrichissant le champ de l'ethnomédecobotanique, qui étudie les relations entre les sociétés humaines et les plantes médicinales. Par ailleurs, la valorisation de ces espèces contribue à leur préservation, notamment face à la menace de disparition liée à la surexploitation ou à la dégradation de leur habitat naturel (Vaya et al., 2017).

Enfin, pour les patients souffrant d'effets secondaires liés aux traitements médicamenteux classiques, le recours aux plantes médicinales représente une alternative thérapeutique prometteuse, justifiant leur intégration progressive dans des approches de soins complémentaires (Khitri et al., 2016 ; Daudon et al., 2011).

I.4.3.2. Critères de sélection des plantes médicinales étudiées

Dans le cadre de cette étude sur les propriétés anticalculs vésiculaires, plusieurs critères ont été retenus pour sélectionner les plantes médicinales, en vue de garantir des résultats fiables et pertinents. Un critère fondamental a été l'usage traditionnel documenté de ces plantes dans le traitement des troubles biliaires, en particulier des calculs vésiculaires. Des enquêtes ethnobotaniques ont ainsi mis en évidence l'utilisation fréquente de *Taraxacum officinale*, *Herniaria hirsuta L.* et *Berberis vulgaris* dans différentes cultures pour soulager les symptômes associés à cette pathologie (Guechi, 2022).

Par ailleurs, des données expérimentales issues d'études précliniques et cliniques ont renforcé l'intérêt de ces espèces, en mettant en évidence leur capacité potentielle à favoriser la dissolution des calculs. Par exemple, le romarin (*Rosmarinus officinalis*), reconnu pour ses propriétés hépatoprotectrices, stimule l'activité vésiculaire et améliore la fonction digestive, ce qui pourrait contribuer à la réduction des calculs biliaires (Joyeux et al., 1990).

L'analyse chimique de ces plantes a permis d'identifier la présence de composés bioactifs tels que les flavonoïdes, terpènes, alcaloïdes et polyphénols, reconnus pour leurs effets bénéfiques sur la sécrétion biliaire, la fluidité de la bile et la prévention de la formation de lithiases (Alzahrani et al., 2019 ; García-Argáez et al., 2020).

Enfin, la disponibilité locale, le coût abordable et la facilité de préparation de ces plantes ont été pris en compte, favorisant leur accessibilité pour un usage thérapeutique. Ces éléments justifient pleinement leur sélection dans le cadre de cette étude, en tant que remèdes potentiels prometteurs pour la prévention et le traitement des calculs vésiculaires.

I.4.3.3. Plantes médicinales sélectionnées


I.4.3.3.1. Herniaria Hirsuta

Herniaria hirsuta est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle, de petite taille (5 à 15 cm), entièrement velue et hérissée, présentant une teinte grisâtre et munie d'une racine grêle. Les tiges, fines et rampantes, sont totalement appliquées sur le sol. Les feuilles, ciliées et lancéolées, s'affinent à leur base ; les feuilles inférieures sont disposées

de manière opposée, tandis que les supérieures sont alternes (Landolt et al., 2010).

Sur le plan phytochimique, *Herniaria hirsuta* renferme plusieurs composés bioactifs. Elle est particulièrement riche en saponosides triterpéniques, en coumarines (telles que l'ombelliférone et l'herniarine, ou méthoxy-7-coumarine), en scopoline, flavonoïdes, acides phénoliques et tanins. Les bourgeons de la plante contiennent également une huile essentielle, à l'origine de certaines de ses propriétés pharmacologiques (Landolt et al., 2010).

Tableau I.3 : La classification botanique du *Herniaria hirsuta* Selon (Landolt et al., 2010)

Règne	Plante	Photo
Sous règne	Viridaeplantae	
Division	Magnoliophyta	
Classe	Magnoliopsida	
Sous classe	Magnoliidae	
Ordre	Caryophyllales	
Famille	Caryophyllaceae	
Genre	Herniaria	
Espèce	Herniaria hirsuta L	


I.4.3.3.2. Rosmarinus officinalis (Romarin)

Rosmarinus officinalis est une plante herbacée, ligneuse et vivace appartenant à la famille des Lamiacées. Elle atteint généralement 0,8 m à l'état naturel, mais peut dépasser 2 m en culture (Gonzalez-Trujano et al., 2007). Ses feuilles sont persistantes, sessiles, étroites, lancéolées (env. 4 cm × 0,5 cm), rigides et coriaces, avec un limbe vert foncé et brillant sur la face supérieure, et blanchâtre et pubescent sur la face inférieure. Leurs bords sont enroulés vers le bas, formant une marge révoluée (Quézel et Santa, 1963 ; Teuscher et al., 2005). Les fleurs, bleu pâle à violettes, apparaissent presque toute l'année et sont regroupées en grappes

courtes à l'aisselle des feuilles (Kothe, 2007 ; Benikhlef, 2014). Le calice est bilabié, en forme de clochette ovale et duveteuse (Teuscher et al., 2005).

Sur le plan phytochimique, *Rosmarinus officinalis* est reconnu pour sa richesse en composés bioactifs, notamment les flavonoïdes, les tanins et d'autres polyphénols, identifiés par criblage phytochimique (Bellakhdar, 1997 ; Gonzalez-Trujano et al., 2007). Ces substances lui confèrent des propriétés antioxydantes, hépatoprotectrices et cholagogues, favorables à la régulation de la sécrétion biliaire et à la prévention de la formation des calculs.

Tableau I.4 : Classification botanique du romarin Selon (Hdaddi M. 2009)

Règne	Plante	Photo
Sous règne	tracheobionta	
Division	magnoliophyta	
Classe	magnoliopsida	
Ordre	lamiale	
Famille	lamiaceae	
Genre	rosmarinus	
Espèce	rosmarinus officinalis	

Chapitre II

Méthodes Analytiques et Protocoles Expérimentaux

Chapitre II : Méthode Analytiques et protocoles Expérimentaux

Dans ce chapitre, nous présentons les produits et les réactifs ainsi que les méthodes expérimentales et analytiques utilisés au cours de ce travail.

II.1. Réactifs utilisés

L'ensemble des produits chimiques employés dans les expériences figure dans le **tableau II.1**. Aucun des réactifs n'a été soumis à une purification supplémentaire avant utilisation.

Tableau II.1 : Réactifs utilisés.

Nom	Formule	Provenance	Pureté
Chlorure de fer	FeCl ₃	Sigma-Aldrich	99.9%
Acide chlorhydrique	HCl	Biochem	37%
Ethanol anhydre	C ₆ H ₆ O	Sigma-Aldrich	≥ 99%
Magnésium	Mg	Merck	≥ 98% (poudre métallique)
Ammoniac	NH ₃	Prolabo	25% en solution
Acétate de sodium	CH ₃ COONa	Biochem	≥ 98%
Acide sulfurique	H ₂ SO ₄	Merck	95–98%
Folin-Ciocalteu	H ₃ [P(Mo ₁₂ O ₄₀)·(W ₁₂ O ₄₀)] (mélange complexe)	Sigma-Aldrich	Réactif de laboratoire
Carbonate de sodium	Na ₂ CO ₃	Prolabo	≥ 99%
Chlorure d'aluminium	AlCl ₃	Sigma-Aldrich	≥ 98%
Hydroxyde de sodium	NaOH	Sigma-Aldrich	≥ 97%
Méthanol	CH ₃ OH	VWR Chemicals	HPLC grade / ≥ 99.9%
vanilline	C ₈ H ₈ O ₃	Merck	≥ 99%

II.2. Protocole d'extraction des plantes

Le protocole suivant a été appliqué séparément sur deux plantes médicinales : *Rosmarinus officinalis* et *Herniaria hirsuta*.

II.2.1. Séchage du matériel végétal

La plante fraîchement récoltée a été lavée pour éliminer les impuretés. Les feuilles ont été séchées selon deux méthodes (**Figures II.1-II.2**) :

- **À l'ombre** : dans un endroit sec, propre et bien aéré.
- **À l'étuve** : à 60 °C pendant 12 heures.



Figure II.1 : Plante de Romarin avant et après séchage.



Figure II.2 : Plante de *Herniaria hirsuta* avant et après séchage.

II.2.2. Conservation

Les feuilles séchées ont été stockées séparément dans des sachets en papier, à l'abri de l'humidité et de la lumière.

II.2.3. Broyage

Les échantillons séchés à l'ombre ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine.

II.2.4. Tamisage

Le tamisage a été effectué avec un tamis de 125 μm . La poudre obtenue a été conservée dans des flacons en verre hermétiques, à l'abri de la lumière (**Figure II.3**).



Figure II.3 : Poudres de *Romarin* et *Herniaria* après broyage et tamisage.

II.2.5. Préparation des extraits aqueux

II.2.5.1. Infusion de *Rosmarinus officinalis*

20 g de poudre ont été infusés dans 200 mL d'eau distillée bouillante pendant 20 minutes, puis filtrés (**Figure II.4**).

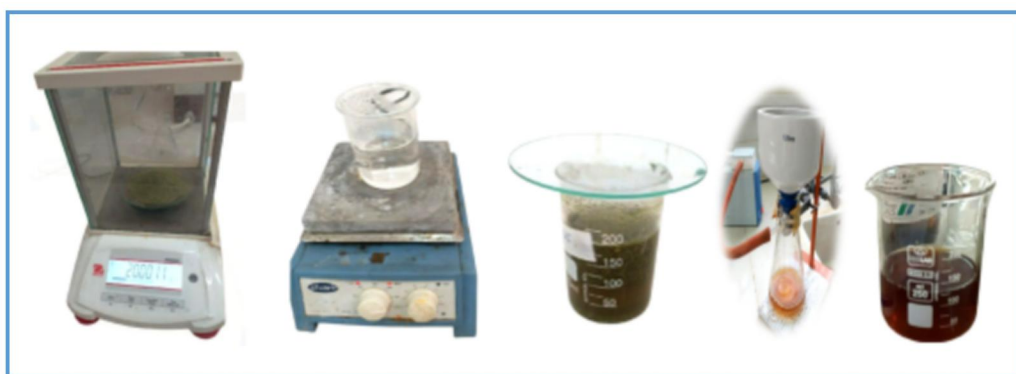


Figure II.4 : Préparation de l'extrait aqueux de *Romarin* par infusion.

II.2.5.2. Infusion de *Herniaria hirsuta*

10 g de poudre ont été infusés dans 100 mL d'eau distillée bouillante pendant 20 minutes, puis filtrés (**Figure II.5**).



Figure II.5 : Préparation de l'extrait aqueux par infusion de *Herniaria*.

II.3. Analyse qualitative : screening phytochimique

Le dépistage phytochimique vise à identifier les principaux groupes de composés bioactifs présents dans les extraits.

II.3.1. Détection des phénols

- ❖ 2 mL d'extrait + 1 mL de FeCl_3 à 3 % → coloration caractéristique (Figures II.6-II.7).



Figure II.6 : Détection des phénols dans le Romarin par test au FeCl_3

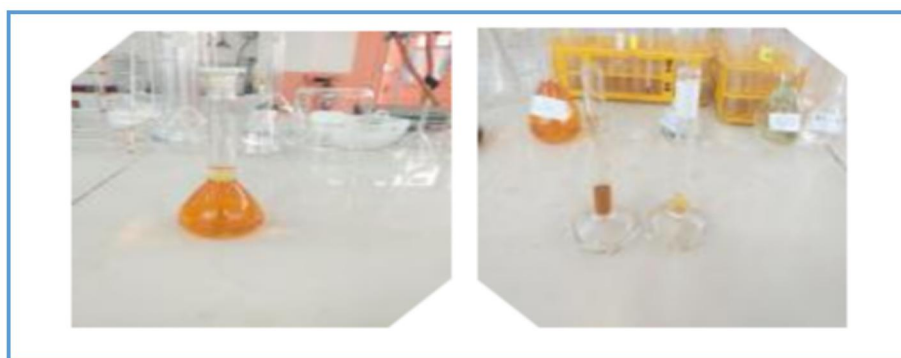


Figure II.7 : Détection des phénols dans *Herniaria* par test au FeCl_3

II.3.2. Détection des flavonoïdes

- ❖ 2 mL d'extrait + 2 mL d'alcool chlorhydrique + 0,2 g de Mg → apparition d'une coloration rouge/rose (Figures II.8-II.9).



Figure II.8 : Détection des flavonoïdes dans le *Romarin*.



Figure II.9 : Détection des flavonoïdes dans *Herniaria*.

II.3.3. Détection des anthocyanes

- ❖ 2 mL d'extrait + 2 mL HCl 2N + 20 gouttes d'ammoniac → virage de couleur (Figures II.10-II.11).



Figure III.10 : Détection des anthocyanes dans le *Romarin*.

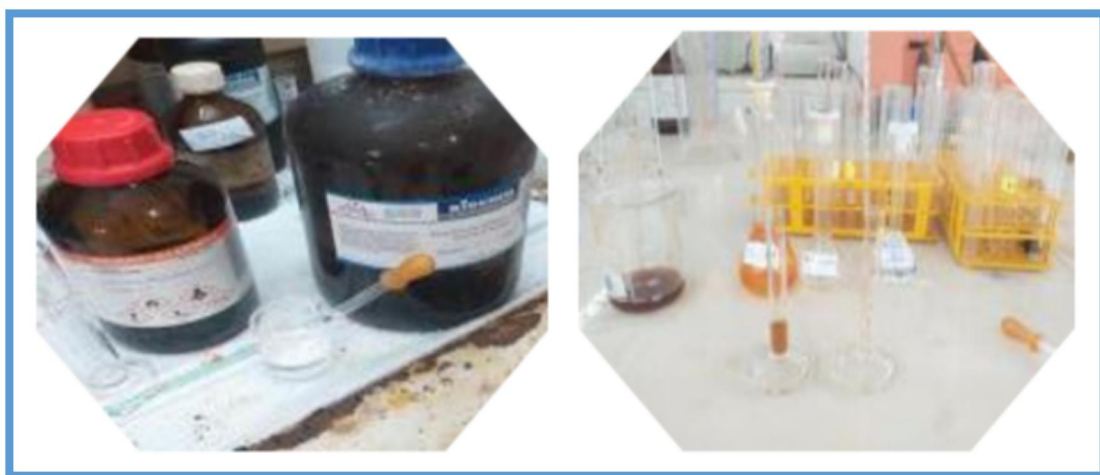


Figure II.11 : Détection des anthocyanes dans *Herniaria*

II.3.4. Détection des tanins galliques

- ❖ Dans un tube à essai, mélanger 5 mL d'extrait végétal avec 2 g d'acétate de sodium.
- ❖ Ajouter ensuite quelques gouttes de chlorure de fer à 5 %.
- ❖ L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre indique la présence de tanins galliques (Figures II.11-II.12).



Figure II.12 : Détection des tanins galliques dans le *Romarin*.



Figure II.13 : Détection des tanins galliques dans *Herniaria*.

II.3.5. Détection des glucosides

- ❖ 2,2 g de poudre + quelques gouttes H_2SO_4 → formation de précipité ou changement de couleur (Figures II.14-II.15).



Figure II.14 : Détection des glucosides dans le *Romarin*.



Figure II.15 : Détection des glucosides dans *Herniaria*.

II.4. Analyse quantitative : dosage des composés bioactifs

Les analyses quantitatives ont été réalisées dans le but d'évaluer la teneur en composés bioactifs présents dans les extraits de deux plantes médicinales, *Rosmarinus officinalis* et *Herniaria hirsuta*. Les mêmes protocoles analytiques ont été appliqués à chacun des extraits végétaux.

II.4.1. Dosage des composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques totaux a été déterminée selon la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, basée sur l'oxydation des phénols par le réactif en milieu alcalin (Figures II.16-II.17) :

- ✧ Dans un tube à essai, introduire 1,25mL d'extrait, 5mL d'eau distillée, puis 1,25mL de réactif de Folin-Ciocalteu.
- ✧ Mélanger vigoureusement et laisser reposer pendant 3 minutes à température ambiante.
- ✧ Ajouter ensuite 12,5mL d'une solution de carbonate de sodium à 7 %
- ✧ Mélanger à nouveau, puis laisser le mélange à l'obscurité pendant 90 minutes à température ambiante.
- ✧ Mesurer l'absorbance à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Témoin négatif (blanc) : Remplacer l'extrait par 6,25mL d'eau distillée, ajouter 1,25 mL de réactif de Folin-Ciocalteu, puis 12,5mL de carbonate de sodium à 7 %.



Figure II.16: Dosage des composés phénoliques totaux de Romarin.



Figure II.17 : Dosage des composés phénoliques totaux de *Herniaria*

II.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée par une méthode colorimétrique (Figures II.18-II.19), fondée sur la formation d'un complexe flavonoïde-aluminium mesurable à 510 nm :

- ✧ Mélanger 2,5 mL d'extrait avec 0,75 mL d'une solution de nitrite de sodium à 5 %.
- ✧ Laisser reposer pendant 6 minutes à température ambiante.
- ✧ Ajouter ensuite 1,5 mL d'une solution de chlorure d'aluminium à 10 %.
- ✧ Après 5 minutes, ajouter 0,5 mL d'une solution de soude à 1 M (NaOH).
- ✧ Compléter le volume à 15,25 mL avec de l'eau distillée, bien mélanger.
- ✧ Mesurer l'absorbance à 510 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Témoin négatif (blanc) : Effectuer la même procédure sans ajout d'extrait végétal, en complétant directement avec de l'eau distillée.

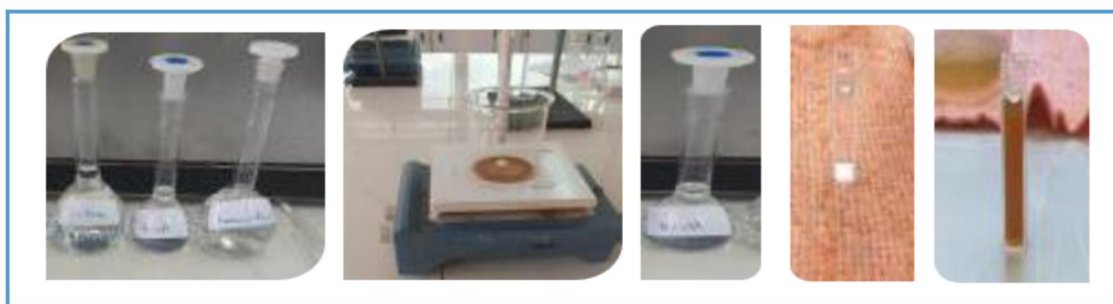


Figure II.18 : Dosage colorimétrique des flavonoïdes totaux de Romarin.

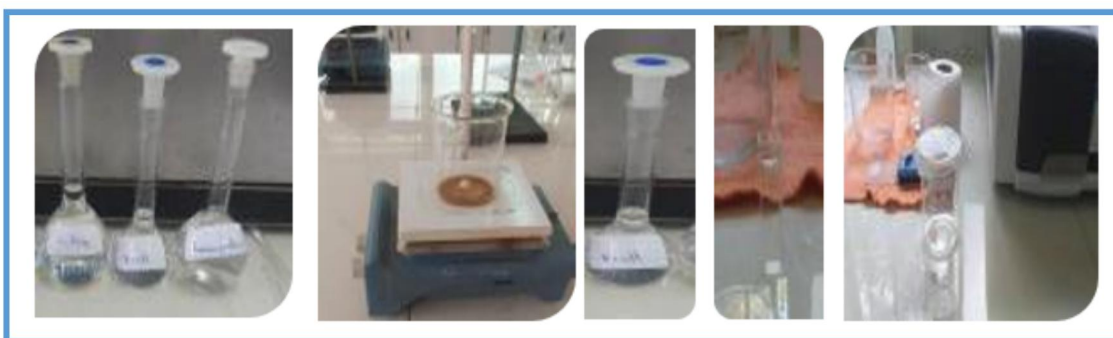


Figure II.19 : Dosage colorimétrique des flavonoïdes totaux de *Herniaria*

II.4.3. Dosage des tanins condensés

La quantification des tanins condensés a été réalisée selon la méthode colorimétrique à la vanilline-acide chlorhydrique, reposant sur la formation d'un complexe coloré mesurable à 550 nm (Figures II.20-II.21):

- ✧ Introduire 0,05 mL d'extrait dans un tube à essai contenant 1,5 mL d'une solution de vanilline à 4 % dans le méthanol.
- ✧ Mélanger vigoureusement, puis ajouter 0,75 mL d'acide chlorhydrique concentré (HCl).
- ✧ Laisser reposer pendant 20 minutes à température ambiante.
- ✧ Mesurer l'absorbance à 550 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Témoin négatif (blanc) : Effectuer la même procédure sans extrait, en remplaçant celui-ci par le même volume de méthanol.

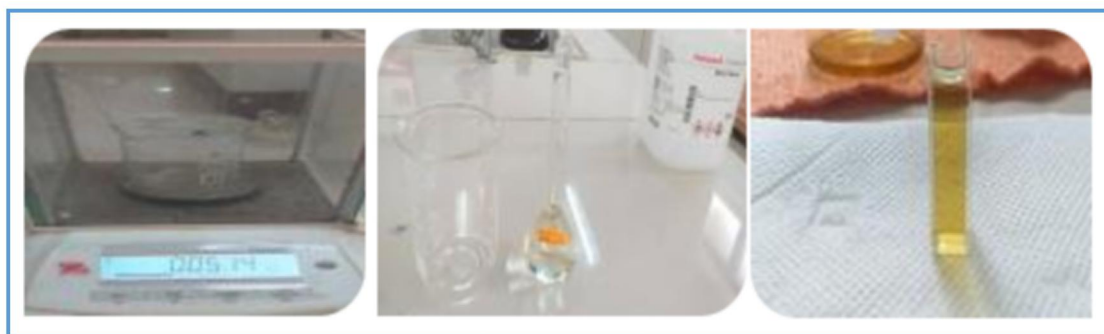


Figure II.20: Dosage colorimétrique des tanins condensés de *Romarin*



Figure II.21 : Dosage colorimétrique des tanins condensés de *Herniaria*

II.5. Étude in vitro de la dissolution des calculs biliaires

II.5.1. Origine des calculs

Les calculs biliaires utilisés dans cette étude ont été prélevés chez une **patiente âgée de 34 ans**, opérée à la **clinique Abu Al Qassim (Figure II.22)**. Avant leur utilisation, ils ont été soigneusement lavés à plusieurs reprises avec de l'eau distillée afin d'éliminer les impuretés.



Figure II.22 : Calculs biliaires cholestéroliques prélevés chez une patiente.

II.5.2. Séchage et pesée des calculs

Les calculs biliaires ont été séchés dans un four à 45 °C pendant une nuit, afin d'éliminer toute trace d'humidité. Après séchage, ils ont été pesés individuellement à l'aide d'une balance analytique de haute précision, afin de déterminer leur poids sec initial (**Figure II.23**).



Figure II.23 : Aspect des calculs avant et pendant séchage à 45 °C.

II.6.2. Mise en place des tests de dissolution

Huit tubes à essai préparés comme suit :

- **Tube 1** : 5 mL extrait *Romarin* (sans calcul)
- **Tube 2** : 5 mL extrait de *Herniaria* (sans calcul)
- **Tube 3** : 5 mL eau distillée + 1 calcul (témoin)
- **Tube 4** : 5 mL extrait *Romarin* + 1 calcul
- **Tube 5** : 5 mL extrait de *Herniaria* + 1 calcul
- **Tube 6** : 2,5 mL extrait *Romarin* + 2,5 mL extrait plante *Herniaria* + 1 calcul
- **Tube 7** : 5 mL extrait *Romarin* + 5 mg poudre *Romarin* + 1 calcul
- **Tube 8** : 2,5 mL extrait *Romarin* + 2,5 mL extrait de *Herniaria* + 2,5 mg poudre *Romarin* + 2,5 mg poudre plante 2 + 1 calcul

Tous les tubes contenant un calcul biliaire ont été incubés à 37 °C, température physiologique, pendant une durée de 7 jours.

À l'issue de l'incubation, les calculs ont été soigneusement récupérés, séchés à 37 °C afin d'éliminer toute trace d'humidité résiduelle, puis pesés à l'aide d'une balance analytique pour déterminer leur poids sec final.

La perte de masse de chaque calcul a été calculée par la différence entre le poids initial et le poids final, ce qui permet d'évaluer l'efficacité de la dissolution induite par les extraits et/ou poudres végétales.



*Chapitre III : Résultats
et discussion*

Chapitre III : Résultats et discussions

Ce chapitre présente et interprète les résultats expérimentaux obtenus au cours de l'étude, en lien avec les objectifs fixés dans la partie méthodologique. Les analyses phytochimiques qualitatives et quantitatives ont permis de mettre en évidence la composition biochimique des extraits végétaux utilisés (*Rosmarinus officinalis* et *Herniaria hirsuta*), tandis que les tests de dissolution des calculs biliaires ont permis d'évaluer leur potentiel litholytique.

Les résultats obtenus sont présentés sous forme de figures et tableaux explicatifs, suivis d'une interprétation scientifique détaillée, à la lumière des données disponibles dans la littérature.

III.1. Tests phytochimiques qualitatifs

Les résultats des tests de caractérisation des métabolites secondaires ont révélé la présence de plusieurs groupes bioactifs dans les extraits aqueux des deux plantes étudiées. Ces métabolites, connus pour leurs effets antioxydants, anti-inflammatoires et hépatoprotecteurs, pourraient contribuer à l'activité litholytique observée.

III.1.1. Détection des composés phénoliques

D'après les résultats observés, une coloration bleue foncée à noire a été enregistrée, traduisant une réponse positive à la présence de composés phénoliques (**Figures III.1-III.2**). Ces molécules, largement reconnues pour leurs propriétés anti-oxydantes, peuvent interagir avec la structure des calculs biliaires et en favoriser la désagrégation.



Figure III.1 : Présence des phénols dans le *Rosmarin*



Figure III.2 : Présence des phénols dans *Herniaria*

II.1.2. Détection des flavonoïdes

L'apparition d'une coloration orange à rouge indique la présence de flavonoïdes (Figures III.3-III.4). Ces pigments végétaux sont connus pour leurs effets protecteurs au niveau hépatobiliaire, ce qui renforce l'hypothèse de leur rôle potentiel dans la dissolution des calculs.



Figure III.3 : Présence de flavonoïdes dans le *Romarin*.



Figure III.4 : Présence de flavonoïdes dans *Herniaria*.

III.1.3. Détection des anthocyanes

Après l'addition de quelques gouttes d'ammoniaque, l'absence du virage de la coloration rose-rouge au bleu-violet confirme l'absence d'anthocyanes (**Figures III.5-III.6**). Ces composés peuvent participer à la stabilisation de la bile et à la réduction du stress oxydatif.



Figure III.5 : Absence des anthocyanes dans le *Romarin*



Figure III.6 : Absence des anthocyanes dans le *Herniaria*

III.1.4. Détection des tanins galliques

Une réaction positive, caractérisée par une coloration bleu foncé (**Figures III.7-III.8**), suggère la présence de tanins hydrolysables. Ces derniers peuvent précipiter les protéines et jouer un rôle dans l'altération des matrices organiques des calculs.

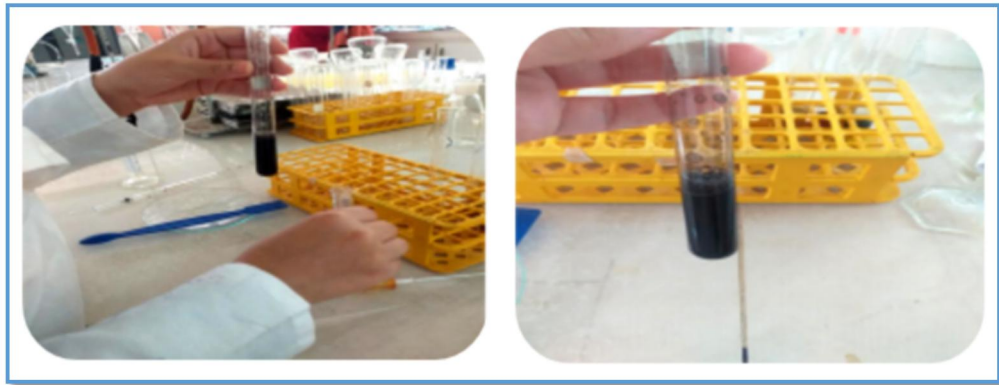


Figure III.7 : Présence des tanins galliques dans l'extrait de *Romarin*

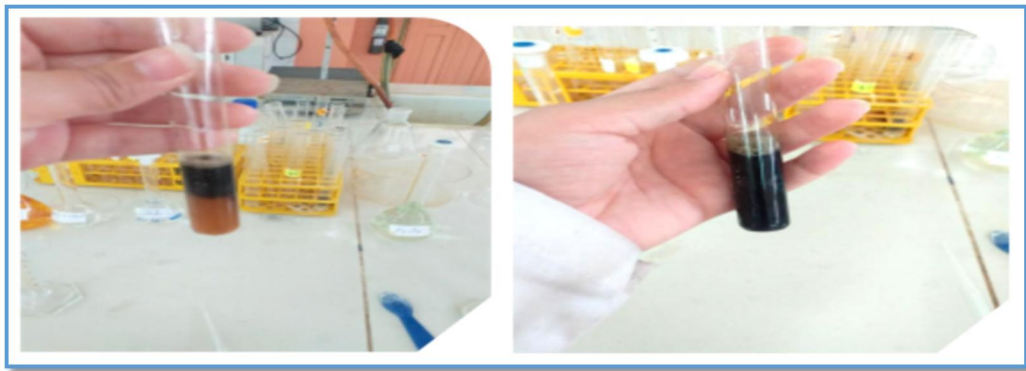


Figure III.8 : Présence des tanins galliques dans l'extrait de *Herniaria*.

III.1.5. Détection des glucosides

La succession d'une coloration rouge brique suivie d'un virage au violet indique la présence de glucosides (**Figures III.9-III.10**), qui peuvent libérer des aglycones actifs responsables d'effets biologiques bénéfiques.

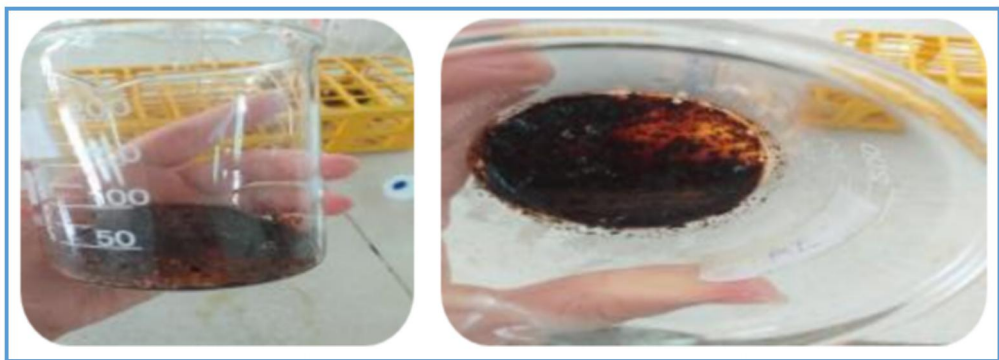


Figure III.9 : Présence des glucosides dans l'extrait de Romarin.



Figure III.10 : Présence des glucosides dans l'extrait de *Herniaria*.

III.2. Dosage des composés bioactifs

III.2.1. Dosage des composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques totaux a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu. D'après les résultats présentés dans la **Figure III.11**, l'extrait de *Herniaria hirsuta* présente la valeur d'absorbance la plus élevée (**DO = 3,517**), indiquant une concentration phénolique notable, estimée à, **144,18 mg EAG/g** d'extrait sec (équivalents acide gallique). L'extrait de *Rosmarinus officinalis* a montré une absorbance légèrement inférieure (**DO = 3,291**), correspondant à une concentration de **134,90 mg EAG/g**. Ces résultats montrent que les deux extraits contiennent une quantité significative de polyphénols, qui sont reconnus pour leur capacité à inhiber l'oxydation lipidique, à protéger les membranes cellulaires et à altérer les structures solides comme les calculs cholestéroliques. Le pouvoir antioxydant élevé des extraits pourrait induire une désorganisation de la matrice cristalline des calculs, facilitant ainsi leur fragmentation.

L'association des deux extraits semble renforcer cette activité, probablement en raison d'un effet additif ou synergique entre différents types de phénols (acides phénoliques, flavonoïdes, tanins). Cette interaction mérite d'être approfondie dans des modèles expérimentaux *in vivo*.

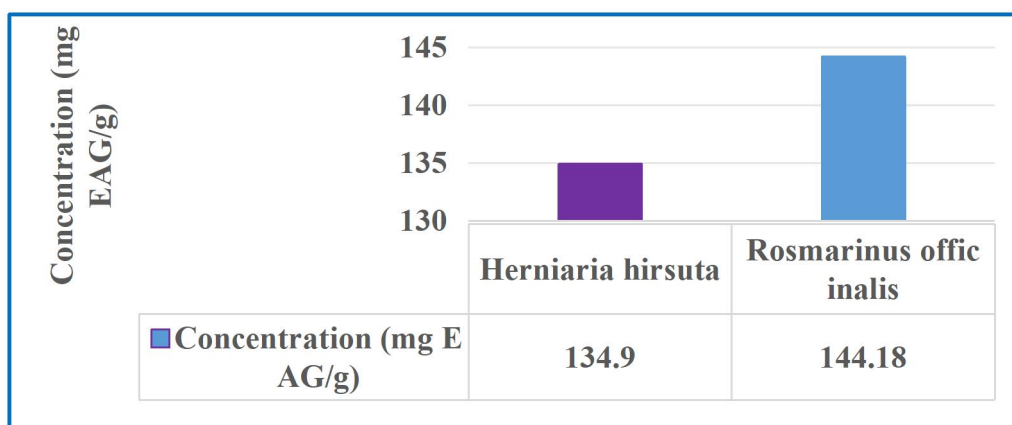


Figure III.11 : Dosage des composés phénoliques totaux dans les deux extraits *Romarin et Herniaria*.

III.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Comme illustré dans la Figure III.12, l'extrait de *Herniaria hirsuta* a donné une absorbance de 0,1658 à 510 nm, traduisant une teneur en flavonoïdes estimée à 16,17 mg EQ/g d'extrait sec (équivalents quercétine). Ce niveau relativement élevé indique une contribution potentielle significative à l'activité anticancéreuse par mécanismes antioxydants, anti-inflammatoires et stabilisateurs membranaires. In vivo, ces flavonoïdes peuvent agir en neutralisant les radicaux libres et en renforçant l'intégrité des cellules biliaires.

En revanche, l'extrait de *Rosmarinus officinalis* a montré une absorbance faible (0,0065), équivalente à une concentration très réduite de 0,52 mg EQ/g, suggérant un rôle secondaire dans la dissolution des calculs, du moins via les flavonoïdes.

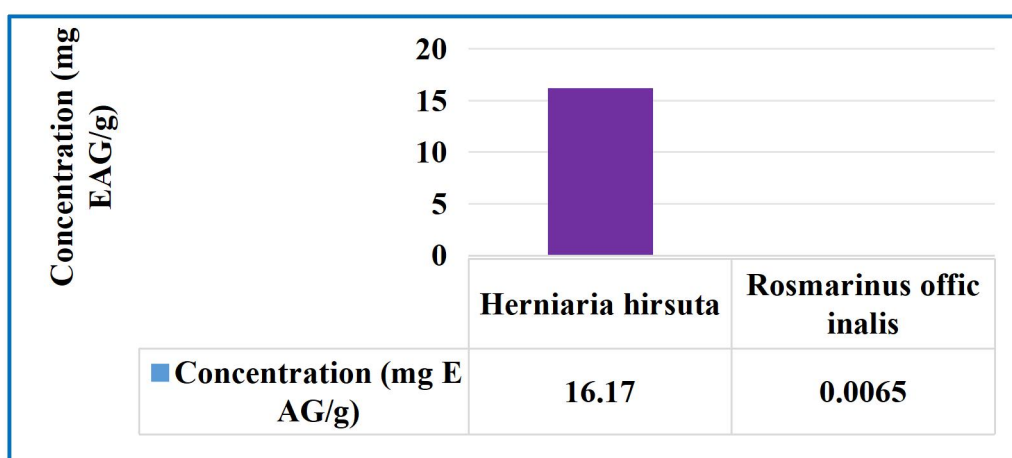


Figure III.12 : Dosage des flavonoïdes totaux

III.2.3. Dosage des tanins condensés

D'après les résultats illustrés dans la **figure III.13**, l'extrait de *Rosmarinus officinalis* a présenté une absorbance élevée à 550 nm (**2,3565**), correspondant à une teneur importante en tanins condensés, estimée à **94,2 mg EC/g** d'extrait sec (équivalents catéchine). Cette forte concentration suggère un rôle actif des tanins dans la déstabilisation des structures protéiques complexes formant les calculs biliaires, en facilitant leur dégradation. Les tanins peuvent également activer certaines enzymes digestives ou hydrolases favorisant la solubilisation des constituants cristallins.

En comparaison, l'extrait de *Herniaria hirsuta* a présenté une absorbance modérée (**0,2089**), correspondant à une teneur de **8,3 mg EC/g**, indiquant une contribution plus limitée des tanins dans son activité dissolvante. Toutefois, cet extrait se distingue par une teneur élevée en flavonoïdes, qui exercent une action antioxydante directe, favorable à la désintégration des calculs.

L'association synergique entre ces deux extraits permet une complémentarité fonctionnelle in vivo : les flavonoïdes de *Herniaria hirsuta* réduisent le stress oxydatif, stabilisent les membranes des cellules biliaires et préviennent la nucléation des cristaux, tandis que les tanins condensés de *Rosmarinus officinalis* stimulent des voies enzymatiques et mécaniques de dégradation. Cette synergie pourrait ainsi potentialiser l'effet dissolvant global et prévenir la récurrence des calculs biliaires.

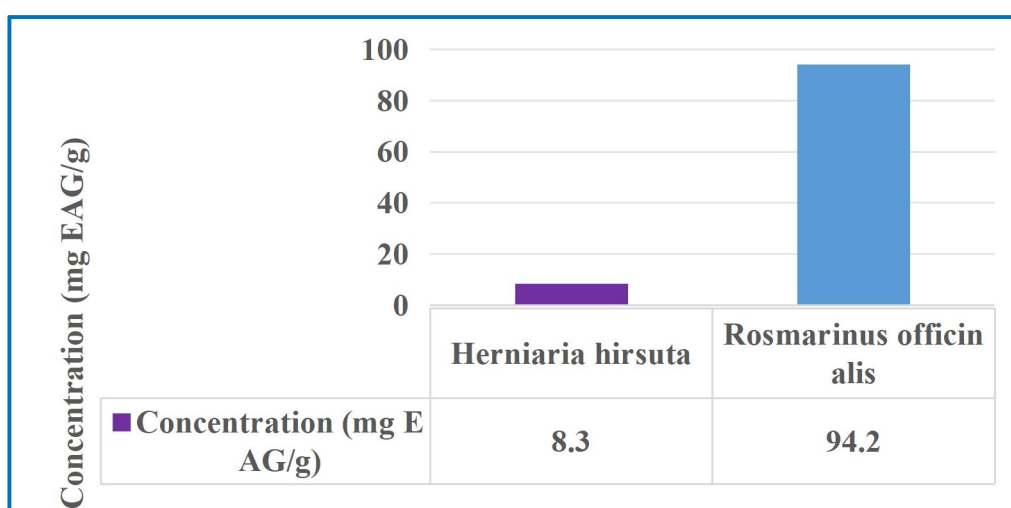


Figure III.13 : Dosage des tanins par la méthode vanilline.

III.3. Étude in vitro de la dissolution des calculs biliaires

L'évaluation de l'effet dissolutif des extraits végétaux sur les calculs biliaires a été réalisée en comparant le poids sec initial et final de calculs cholestéroliques après 7 jours d'incubation à 37 °C, température physiologique. Les résultats sont présentés dans la **Figures III.13-III.14**, sous forme de graphique en barres illustrant la variation de masse des calculs dans huit conditions expérimentales (**tubes 1 à 8**). Chaque condition est représentée par deux barres : l'une indiquant le poids initial, l'autre le poids final après traitement.

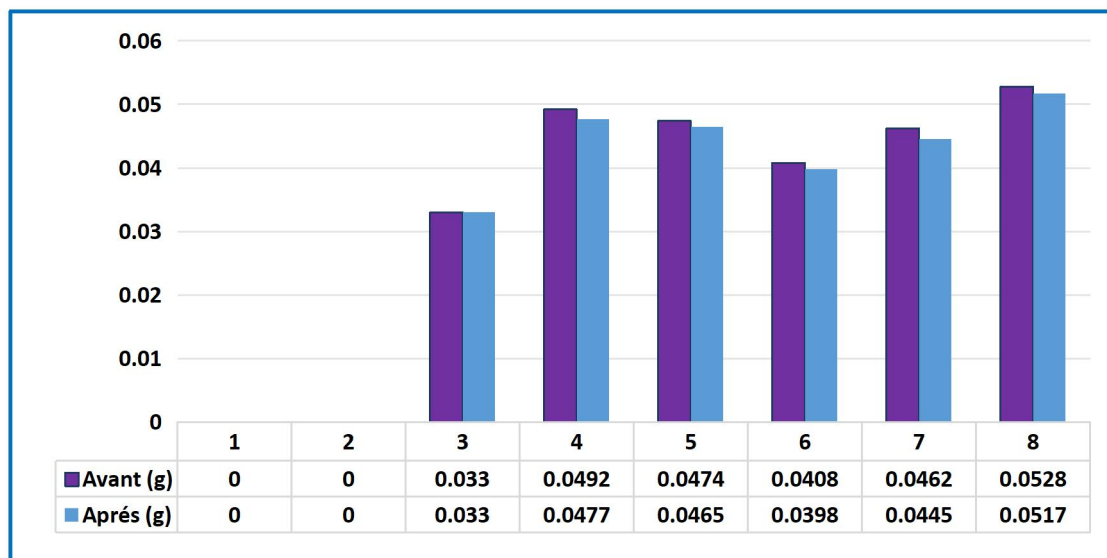


Figure III.14 : Dissolution in vitro des calculs biliaire de cholestérol

Les tubes 1 et 2, contenant respectivement les extraits de *Herniaria hirsuta* et de *Rosmarinus officinalis* sans calcul, n'ont montré aucune perte de masse, confirmant l'absence d'effet de dégradation en l'absence de substrat (calcul biliaire). Cette observation sert de contrôle pour exclure toute erreur expérimentale liée à l'évaporation ou à la décomposition de l'extrait lui-même.

Le tube témoin (tube 3), contenant un calcul immergé dans de l'eau distillée, n'a présenté aucune variation de poids, confirmant que l'eau seule ne provoque pas de dissolution, et que les pertes de masse observées dans les autres tubes sont attribuables à l'effet spécifique des extraits végétaux.

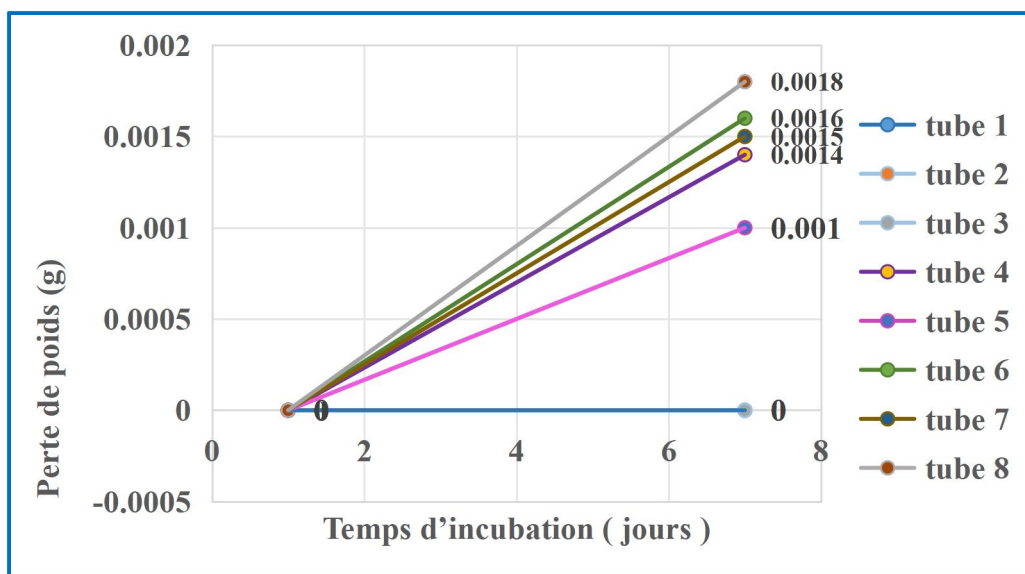


Figure III.15 Dissolution in vitro des calculs biliaire de cholestérol

Les tubes contenant à la fois **extrait(s) et calcul** ont donné les résultats suivants :

Tube 4 (*Herniaria hirsuta* + calcul) : perte de **0,0014 g**, indiquant une **efficacité modérée** dans la dégradation du calcul par cet extrait riche en flavonoïdes.

Tube 5 (*Rosmarinus officinalis* + calcul) : perte de **0,0010 g**, légèrement inférieure à celle du tube 4, suggérant un **effet dissolutif plus faible**, probablement en lien avec sa composition phytochimique dominée par les tanins condensés.

Tube 6 (mélange des deux extraits à parts égales + calcul) : perte de **0,0016 g**, démontrant une **efficacité comparable**, bien que chaque extrait soit utilisé à **moitié de concentration** par rapport aux tubes 4 et 5. Ce résultat soutient fortement l'hypothèse d'un **effet synergique** entre les deux extrait

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Ce travail a porté sur l'évaluation *in vitro* de l'effet dissolutif de deux extraits végétaux, *Herniaria hirsuta* et *Rosmarinus officinalis*, sur les calculs biliaires cholestéroliques en absence de bile, à travers une approche intégrée alliant analyses phytochimiques, dosages quantitatifs de métabolites secondaires, et essais de dissolution expérimentale.

Les résultats des tests phytochimiques ont révélé la présence de composés bioactifs majeurs tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins condensés, reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et leur capacité à interagir avec les structures protéiques des calculs. Les dosages ont confirmé que l'extrait de *Herniaria hirsuta* est particulièrement riche en composés phénoliques totaux (**3,7185 mg EAG/mL**) et en flavonoïdes (**0,1658 mg/mL**), tandis que *Rosmarinus officinalis* se distingue par sa concentration élevée en phénols (**3,4927 mg EAG/mL**) et en tanins condensés (**2,3565 mg/mL**). Ces profils phytochimiques distincts traduisent une complémentarité d'action : *Herniaria hirsuta* agit essentiellement par des mécanismes antioxydants directs, tandis que *Rosmarinus officinalis* intervient via des interactions enzymatiques et structurales médiées par les tanins.

Les essais de dissolution ont montré que ces extraits induisent une réduction significative de la masse des calculs cholestéroliques après 7 jours d'incubation à 37 °C. Les meilleures pertes de masse ont été observées avec *Herniaria hirsuta*, notamment lorsqu'il est associé à sa forme en poudre sèche, suggérant une libération prolongée de principes actifs. De plus, l'association des deux extraits a mis en évidence un effet synergique, permettant d'obtenir une efficacité comparable à des concentrations plus faibles. Cette complémentarité pourrait être exploitée pour optimiser une formulation phytothérapeutique.

Bien que cette étude ait été menée en conditions *in vitro*, les résultats obtenus sont prometteurs et suggèrent une efficacité potentiellement renforcée *in vivo*, dans un environnement physiologique riche en enzymes et facteurs biologiques. Ainsi, l'association de *Herniaria hirsuta* et *Rosmarinus officinalis* constitue une approche thérapeutique naturelle prometteuse pour la prévention et le traitement des calculs biliaires cholestéroliques.

Des études supplémentaires, notamment *in vivo* et cliniques, sont indispensables afin de valider ces résultats préliminaires, d'élucider les mécanismes moléculaires sous-jacents, et de définir les paramètres optimaux de formulation, de dosage et d'administration pour un usage thérapeutique sûr et efficace.

Références

- A**bou Auda, M. M. (2025). An updated comprehensive review, systematics and biological activity of medicinal plants used in traditional medicines and their common uses in the Gaza Strip. *Advances in Environmental Biology*, 43(1), 1–43. Disponible sur : [http://www.aensiweb.net/AENSIWEB/aeb/aeb/2025/January/1-43\(1\).pdf](http://www.aensiweb.net/AENSIWEB/aeb/aeb/2025/January/1-43(1).pdf)
- Adehossi ; eric omar ; jean pierre 1992 ‘‘Etude sur les lithiase biliaires à l’hôpital national de Niamey (à propos 15 cas) ‘‘ these en medicine ,27/06/1992
- Ahmed MM, Singh KP 2011. Traditional knowledge of kidney stones treatment by Muslim.
- Allileche, Thilleli 2021, and Thinhinane Adi. Synthèse bibliographique sur la lithiase biliaire. Diss. Université, Mouloud Mammeri
- Amoura, N. B., Benkirat, N. E., Boughendjioua, H., & Adjailia-Farah, I. (2018). *Évaluation de la capacité de dissolution des calculs biliaires de Malva sylvestris L.* [Evaluation of the dissolving capacity of gallstones of *Malva sylvestris L.*]. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 87, 56-61. Ed de Vecchi.
- Andjouza A-A, 2008 .Place de l’échographie dans le diagnostic de la lithiase biliaire .Thèse du Doctorat en médecine N° 1037 Université de Mahajanga ; présentée et soutenue le 06 / 11 /2008.
- Anonyme. (2002)- Lithiase biliaire médicamenteuse. Thèse Pharmacie, Landes. PP176.

Arrout, A., El Ghallab, Y., Yafout, M., Lefriyekh, M. R., & Benlghazi, H. (2024). Medicinal plants for gallstones: A cross-sectional survey of Moroccan patients. *Phytomedicine Plus*, 4, 100157. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2024.100157>

Aymard D.J. (2010)- Problématique de la détermination des facteurs de risques de la lithiase biliaire. Thèse médecine N°1113 université de MAHAJANCH, PP 12.

Azouaou 2020 lithiase résiduelle cours, CHU blida.

Benikhlef, A. (2014). Comparaison entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* des régions de Béchar et Ouargla. (Mémoire de Master, Université de Tlemcen).

Benmehdi H, Hasnaoui O, Benali O, Salhi F 2012. Phytochemical investigation of leaves and fruits extracts of *Chamaerops humilis* L. *J Mater Environ Sci*. Dec; 3:320-37

Benrahhal S. (2018)- Prise en charge de la lithiase de la vésicule biliaire à l'hôpital Ibn Tofail de Marrakech. Thèse médecine, Faculté médecine et de pharmacie MARRAKECH, PP 47, 92, 93.

Borie F. Et Millat B. (2003) - Cholécystectomie et exploration de la voie biliaire principale par coelioscopie, traitement coelioscopique de la lithiase de la voie biliaire principale. *Encycl Méd Chir* (Editions scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, Techniques chirurgicales. Appareil digestif, PP 40-950, 25.

Boualiten k. (2019)- La lithiase vésiculaire chez l'enfant. Thèse médecine, Faculté de médecine et de pharmacie RABAT, PP 50.

Bray F. (2017)- Epidémiologie des cholécystectomies : Etude de la base nationale du PMSI, de 2008 à 2014. Thèse médecine, Université de LILLE, PP 7, 9.

Buffet C. Lithiase biliaire: facteurs environnementaux et génétiques. Médecine des Maladies Métaboliques. 2014 Sep 1;8(4):402-7.

Buffet C., Palletier G. Et Bratf. (2000)- La lithiase biliaire Collection conduites. Edition DOIN, Paris, PP 91.

Buxail L. Et Frexinos J. (1997)- Hepato-Gastro-Enterologie Proctologie. Edition Masson, 5ème édition. Paris. PP 712.

Carey M.C. (1978)- Journal of lipid research. PP 945-955.

Chekroune M, Benamara S. Gallstones-dissolving capacity of lemon (Citrus limon) juice, Herniaria hirsuta L. Extract and lemon juice-based natural vinaigrette in vitro. 2017 ,vol.16 , p. 197-202.

Chikhi I. Et Mokdad I. (2019)- Dissolution des calculs biliaires par quelques extraits végétaux. Essai in vitro.et caractérisation des plantes. Mémoire fin d'étude « Agro-alimentaire et Contrôle de Qualité » Université de BOUIRA, PP 6.

Collins P, Wagner-Ballon J. L'essentiel en hépato-gastro-entérologie. Elsevier Health Sciences; 2013 May 16.

Corpechot C. (2013)- Lithiase biliaire. Edition Elsevier Ine P2 PARIS, 4-0391, PP 1, 2, 10.

Daudon F. Meiouet a , S. El Kabbaj 2011 Étude in vitro de l'activité litholytique de quatre plantes médicinales vis-à-vis des calculs urinaires de cystine

Debray D. (2012) - (Cholelithiasis in infants, children and adolescents). Edition Presse Med.
P 466-73.

Dubois F. (1993) -Les cholécystectomies et exploration de la VBP par coelioscopie. Edition
EMC (Paris), techniques chirurgicales, généralités, Appareil digestif, PP 17, 40-950.

Dubois F., Berthelot G., Levard H, 1995. Cholécystectomie par coelioscopie. Technique et
Complication. A propos de 2665 cas Bull. Acad. Natle. Méd 1995; 179 :10591068.

Dujardin-Beaumont Z, Carpentier-Méricourt E. Lecons de clinique therapeutique: professees a
l'hospital saint-antoine. Doin; Paris ,1883.

EDDOUKS M, OUAHIDI, M. L, FARID, O. L'utilisation des plantes médicinales dans le
traitement du diabète au Maroc. Phytothérapie, 2007, vol. 5, no 4, p. 194-203.

El kadi I. (2016)- Prise en charge des angiocholites lithiasiques. Thèse médecine, Faculté
médecine et de pharmacie RABAT, PP 20.

El Ouadghiri R. Lithiase de la vésicule biliaire : complications et aspects évolutifs (à propos
de 2297 cas) . Thèse : Médecine, Maroc ,2016 ,156p, 176/16.

Finech B., Najib I.J. et Dafali A. (2008) - La cholecystectomie laparoscopique : A propos de
712 cas. Thèse médecine Marakkeche n°57.

Fourment P, Roques H. Répertoire des plants medicinales et aromatiques d'Algerie.
Documentrs et renseignements agricoles. Bull. 1941;61.

Frexinos J., Fourtanier G., Escourrou J., Piere.J.P., Lemozy.J., Duffaut M., Vinel J.P., Balas D., Bommelaer G. Et Voigt J.J. (1989)- Hépatogastro-entérologie clinique. Edition Simep Paris, 4ème édition, PP 476.

Gainant A., Antarieu S., Mathonnet M, 1997. Traitement chirurgical de la lithiase biliaire et de ses complications. Encycl. Med Chir. Paris, 1997: 7-047-G—10.

González-Trujano, M. E., Peña, E. I., Martínez, A. L., Moreno, J., Guevara-Fefer, P., Déciga-Campos, M., et al. (2007). Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. Using three different experimental models in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 111(3), 476-482. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.12.011>

GUECHI Narimène Ouafa 2022 THÈSE Études floristique et ethnobotanique du massif de Maadid (M'Sila, Algérie).

Hdaddi M. (2009) .Détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *lavandula stoechas*:7-16-17P

Holzbach R.T. et Kibe A. (1985)- Pathogenesis of cholesterol gallstones. Edition churchill Livingstone, New-York, PP 299-307.

Hseini et Kahouadji, 2007 : Etude ethnobotanique de la flore médicinale dans la région de Rabat Maroc. Edition Lazoroa. P92.

Idrissi M. (2020)- Profil épidémiologique des cancers de la vésicule biliaire Expérience du service de chirurgie viscérale Hôpital Arrazi au CHU Mohammed VI de Marrakech.

Thèse médecine, FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE-Marrakech,
PP 8.

Jand Oleszek, W., 2018. Γ -Pyrone compounds: flavonoids and maltol glucoside derivatives from *Herniaria glabra* L. Collected in the Ternopil region of the Ukraine. *Phytochemistry*, 152, pp.213-222.

Jean D, Ariane C. *Hépatologie gastrologie enterologie chirurgie viscérale* 6^e édition. Paris, 2017.

Joy JM et al. 2012 Potent herbal wealth with litholytic activity: A review. *International Journal of Innovative Drug Discovery*;2(2):66-75.

Joyeux, M., Rolland, A., Fleurentin, J., Mortier, F., & Dorfman, P. (1990). Tert-Butyl hydroperoxide-induced injury in isolated rat hepatocytes: A model for studying anti-hepatotoxic crude drugs. *Planta Medica*, 56(2), 171–173.

Kamina P. (2012)- *Anatomie clinique THORAX ABDOMEN*. Edition Maloine, 3^{ème} édition, PP 360.

Khitri Walid, Nassima Lachgueur, Abdessamed Tasfaout, Abderrahmene Lardjam et Ali Khalfa 2016 *Plantes antilithiasiques utilisées en médecine traditionnelle dans la ville d'Oran, Algérie*

Kompelly, A., Kompelly, S., Vasudha, B., & Narender, B. (2019). *Rosmarinus officinalis* L.: An update review of its phytochemistry and biological activity. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(1), 323-330. <https://doi.org/10.22270/jddt.v9i1.2218>

Kothe, E. (2007). *Rosmarinus officinalis* L.: Composition chimique et propriétés biologiques. *Biologie & Santé*, 7(1), 5-10.

Kozachok, S., Pecio, L., Kolodziejczyk-Czepas, J., Marchyshyn, S., Nowak, P., Mołdoch,

Kracht M, 1988. Hôpital Henri – Mondor 51, av du M al de lettre de Tassigny 94010 Créteil .article de la revue du praticien canal calcique et antagonistes du calcium N° 27 ISSN 0035-2640.

Lachaux A, Lacaille F. Hépatologie de l'enfant. Elsevier Health Sciences; 2018 Oct 16.

Lachgar M. (2011) - Aspects épidémiologiques, clinique et thérapeutiques de la lithiase biliaire. Au CHU Mohammed VI Marrakech. Thèse médecine n°55, PP 73.

Landolt E., (2010). *Flora indicativa. Ökologische Zeigerwerte und biologische Kennzeichen zur Flora der Schweiz und der Alpen*. Editions des Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève, Haupt Verlag Bern-Stuttgart-Wien, p 376.

Landolt, E., Bäumler, B., Ehrhardt, A., Hegg, O., Klötzli, F., Lämmler, W., Nobis, M., Rudmann-Maurer, K., Schweingruber, F. H., Theurillat, J.-P. (2010). *Flora indicativa: Okologische Zeigerwerte und biologische Kennzeichen zur Flora der Schweiz und der Alpen*. Haupt. 376 p.

Lierse W et Schreiber HW, 1993. Manuel de médecine Atlas chirurgie :vésicule biliaire voies biliaires pancréas ;Octeubre 1992.ISBN : 2-7114-1234-2.p38-40.

Loghmari, 2020. Thèse N° de validation 074120209 cours de résidanat sujet : 41 : les ictères aout 2020.

Masure, Marion . (2018). Suivi du romarin dans la province de Jerada au Maroc : cartographie à partir d'images satellites et estimation de la phytomasse (Master's thesis). Université de Liège, Gembloux Agro-Bio Tech.

Mazumder, T., Mamun, I. P., Zaman, M. S., Islam, A. K. M., Chowdhury, S., Reza, M. S., & Hussain, M. S. (2021). *Comparative lipid and uric acid suppressing properties of four common herbs in high fat-induced obese mice with their total phenolic and flavonoid index. Biochemistry and Biophysics Reports*, 26, 100990
<https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2021.100990>

MELLIANI S. Carcinome épidermoïde de la vésicule biliaire: A propos d'un cas et revue de la littérature (Doctoral dissertation) ,Rabat,2016 ,129p.

Nguyen H.S. et Bourouina R. (2008)- Manuel d'anatomie et de physiologie. Edition Lamar, 4ème édition. PP 421.

Ophélie DELTOR2019, Médicaments et hépatotoxicité, conseils et suivi à l'officine, thèse en médecine, univ de limoge , canada.

Ouibrahim, A. (2012). *Rosmarinus officinalis L.* [Photographie]. Dans Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis L.*, *Rosmarinus officinalis L.* and *Ocimum basilicum L.* from Northeast of Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 6(7), 1291-1296.

Oussama S. (2010) - Intérêt de la coelioscopie dans le traitement de la lithiase biliaire chez l'enfant. Edition In Médecine. Université Mohammed V: Rabat.

Palazzo L. (1997) - Que faut-il penser de l'échoendoscopie dans la LVBP. Edition Acta

Endoscopica PP 383-389.

Payen J.L. et Muscari F. (2011)- La cholécystite aiguë lithiasique, diagnostic, critères de gravité, traitement. Quand et comment chercher une lithiasie de la voie biliaire principale ?

Comment traiter une lithiasie de la voie biliaire principale, associée ou non à une lithiasie.

Edition Springer-Verlag France, Paris, PP 287-298.

Payen J.L., Muscari F., Vibert E., Ernst O. et Pelletier G. (2011)- Lithiasie biliaire. Edition

Elsevier Masson SAS, Press Med 40; 567-580, PP 568, 580.

PLAGES, J. N., (2014). Artichaut et Cardon Quels sont ces chardons que l'on mange ?

Histoire des plantes (629.) : 42-45.

Prudlhomme et Brun, 2006 .Gastro-entérologie collection « Dossiers Maloine de

l'infirmière sous la direction de J.-F d'Ivernois ». Janvier 2006- ISBN : 2-224-

02908X.129-135p

Régent D., Laurent V., Meyer-Bisch L et Barbary-Le F.C. (2006) - La douleur biliaire :

Comment la rechercher ? Comment l'explorer ? J Radiol ; 87 Editions Françaises de

Radiologie Paris, PP 413-29.

Révolte D, 2002 .Thèse de lithiasie biliaire médicamenteuse pour le diplôme d'état de docteur

en pharmacie présentée et soutenue le 30 septembre 2002.N°327.

Saidani M .La Lithiase de la voie biliaire principale(LVBP).Thèse : Médecine, Tlemcen, 2017,90p.

Sanogo D-M, 2011.Thèse sur cholecystectomieslaparoscopiques à Bamako pratique de 9 ans 14 juin 2011.

Stevens A. et Lowe J. (1997)- Anatomie pathologique générale et spécial. Traduction de la première édition anglaise par Claude Gompel. DeBoeck Université, PP 536.

Stevens A. et Lowe J. (1997)-Histologie humaine Traduction de la 2ème édition Anglaise par Pierre Validire. Edition De Boeck Paris, PP 408.

Teusher, M., et al. (2005). Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Food Protection*, 68(4), 790–795. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.4.790>

Therra C, 2009.Présentée et soutenue publiquement en 2009devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologiethèse sur Lithiase biliaire dans le service de chirurgie générale du CHU Gabriel Toure.

Tijani M. (2014) - Le traitement laparoscopique de la lithiase de la vésicule biliaire chez l'enfant. Thèse Médecine n°215, Médecine interne du CHU Ibn Sina Rabat, PP61.

Van Dooren, I., Faouzi, M. E. A., Foubert, K., Theunis, M., & Pieters, L. (2015). Cholesterol lowering effect in the gall bladder of dogs by a standardized infusion of



Références bibliographiques

Herniaria hirsuta L. *Journal of Ethnopharmacology*, 171, 118–125.

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.05.041>

Vaya RK et al. 2017 Nephroprotective Plants: A Review. *Journal of Bioscience and Technology*; 8:801-812.

Yafout, M., El Ghallab, Y., Arrout, A., Lefriyekh, M. R., & Benlghazi, H. (2024). *Medicinal*

plants for gallstones – survey-based evidence. ResearchGate. Disponible sur :

<https://www.researchgate.net/publication/377586024>

Abstract

In this study, the in vitro dissolutive effect of *Herniaria hirsuta* and *Rosmarinus officinalis* extracts on cholesterol gallstones was evaluated in the absence of bile. Phytochemical screening revealed a high content of bioactive compounds such as polyphenols, flavonoids, and condensed tannins. *Herniaria hirsuta* extract was particularly rich in phenolic compounds and flavonoids, while *Rosmarinus officinalis* showed significant levels of tannins and polyphenols. Dissolution tests demonstrated a noticeable reduction in gallstone mass, especially when extracts were combined or supplemented with dried plant powder. The observed synergistic interaction suggests a complementary mechanism enhancing gallstone degradation.

These findings highlight the therapeutic potential of these medicinal plants for the natural prevention and treatment of cholesterol gallstones. However, further in vivo and clinical studies are necessary to confirm their efficacy and support their use in phytotherapy.

Keywords: *Herniaria hirsuta*, *Rosmarinus officinalis*, gallstones, cholesterol calculi, dissolution, phytotherapy.

الملخص

في هذا العمل ، تم تقييم التأثير الذائب لمستخلصي *Rosmarinus officinalis* و *Herniaria hirsuta* على الحصيات الصفراوية الكولسترول في المختبر وفي غياب الصفراء. أظهر الفحص الكيميائي النباتي محتوىً عالياً من المركبات النشطة بيولوجياً مثل الفينولات والفلافونويدات والتانينات المكثفة. أظهر مستخلص *Herniaria hirsuta* تركيزاً مرتفعاً من الفينولات والفلافونويدات، بينما تميز مستخلص *Rosmarinus officinalis* بمحتوى هام من التانينات المكثفة والفينولات. كشفت اختبارات الذوبان عن انخفاض ملحوظ في كتلة الحصيات، خاصة عند استخدام مزيج من المستخلصين أو عند إضافة مسحوق نباتي جاف.

تشير هذه النتائج إلى وجود تأثير تآزري يعزز آلية تحلل الحصيات، مما يدعم إمكانية استخدام هذه النباتات كخيار علاجي طبيعي فعال للوقاية من الحصيات الصفراوية الكولسترولية أو علاجها. ومع ذلك، فإن هناك حاجة إلى دراسات إضافية داخل الجسم الحي وسريية لتأكيد هذه الفعالية.

الكلمات المفتاحية : *Herniaria hirsuta*، *Rosmarinus officinalis*، الحصيات الصفراوية، الحصيات الكولسترولية، الذوبان، العلاج بالنباتات .

Résumé

Dans ce travail, l'effet dissolutif in vitro des extraits de *Herniaria hirsuta* et *Rosmarinus officinalis* sur les calculs biliaires cholestéroliques a été évalué en l'absence de bile. Les analyses phytochimiques ont révélé une richesse en composés bioactifs tels que les polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés. L'extrait de *Herniaria hirsuta* s'est distingué par une concentration élevée en phénols et flavonoïdes, tandis que *Rosmarinus officinalis* présentait une forte teneur en tanins et polyphénols. Les essais de dissolution ont mis en évidence une réduction significative du poids des calculs, notamment lorsque les extraits étaient combinés ou enrichis en poudre sèche. L'effet synergique observé entre les deux extraits suggère une action complémentaire bénéfique sur la dégradation des calculs.

Ces résultats témoignent du potentiel thérapeutique de ces deux plantes médicinales dans la prévention et le traitement naturel des lithiases cholestéroliques. Des études in vivo et cliniques sont toutefois nécessaires pour valider leur efficacité et envisager leur application en phytothérapie.

Mots-clés : *Herniaria hirsuta*, *Rosmarinus officinalis*, calculs biliaires, calculs cholestéroliques, dissolution, phytothérapie.