

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de RELIZANE
Faculté science et technologie
Département de biologie



جامعة غليزان
RELIZANE UNIVERSITY

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER
Dans le cadre de la décision 1275 : Diplôme – Stratup

Spécialité biochimie appliquée

Intitulé

Développement de produits innovants à base de plantes
médicinales pour la prévention et Le traitement des calculs
vésiculaires

Présenté par :

SENOUCI Hanene
KHATEM Chaïmaâ
KHALIFA Hakim

Devant les membres de jury :

Président : Dr AROUSSI A.	Maître de conférences (A)	(U. Relizane)
Encadrant : Dr MELLALI Sarah	Maître de conférences (A)	(U. Relizane)
CO-Encadrant : Dr ABBASSENE Fatiha	Maître de conférences (A)	(U. Mostaganem)
Examinatrice : Dr SBAHI K.	Maître de conférences (A)	(U. Relizane)
Représentant de l'incubateur : Dr BELHAMRA Z.	Maître de conférences (B)	(U. Relizane)

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

*Tout d'abord, nous exprimons notre gratitude à Dieu Tout-Puissant pour nous
Avoir accordé la santé, la patience, la force et la volonté nécessaires pour mener à
Bien ces mémoires.*

*Nous souhaitons également exprimer notre profonde reconnaissance et amour
Envers nos parents, sœurs et frères qui nous ont accordé leur confiance et nous
Ont soutenus dans toutes les circonstances.*

*Nous tenons tout particulièrement à remercier notre promoteur, le Dr Sarah
MELLALI, Maître de conférences à l'Université de Relizane, Département des
Sciences Biologiques, d'avoir accepté la responsabilité d'être le rapporteur de
Cette mémoire.*

*Nous le remercions pour sa présence et nous n'oublions pas la contribution des
Dr KHEIRA SBAHI, Dr Fatiha ABBASSENE et Dr Mostapha BRAHMI, pour
leur aide, leurs efforts et leurs conseils tout au long de la réalisation de ce travail.
Nous exprimons toute notre gratitude au Dr. AROUSSI A. pour nous avoir fait
L'honneur de présider le jury.*

Nous remercions vivement Dr. SBAHI K. d'avoir accepté d'examiner ce travail.

*Nous accordons nos sincères remerciements à Dr. BELHAMRA Z. pour
L'honneur qu'elle nous a fait d'avoir acceptée de se joindre à ce jury autant que
Membre d'incubateur.*

*Nos remerciements vont également à tous nos amis proches qui nous ont toujours
soutenus*

Et encouragés, même dans les moments les plus difficiles

Dédicace

*À mes chers parents, qui m'ont toujours encouragé et soutenu dans mes
Études, pour leurs sacrifices tout au long de mon parcours, je leur
Exprime ma profonde gratitude.*

*À ma précieuse famille qui n'a jamais cessé de me soutenir et
M'encourager pour mener à bien mon travail, ainsi qu'à mes chères
Sœurs et frères.*

*Et à mes amis qui ont toujours été là pour me donner du courage.
Je tiens à remercier tous mes enseignants de l'Université de Relizane, de
La Faculté des Sciences et de Technologie, Département de Biologie, qui
Ont consacré leur savoir et ont contribué à ma formation.*

*À mon enseignante exceptionnelle qui m'a encouragé et guidé(e) avec
Ses précieux conseils, Dr MELALI Sarah.*

*Un grand merci également à tous mes amis de la promotion de Master
En Biochimie Appliquée.*

Et merci à moi

Hanene

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents, aucun hommage ne pourrait être à la hauteur

De l'amour dont ils ne cessent de me combler, que dieu leur

Procure la bonne santé et une longue vie

A mes chères sœurs pour leurs encouragements permanents, et

Leur soutien moral,

A mon cher frère, pour son appui et leur encouragement,

A mes collègues pour réaliser ce modeste travail et pour leur

Support tout le long du projet et leur partage des instants les plus

Difficiles durant ces années d'étude

Pour tous ceux qui m'ont aidé de proche ou de loin aussi pour tous

Les encouragements et les soutiens qu'ils ont consentis à mon

Égard.

Merci d'être toujours là pour moi.

Hakim

Dédicaces

Grâce à Dieu et à Son aide, j'ai enfin réalisé ce modeste travail, que je dédie à tous ceux qui M'ont aidé de près ou de loin, avec mes sentiments les plus profonds. Je souhaite exprimer

Ma reconnaissance particulière à :

À mon cher papa et ma chère maman :

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération Pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien-être. Je vous Remercie pour tout le soutien et l'amour que vous m'avez apportés depuis mon enfance.

J'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit L'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je Ne pourrai jamais suffisamment vous en remercier. Puisse Dieu, le Très-Haut, vous accorder Santé, bonheur et longue vie, et faire en sorte que je ne vous déçoive jamais.

À mes chères sœurs et mon petit frère :

Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte Pour vous. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès, et que Dieu, le Tout-Puissant, vous protège et vous garde.

À ma famille :

Pour leur soutien moral, leur compréhension et leur patience, je leur exprime ma gratitude.

À mes meilleures amies, Amira et Sonia,

Ainsi qu'à tous les membres de ma famille Khatem,

Petits et grands, et à tous mes amis et collègues de la promotion de Master de biochimie appliquée 2024

Je vous remercie du fond du cœur.

Chaïmaâ

Résumé

Dans la présente étude, nous avons évalué *in vitro* l'efficacité de *Citrus limon* ainsi que de deux plantes utilisées en médecine traditionnelle, *Herniaria hirsuta* et *Laurus nobilis*, sur la dissolution des calculs biliaires. De plus, nous avons mesuré les concentrations de polyphénols totaux, de flavonoïdes totaux et de tanins, et évalué l'activité antioxydante des extraits des trois plantes.

Notre étude s'est basée sur l'analyse des calculs biliaires d'un homme âgé de 61 ans, présentant des calculs biliaires de type cholestéroliques, qui ont été immergés dans des solutions d'infusion de plantes pendant une période de 6 semaines. Une solution de chlorure de sodium a été utilisée comme témoin. Les variations de masse ont été enregistrées.

Selon notre étude *in vitro*, le jus de *Citrus limon* ainsi que les extraits de *Laurus nobilis* et *Herniaria hirsuta* ont démontré une efficacité significative dans la dissolution des calculs biliaires. De plus, l'utilisation combinée de ces trois extraits a présenté un effet synergique, renforçant ainsi l'activité anti-lithiasique. Ces résultats confirment la pertinence de l'utilisation des plantes médicinales comme une approche prometteuse dans la prévention et le traitement de cette maladie fréquente.

De plus, l'analyse des caractéristiques phytochimiques a révélé la présence de substances actives telles que les phénols, les flavonoïdes et les tanins, qui contribuent aux propriétés médicinales de ces plantes. Il a été observé que *Laurus nobilis* présentait la concentration la plus élevée de composés phénoliques, tandis que *Citrus limon* était plus riche en flavonoïdes et tanins. De plus, *Laurus nobilis* a démontré l'activité antioxydante la plus élevée.

Ces découvertes ouvrent la voie à des alternatives naturelles et efficaces aux traitements traditionnels des calculs biliaires, offrant ainsi une approche globale et fondée sur des preuves pour leur prise en charge.

Mots clés : Calculs biliaires, Dissolution, *In vitro*, *Herniaria hirsuta* L, *Citrus limon*, *Laurus nobilis*.

Abstract:

In this study, we evaluated the *in vitro* efficacy of *Citrus limon*, *Herniaria hirsuta*, and *Laurus nobilis*, which are commonly used in traditional medicine, for the dissolution of gallstones. Additionally, we measured the concentrations of total polyphenols, total flavonoids, and tannins, and assessed the antioxidant activity of the extracts from these three plants.

Our study was based on the analysis of gallstones from a 61-year-old man with cholesterol-type gallstones, which were immersed in plant infusion solutions for a period of 6 weeks. A sodium chloride solution was used as a control. Changes in mass were recorded.

According to our *in vitro* study, the juice of *Citrus limon* and the extracts of *Laurus nobilis* and *Herniaria hirsuta* demonstrated significant efficacy in the dissolution of gallstones. Furthermore, the combined use of these three extracts showed a synergistic effect, enhancing the anti-lithiasic activity. These results confirm the relevance of using medicinal plants as a promising approach in the prevention and treatment of this common disease.

Moreover, the analysis of phytochemical characteristics revealed the presence of active substances such as phenols, flavonoids, and tannins, which contribute to the medicinal properties of these plants. *Laurus nobilis* exhibited the highest concentration of phenolic compounds, while *Citrus limon* was richer in flavonoids and tannins. Additionally, *Laurus nobilis* showed the highest antioxidant activity.

These findings pave the way for natural and effective alternatives to traditional treatments for gallstones, offering a comprehensive and evidence-based approach to their management.

Keywords: Gallstones, Dissolution, *In vitro*, *Herniaria hirsuta*, *Citrus limon*, *Laurus nobilis*.

ملخص:

في هذه الدراسة، قمنا بتقييم فعالية *Citrus limon* و *Herniaria hirsuta* و *Laurus nobilis* في ذوبان حصوات المرارة في الدراسة *in vitro*. بالإضافة إلى ذلك، قمنا بقياس تراكيز البوليفينولات الكلية والفلافونويدات الكلية والتانينات، وتقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات النباتات الثلاثة.

استندت دراستنا على تحليل حصوات المرارة لرجل يبلغ من العمر 61 عامًا يعاني من حصوات المرارة من نوع الكولسترول، تم غمرها في محاليل النباتات المستخلصة لمدة 6 أسابيع. تم استخدام محلول كلوريد الصوديوم كمجموعة سيطرة. تم تسجيل التغيرات في الكتلة .

ووفقًا لدراستنا *in vitro* ، أظهر عصير *Citrus limon* ومستخلصات *Laurus nobilis* و *Herniaria hirsuta* فعالية ملحوظة في ذوبان حصوات المرارة. بالإضافة إلى ذلك، أظهر استخدام هذه المستخلصات الثلاثة مجتمعة تأثيرًا تعاونيًا، مما يعزز النشاط المضاد للحصى. تؤكد هذه النتائج أهمية استخدام النباتات الطبية كنهج واعد في الوقاية وعلاج هذا المرض الشائع. علاوة على ذلك، كشف تحليل الخصائص النباتية عن وجود مركبات نشطة مثل الفينولات والفلافونويدات والتانينات، والتي تسهم في الخصائص الطبية لهذه النباتات. لوحظ أن *Laurus nobilis* يحتوي على أعلى تركيز من المركبات الفينولية، في حين أن *Citrus limon* يحتوي على نسبة أعلى من الفلافونويدات والتانينات. بالإضافة إلى ذلك، أظهر *Laurus nobilis* أعلى نشاط مضاد للأكسدة.

تفتح هذه الاكتشافات الباب أمام بدائل طبيعية وفعالة للعلاجات التقليدية لحصوات المرارة، مما يوفر نهجًا شاملاً ومبنيًا على الأدلة لمعالجتها .

الكلمات الرئيسية: حصوات المرارة، الذوبان، *in vitro* ، *Herniaria hirsuta* ، *Citrus limon* ، *Laurus nobilis*.

Table des matières

Remerciements	I
Dédicace	II
Résumé	III
Liste des abréviations	IV
Liste des figures.....	V
Liste des tableaux	VI
Introduction générale.....	1

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la lithiase biliaire

I. Introduction	3
II. Anatomie et physiologie de la vésicule biliaire	3
II.1 Structure de la vésicule biliaire	3
II.1.1. Voies biliaires intra hépatiques	3
II.1.2. Voies biliaires extra hépatiques	4
II.2 Fonctionnement physiologique dans le système digestif	5
III. Lithogenèse de la lithiase biliaire	5
III.1. Définition des calculs biliaires	6
III.2. processus de formation des calculs	6
III.3. Type des calculs biliaires	8
III.3.1. Calculs choléstoroliques	8
III.3.2. Calculs pigmentaires	9
III.3.2.1. Calculs bruns	10
III.3.2.2. Calculs noirs	10
IV. Facteurs de risque associés aux calculs vésiculaires	10
IV.1. Facteurs de risques associés à la lithiase biliaire cholestérique	10
IV.2. Facteurs de risques associés à la lithiase biliaire pigmentaire.....	11
V. Stratégies de prévention et de gestion	12
V.1. Mode de vie	12
V.2. Activité physique.....	13
V.3 Régime	14
VI. Approche conventionnelles de traitement des calculs vésiculaires	14

VI.1. Chirurgie de la vésicule biliaire : cholécystectomie	14
VI.2. Médicaments dissolvants et prévention des récidives	15
VI.3. Limitations et effets secondaires des traitements conventionnels	15

Chapitre II : Les plantes médicinales aux propriétés anti-calculs vésiculaires

I. Introduction :	18
II. L'intérêt pour les plantes médicinales dans le traitement des calculs	18
III. Sélection des plantes médicinales étudiées	19
IV. Critères de sélection des plantes pour l'étude	20
IV.1. <i>Herniaria hirsuta</i> L	20
IV. 2. <i>Laurus nobilis</i>	20
IV. 3. <i>Citrus limon</i>	21
IV. 4. <i>Berberis Vulgaris</i>	22
IV. 5. <i>Urtica urens</i> L	23
IV. 6. <i>Taraxacum officinale</i>	23
V. Les Méthodes de préparation des plantes médicinales	25
V.1. Infusion	25
V.2. Décoction	26
V.3. Macération	26
V.4. Cataplasme	26
V.5 Bains de bouche et gargarismes	26
VI. Les principales formes galéniques disponibles	26
VI.1. Les tisanes	26
VI.2. Les alcoolats	26
VI.3. Extraits	26
VI.4. Alcoolatures	27
VI.5. Les huiles essentielles	27
VI.6. Lotion	27
VI.7. Poudre	27
VI.8. Les teintures	27
VI.9. Pommade	27

Deuxième partie : Partie pratique

Chapitre III : Matériel et méthodes

I. Objectif	29
II. Type et cadre d'étude in vitro	29
III. Préparation des extraits des plantes	29
III. I. Préparation des matériaux végétaux	29
III. II. Etude in vitro	29
III. 3. Dosage et évaluations des activités antioxydantes	30
III. 3 .1. Préparations de l'extrait de <i>laurus nobilis</i> et <i>Herniaria hirsuta L.</i>	30
III. 3 .2. Préparation de l'extrait de <i>citrus limon</i>	30
III. 3 .3. Le calcul de rendement des extraits	30
IV. Analyse des calculs biliaires	31
IV.1. Origine des calculs biliaires utilisés	31
IV.2. Préparation et l'examen du calcul biliaire utiliser	31
V. Etude de l'effet d'extraits de plantes sur les calculs in vitro	31
VI. Etude de l'activité antioxydants en utilisant DPPH	32
VI.1. Principe.....	32
VI.2. Mode opératoire	33
VII. Dosage des poly phénols.....	34
VII.1. Principe	34
VII.2. Mode opératoire	34
VIII. Dosage des flavonoïdes totaux	34
VIII.1. Principe.....	34
VIII.2. Mode opératoire.....	34
IX. Dosage des tannins	34
IX.1. Principe.....	34
IX.2. Mode opératoire	34

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV. Résultats et discussion	39
Conclusion	52
Références bibliographiques	54

Liste des abréviations

IMC : Index de Masse Corporelle

EPIC: European Prospective Investigation into Cancer

EASL: European Association for the Study of the Liver

URSOLVAN : Acronyme pour acide ursodésoxycholique, un médicament utilisé pour dissoudre les calculs biliaires.

PRIBAM : Une méthode de dissolution des calculs biliaires.

UR : Ultrasons

I.R.T.F : infrarouge à transformée de Fourier

IC50 : Concentration d'inhibition a 50 %

Mg EAG/g : Milligramme Equivalent Acide gallique /Gramme

Mg CEQ/g : **Équivalent** de Catéchine par milligramme d'extrait

AG : Acide gallique.

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

R : Rendement

mL : millilitre

% : pourcentage

mg : milligramme

Liste des figures

Figure 1 : les voies biliaires intra hépatique	4
Figure 2 : les voies biliaires extra hépatiques ..	4
Figure 3 : le processus de formation (Wang et al., 2009).	6
Figure 4 : processus d'organisation en micelles.	6
Figure 5 : Lithiase biliaire triangle	7
Figure 6 : calcul cholestorolique (photo personnel)	9
Figure 7 : Calcul pigmentaire	9
Figure 8 : Facteurs favorisant la lithogénèse	12
Figure 9 : Laparoscopie et laparotomie	15
Figure 10 : Plante de <i>Herniaria hirsuta</i> L	20
Figure 11 : Plante de <i>Laurus nobilis</i>	21
Figure 12 : Plante de <i>Citrus limon</i>	22
Figure 13 : Plante de <i>Berberis vulgaris</i> L	22
Figure 14 : Plante de <i>Urtica urens</i> L	22
Figure 15 : Plante de <i>Taraxacum officinale</i>	23
Figure 16 : l'examen macroscopique et découpage du calcul biliaire	31
Figure 17 : Incubateur agitateur de type Wise-cube	32
Figure 18 : Réduction du radical DPPH par un antioxydant	32
Figure 19 : Protocole du dosage des composées phénoliques	35
Figure 20 : Protocole du dosage des composées flavonoïdes	36
Figure 21 : Protocole du dosage des composées tanins	37
Figure 22 : Profil du spectre du calcul de cholestérols réalisé à l'aide du FTIR	39
Figure 23 : L'aspect morphologique du calcul.	39
Figure 24 : Variations de la masse des calculs biliaires mise en extrait de <i>citrus limon</i> , <i>laurus nobilis</i> et <i>Herniaria hirsuta</i> .L au cours de l'étude in vitro	40
Figure 25 : Variations de la masse des calculs biliaires mise en extrait d'un mélange de <i>Citrus limon</i> , <i>laurus nobilis</i> et <i>Herniaria hirsuta</i> .L au cours de l'étude in vitro	41
Figure 26 : Variations de la perte de masse des calculs biliaires au cours de l'étude in vitro	42
Figure 27 : Droite d'étalonnage des catéchine (moyenne \pm SD de trois mesures)	45
Figure 28 : Droite d'étalonnage des polyphénols (moyenne \pm SD de trois mesures).	46
Figure 29 : variation de la densité optique en fonction de la concentration de l'acide ascorbique .	47
Figure 30 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de <i>Citrus limon</i>	47
Figure 31 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de <i>Laurus nobilis</i>	48
Figure 32 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de <i>Herniaria hirsuta</i> .L.....	48

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales anomalies génétiques associées à la lithiase biliaire	11
Tableau 2 : Données bibliographiques sur quelques plantes médicinales antilithiases biliaire et diurétiques	25
Tableau 3 : Le calcul de rendement des plants	43
Tableau 4 : Les résultats des tests phytochimiques réalisées	44
Tableau 5: Les valeurs des IC50 des extraits de <i>L.citrus</i> , <i>H.hirsuta</i> et <i>L.nobilis</i>	47

Introduction

Introduction

Depuis l'Antiquité, les propriétés médicinales des plantes sont reconnues comme étant parmi les traitements les plus efficaces pour les maladies humaines (**Sen et al., 2010 ; Nabavi et al., 2016**). De nombreuses plantes médicinales présentent des effets bénéfiques multiples pour la santé (**Hu et al., 2013 ; Erdem et al., 2015**). En comparaison, il est bien connu que les médicaments de synthèse peuvent entraîner une large gamme d'effets indésirables graves (**Gurney et al., 2014**). Par conséquent, les recherches récentes se sont concentrées sur le rôle bénéfique des plantes médicinales dans l'élaboration de stratégies thérapeutiques efficaces et sûres pour traiter les maladies humaines (**Nabavi et al., 2016**).

Les calculs vésiculaires sont une condition courante qui affecte des millions de personnes dans le monde. Les calculs vésiculaires sont des dépôts minéraux qui se forment dans les voies urinaires et peuvent causer des douleurs, des infections et des complications plus graves s'ils ne sont pas traités. Bien que les traitements traditionnels, comme l'hydratation et la chirurgie, soient efficaces, ils peuvent être coûteux et présenter des risques de complications. C'est pourquoi les chercheurs et les professionnels de la santé ont commencé à s'intéresser aux plantes médicinales comme source de traitement naturel et préventif des calculs vésiculaires.

L'objectif de notre étude était de réaliser une analyse in vitro de l'effet du *Citrus limon* ainsi que de deux plantes médicinales, *Herniaria hirsuta* et *Laurus nobilis*, sur la dissolution des calculs biliaires. De plus, nous avons mesuré les niveaux de polyphénols totaux, de flavonoïdes totaux et de tanins, ainsi qu'évalué l'activité antioxydante des extraits des trois plantes. Dans le but de réaliser ces objectifs, nous avons mis en place une méthodologie précise et rigoureuse.

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Généralités sur la lithiase biliaires

I. Introduction :

La lithiase biliaire est devenue un enjeu majeur de santé publique, particulièrement dans les pays développés, où elle affecte jusqu'à 20 % de la population générale. La présence de calculs dans les voies biliaires caractérise une condition médicale courante désignée sous le terme de lithiase biliaire (Talbi, 2020). Ces calculs se forment habituellement dans la vésicule biliaire (lithiase vésiculaire). Souvent asymptomatique, elle peut se manifester par une symptomatologie douloureuse, représentée principalement par la colique hépatique ou par des complications. Les complications affectent la vésicule biliaire (comme la cholécystite aiguë ou chronique, le cancer), la voie biliaire principale (comme l'angiocholite et la pancréatite aiguë biliaire), ou plus rarement les voies biliaires intrahépatiques, voire l'intestin grêle (Adehossi *et al.*, 1992 ; Talbi, 2020).

II. Anatomie et physiologie de la vésicule biliaire :

II.1 Structure de la vésicule biliaire :

Le foie et la vésicule biliaire sont situés dans la partie supérieure droite de l'abdomen et sont reliés par des canaux appelés voies biliaires qui débouchent dans le premier segment de l'intestin grêle (duodénum). La vésicule biliaire est un organe piriforme situé dans l'hypochondre droit, servant de réservoir à la bile. Mesurant environ 8 à 10 cm de long sur 3 à 4 cm de large, elle se trouve sous le foie, dans la fosse cystique, entre le lobe carré à gauche et le lobe hépatique droit à droite, avec le sillon transverse en arrière et le bord antérieur du foie en avant. Des adhérences conjonctives la maintiennent solidement attachée au foie (Allileche *et al.*, 2021)

Les voies biliaires sont des canaux chargés de collecter et de drainer la sécrétion biliaire hépatique vers le duodénum. Elles se divisent en voies biliaires intra-hépatiques et extra-hépatiques. Ces canaux peuvent parfois être obstrués par des calculs dus à une précipitation des sels biliaires, favorisée par la stase et l'infection (Bouhenni et Soufir, 2020).

II.1.1 Voies biliaires intra hépatiques :

Les canalicules intra-lobulaires, situés entre les cellules hépatiques, se rejoignent pour former des canaux péri-lobulaires. Ces canaux se regroupent ensuite pour constituer le canal

biliaire hépatique droit (qui draine le foie droit) et le canal biliaire hépatique gauche (qui draine le foie gauche) (**Figure 1**) (Cauchy, 2020).

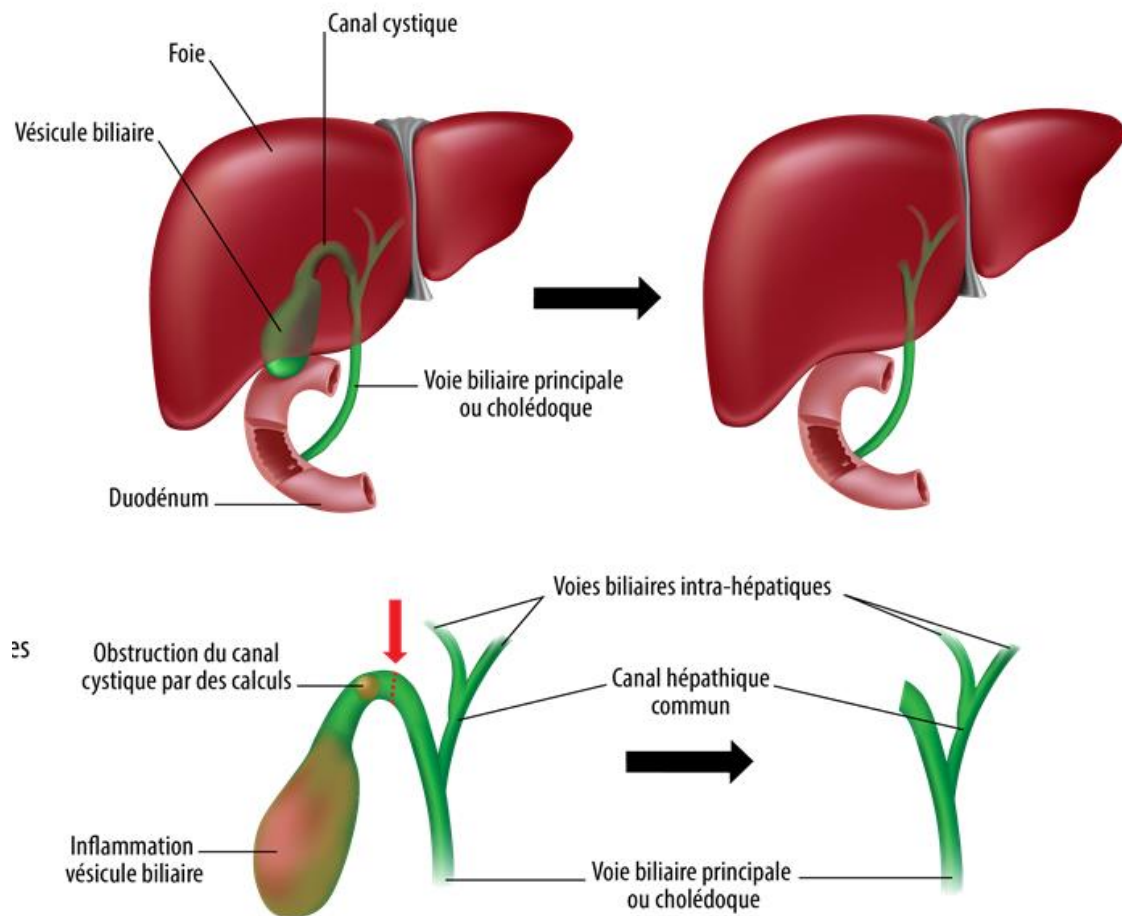


Figure 1 : les voies biliaires intra hépatique (wilerid., 2016)

II.1.2 Voies biliaires extra hépatiques :

Les voies biliaires extra-hépatiques comprennent une voie principale et une voie accessoire. Le canal cholédoque résulte de la jonction des canaux cystique et hépatique communs, qui connectent ces deux voies (**Figure 2**) (Waligora et Perlemuter, 1975 ; Ophélie, 2019).

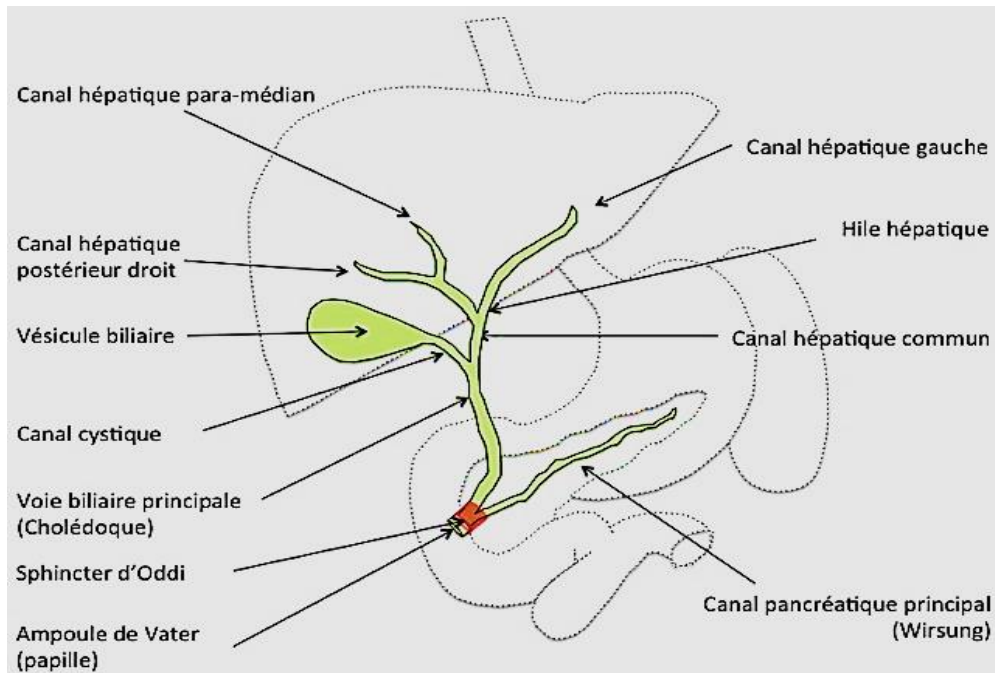


Figure 2 : les voies biliaires extra hépatiques (Ophélie, 2019)

II.2 Fonctionnement physiologique dans le système digestif :

La vésicule biliaire assure entre les repas, le stockage et la concentration de la bile (**Bartoli *et al.*, 2000**). Les sels biliaires facilitent l'émulsion des graisses, rendant les enzymes digestives plus faciles à utiliser. La présence de graisses dans le duodénum stimule la contraction de la vésicule biliaire, qui libère la bile pour faciliter la digestion des lipides alimentaires (**Talbi, 2020 ; Allileche *et al.*, 2021**)

III. Lithogénèse de la lithiase biliaire :

La bile est un liquide complexe composé d'eau, de sels biliaires, de bilirubine conjuguée et de lipides, notamment le cholestérol. Ce mélange est théoriquement non miscible. La solubilisation du cholestérol, dans le milieu aqueux de la bile est la principale difficulté pour la stabilité chimique de la bile. Pour surmonter ce défi, les phospholipides interviennent en favorisant la formation de micelles hydrosolubles. Ces micelles agissent comme des enveloppes dans lesquelles les molécules de cholestérol et d'autres lipides sont encapsulées, permettant ainsi la dissolution du cholestérol dans l'eau de la bile (**Figures 3 et 4**). Les acides biliaires ont un rôle moins important mais contribuent également à cette stabilité. Il est essentiel d'avoir des quantités précises de cholestérol, de sels biliaires et de phospholipides, ainsi qu'une circulation constante de ce mélange (par les mouvements de la vésicule et le cycle entéro-hépatique), pour assurer la stabilité de la bile (**David, 2023**)

La vésicule biliaire joue un rôle déterminant dans la formation des calculs. Elle permet la concentration de la bile, augmentant ainsi le taux de cholestérol et favorisant la précipitation. De plus, elle fournit les "noyaux" des phénomènes de cristallisation par l'intermédiaire du mucus ou des grosses molécules de glycoprotéines qui fixent les sels biliaires. L'ajout d'une infection peut favoriser ce processus en fournissant des sites de nidation et en modifiant l'équilibre biochimique (Admirand & Small, 1968).

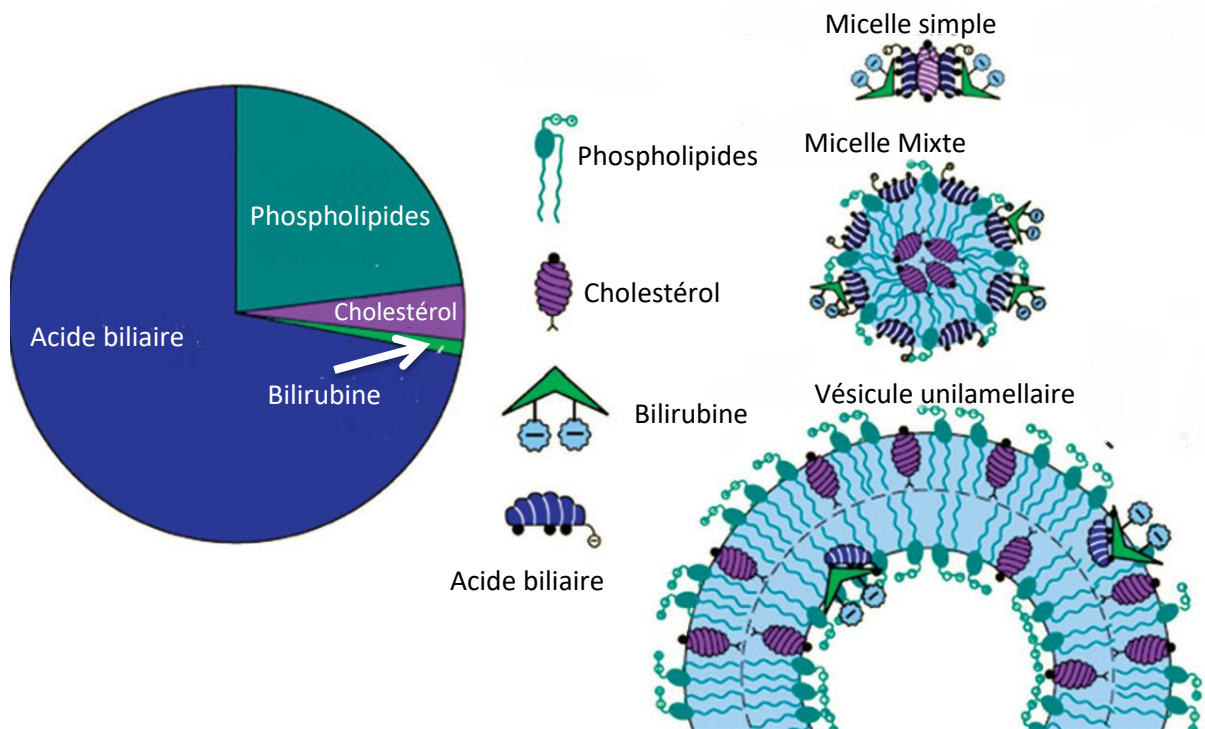


Figure 3 : le processus de formation (Wang *et al.*, 2009).

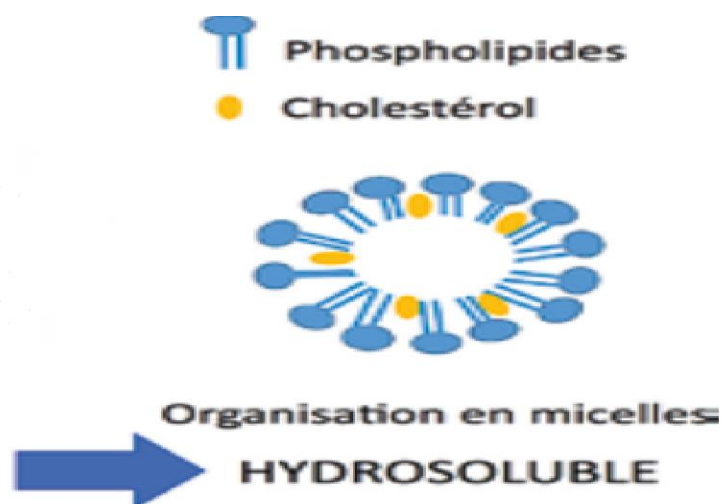


Figure 4 : processus d'organisation en micelles (David, 2023)

III.1. Définition des calculs biliaires :

Selon **Ross et Wilson (2009)**, les calculs biliaires sont des dépôts de constituants de la bile, principalement du cholestérol. Ils peuvent se former sous forme de nombreux petits calculs ou d'un unique gros calcul, sans nécessairement entraîner de symptômes.

III.2. processus de formation des calculs :

La sursaturation de la bile en cholestérol est une condition nécessaire, bien que non suffisante, à la formation de calculs. Les conditions pour qu'une bile devienne lithogène résultent d'une série d'événements en cascade. Étant insoluble dans l'eau, le cholestérol biliaire est maintenu en solution grâce à la présence d'autres composants de la bile, notamment les acides biliaires et les phospholipides, qui favorisent la formation de micelles. Depuis 1968, la composition de ces trois constituants essentiels de la bile (cholestérol, acides biliaires, phospholipides) est représentée par le triangle (Figure 5) (**Admirand & Small, 1968 ; Buffet, 2014**).

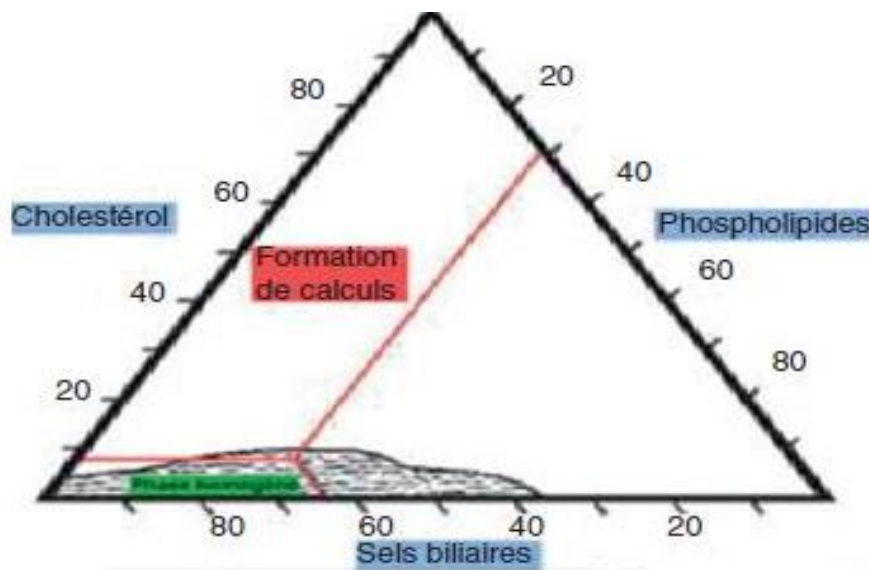


Figure 5 : Lithiase biliaire triangle (Admirand & Small , 1968 ; Buffet,2014).

Le triangle de la lithiase biliaire (**Buffet, 2014**), illustré dans la figure 5, montre les pourcentages molaires de chacun des trois constituants de la bile le long des côtés d'un triangle équilatéral. La composition de l'échantillon est située à l'intersection des trois pourcentages. La zone grisée représente la zone normale ou micellaire.

Le point situé à l'intersection des pourcentages des trois constituants indique la composition de la bile : lorsque le point se trouve dans la zone micellaire, le cholestérol est en solution ; en dehors de cette zone, la bile est sursaturée en cholestérol.

Le cholestérol excédentaire est solubilisé dans des vésicules phospholipidiques, ces vésicules ont tendance à s'agréger avec apparition de cristaux, appelé aussi nucléation, puis les calculs se forment par agglomération de cristaux. Le premier stade de la formation de calculs est donc une augmentation de la sécrétion biliaire de cholestérol, qui peut aussi s'associer à une diminution des phospholipides ou des sels biliaires.

- D'autres facteurs contribuent également à la formation des calculs biliaires, parmi lesquels on peut mentionner :
 - ✓ La modification de protéines facilitatrices ou inhibitrices de la cristallisation ;
 - ✓ La circulation entéro-hépatique des sels biliaires ;
 - ✓ La vésicule biliaire joue un rôle crucial dans la formation des calculs, offrant trois fonctions principales qui favorisent la cristallisation:
 - ❖ L'absorption de l'eau ;
 - ❖ L'hypersécrétion de mucines et la diminution de la motricité vésiculaire, qui sont deux facteurs indépendants de formation des calculs.
 - ❖ La formation des calculs macroscopiques et leur croissance résultent de l'agglomération et de l'addition successive de cristaux. Il faut du temps pour que les cristaux de cholestérol atteignent la taille des calculs. La diminution de la motricité vésiculaire, un facteur important dans la formation des calculs, est influencée par des facteurs hormonaux (Buffet, 2014)

III.3 Type des calculs biliaire :

Il existe deux principaux types de calculs biliaires : les calculs cholestéroliques, formés principalement de cholestérol, et les calculs pigmentaires, principalement constitués de bilirubine et de ses dérivés. Ces types de calculs diffèrent dans leur composition chimique et leur origine, et ils peuvent nécessiter des approches de traitement distinctes en fonction de leurs caractéristiques spécifiques:

III.3.1 Calculs choléstorolique :

Les calculs cholestéroliques, lorsqu'ils sont purs, sont généralement de couleur jaune, de texture molle, friable, et radio-transparents. Cependant, dans environ 20% des cas, ils peuvent être calcifiés. Ils peuvent apparaître isolés ou en grand nombre, avec un diamètre variable et une forme arrondie ou anguleuse, et peuvent présenter une surface lisse ou rugueuse (**Figure 6**). La concentration en cholestérol dans ces calculs peut varier de 25% à

100%. Ils sont classés en deux types : les calculs de cholestérol pur, qui sont moins fréquents et ont une structure cristalline, et les calculs mixtes, composés de couches concentriques de cholestérol et de bilirubinate de calcium enveloppant un noyau central de sel biliaire et de cholestérol. Ces calculs sont généralement détectés chez les adolescents, comme indiqué par plusieurs études occidentales (**Hamim et al ., 2006**)



Figure 6 : calcul cholestérolique (photo personnel)

III.3.2 Calculs pigmentaire :

Les calculs pigmentaires, moins courants que les calculs cholestéroliques, représentent environ 20% des cas occidentaux (**Mahamadou, 2013 ; Talbi, 2020**). Ils sont principalement constitués de bilirubine et de ses dérivés, avec deux principales variantes : les calculs noirs et les calculs bruns. Ces calculs se composent principalement de bilirubinate de calcium (**Figure 7**).



Figure 7 : Calcul pigmentaire (Mahamadou, 2013)

III.3.2.1 Calculs bruns :

Les calculs bruns se forment principalement dans les voies biliaires, notamment dans les voies intrahépatiques.

III.3.2.2 Calculs noir :

Les calculs noirs sont principalement composés d'un polymère de bilirubine. Ils sont souvent associés à deux conditions médicales spécifiques : l'hyperhémolyse chronique, qui est une augmentation de la destruction des globules rouges dans le sang, et les cirrhoses, qui sont des lésions hépatiques caractérisées par une cicatrisation du tissu hépatique. Malgré ces associations courantes, il arrive que les calculs noirs se forment indépendamment de ces facteurs médicaux (Lozeron, 2018)

IV. Facteurs de risque associés aux calculs vésiculaires :

IV.1 Facteurs de risques associés à la lithiase biliaire cholestérique :

Selon les études menées par Nuzz *et al.*, 2004 et Ksontini *et al.*, 2021) plusieurs facteurs favorisent la lithiase biliaire cholestérique, notamment :

- ✓ Un âge avancé, la lithiase vésiculaire étant plus fréquente entre 40 et 60 ans et rare avant 10 ans (sauf pour la lithiase pigmentaire).
- ✓ Une nette prédominance chez les femmes, en raison du rôle des œstrogènes et de la progestérone dans la sursaturation de la bile.
- ✓ Multiparité : les changements hormonaux pendant la grossesse et la pression sur la vésicule biliaire par l'utérus en croissance peuvent favoriser la formation de calculs biliaires chez les femmes ayant eu plusieurs enfants.
- ✓ L'appartenance à une ethnie particulière et/ou des facteurs génétiques, avec une forte prévalence au Chili et une prévalence très faible en Afrique noire.
- ✓ La grossesse, entraînant une diminution de la vidange vésiculaire ou une diminution de la sécrétion d'acide biliaire.
- ✓ L'obésité ou une perte de poids rapide.
- ✓ Les habitudes alimentaires, notamment un régime hypercalorique et/ou riche en acides gras polyinsaturés.
- ✓ Les maladies telles que la maladie de Crohn et les résections iléales, pouvant entraîner une malabsorption des acides biliaires.

- ✓ Hypertriglycémie : des taux élevés de triglycérides peuvent altérer la composition de la bile, favorisant ainsi la formation de calculs biliaires,
- ✓ Certains médicaments, comme les contraceptifs oraux (contenant des œstrogènes), les hypolipémiants (fibrates) et les analogues de la somatostatine.
- ✓ Un défaut de glycoconjugaison de la bilirubine (Nuzz *et al.*, 2004 ; Ksontini *et al.*, 2021) .
- ✓ Les facteurs génétiques sous-jacents sont détaillés dans le tableau 1, qui présente les principales anomalies associées à la lithiase biliaire.

Tableau 1 : Principales anomalies génétiques associées à la lithiase biliaire (Buffet , 2014)

Mutation du gène	Mécanisme proposé pour la formation de calculs
ABCG 5 et ABCG 8	Transporteurs canaliculaires du Cholestérol
ABCB4(MDR3)	Défaut de la sécrétion biliaires des phospholipides
ABCB11(BSEP :Bile salt export pump	Défaut de la sécrétion des sels biliaires
FXR (farnesoid X receptor)	Régulation de la transcription de la sécrétion biliaire
Cholestérol 7α-Hydroxylase (CYP11)	Diminution de la synthèse des acides biliaires
Récepteur A de la cholécystokinine	Hypomobilité vésiculaire
CFTR (Cystic fibrosis transmembrane regulator)	Diminution du pH de la bile Augmentation de la sécrétion de bilirubine et de l'excrétion des acides biliaires fécaux
IBAT (ileal bile acid transporter) (SLC10A2)	Diminution de la concentration des acides biliaires

IV.2. Facteurs de risques associés à la lithiase biliaire pigmentaire :

Les facteurs de risque associés à la lithiase biliaire pigmentaire comprennent notamment (Figure 8) :

- ✓ Les enfants présentent un risque accru de lithiase biliaire pigmentaire, en particulier en cas d'hémolyse.

- ✓ L'existence d'une hémolyse chronique, telle que la maladie de Minkowski-Chauffard, la thalassémie majeure, ou la drépanocytose.
- ✓ L'existence d'une cirrhose, quelle qu'en soit l'étiologie. Les infections chroniques bactériennes ou parasitaires survenant ou non en amont d'une sténose biliaire congénitale ou acquise (anastomoses bilio-digestives). Dans ces derniers cas, la formation des calculs pigmentaires est liée à l'hydrolyse de la bilirubine conjuguée dans la bile sous l'action de bêta-glucuronidases bactériennes.

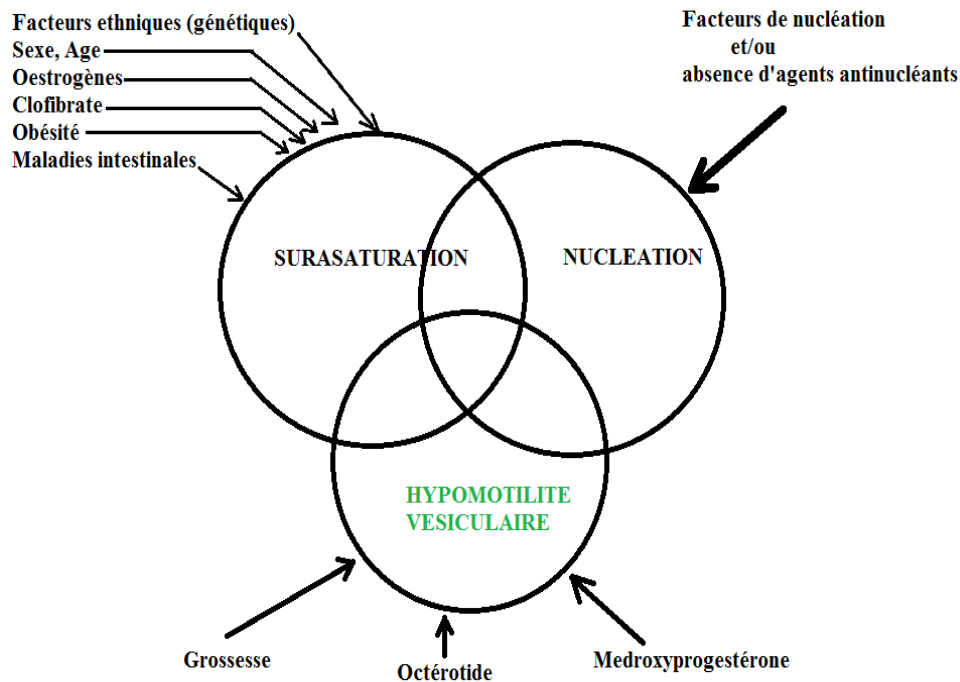


Figure 8 : Facteurs favorisant la lithogénèse (Nekkache, 2021)

V. Implications pour la prévention et la gestion :

La mise en place de stratégies de prévention et de gestion, principalement non médicamenteuses, est essentielle à l'échelle de la population, compte tenu du caractère répandu et coûteux de la lithiase biliaire dans les pays occidentaux. En outre, divers facteurs de risque sont associés aux calculs de cholestérol, aux calculs pigmentaires et aux calculs mixtes. Selon les recommandations de l'Association européenne pour l'étude du foie (**European Association for the Study of the Liver - EASL**) de 2016, des mesures préventives générales ou ciblées peuvent être envisagées pour certains facteurs de risque non génétiques (**l'easl, 2016**).

V.1. Mode de vie :

Le mode de vie exerce une influence significative sur la physiopathologie de la lithiase biliaire cholestérique en impactant divers éléments du syndrome métabolique, notamment l'obésité, le diabète et la résistance à l'insuline. L'obésité, en particulier, favorise la formation de calculs biliaires et augmente le risque de lithiase biliaire symptomatique, augmentant ainsi le recours à la cholécystectomie. Ainsi, l'augmentation de l'index de masse corporelle (**IMC**) représente un facteur de risque bien établi favorisant la croissance des calculs, et une augmentation de l'IMC constitue elle-même un facteur de risque causal pour le développement de la lithiase biliaire symptomatique, notamment chez les femmes. Il a été rapporté que le risque de lithiase biliaire symptomatique augmentait avec l'IMC, avec la circonférence de la taille et avec les triglycérides sériques. De ce fait, les mesures de mode de vie appropriées devraient se concentrer sur le maintien d'un poids idéal et la réduction du poids chez les personnes en surpoids et obèses. Indépendamment de l'obésité, la lithiase biliaire est également fortement liée à la résistance à l'insuline et au diabète de type 2. Ces conditions sont d'autres cibles pour la prévention des calculs biliaires (**Ksontini *et al.*, 2004 ; l'easl, 2016**).

V.2. Activité physique :

Des études indiquent que l'activité physique peut diminuer le risque de calculs biliaires symptomatiques d'environ 30 %. Selon une étude récente de cohorte prospective (European Prospective Investigation into Cancer (EPIC)-Norfolk) utilisant un questionnaire validé sur les dépenses énergétiques et l'aptitude cardio-respiratoire, 25 639 volontaires sains, âgés de 40 à 74 ans, ont été divisés en quatre groupes d'activité physique croissante et ont été surveillés pendant 14 ans pour l'apparition de calculs biliaires symptomatiques. Il y a eu 135 cas (non compliqués) et 290 cas (compliqués) de lithiase biliaire symptomatique après une période de suivi de 5 et 14 ans, respectivement (68 % de femmes). Le niveau d'activité physique le plus élevé (équivalent à une activité quotidienne d'une heure chez un travailleur sédentaire, de 30 minutes chez un travailleur non sédentaire ou à l'absence d'activité chez un travailleur manuel de force) était lié à une réduction de 70 % du risque de calculs biliaires symptomatiques pour les deux sexes. Un effet causal était particulièrement perceptible après 5 ans. Les mécanismes physiopathologiques soutiennent les effets potentiellement bénéfiques de l'activité physique sur la formation des calculs et les complications associées. Ainsi, la population générale devrait être encouragée à comprendre l'importance de maintenir un poids idéal et de pratiquer une activité physique régulière car les effets bénéfiques généraux de l'activité physique sur la

santé cardiovasculaire s'étendent au-delà de l'effet protecteur sur la formation des calculs (l'easl, 2016).

V.3 Régime :

La précision dans l'évaluation de la quantité et du mode d'ingestion de certains nutriments a posé des défis aux études épidémiologiques prospectives menées sur le long terme et auprès de grandes populations pour identifier le rôle protecteur de certains composés alimentaires. Cependant, une alimentation régulière réduit la stase vésiculaire en provoquant sa vidange régulière, tandis qu'un régime riche en fibres et en calcium réduit la quantité d'acides biliaires hydrophobes. Ces deux processus empêchent la lithiase biliaire du cholestérol. La consommation de repas occidentaux hypercaloriques, comprenant notamment de la viande, accroît le risque de développer une lithiase biliaire. Par conséquent, une réduction de l'apport calorique global peut être bénéfique. Bien que les fruits et légumes puissent protéger contre la lithiase biliaire, les données sont insuffisantes. Des études menées sur différentes populations ont montré que les régimes végétariens peuvent offrir une protection contre les calculs biliaires, mais l'ampleur de cette protection peut varier en fonction des études et des populations étudiées. Toutefois, il semble que maintenir un indice de masse corporelle (IMC) bas et consommer régulièrement des huiles végétales et de la vitamine C jouent également un rôle protecteur (l'easl, 2016)

VI. Approche conventionnelles de traitement des calculs vésiculaires :

Les calculs vésiculaires symptomatiques sont généralement traités par cholécystectomie laparoscopique ou, dans certains cas, par dissolution à l'aide de l'acide ursodésoxycholique. En revanche, pour les calculs asymptomatiques, une approche non interventionnelle, comme la surveillance simple, est souvent préférée (Hepatol , 2016). La prise en charge de la lithiase biliaire repose principalement sur des interventions chirurgicales et/ou endoscopiques (Azouaou, 2020).

VI.1 Chirurgie de la vésicule biliaire : cholécystectomie :

La cholécystectomie, consistant en l'ablation de la vésicule biliaire sous anesthésie générale, est considérée comme la méthode de référence et le seul traitement définitif selon l'Agence nationale pour le développement de l'évaluation médicale (l'ANDEM). Les principes chirurgicaux de base restent les mêmes, qu'elle soit réalisée par laparotomie ou par laparoscopie (Figure 9) (l'andem, 1995).

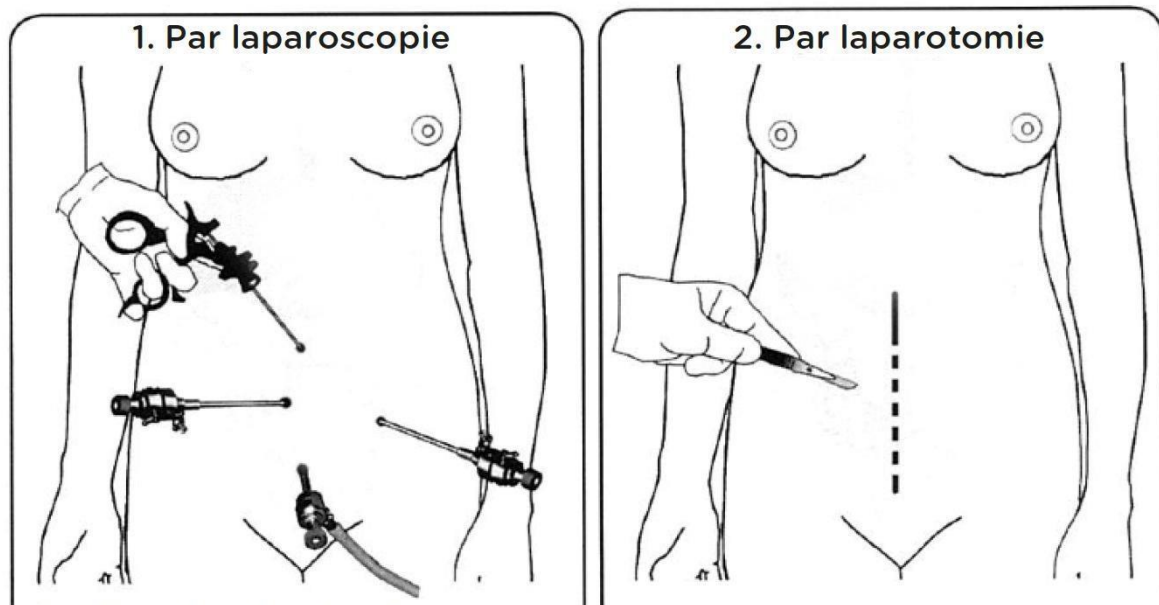


Figure 9 : Laparoscopie et laparotomie (Allileche *et al.*, 2021).

VI.2 Médicaments dissolvants et prévention des récives :

Diverses méthodes de dissolution des calculs sont disponibles, mais leur efficacité varie. Par exemple, la méthode de PRIBAM et celle de Gardner à l'héparine sont utilisées, bien qu'elles présentent des inconvénients tels que la douleur ou des effets mécaniques plus que chimiques. De plus, des solvants comme l'acide cholique ont été employés, bien que leurs effets secondaires limitent leur utilisation. Des techniques de chasse mécanique des calculs, telles que le lavage par perfusion, sont également pratiquées. Enfin, des procédures endoscopiques telles que la sphinctérotomie oddienne peuvent être réalisées avec succès, offrant des résultats impressionnants dans le traitement des calculs biliaires (Azouaou, 2020).

VI.3 Limitations et effets secondaires des traitements conventionnels :

Les traitements conventionnels, tels que la cholécystectomie et l'utilisation de médicaments dissolvants comme l'URSOLVAN, présentent des conséquences et des effets secondaires significatifs.

Selon Allard (2018), après une cholécystectomie, la bile continue d'être produite par le foie et s'écoule directement dans l'intestin, sans être stockée dans la vésicule biliaire. Elle se trouve uniquement dans le canal cholédoque, qui peut se dilater. Les patients peuvent mener une vie normale sans nécessité de régime alimentaire ou de restrictions, bien

que certains puissent connaître des symptômes temporaires tels que la diarrhée ou les ballonnements. Néanmoins, les crises douloureuses disparaissent généralement.

En ce qui concerne les traitements dissolvants des calculs, tels que l'URSOLVAN, ils doivent être pris quotidiennement et peuvent entraîner des effets secondaires. Leur efficacité n'est pas toujours garantie et les calculs ont tendance à réapparaître après l'arrêt du traitement. Cependant, en raison du risque de complications graves causées par les résidus de calculs dans le canal cholédoque, la lithotritie extracorporelle (utilisant des ultrasons pour briser les calculs) est formellement interdite (**Allard,2018**).

Chapitre II

Les plantes médicinales aux propriétés anti-calculs vésiculaires

I. Introduction :

Les plantes médicinales constituent des composants actifs utilisés dans le traitement de diverses maladies, employées ainsi dans l'industrie cosmétique et pharmaceutique. Ces plantes médicinales demeurent encore une source de soins médicaux dans les pays pauvres à cause de l'absence d'un système médical moderne (Hseini & Kahouadji., 2007).

La lithiase biliaire est une maladie fréquente touchant de 15 à 20 % de la population en Europe et en Amérique du Nord, et de 25-50 % en Algérie (Amoura *et al.*, 2018 ; Bartoli & Capron, 2018). Pour la traiter ou la prévenir, de nombreuses populations à travers le monde ont recours aux plantes médicinales, ce qui constitue une pratique très ancienne. Selon l'organisation mondiale de la santé en 2008, plus de 80 % de la population mondiale utilise des plantes ou leurs extraits contre de très nombreuses pathologies (Benmehdi *et al.*, 2012 ; Amoura *et al.*, 2018) y compris contre les calculs (Amoura *et al.*, 2018) .

II. l'intérêt pour les plantes médicinales dans le traitement des calculs vésiculaires :

Les plantes anticholélithiasiques sont utilisées depuis l'Antiquité, bien avant l'avènement des traitements modernes, pour traiter (dissoudre ou éliminer) les calculs biliaires et prévenir leur récurrence (Joy *et al.*, 2012). Diverses plantes sont employées pour soigner et prévenir la cholélithiase. Bien que le processus de guérison par les plantes médicinales soit plus lent, il est plus abordable et moins coûteux que les traitements modernes. Leur capacité avérée à dissoudre ou éliminer les calculs biliaires, à réduire les récurrences de cholélithiase et à être utilisées avec succès de manière prophylactique, tout en présentant moins d'effets secondaires, non seulement démontre leur potentiel thérapeutique, mais renforce également la confiance des patients et suscite un intérêt accru pour les pratiques traditionnelles de remèdes à base de plantes contre les calculs biliaires. De plus, l'utilisation de plantes anticholélithiasiques sous forme de décoction, d'infusion, de jus, de poudre prise avec de l'eau ou consommée crue est moins coûteuse que les médicaments et procédures actuels (Ahmed et Sing, 2011).

L'intérêt croissant pour les plantes médicinales constitue aujourd'hui l'un des principaux axes de recherche. Cependant, une attention particulière doit être accordée à l'évaluation de la bioactivité-sécurité, à l'analyse phytochimique et à la conservation des plantes. Les procédés d'extraction, d'isolement et les essais cliniques pourraient permettre le développement de composés anticholélithiasiques efficaces. Cette démarche contribuerait à

sensibiliser le public à la nécessité de préserver ces plantes, favorisant ainsi le développement des connaissances en ethnomédecobotanique dans la région et la sauvegarde de ces espèces médicinales précieuses avant leur extinction (**Vaya et al., 2017**).

Par ailleurs, l'utilisation traditionnelle bien tolérée et naturelle des plantes médicinales constitue une alternative précieuse aux traitements médicamenteux parfois mal tolérés (**Khitri et al., 2016**). Cette approche naturelle présente un intérêt significatif pour les patients souffrant de calculs vésiculaires, offrant une voie thérapeutique prometteuse avec moins d'effets secondaires indésirables par rapport aux médicaments conventionnels (**Daudon et al., 2011**).

III. Sélection des plantes médicinales étudiées :

Dans le choix des plantes à inclure dans cette étude sur les propriétés anti-calculs vésiculaires, plusieurs critères ont été pris en compte afin d'assurer la pertinence et la fiabilité des résultats. En effet, l'utilisation traditionnelle des plantes dans le traitement des troubles biliaires, y compris les calculs vésiculaires, a été un facteur déterminant.

Des recherches ethnobotaniques ont montré que des plantes telles que *Taraxacum officinale*, *Herniaria hirsuta* L, et *Berberis Vulgaris* sont couramment utilisées dans différentes cultures pour soulager les symptômes associés aux calculs vésiculaires (**Guechi, 2022**).

De plus, les études précliniques et cliniques menées sur ces plantes ont fourni des preuves de leur efficacité potentielle dans la dissolution ou la prévention des calculs vésiculaires. Par exemple, des études in vitro ont montré que les extraits de *Laurus nobilis* ont une activité anti-lithogène en inhibant la cristallisation du cholestérol (**Kocaçalışkan et al., 2009**). De même, des essais cliniques sur des patients atteints de lithiase biliaire ont montré que l'administration de capsules d'huile essentielle de *Citrus limon* peut réduire la taille des calculs et soulager les symptômes associés (**Giuseppe et al., 2013**).

De plus, l'analyse de la composition chimique de ces plantes a révélé la présence de composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les terpènes, les alcaloïdes et les polyphénols, qui sont connus pour leurs effets bénéfiques sur la santé biliaire (**Alzahrani et al., 2019 ; García-Argáez et al., 2020**). Enfin, la disponibilité et la facilité de préparation des plantes ont également été prises en compte, permettant une administration pratique et variée aux patients.

En prenant en considération ces critères, les plantes médicinales sélectionnées représentent un échantillon diversifié de remèdes potentiels pour la prévention et le traitement des calculs vésiculaires, justifiant ainsi leur inclusion dans cette étude.

IV. Critères de sélection des plantes pour l'étude:

IV. 1 *Herniaria hirsuta* L :

C'est une plante annuelle ou bisannuelle de 5 à 15 cm, toute velue et hérissée, de couleur grisâtre, avec une racine grêle. Les tiges sont grêles et complètement appliquées sur le sol, les feuilles sont hérissées et ciliées, lancéolées, se rétrécissant vers la base ; les feuilles inférieures sont opposées, tandis que les autres sont alternes (Landolt *et al.*, 2010).



La classification (Landolt *et al.* , 2010) :

Règne :	Plantae
Sous règne :	Viridaeplantae.
Division :	Magnoliophyta.
Classe :	Magnoliopsida.
Sous classe :	Magnoliidae.
Ordre :	Caryophyllales.
Famille :	Caryophyllaceae.
Genre :	<i>Herniaria</i> .
Espèce :	<i>Herniaria hirsuta</i> L

Figure 10 : Plante de *Herniaria hirsuta* L (Landolt *et al.* , 2010)

IV. 1 .1 Les principaux constituants :

Les principaux constituants de *Herniaria hirsuta* comprennent des saponosides triterpéniques, des coumarines telles que l'ombiliférone et l'herniarien (méthoxy-7-coumarine), de la scopolitine, des flavonoïdes, des acides phénoliques et des tanins. Les bourgeons contiennent également de l'huile essentielle (Landolt *et al.*, 2010).

IV. 2 *Laurus nobilis* :

C'est une plante vivace de la famille des *Lauracées* (*Lauraceae*) aux feuilles alternes, de forme simple et entière. Les fleurs sont en panicule ou en ombelle, de couleur blanche. Elle fleurit de février à avril. Elle est en partie comestible et médicinale (yakhlef, 2010).

IV .2 .1 Les principaux constituants :

Dans les feuilles de *Laurus nobilis*, on retrouve également des alcaloïdes aporphiniques, tels que la cryptodrine ou l'actinodaphnine (Kivçak et Mert, 2002), des flavonoïdes polaires (dérivés glycosylés de quercétine, kaempférol et de catéchine) ainsi que des flavonoïdes apolaires (quatre dérivés acylés de kaempférol) et des sesquiterpènes lactones. Les feuilles peuvent également contenir des tanins (Fiorini *et al.*, 1998 ; Kivçak et Mert, 2002).

La Classification selon (QUEZEL et SANTA, 1962):



Royaume :	Plantes
Classe :	Angiospermes
Sous-classe :	Magnoliidés
Ordre :	Laurales
Famille :	Lauracées
Genre :	<i>Laurus</i>
Espèces :	<i>L. nobilis</i>
Nom vernaculaire	Elrend الرند

Figure 11 : Plante de *Laurus nobilis* (photo prise)

IV. 3 *Citrus limon* :

Le citronnier est un petit arbre épineux à feuillage persistant qui atteint 3 à 6 mètres de hauteur, avec une cime étalée et peu dense, et des feuilles vert clair. Les feuilles sont composées, unifoliolées, alternes, de formes variables (lancéolées et elliptiques), avec un bord denticulé, et de taille très variable de 5 à 10 cm. Les fleurs sont blanches et odorantes (Clement, 1981).



La classification (Padrini & Lucheroni., 1996)

Règne. :	Plantae
Sous-règne :	Viridiplantae.
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidées
Ordre :	Sapindales
Famille :	Rutacées
Genre et espèce	<i>Citrus limon</i>
Nom vernaculaire	Laymoun ليمون

Figure 12 : Plante de *Citrus limon* (aujardin ,2019)

IV 3 .1 Les principaux constituants :

Le citron est composé principalement d'eau (près de 90%), avec une faible quantité de protéines, lipides et glucides. Il contient également des vitamines (principalement la vitamine C : 53 mg), des sels minéraux, des oligo-éléments, des flavonoïdes, et les fibres représentent 2,1% du poids total. Il contient également de nombreux acides organiques, en particulier l'acide citrique qui est responsable du goût acide du citron (Nathalie , 2012 ; Goetz, 2014 ;Bouchachia,2017)

IV. 4 *Berberis Vulgaris* :

L'épine-vinette (*Berberidaceae*) est un arbrisseau touffu et épineux à croissance rapide, pouvant atteindre 2 mètres de hauteur, commun sur les sols calcaires d'Europe. Les feuilles sont vert clair et finement dentées. Les petites fleurs jaunes sont regroupées en grappes pendantes, avec des étamines seismonastiques (se mobilisant au contact de l'insecte). Ses fruits verts confits au vinaigre sont utilisés comme des câpres, et une fois mûrs, ses baies ovoïdes rouges corail entrent dans la fabrication de confitures (Kariche, 2024).

La classification (Kariche,2024) :



Figure 13 : Plante de *Berberis vulgaris* L (Kariche ,2023)

Royaume :	Plantes
Embranchement :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Sous-classe :	Magnoliidae
Ordre :	Renonculales
Famille :	Berbéridacées
Genre :	<i>Berberis</i>
Espèce	<i>Berberis vulgaris</i> L

IV. 4 .1 Les principaux constituants:

B. vulgaris est riche en métabolites secondaires. L'analyse phytochimique a révélé la présence d'alcaloïdes, de tanins, de caroténoïdes, de vitamines, de protéines, de lipides, d'anthocyanines et de composés phénoliques. Les quantités les plus importantes de composés phénoliques et d'anthocyanines se trouvent dans le jus de *B. vulgaris*, tandis que les plus grandes quantités de composés flavonoïdes se trouvent dans les feuilles de *B. vulgaris*. L'écorce de la racine de *B. vulgaris* est plus riche en alcaloïdes (aromaline, berbamine,

oxybebérine, berbérine, etc.) par rapport à d'autres organes de cette plante (**Rahimi-Madiseh et al., 2017**).

IV. 5 *Urtica urens* L

Les orties du genre *Urtica*, de la famille des Urticacées, sont des herbes annuelles ou pérennes. Le genre *Urtica* compte plus d'une cinquantaine d'espèces (**Daoudi et al., 2015**). Les orties poussent partout dans le monde, dans des climats doux à tempérés. Elles préfèrent les habitats ouverts ou partiellement ombragés, riches en humidité, et se retrouvent souvent dans les forêts, près des rivières ou des ruisseaux, ainsi qu'au bord des routes (**Kregiel et al., 2018**).

La classification (**Spichiger et al., 2002**) :



Règne :	Plantae
Classe :	Eudicots
Sous classe :	Rosidées
Super ordre :	Eurosidiées
Ordre :	Rosales
Famille :	Urticaceae
Genre :	<i>Urtica</i>
Espèce :	<i>Urtica urens</i> L.

Figure 14 : Plante de *Urtica urens* L (**Kregiel et al., 2018**)

IV. 5.1 Les principaux constituants :

Les orties urticantes sont très riches en minéraux, notamment en calcium, en potassium et en silice, ce qui justifie leur vertu reminéralisante. Leur haute teneur en protéines et en acides gras de type oméga-3 est remarquable. Leur composition inclut également de nombreux terpènes et composés phénoliques (**Maylie et al., 2006**).

L'action urticante de l'ortie est due au liquide contenu dans ses poils. Ce liquide renferme au moins trois composés qui pourraient être à l'origine de ses réactions allergiques : l'acétylcholine, l'histamine et la sérotonine. L'ortie constitue également une importante source de chlorophylle (**Ait haj et al., 2016**).

IV. 6 *Taraxacum officinale* :

Le Pissenlit (*Taraxacum officinale*) a été largement utilisé à des fins médicinales en raison de ses activités cholérétiques, diurétiques et anti-inflammatoires (**Kisiel & Barszcz, 2000**). En plus d'être utilisé comme produit pharmaceutique, ses feuilles et racines sont

transformées en différents produits alimentaires (Schütz *et al.*, 2006), car il s'agit d'une riche source de micronutriments tels que les minéraux et les vitamines (Wirngo *et al.*, 2016).

Classification (Omer & hem, 2013) :



Règne :	Plantae
Embranchement :	Spermatophyta
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Sous classe :	Asteridae
Ordre :	Asterales
Famille :	Asteraceae
Genre :	<i>Taraxacum</i>
Espèce :	<i>Taraxacum officinale</i>

Figure 15 : Plante de *Taraxacum officinale* (Wirngo *et al.*, 2016).

IV. 6 .1 Les principaux constituants :

Taraxacum officinale est riche en taraxacine (un mélange de substances amères de la famille des lactones et des triterpènes), en acides phénoliques, coumarines, fructose (qui s'accumule au printemps), stérols comme le sitostérol ou le taraxastérol, flavonoïdes, sels de potassium, vitamines et oligoéléments. Le pissenlit contient également du phytol, du lupeol, de l'acétate de taraxastéryl et du β -sitostérol dans ses feuilles (Morales *et al.*, 2021).

Tableau 2 : Données bibliographiques sur quelques plantes médicinales antilithiases biliaire et diurétiques (Meiouet *et al.* , 2011; Farag *et al.*, 2013 ; Ghourri *et al.*, 2014 ; Khouchlaa *et al.*, 2017 ; Elhassan *et al.*, 2019 ; Roux *et al.*, 2024).

L'espèce	Nature	Période de Récolte	Partie Utilisées	Principes actifs	Modes d'utilisation	Effets pharmacologiques
<i>Taraxacum officinale</i> (Pissenlit) (Khouchlaa <i>et al.</i> , 2017)	Mauvaise Herbe	Automne	Feuilles -Racines	Amer lactucopicroine Feuille seule : Racine seule : •Minéraux (potassium, calcium) Triterpènes Vitamines A, B, C et D Acides aminés Caroténoïdes Minéraux (potassium) Taraxacoside Sucres	-Décoction de racines tasse 3 fois par jour Jus de feuilles En cas de rétention d'eau, 20 ml 3 fois par jour, Teinture	Diurétique, elle abaisse la tension artérielle en épurant le sang ; Un puissant dépuratif naturel (sur le foie et la vésicule biliaire facilite l'élimination des toxines),
<i>Laurus nobilis</i> (Génial Végéta , 2024)	Arbuste	Automne	Feuilles	Les alcaloïdes isoquinoléiques les lactones sesquiterpéniques	infusion décoction	Anti-infectieuse, Anti-rhumatismale, Anti-spasmodique, Carminative, Détersive, Digestive, Emménagogue, Expectorante, Insectifuge, Parasiticide, Stomachique, Sudorifique
<i>Herniaria hirsuta</i> (Meiouet <i>et al.</i> , 2011)	Plante herbacée vivace	Mars – Août	Tiges Feuillée	-Saponosides triterpéniques = acide quillaïque + sucres simples (génine = gypsogénine)	-Décoction	-Diurétique très efficace - contre la formation des calculs rénaux et la lithiase -antispasmodique ; -Anti-inflammatoire des voies Urinaires et de la vésicule Biliaire
<i>Citrus limonum L</i> (Khouchlaa <i>et al.</i> , 2017)	Arbuste	Toute l'année	(Fruit + feuilles). Jus ,zeste	90% d'eau, faible quantité des protéines, lipides, glucides vitamine C , flavonoïdes, d'acides Organique	Décoction, infusion, macération, nature, Jus	Litholytique dissolution complète des calculs
<i>Berberis Vulgaris</i> (Roux Anne-Marie et Chenel Marie-Claude ,2024)	Arbuste	Septembre	Racines	les alcaloïdes isoquinoléiniques, et notamment la berbérine	avec irradiation en roue multi-directionnelle, sensation de brûlures. Prendre 3 granules de Berberis Vulgaris 4 CH ou 5 CH 3 fois par jour.	Antiseptique
<i>Urtica urens L.</i> (Elhassan <i>et al.</i> , 2019)	mauvaise herbe indésirable	Mai –juin	Plante Entière (feuilles)	protéines, vitamines) et en minéraux (notamment calcium, potassium, acide silicique)	Décoction	Diurétique contre la pyélonéphrite et contre la lithiase (Farag <i>et al.</i> , 2013 ; Ghourri <i>et al.</i> , 2014).

V. Les Méthodes de préparation des plantes médicinales :

V.1. Infusion :

C'est le mode de préparation le plus simple (**Borrle, 2017**). Elle est réservée au thé (**Gayet, 2013**), obtenu en versant de l'eau bouillante, sur la ou les plantes se sont les fleurs et le feuille, son laissée entre 10 à 15 minutes, âpre on filtrer le liquide, une infusion peut se conserver au réfrigérateur pendant 48 heures maximum (**Aribi, 2012**).

V.2. Décoction :

Cette technique consiste à faire bouillir de l'eau froide dans laquelle on a mis des parties dures et épaisses des plantes et laisser cuire (tiges, racines, écorces, feuilles épaisses) (**Secaar, 2018**).

V.3. Macération :

Cette technique consiste à immerger les plantes dans un liquide froid (Vin, huile, alcool,eau) auquel elles donnent leurs propriétés et leurs arômes au bout d'un temps variable (**Secaar, 2018**) .

V.4. Cataplasme :

S'obtient en broyant la plante fraîche, et en l'appliquant ensuite sur la zone à traiter. On peut utiliser des bandes ou des compresses imbibées de préparation à base de plantes sur la peau (**Dutertre, 2011**).

V.5. Bains de bouche et gargarismes :

On prend quelques décoctions dans la bouche, qu'on garde en faisant des mouvements avec la bouche (ou avec la gorge). Après quelques minutes on recrache le liquide (**Secaar, 2018**).

VI. Les principales formes galéniques disponibles :

VI. 1 Les tisanes :

Les tisanes sont généralement préparées à partir de plantes sèches. Elles sont obtenues par macération, digestion, infusion ou décoction dans de l'eau (**Grosmond, 2001**).

VI. 2 Les alcoolats :

Les alcoolats sont obtenus par distillation des principes volatils de substances végétales au contact de l'alcool. Ils sont toujours incolores et inaltérables, mais il est nécessaire de les conserver dans des flacons bien bouchés (Ybert *et al.*, 2007).

VI. 3 Extraits :

Il existe plusieurs types d'extraction, parmi lesquels l'extrait fluide est obtenu en plongeant la plante dans une grande masse d'eau ou d'alcool, puis en laissant évaporer jusqu'à ce que le poids du liquide et de la plante soit égal (Morigane, 2007).

VI. 4 Alcoolatures :

Les alcoolatures sont des teintures préparées avec des plantes fraîches qui n'ont pas subi les effets de la dessiccation (Ybert *et al.*, 2007).

VI. 5 Les huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont obtenues par distillation à la vapeur et sont recueillies à l'aide d'une fiole, d'un distillateur et d'un récipient. Cette huile n'est pas grasse et concentre l'essence de la plante, qui est son parfum (Nogaret, 2003).

VI. 6 Lotion :

Une lotion est définie comme un liquide obtenu par infusion ou décoction de plantes émollientes ou vulnérables, utilisé pour soigner une partie du corps en l'appliquant légèrement avec un coton hydrophile ou un linge fin imbibé (Delille, 2007).

VI. 7 Poudre :

Les plantes préparées sous forme de poudre, obtenue par pulvérisation dans un mortier ou un moulin, peuvent être utilisées à des fins internes ou externes (Delille, 2007).

VI. 8 Les teintures :

Les teintures sont obtenues à partir de poudres végétales sèches, et leur teneur en alcool varie en fonction du type de plante. Elle peut être à 60° pour les principes actifs très solubles, à 70° ou 90° pour les produits résineux et les huiles volatiles (Grosmond, 2001).

VI. 9 Pommade :

Une pommade est préparée à partir d'un mélange de plantes sélectionnées sous forme de poudre ou de suc, incorporées à des corps gras tels que la vaseline, l'huile de coco, l'huile d'olive, l'huile d'amande ou même de la graisse animale (Delille, 2007).

Deuxième partie
Etude expérimentale

I. Objectif :

L'objectif de notre étude était de mener une analyse *in vitro* de l'impact de *Citrus limon* ainsi que de deux plantes médicinales, *Herniaria hirsuta* et *Laurus nobilis*, sur la dissolution des calculs biliaires. En outre, nous avons procédé au dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tanins, et avons évalué l'activité antioxydante des extraits des trois plantes.

II. Type et cadre d'étude *in vitro* :

Cette étude se compose de deux parties distinctes : l'analyse des calculs biliaires utilisés, la préparation des extraits de plantes, le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tanins, ainsi que le test de l'activité antioxydante ont été réalisés dans les laboratoires pédagogiques du département des Sciences Biologiques de l'Université de Relizane. En revanche, l'étude *in vitro* a été menée dans les laboratoires de recherche STEVA de l'Université de Mostaganem. Les détails concernant le matériel et les réactifs utilisés dans cette étude sont présentés en Annexe 1.

III. Préparation des extraits des plantes :

III.1. Préparation des matériaux végétaux :

Les espèces végétales utilisées dans cette étude étaient le *Citrus limon* ainsi que deux plantes médicinales : *Herniaria hirsuta* et *Laurus nobilis*. Le citron et les deux plantes médicinales ont été récoltés entre mars et avril 2024 dans la wilaya de Relizane. Avant leur utilisation, le citron a été préalablement nettoyé, lavé et séché à l'aide d'une serviette en coton, puis pressé à l'aide d'un presse-citron manuel. Le jus obtenu a été filtré avant d'être dilué pour une utilisation directe.

Les parties aériennes de *Herniaria hirsuta* ainsi que les feuilles de *Laurus nobilis* ont été lavées, débarrassées de toute impureté, puis séchées à l'ombre à température ambiante avant d'être broyées en poudre.

III.2. L'étude *in vitro* :

Pour étudier l'effet dissolutif, un extrait de chaque plante a été préparé par infusion, pendant 30 minutes sous agitation constante dans l'obscurité, à une concentration de 30 g/L dans une solution physiologique bouillante contenant 9 g de NaCl par litre, selon la méthodologie décrite par (Hannache *et al.* 2012). À la fin de chaque extraction, les extraits ont été récupérés, filtrés et refroidis en vue d'une utilisation directe.

III.3. Dosages et évaluation des activités antioxydantes :

A. Préparation de l'extrait de *laurus nobilis* et *herniaria* :

Une infusion aqueuse a également été réalisée avec 3 g de poudre de chaque plante médicinale, à savoir les écorces des feuilles de *Laurus nobilis* et la partie aérienne d'*Herniaria hirsuta*, en utilisant 100 ml d'eau distillée. Le mélange a été placé sous agitation pendant 30min. Après filtration, l'évaporation a été effectuée à l'aide d'un Rotavapeur à 60°C.

B. Préparation de l'extrait de *citrus limon* :

Les citrons utilisés ont été nettoyés et pressés à l'aide d'un presse-agrume manuel. Ensuite, le jus a été filtré pour séparer les résidus de pulpe, et l'évaporation a été effectuée à l'aide d'un Rotavapeur à 60°C.

C. Le calcul du rendement des extraits :

Le rendement de l'extraction correspond au pourcentage de métabolites secondaires dans le solvant organique ou aqueux utilisé pour l'extraction (Abe *et al.*, 2010). Il est défini comme le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue après évaporation du solvant organique ou aqueux et la masse de la poudre végétale utilisée. Ce rendement est calculé par :

$$R = (m/m_0) \times 100$$

M : Quantité d'extrait récupéré en g.

R : Rendement en extrait fixe en g/100g.

M₀ : Quantité de la matière végétale utilisée pour l'extraction exprimée

IV. L'analyse des calculs biliaires :

IV.1. Origine des calculs biliaires utilisés :

Un calcul de la vésicule biliaire a été prélevé sur un patient de sexe masculin âgé de 61 ans, opéré à l'hôpital Mohamed Boudiaf de Relizane. Avant d'étudier l'effet de dissolution par les différents extraits végétaux, le calcul a été lavé à plusieurs reprises à l'eau distillée, puis séché pendant la nuit (pendant 16 heures consécutives), avant d'être pesé sur une balance de précision.

VI.2. Préparation et l'examen du calcul biliaire utiliser :

Le calcul biliaire utilisé dans cette étude a été sélectionné après un examen à l'aide d'une microscopie binoculaire et d'une analyse par spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR). Le calcul a été découpé en 18 fragments, dont la masse variait de 98,7 à 108,0 mg (**Figure 16**)

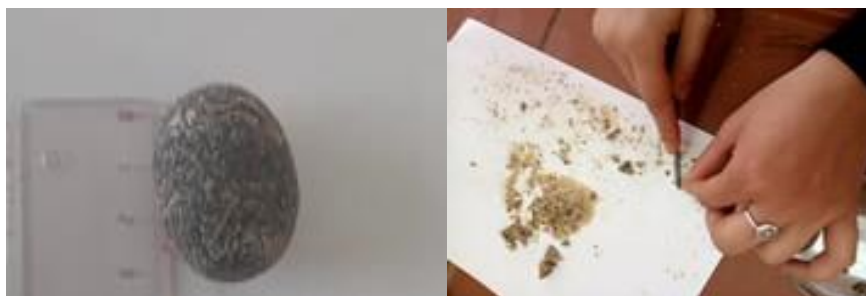


Figure 16 : l'examen macroscopique et découpage du calcul biliaire

V. Etude de l'effet d'extraits de plantes sur les calculs *in vitro* :

Chaque fragment des calculs biliaires a été suspendu dans un erlenmeyer contenant 60 ml d'extrait aqueux. Avant cela, les fragments ont été placés dans un sachet poreux pour éviter tout contact direct avec la verrerie utilisée. Comme milieu témoin, une solution de NaCl à 9 g/L a été employée, conformément à la méthodologie décrite par (**Hannache *et al.*, 2012**). Les erlenmeyers contenant les extraits et les calculs ont été placés dans un incubateur agitateur de type Wise-cube, maintenu à une température de 37°C, avec une agitation constante à 150 t/min (voir Figure 17). Toutes les deux semaines, pour chaque expérience, les calculs ont été retirés du milieu expérimental, lavés à l'eau distillée, séchés à 40°C pendant 24 heures, puis pesés avec une balance de précision au centième de milligramme (Sartorius) afin d'évaluer la perte de masse. Ensuite, les calculs ont été replacés dans un nouveau milieu pour les 15 jours suivants. Chaque expérience a été répétée trois fois dans les mêmes conditions. Les mesures ont été effectuées à deux, quatre et six semaines (de S2 à S6).



Figure 17 : Incubateur agitateur de type Wise-cube

VI. l'étude de l'activité antioxydants en utilisant DPPH :

VI.1. Principe

Ce test est basé sur l'utilisation du DPPH (diphényl picryl_hydrazyle) comme un radical libre relativement stable. Il consiste à une réaction de réduction du diphényl picrylhydrazyle (DPPH•) de sa forme radicalaire ayant une couleur violette en un composé jaune ; le diphényl picryl-hydrazine (DPPH-H) où sa forme est non radicalaire, par les antioxydants (A-OH) donneurs d'hydrogène (**Mansouri et al., 2005**) présents dans les extraits, comme le montrent les équations suivantes (**Figure 17**) :

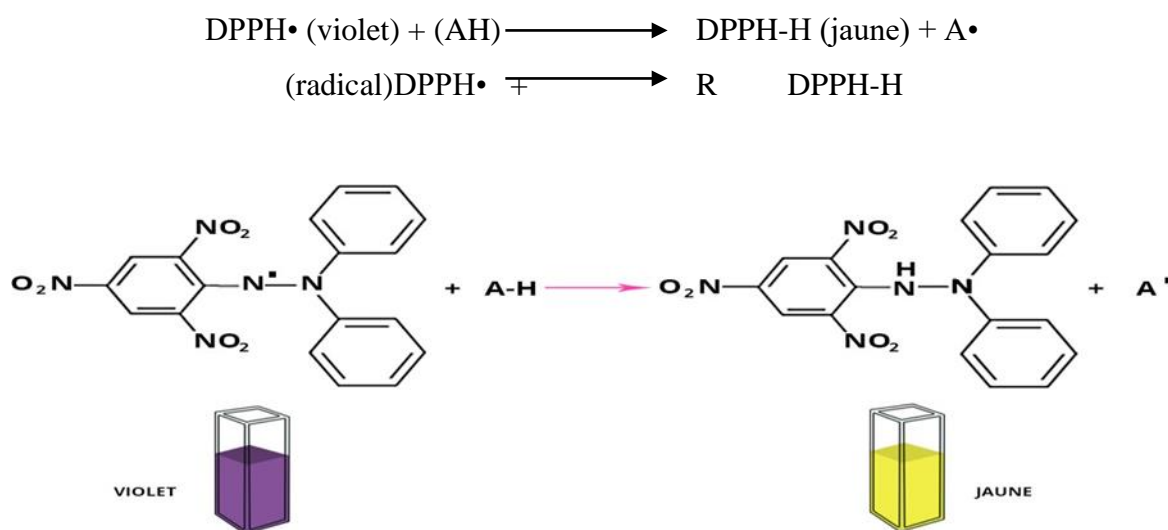


Figure18 : Réduction du radical DPPH par un antioxydant

VI.2. Mode opératoire

Le protocole expérimental a été réalisé selon **Sanchez-Moreno et al., 1998**.

- 1 mg de DPPH est dissous dans 25 ml du méthanol pure ;
- 50 µl de chaque extrait à différentes concentration a été mis en contact avec 1950 µl de
- Solution méthanolique de DPPH ;
- Un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 50 µl de méthanol avec 1950 µl de DPPH ;
- Une incubation à 30 min à température ambiante ;
- La lecture de l'absorbance a été effectuée contre un blanc à 517 nm.

Trois molécules de références : l'acide ascorbique, la catéchine et la quercétine ont été réalisées dans les mêmes conditions opératoires comme un

contrôle positif à différentes concentrations croissantes.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de réduction du DPPH à l'égard de la moyenne des % de trois mesures issues pour chaque extrait de concentrations différentes, selon la formule suivante :

$$\text{DPPH (\%)} = [(\text{Do contrôle} - \text{Do échantillon}) / \text{Do contrôle}] \times 100$$

DPPH (%) : pourcentage de réduction du DPPH

DO contrôle : Densité du tube contrôle négatif.

DO échantillon : Densité optique de l'échantillon.

la concentration inhibitrice **CI 50** assure la valeur nécessaire pour réduire 50% du DPPH libre, déterminée sur les graphes tracés pour chaque extrait le pourcentage de réduction en fonction de différentes concentrations (**Samarth et al., 2008**).

VII. le dosage des poly phénols

VII.1. Principe :

Le dosage des polyphénols totaux se base sur leurs capacités à être oxydés par un mélange d'acides phosphotungstique (H₃ PW₁₂ O₄₀) et phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀) appelé couramment réactif de Folin-Ciocalteu. Ces derniers sont réduits en oxydes de couleur bleu dont le maximum d'absorption est à 760 nm. Cette réduction se fait en deux étapes ; une phase rapide de 30 min conduisant à la couleur bleu suivie d'une phase plus lente pendant laquelle la couleur évolue vers le bleu foncé. La concentration en composés phénoliques se détermine à la fin de la phase rapide et s'exprime en équivalent acide gallique. Une courbe d'étalonnage est préparée de la même façon à celle de l'échantillon, par la préparation de différentes concentrations de l'acide gallique dans l'éthanol-eau (50 :50 , v/v) allant de 0 à 250 mg/l (**Singleton et Rossi., 1965**).

VII.2. Mode opératoire : Dosage des poly phénols illustrait dans la figure 19

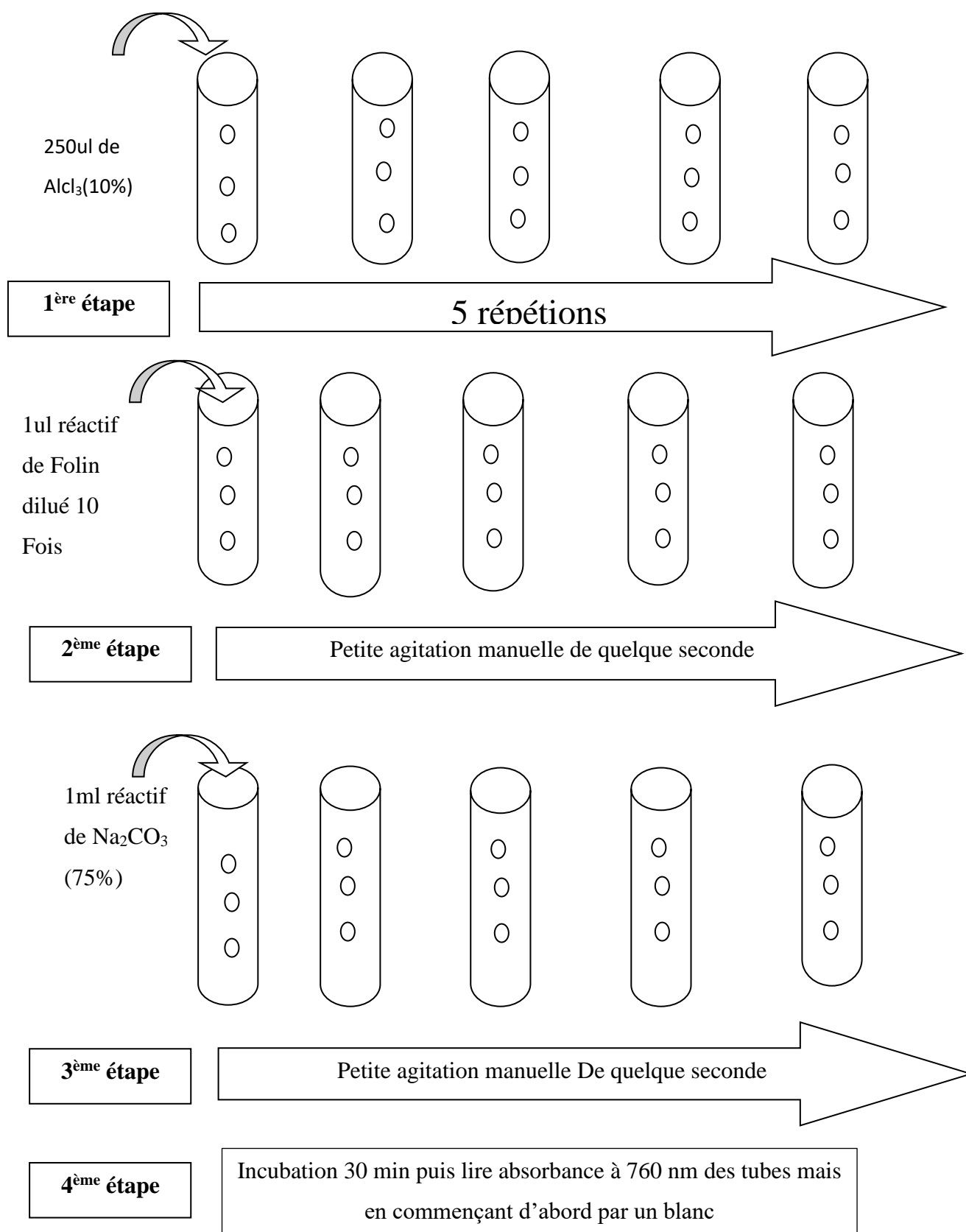


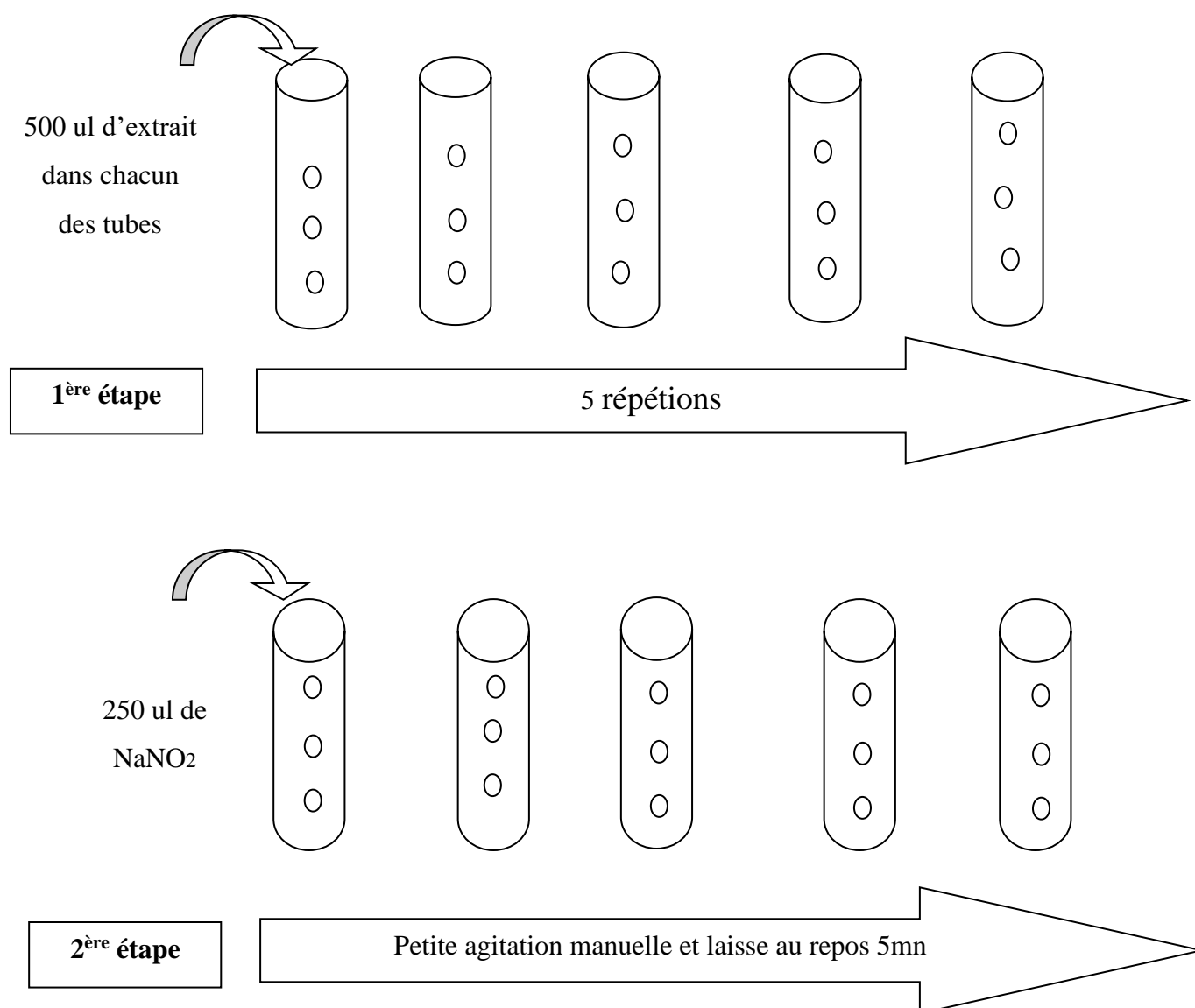
Figure 19 : Protocole du dosage des composées phénoliques

VIII. Dosage des flavonoïdes totaux

VIII.1. Principe

La quantification des flavonoides s'effectue par la méthode adaptée par **Zhishenet al.,1999** avec le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et la soude (NaOH). L' AlCl_3 forme un complexe jaune avec les flavonoides et la soude forme un complexe rose. L'absorbance est lu à 510nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions en utilisant la catéchine comme contrôle positif.

VIII.2. Mode opératoire : Dosage des flavonoïdes illustrait dans la figure 20



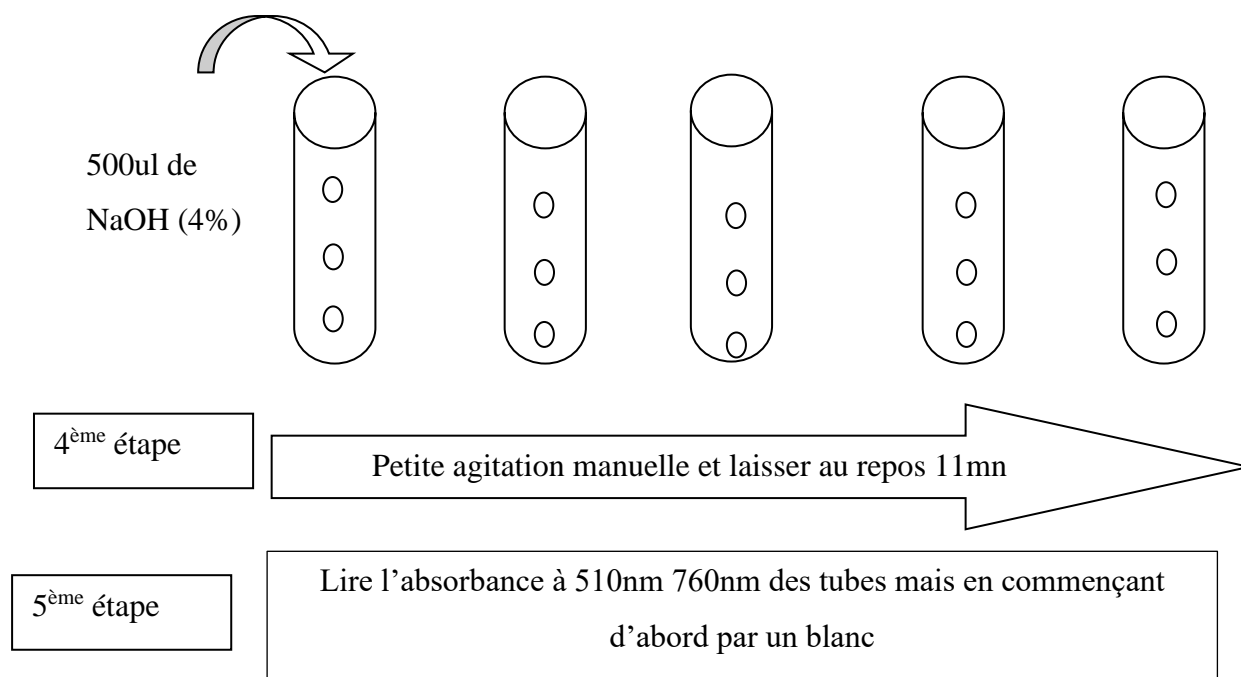


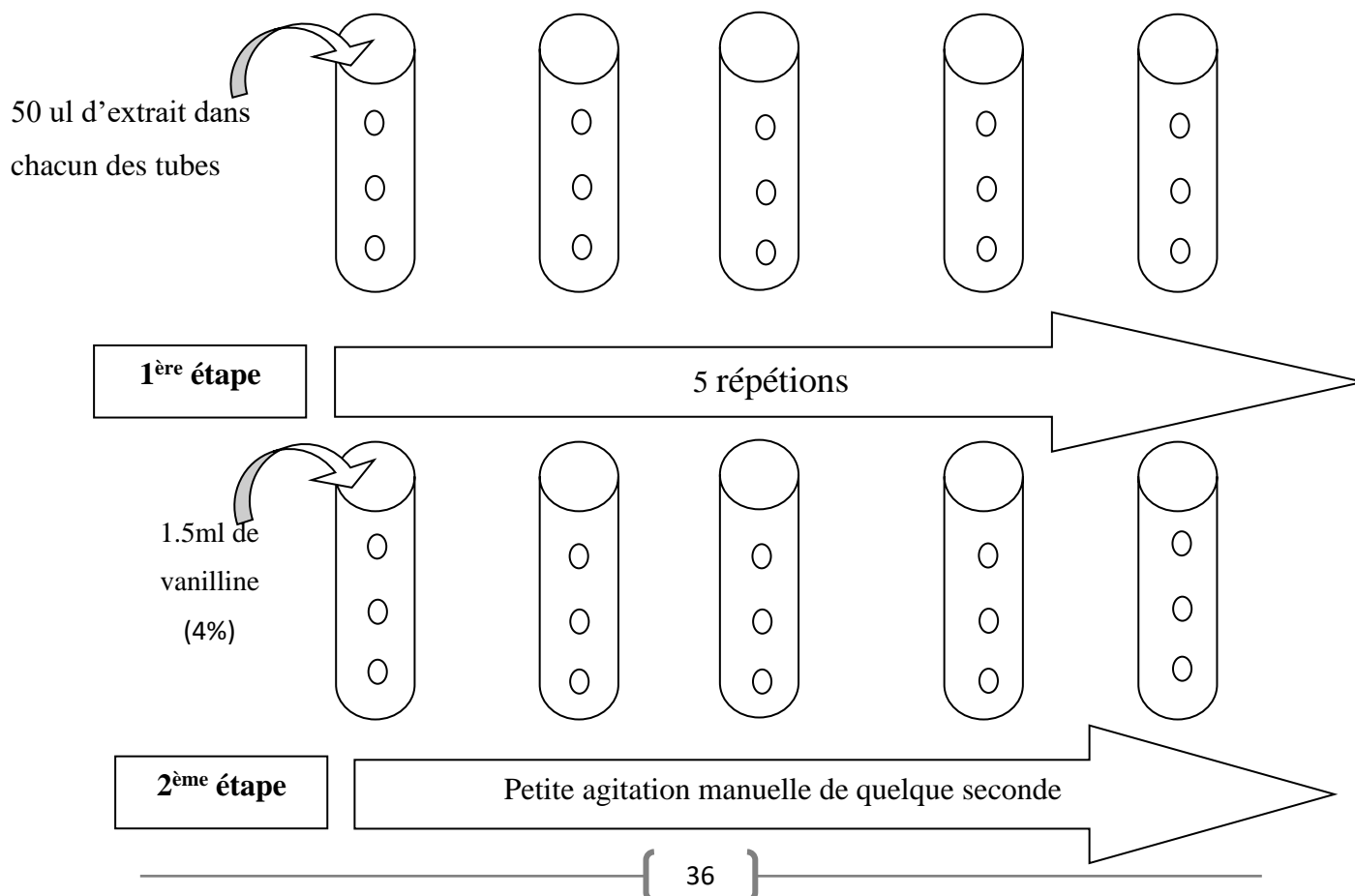
Figure 20 : Protocole du dosage des composées flavonoïdes

IX. Dosage des tannins

IX.1. Principe

La quantification des tanins condensés se fait par la méthode de la Vanilline qui a la capacité de réagir avec les unités des tanins dans un milieu acide (**Porice *et al.*, 1978**)

IX.2. Mode opératoire : Dosage des tannins illustrait dans la figure 21



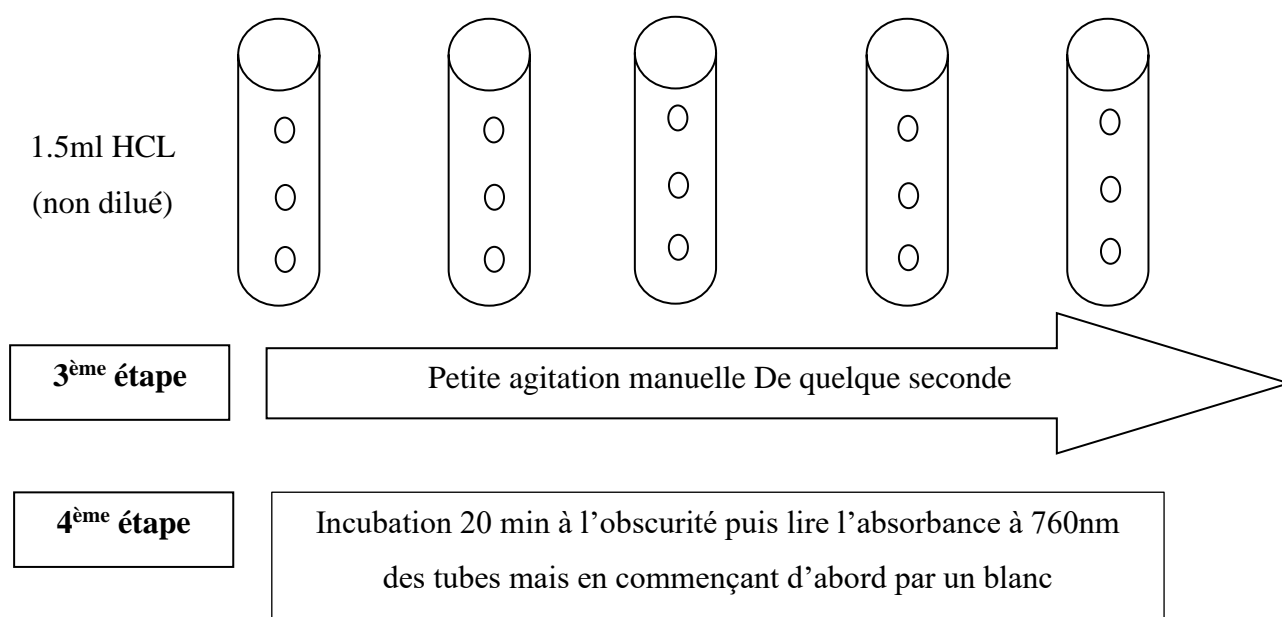


Figure 21 : Protocole du dosage des composées tanins

X. Présentation et évaluation statistique des résultats

Les courbes et les histogrammes sont traces par le logiciel Microsoft Excel. Les résultats des tests sont exprimés en moyenne \pm écart-type ($n= 3$).

Chapitre IV
Résultats et discussion

I. Résultat du l'analyse du calcul biliaire :

L'analyse du calcul biliaire par FTIR a révélé la présence d'un calcul biliaire de type cholestérol (**Figure 21**).

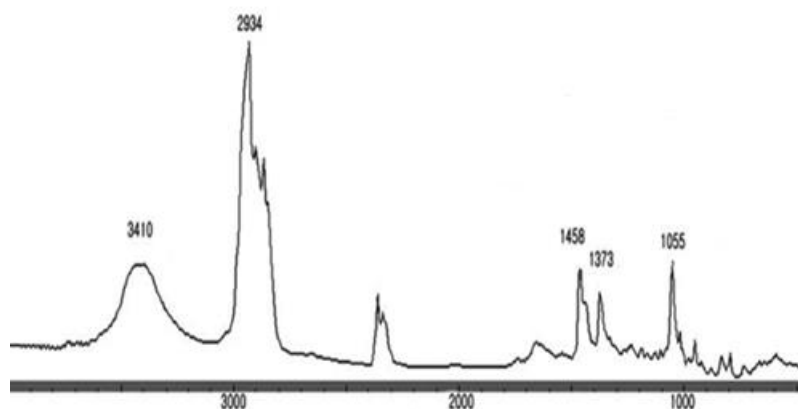


Figure 22 : Profil du spectre du calcul de cholestérols réalisé à l'aide du FTIR

L'analyse réalisée a révélé un calcul de longueur de 3 cm et qui pèse 11,35g. Suite à l'analyse morphologique, notre calcul apparaît brun jaunâtre de forme sphérique. Il était de surface rugueuse. Le profil de la section était jaune, brun jaunâtre avec une disposition en couches radiales armillaires et un noyau sans couche distincte. Ce qui oriente vers un calcul de cholestérol (**Figure 22**).



Figure 23 : L'aspect morphologique du calcul.

III. résultat de l'étude *in vitro* :

III.1 : Evaluation de changement et la perte de la masse des calculs :

Durant l'étude *in vitro*, des changements important de masse des calculs ont été observés pour les trois extraits étudiés, à savoir *C. limon*, *H. hirsuta* et *L. nobilis* (**Figure 23**), avec une diminution notable de la masse des calculs traités par *L. nobilis* par rapport à *C. limon* et *H. hirsuta* .

Les résultats indiquent que l'utilisation d'un mélange des trois extraits, *Citrus limon*, *Laurus nobilis* et *Herniaria hirsuta* L., a augmenté l'effet et l'efficacité des plantes en favorisant une dissolution significative des calculs par rapport à leur utilisation individuelle (**Figure 24**).

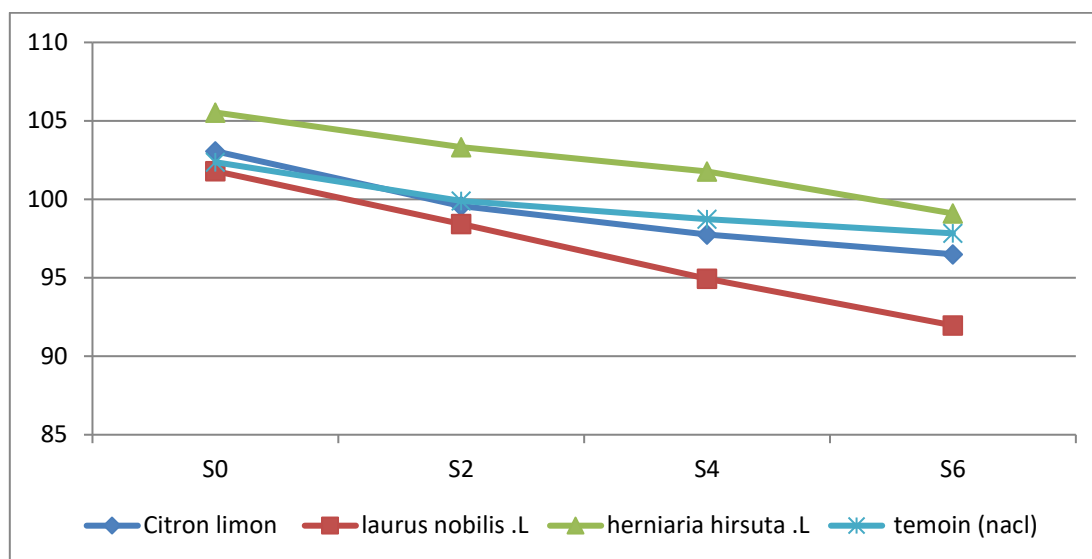


Figure 24 : Variations de la masse des calculs biliaires mise en extrait de citron, *laurus nobilis* et *Herniaria hirsuta* au cours de l'étude *in vitro*

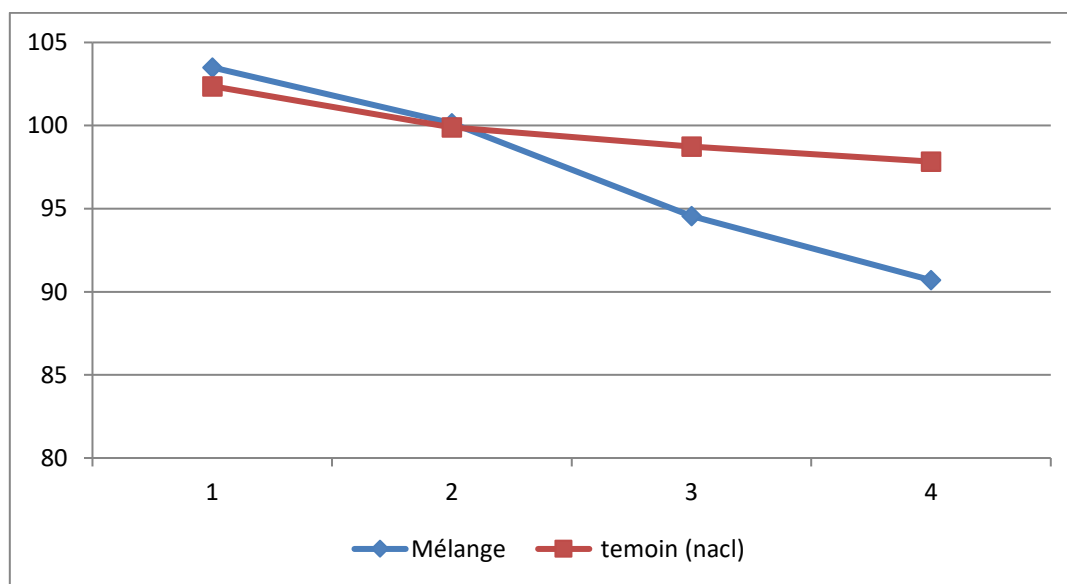


Figure 25 : Variations de la masse des calculs biliaires mise en extrait d'un mélange de *citrus limon*, *laurus nobilis* et *Herniaria hirsuta*.L au cours de l'étude *in vitro*.

Pour les plantes testées, une diminution significative de masse a été observée pour *Laurus nobilis*, *Citrus limon* et *Herniaria hirsuta* L., respectivement de 9,83 mg, 6,56 mg et 6,43 mg après 6 semaines d'expérimentation, comparé à une perte de masse bien moindre de 4,53 mg pour le témoin. Cette réduction substantielle de masse démontre un pouvoir dissolvant notable des calculs traités avec *Laurus nobilis*. De plus, une perte de masse

significativement plus élevée a été enregistrée lors de l'utilisation d'un mélange des trois extraits, ce qui a favorisé une dissolution importante des calculs. Ces résultats soulignent l'importance d'utiliser un mélange d'extraits plutôt que de les utiliser individuellement pour augmenter l'efficacité et l'activité litholytique vis-à-vis des calculs biliaires, ce qui pourrait également contribuer à prévenir la formation de calculs biliaires.

Une étude similaire réalisée par **Chekroune et Benamara en 2017** a examiné la dissolution de calculs du même type dans une émulsion à base de jus de citron. Selon ces auteurs, des taux de dissolution de 26% pour le jus de citron et de 72% pour l'extrait d'*Herniaria hirsuta* ont été enregistrés après 13 jours d'immersion.

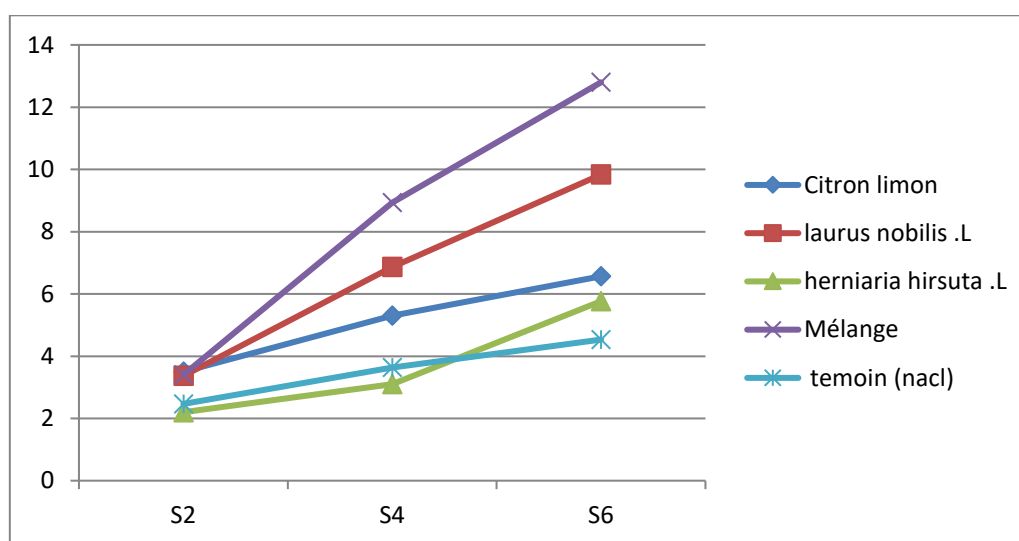


Figure 26 : Variations de la perte de masse des calculs biliaires au cours de l'étude *in vitro*

Les plantes sélectionnées pour notre étude n'ont pas été choisies aléatoirement ; elles sont couramment utilisées en Algérie pour le traitement médical des lithiases cholestéroliques ou pour prévenir leur formation. Nous avons donc étudié *in vitro* l'effet des extraits de *Laurus nobilis*, *Herniaria hirsuta* et jus de Citron limon sur la dissolution des calculs biliaires de cholestérol, en évaluant la perte de masse pour détecter d'éventuels changements dans le poids des calculs et confirmer l'existence d'interactions entre les extraits de plantes et les calculs.

Une étude *in vitro* menée par **Chikhi et Mokdad en 2019** sur l'efficacité de *Herniaria hirsuta* dans la dissolution des calculs biliaires a montré que l'extrait aqueux de cette plante permettait une dissolution totale des calculs sous agitation, avec un taux de dissolution atteignant 86,87%.

D'autre part, le jus de citron est riche en vitamine C, acide citrique et antioxydants, ce qui peut contribuer à réduire le taux de cholestérol dans la bile et prévenir la formation de calculs. Il est recommandé de consommer du jus de citron frais dilué dans de l'eau tiède ou

froide pour soulager et protéger le foie, avec des études montrant jusqu'à 100% de dissolution des calculs (Dooren *et al.*, 2016 ; Sarikurku *et al.*, 2017).

En outre, *Laurus nobilis* est connu pour stimuler la production de bile. Une augmentation de la production de bile peut aider à prévenir la formation de calculs biliaires en réduisant la saturation du cholestérol dans la bile, ce qui est une des principales causes de formation des calculs (Delia, 2023). Ses feuilles sont utilisées séchées en infusion pour lutter contre les flatulences, les digestions difficiles (son amertume favorise la sécrétion de bile). Également, *Laurus nobilis* est connu pour diminuer le taux du cholestérol total dans le sang (cholestérol LDL et triglycérides) et augmenter le taux du cholestérol HDL dans le sang (Yakhlef 2010).

Ces études soulignent l'importance des extraits de plantes comme *Laurus nobilis*, *Herniaria hirsuta* et *Citron limon* dans la gestion des calculs biliaires, tant pour leur potentiel dissolvant que préventif.

D'autre part, divers types de plantes utilisées dans le traitement des calculs biliaires sont *Apium graveolens*, *Bauhinia cumanensis*, *Bauhinia excise*, *Costus scaber*, *Chamaesyce hirta*, *Cissus verticillata*, *Capraria biflora*, *Cocos nucifera*, *Eleusine indica*, *Ficus carica*, *Gomphrena globosa*, *Kalanchoe pinnata*, *Portulaca oleraceae*, *Solanum melongena* (Cheryl, 2006).

En outre, les plantes médicinales jouent actuellement un rôle crucial dans le développement de nouveaux médicaments. Leur utilisation est motivée par leur sécurité, leur efficacité et leurs effets secondaires réduits. Les produits dérivés des plantes ont été employés avec divers niveaux de succès pour traiter et prévenir les maladies. La demande mondiale pour ces produits naturels dérivés de plantes est en constante augmentation (Sharma *et al.*, 2008).

III. Résultat du rendement de plantes utilisées :

Les résultats des calculs du rendement des extraits des plantes utilisés sont représentés en Tableau 3 :

Tableau 3 : Le calcul de rendement des plants :

	M	M°	R
<i>laurus nobilis</i>	2,48g	226,55g	1,09%
<i>hernaria hirsuta L</i>	2,51g	257,28g	0,97%
<i>citrus limon</i>	68,17g	89,02g	76,57%

R : Rendement en extrait fixe en g/100g.

M0 : Quantité de la matière végétale utilisée pour L'extraction exprimée

M : Quantité d'extrait récupéré en g.

IV. Les tests phytochimiques :

Le résultat a révélé que les composés phénoliques constituent les principaux composants des fractions les plus actives. Le test de Folin-Ciocalteu est l'une des plus anciennes méthodes conçues pour déterminer la teneur totale en composés phénoliques dans les aliments ou les plantes médicinales.

Nos résultats ont montré que la teneur totale en composés phénoliques des extraits aqueux était de $90,55 \pm 4,71$ mg d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g) pour *Citrus limon*, $102,63 \pm 2,14$ mg d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g) pour *Laurus nobilis*, et $54,47 \pm 6,77$ mg d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g) pour *Herniaria hirsuta*. À partir de la courbe d'étalonnage établie, la concentration des composés phénoliques totaux dans les extraits de plantes a été estimée par l'équation de la courbe : $y = 0,0127x + 0,1405$, avec un coefficient de détermination R^2 de 0,995. Les données étaient exprimées en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

Les flavonoïdes sont reconnus comme l'une des classes phytochimiques les plus importantes en raison de leurs propriétés bénéfiques pour la physiologie de l'organisme. Nos résultats ont montré une concentration élevée de flavonoïdes dans *Citrus limon*, avec $36,16 \pm 14,14$ mg d'équivalent quercétine par gramme d'extrait (mg QE/g), suivie par *Herniaria hirsuta* avec $7,70 \pm 0,164$ mg d'équivalent quercétine par gramme d'extrait (mg QE/g) (Tableau 4, Figure 26).

Le Tableau 4 : les résultats des tests phytochimiques réalisées.

Plantes	Dosage des phénols	Dosage des flavonoïdes	Dosage des tannins
<i>citrus limon</i>	90.55 ± 04.71 mg Gallic acid Eq/g)	36.16 ± 14.14 (mg CEQ/g d'extrait)	26.66 ± 18.92 (mg CEQ /g)
<i>Laurus nobilis</i>	$102,63 \pm 2,14$ (mg EAG/g d'extrait)	$3,80 \pm 1,97$ mg CEQ/g d'extrait).	$1.80 \text{mg} \pm 0.06$ (mg CEQ /g)
<i>Herniaria hirsuta</i>	$54,47 \pm 6,77$ (mg GAE/g d'extrait)	$7,70 \pm 0,164$ (mg CEQ/g d'extrait)	$2,02 \pm 0,08$ (mg CEQ/g)

Les valeurs représentent la moyenne \pm SD (n=3)

Mg EAG/g : Milligramme Equivalant Acide gallique/ Gramme

mg CEQ/g : équivalent de Catechin par milligramme d'extrait.

Les résultats du dosage des polyphénols ont montré que *Laurus nobilis* présente la fraction contenant la valeur la plus élevée en polyphénols, soit $102,63 \pm 2,14$ μ g d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait (μ g EAG/mg d'extrait), suivi par *Citrus limon* avec $90,55 \pm 4,71$ μ g EAG/mg d'extrait (**Figure 27**). Cette observation est probablement liée aux conditions climatiques de l'habitat, telles que la température élevée, l'exposition solaire intense, la sécheresse et la salinité, qui favorisent la biosynthèse de métabolites secondaires comme les composés phénoliques. En effet, le contenu phénolique d'une plante dépend à la fois de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (environnementaux) (**Falleh et al., 2008**). Des résultats similaires ont été trouvés par (**Bachra et al., 2016**) pour *Citrus limon*, contrairement à ceux de (**Shela et al., 2001**) qui ont rapporté des valeurs plus élevées.

Les tanins constituent l'une des classes phytochimiques les plus importantes en raison de leurs propriétés bénéfiques et de leur impact significatif sur les organismes humains et aussi leur présence suggère la capacité de notre plante à jouer un rôle majeur en tant qu'agent antimicrobien et antioxydant (**Macheix et al., 2005**). Nos résultats ont montré des concentrations élevées de tanins dans *Citrus limon*, avec $26,66 \pm 18,92$ mg d'équivalent quercétine par gramme d'extrait (mg QE/g), suivis par *Herniaria hirsuta* avec $2,02 \pm 0,08$ mg QE/g d'extrait, et des concentrations plus faibles dans *Laurus nobilis* avec $1,80 \pm 0,06$ mg QE/g d'extrait. La présence de tanins suggère que nos plantes pourraient jouer un rôle majeur en tant qu'agents antioxydants

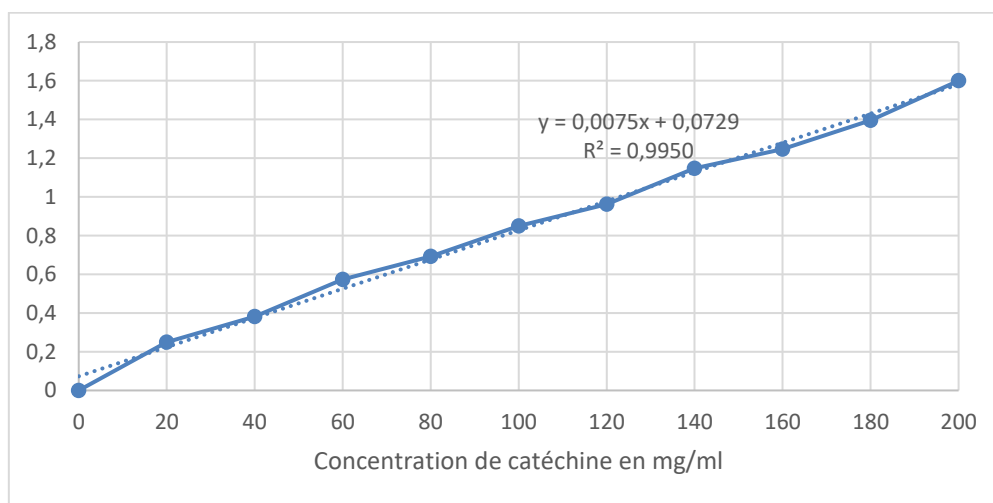


Figure 27 : Droite d'étalonnage des catéchine (moyenne \pm SD de trois mesures)

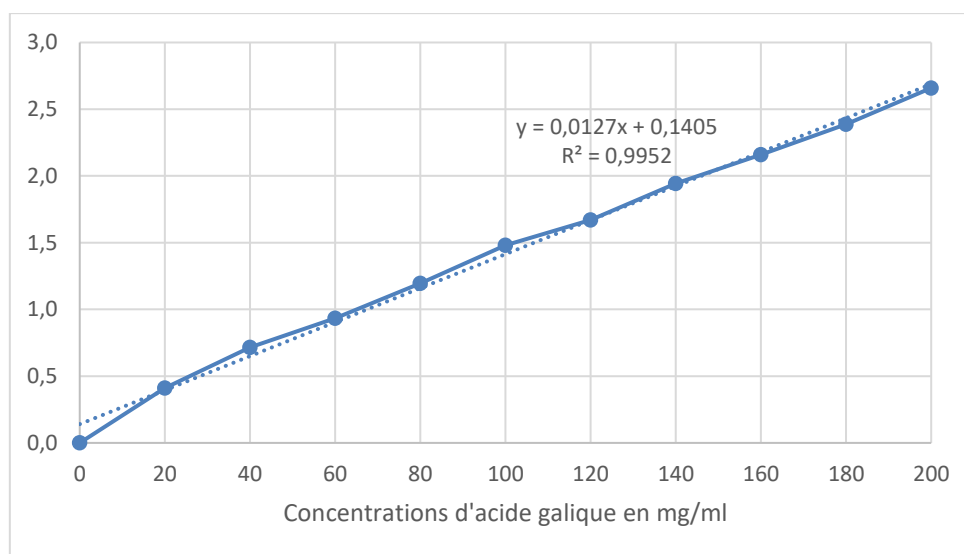


Figure 28 : Droite d'étalonnage des polyphénols (moyenne \pm SD de trois mesures).

IV. Résultat des activités antioxydants :

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits. D'après les résultats des figures (29,30 et 31), on a remarqué que tous les extraits des plantes ont exhibés des effets contre le radical DPPH.

En particulier, l'extrait aqueux de *Laurus nobilis* a présenté l'activité la plus élevée, suivi par *Citrus limon* et *Herniaria hirsuta* L (Tableau 5).

L'IC₅₀, ou concentration inhibitrice de 50 %, représente la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire de moitié le radical DPPH. Une faible valeur d'IC₅₀ indique une forte activité antioxydante. Les résultats des tests ont montré que le pourcentage d'inhibition des radicaux libres augmente avec l'augmentation de la concentration, aussi bien pour le produit témoin d'acide ascorbique (vitamine C) que pour les extraits testés. *Laurus nobilis* a montré une IC₅₀ de 19,86 mg/ml, démontrant ainsi une activité antioxydante significative. Ensuite, *Herniaria hirsuta* a présenté une IC₅₀ de 22,48 mg/ml, tandis que *Citrus limon* a montré la moins forte activité anti-radicalaire avec une IC₅₀ de 43,85 mg/ml.

Tableau 5 : Les valeurs des IC₅₀ des extraits de *L.citrus*, *H.hirsuta* et *L.nobilis*.

Nature de L'extrait	<i>Jus de citron</i>	<i>Herniaria hirsuta.L</i>	<i>Laurus nobilis.L</i>
IC ₅₀ (mg/ml)	43,85	22,48	19,86

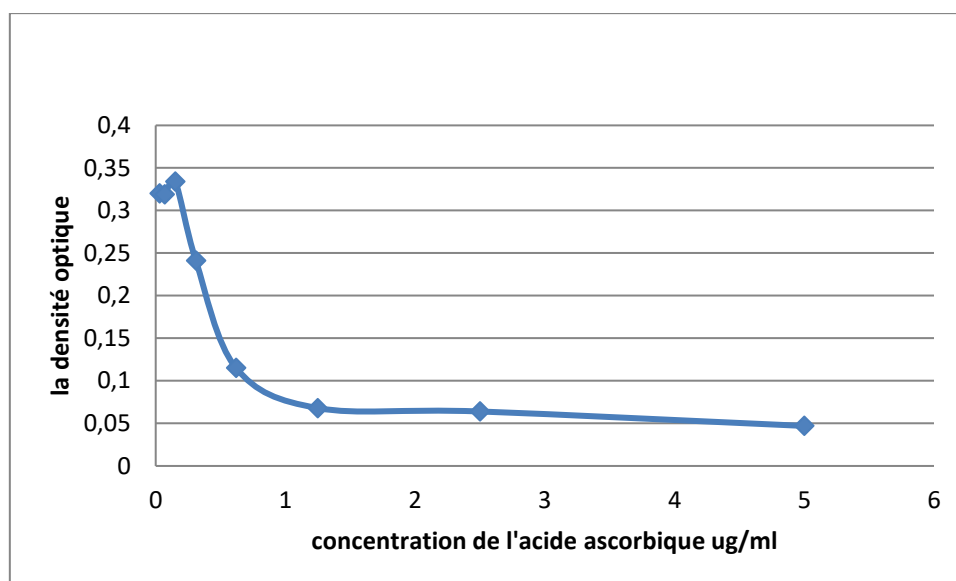


Figure 29 : variation de la densité optique en fonction de la concentration de l'acide ascorbique

❖ *Citron limon* :

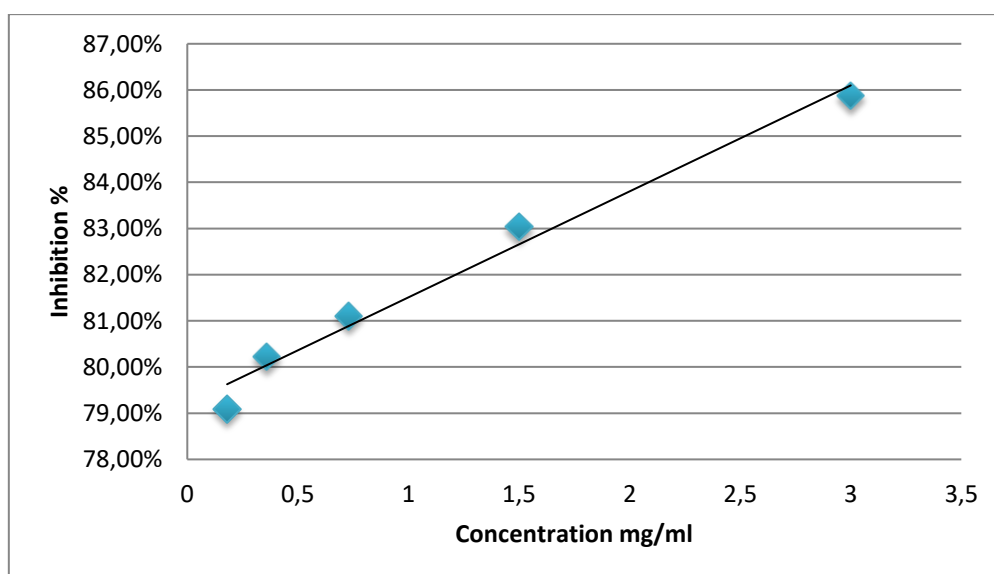


Figure 30 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de *Citron limon*

Calcul d'IC₅₀ de *Citron limon*:

$$X = 50 - 0,4266 / 0,0694 = 43,85 \text{ mg/ml}$$

❖ *laurus nobilis*

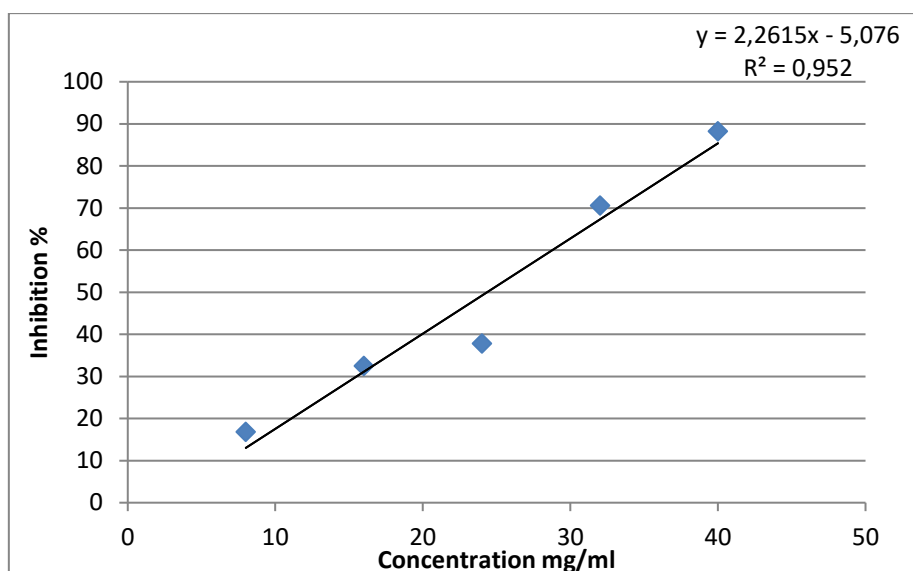


Figure 31 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis*

Calcul d'IC₅₀ de *laurus nobilis* .L :

$$X = 50 - 5,076 / 2,2615 = 19,86 \text{ mg/ml}$$

❖ *Herniaria hirsuta* .L

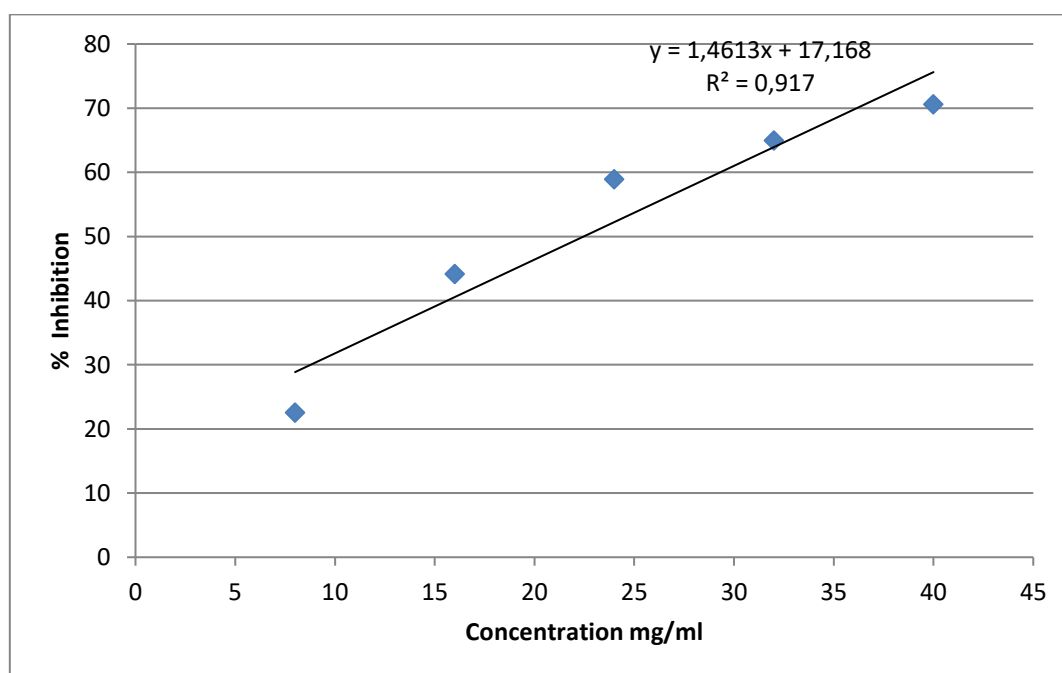


Figure 32 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de *Herniaria hirsuta* .

Calcul d'IC50 de *herniaria hirsuta* .L :

$$X = 50 - 17,168 / 1,46 = 22,48 \text{ mg/ml}$$

Des études menées par **Chikhi & Mokdad, 2019** sur le jus de citron ont révélé une valeur supérieure de 57,406% $\pm 0,48$ mg/ml, tandis que (**Sghir ,2022**) a trouvé une valeur de 76,40 $\pm 0,44$ mg/ml pour *Laurus nobilis*, nettement supérieur à notre résultat. En revanche, (**Borhane et al., 2015**) ont obtenu une valeur supérieure à notre résultat de 729 ± 50 $\mu\text{g/ml}$ pour *Herniaria hirsuta*,

Cela peut être expliqué par le fait, la quantité des composés bioactifs de la même plante dépend de plusieurs facteurs parmi eux le facteur de la région géographique qui, associée aux conditions climatiques comme la température et l'altitude, influent sur la composition chimique des constituants actifs et sur la capacité antioxydant des plantes (**khadri et al., 2008 ; Tlili, 2015**).

En conclusion, nos résultats confirment l'importance de l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement et la prévention des calculs biliaires. De plus, notre étude in vitro a révélé une efficacité significative dans la dissolution des calculs biliaires de cholestérol grâce aux extraits végétaux de *Citrus limon* (citron), *Laurus nobilis* (feuille de laurier) et *Herniaria hirsuta*. En effet, la perte de masse la plus importante des calculs biliaires a été observée avec *Laurus nobilis*. En revanche, l'utilisation combinée des trois extraits a entraîné la dissolution la plus efficace, démontrant l'effet synergique de cette combinaison de plantes.

Quant à l'étude des propriétés phytochimiques, elle a révélé que *Laurus nobilis* présentait la plus forte concentration de composés phénoliques, suivi par *Citrus limon* et *Herniaria hirsuta*, ce qui indique leur fort potentiel antioxydant. Cependant, *Citrus limon* était plus riche en flavonoïdes et tanins, suivis par *Laurus nobilis*, puis *Herniaria hirsuta*, ce qui contribue à leurs propriétés médicinales. De plus, *Laurus nobilis* a présenté l'activité antioxydante la plus élevée, suivie par *Herniaria hirsuta* et *Citrus limon*.

L'utilisation d'extraits de plantes, à la fois individuellement et en synergie, a permis d'améliorer l'efficacité de l'action antioxydante.

Conclusion

Conclusion

Notre étude in vitro avait pour objectif d'analyser l'effet de Citrus limon ainsi que des plantes médicinales *Herniaria hirsuta* et *Laurus nobilis* sur la dissolution des calculs biliaires. Nous avons également mesuré les polyphénols totaux, les flavonoïdes totaux et les tanins, ainsi que l'activité antioxydante des extraits de ces trois plantes.

Les résultats de cette étude confirment l'efficacité significative des extraits de plantes, en particulier *Laurus nobilis* qui a enregistré la plus grande perte de masse des calculs biliaires, suivie de Citrus limon et *Herniaria hirsuta*. De plus, l'utilisation combinée de ces extraits a démontré un effet synergique, conduisant à une dissolution plus efficace des calculs biliaires. Ces résultats soutiennent l'utilisation des plantes médicinales comme une approche prometteuse pour la prévention et le traitement de cette affection courante.

L'analyse des propriétés phytochimiques a révélé que *Laurus nobilis* présentait la plus grande concentration de composés phénoliques, avec un IC50 de 19,86 mg/ml, suivi de Citrus limon et *Herniaria hirsuta*, mettant ainsi en évidence leur potentiel antioxydant. Par ailleurs, Citrus limon était particulièrement riche en flavonoïdes et tanins, ce qui contribue à leurs propriétés médicinales. *Laurus nobilis* a également présenté une activité antioxydante supérieure, suivie de *Herniaria hirsuta* et Citrus limon.

L'utilisation d'extraits de plantes, que ce soit individuellement ou en combinaison, a permis d'améliorer l'efficacité de l'action antioxydante. Ces résultats suggèrent que les extraits de plantes étudiés offrent une alternative naturelle et efficace aux traitements conventionnels des calculs biliaires. Leur utilisation peut donc constituer une approche holistique et fondée sur des preuves pour la gestion de cette affection courante.

Référence bibliographique

(A)

- **Admirand WH, Small DM 1968** . The physicochemical basis of cholesterol gallstone formation in man. J Clin Invest;47:1043-52.
- **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
- **Maiba** (herbalists) of Manipur, India. Notulae Scientia Biologicae;3(2):12-15.
- **Allileche, Thilleli 2021, and Thinhinane Adi**. Synthèse bibliographique sur la lithiase biliaire. Diss. Université, Mouloud Mammeri
- **Amoura NB, el Imene Benkirat N, 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 *Malvasylvestris* L. Bulletin de la
- Société Royale des Sciences de Liège.,vol.87, p. 56-61 avec plus de 100 photographies. Ed de Vecchi, Paris.
- **Aribi, I., 2012**. Etude ethnobotanique de plantes médicinales de la région de Jijel: Etude anatomique, phytochimique et recherche d’activités biologiques de deux espèces. Mém. Magister en biologie et physiologie cellulaire et moléculaire. USTHB, 148P.
- **Azouaou 2020** lithiase résiduelle cours, chu blida

(B)

- **Bachra Khetta, Nabil Kadri, Karim Tighilet Ahmed Adjebli, Farid Dahmoune, Fadila Maiza-** (PDF) Phenolic compounds from Citrus leaves: Antioxidant activity and enzymatic browning inhibition. Available from: https://www.researchgate.net/publication/313735385_Phenolic_compounds_from_Citrus_leaves_Antioxidant_activity_and_enzymatic_browning_inhibition [accessed Jun 14 2024].
- **Bartoli É, Capron JP 2017**. Du cristal au calcul biliaire.
- **Bartoli et al, 2000, Capron JP**. Epidémiologie et histoire naturelle de la lithiase biliaire. Rev Prat 2000, 50 : 2112-2116.)
- **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
- **Bouchet Y., Passagia J. et Lopez J.F 1990**. Anatomie des voies biliaires extra-hépatiques. Edition Techniques, Encycl. Med. Chir. Paris, PP 225.
- **BOUCHACHIAA, 2017**. Mesure de la vitamine C et de l’activité anti-radicalaire et Antioxydante des citroflavonoïdes de l’écorce du citron (Doctoral dissertation). Mémoire de master : physiologie cellulaire et physiopathologie. Tlemcen ,71p.
- **Boorrel, M., 2017**. Le grand livre des plantes médicinales a cultivé soi-même. Ed. Leducs. 288P.

- **Buffet, C 2014.** Lithiase biliaire : facteurs environnementaux et génétiques. " Médecine des Maladies Métaboliques 8.4 : 402-407.

(C)

- **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.
- **Cheryl AL.** Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes mellitus. *J Ethnobiol Ethnomed* 2006; 2: 45.
- **Clement, M.1981.** La Fleur de lotus.

(D)

- **Daoudi, A., Sabiri, M., Bammou, M et al. 2015.** Valorisation des extraits de trois espèces
- **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
- **David Zanditenas”2023** Maladie lithiasique biliaire”, article scientifique , POST’U
- **Delille, 2007** Les plantes médicinales d’Algérie. Éd.BERTI, Alger, 122 P
- **Dutertre J., 2011.** Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l’île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse. Doc. Univ. Bordeaux 2 – Victor Segalen. U.F.R des sciences médicales.120p .Etude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans la région de Biskre .

(F)

- **Fiorini C., David B., Fouraste I., Vercauteren J., 1998.** Acylated kaempferol glycosides from *Laurus nobilis* leaves. *Phytochemistry*. 47: 821–824.
- **François Cauchy 2020** “Anatomie chirurgicale du foie et des voies biliairesClassification des hépatectomies” Service de chirurgie HPB et transplantation hépatique Hôpital Beaujon, APHP, Université de Paris

(G)

- **Gayet, C., 2013.** Guide de poche de phytothérapie. Ed. Quotidien Malin.
- **Giuseppe et al., 2013** 7emes Journées Scientifiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie 2017
- **Goetz P 2014 .** *Citrus limon* (L.) Burm. f.(Rutacées) citronnier. *Phytothérapie*. Apr 1;12(2):116-21.
- **GUECHI Narimène Ouafa 2022** THÈSE Études floristique et ethnobotanique du massif de Maadid (M’Sila, Algérie)).

- **Grosmond G. (2001).** La phytothérapie. Elevage et agriculture biologique. Bulletin des GTV et HS.143-145p

(H)

- **Hamim, Fatiha, Fatima Zohra Berriha, and Naima Guendouz 2006.** Contribution a l'étude de la lithiase biliaire dans la région de Ouargla. Diss. Université Kasdi Marbah DE Ouargla,.
- **Hseini et Kahouadji, 2007 :** Etude ethnobotanique de la flore médicinale dans la région de Rabat Maroc. Edition Lazaroa. p92

(J)

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

(K)

- **Kenza Ammor , Dalila Boust, Sanae Jennan, Bahia Bennani ,Abdellah Chaqroune, and Fatima Mahjoubi, 2018.** Phytochemical Screening, Polyphenols Content,Antioxidant Power, and Antibacterial Activity of *Herniariahirsuta* from Morocco. • e Scientific World JournalVolume 2018, Article ID 7470384, 7 pages<https://doi.org/10.1155/2018/7470384>
- **Kariche sihem fadila akrib abderrahman benkhalifa 2024** Distribution de *Berberis* sp.et son utilisation en phytothérapie en Algérie
- **Khitri Walid, Nassima Lachgueur, Abdessamed Tasfaout, Abderrahmene Lardjam et Ali Khalfa 2016** Plantes antilithiasiques utilisées en médecine traditionnelle dans la ville d'Oran, Algérie
- **Kisiel, W. and B. Barszcz, 2000** Further sesquiterpenoids and phenolics from *Taraxacum officinale*. *Fitoterapia*, 2000. 71(3): p. 269-273
- **Kivcak B., Mert T., 2002.** Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* L. leaf extracts. *Fitoterapia*. 73: 242-243.
- **Kocaçalışkan et al., 2009** THESE Étude In vitro et In vivo de l'activité antilithiasique de certaines plantes médicinales
- **Kregiel, I.D., Pawlikowska, E., Antolak, H.2018.** *Urtica* spp.: Ordinary Plants with
Ksontini, R., D. Gintzburger, and N. Halkic 2004. "Lithiase de la voie biliaire principale." *Médecine et hygiène* : 1331-1334

(L)

- **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: Ökologische Zeigerwerte und biologische Kennzeichen zur Flora der Schweiz und der Alpen. Haupt. 376 p.

- **l'EASL 2016** European Association for the Study of the Liver (EASL)*"Recommandations de Pratique Clinique sur la prévention, le diagnostic et le traitement des calculs biliaires selon l'EASL" ☆ Journal of Hepatology 2016 vol. 65 | 146–181 Implications pour la prévention et la gestion
- **Lozeron 2018** UE3 Appareil Digestif , Sécrétions biliaires Lithogénèse

(M)

- **Massara Mzida, Sameh Ben Khedira, Maryem Ben Salemb, Wafa Regaiegb and Tarek Rebai. 2017** Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol and aqueous extracts from *Urtica urens*. PHARMACEUTICAL BIOLOGY, 2017VOL. 55, NO. 1, 775–781.<http://dx.doi.org/10.1080/13880209.2016.1275025>
- **Mahamadou Karim Mallé 2013** , "cholysistomie laparoscopique", these en medicine
- **Marc Antoine ALLARD, 2018** Centre Hépatobiliaire - Hôpital Universitaire Paul Brousse - 12-14 avenue Paul Vaillant Couturier - F-94800 Villejuif – France
- **Mlle Bouhenni Hanane Mlle Soufir Djouher 2020** "Bilan préopératoire de la lithiase vésiculaire » mémoire de master en biochimie appliquée ,
- **Mohamed Seghir Nekkache 2021** , Anti-nucléants, facteurs de nucléation agents.Lithiase vésiculaire.
- **Morigane, 2007** Grimoire des plantes ,192p
- **Morales, I. J. L., Flores, D. E. A., Andamayo, D. E. C. et Yllescas, V. A. J. (2021).** Evaluación preliminar de 10 plantas medicinales del Valle del Mantaro mediante el método cualitativo (fitoquímico) para uso farmacéutico. Visionarios en ciencia y tecnología, 6(1), 38-48.

(N)

- **Nathalie C 2012** . Le citron: Maison - Cuisine - Santé - Beauté - 100% nature- Mes petites mixtures. Fleurus , 64p .
- **Nogaret A.S., 2003** - La phytothérapie : Se soigner par les plantes. Ed. Groupe Eyrolles,
- **Nogaret, 2003** La phytothérapie : Se soigner par les plantes. Ed. Groupe Eyrolles, Paris, 191 p.
- **Nuzzo, G., Giuliente, F., & Persiani, R. 2004.** Le risque de plaies biliaires au cours de la cholécystectomie par laparoscopie. Journal de Chirurgie, 141(6), 343–353. doi:10.1016/s0021-7697(04)95358-6
- of Applied Biosciences, 87 : 8094– 8104.

(O)

- **Omer, H.E.M. 2013,** Antifungal Activity of the Extracts of Moleata (Dandelion) Plant (*Taraxacum officinale* L.), 2013, University of Gezira

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

(P)

- □ **Padrini F. et Lucheroni M.T., 1996** - Le grand livre des Huiles Essentielles- guide pratique Paris, 191 p. plantes à fleurs. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. France. Pour retrouver vitalité, bien être et beauté avec les essences et l'aromassage. Energétiques

(Q)

- **QUEZEL P. ET SANTA S. (1962)** - Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales .Ed C.N.R.S. Tome I. 565 p

(R)

- **Rahimi-Madiseh M, Lorigoini Z, Zamani-gharaghoshi H, Rafieian-Kopaei M. 2017.** Berberis vulgaris: Specifications and traditional uses. Iran J Basic Med Sci, 20: 569-587.
- **Ross A. et Wilson R.M.L. 2009-** Anatomie et physiologie normales et pathologiques. Edition Elsevier Masson, Chap Système digestif, PP 363, 364.

(S)

- **Sarikurkcü C, Targan S, Ozer MS, Tepe B.** Fatty acid composition, enzyme inhibitory, and antioxidant activities of the ethanol extracts of selected wild edible plants consumed as vegetables in the Aegean region of Turkey. International journal of food properties. 2017 Mar 4;20(3):560-72.
- **Schütz, K., R. Carle, and A. 2006** Schieber, Taraxacum—a review on its phytochemical and pharmacological profile. Journal of ethnopharmacology, 107(3): p. 313-323 Secaer, 2018 Extrait du Recueil de Plantes Médicinales et leurs vertus, expériences des paysans du Togo et du Bénin.
- **Sharma A, Shanker C, Tyagi LK, Singh M, Rao CV.** Herbal medicine for market potential in India: an overview. Acad J Plant Sci 2008 ; 1(2): 26-28.
- **Shela Gorinstein , Olga Martí n-Belloso , Yong-Seo Park , Ratiporn Haruenkit d, Antonin Lojek , Milan , Abraham Caspi , Imanuel Libman , Simon Trakhtenberg (PDF)** Comparison of some biochemical characteristics of different Citrus fruits. Available from: https://www.researchgate.net/publication/222559703_Comparison_of_some_biochemical_characteristics_of_different_Citrus_fruits [accessed Jun 14 2024].
- **Spichiger, R.E., Figeat, M., Savolainen, V., Perret. M. 2002.** Botanique systématique

(T)

- **Talbi .N 2020** ,” LITHIASSE BILIAIRE ET SES COMPLICATIONS”, Cours du genre Urtica : Urtica urens L., Urtica membranacea Poir et Urtica pilulifera L. Journal

(V)

- **Valette P.J. et De Baere T 2002.** Biliary and vascular anatomy of the liver. J Radiol, Feb 83(2 Pt 2), PP 221.
- **Vaya RK et al. 2017** Nephroprotective Plants: A Review. Journal of Bioscience and Technology; 8:801-812.

(W)

- **WALIGORA J, PERLEMUTER L 1975.** Voies biliaires extras hépatiques. Cahiers D'anatomie. Abdomen, 3ème Edit. Paris : Masson ;81p.
- **WILFRID PAVAGEAU 2016** article CHOLÉCYSTECTOMIE
- **Wirngo, F.E., M.N. Lambert, and P.B. Jeppesen 2016,** The physiological effects of dandelion (*Taraxacum officinale*) in type 2 diabetes. The review of diabetic studies:RDS, 2016. 13(2-3): p. 113.
- **Wang, D. Q., D. E. Cohen & M. C. Carey (2009)** Biliary lipids and cholesterol gallstone disease. J Lipid Res, 50 Suppl, S406-11.

(Y)

- **Ybert et Delesalle-Féat, Hans, 2007** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition, 6–7.
- **YAKHLEF Ghania (2010)** article ETUDE DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DES EXTRAITS DE FEUILLES DE *Thymus vulgaris* L. ET *Laurus nobilis* L. Magister thesis, Université de Batna 2

Annexe 1

I. Matériel et verreries :

- ✓ Erlenmeyer, béchers, éprouvettes, fioles et flacons
- ✓ Entonnoirs
- ✓ Ballon de 1000 ml
- ✓ Barreau magnétique
- ✓ Boîtes pétries
- ✓ Papier filtre
- ✓ Microtube
- ✓ Cuvettes de spectrophotomètre
- ✓ Verre de montre

II. Appareillage :

- ✓ Balance de précision
- ✓ Réfrigérateur
- ✓ Etuve
- ✓ Balance
- ✓ Spectrophotomètre IRTF ,
- ✓ Spectrophotomètre UVVis Jenway
- ✓ Microscope optique
- ✓ Chauffe Ballon.
- ✓ pH-mètre.
- ✓ Incubateur agitateur de type-Wise cube.
- ✓ Agitateur magnétique à plaque chauffante

III. Produit:

- ✓ Chlorure de sodium
- ✓ Na NO₂
- ✓ ALCL
- ✓ NaOH
- ✓ Vanilline
- ✓ HCL
- ✓ Na₂CO₃
- ✓ Folin

Annexe2 : Matériel végétal utilisé



Figure : Laurus nobilis



Figure : Fruit de citron (Citrus limon)



Figure : Partie aérienne séchée de *Herniaria hirsuta*



Carte d'information

À propos de l'équipe d'encadrement du groupe de travail



1- Équipe d'encadrement :

Équipe d'encadrement (à titre indicatif)	
Encadrant principal : Dr. MELALLI SARAH	Spécialité : Biologie Cellulaire et moléculaire
Co-encadrant 01 : Dr. ABBASSENE Fatiha	Spécialité : Biologie et santé



2- Équipe de projet :

Équipe de projet	Faculté	Spécialité
Étudiant 01 : SENOUCI Hanene	Sciences et Technologies	Biochimie appliquée
Étudiant 02 : Khatem chaimaa	Sciences et Technologies	Biochimie appliquée
Étudiant 03 : Khelifa hakim	Sciences et Technologies	Biochimie appliquée





Table des

Premier axe : Présentation du projet.....	11. L'idée de projet (la solution proposée).....	2
2. Les Valeurs suggérées		2
3. L'équipe		3
4. Les Objectifs du projet.....		4
5. Le planning de réalisation du projet.....		4
Deuxième axe : Aspects innovants		5
1. La nature des innovations.....		6
2. Les domaines d'innovation.....		6
Troisième axe : Analyse stratégique du marché.....		7
1. Le segment du marché.....		8
2. La mesure de l'intensité de la concurrence.....		8
3. La stratégie marketing		9
Quatrième axe : Plan de production et organisation		10
1. Le processus de production.....		11
2. L'approvisionnement.....		12
3. La main d'œuvre.....		12
4. Les principaux partenaires.....	12	
Cinquième axe : Plan financier.....		13
1. Les coûts et les charges.....		14
2. Le chiffre d'affaires.....		14
3. Les comptes de résultats escomptés.....		14
4. Le plan de trésorerie.....	14	
Sixième axe : Prototype expérimental		15

Introduction



La lithiase biliaire, également connue sous le nom de calculs biliaires, est une condition caractérisée par la formation de pierres dures dans la vésicule biliaire. Ces calculs peuvent varier en taille et en composition, avec les calculs de cholestérol étant les plus fréquents. Cette maladie touche entre 25 % et 50 % de la population en Algérie. Les symptômes incluent des douleurs abdominales sévères, des nausées et des vomissements. En cas de blocage des canaux biliaires, des complications graves telles que la cholécystite (inflammation de la vésicule biliaire) ou la pancréatite peuvent survenir.

Notre étude vise à développer des produits innovants à base de plantes médicinales pour la prévention et le traitement des calculs vésiculaires. Des plantes comme le *Citrus limon*, le *Laurus nobilis* et l'*Herniaria hirsuta* montrent un potentiel prometteur dans la gestion des calculs biliaires, tant pour leur dissolution que pour leur prévention. L'utilisation de ces plantes pourrait offrir une alternative naturelle et efficace aux traitements conventionnels, souvent associés à des effets secondaires indésirables. Notre produit se présente sous forme de tisane.

Nous préparons les plantes en les nettoyant, les séchant et les broyant, puis nous les combinons avec une formule et un dosage approprié pour créer notre mélange de tisane. Ce produit est conçu pour être efficace dans la prévention, la dissolution et le traitement des calculs biliaires.



Le premier axe

Présentation

Du projet



Guide du projet pour obtenir un Diplôme/ Startup dans le cadre de l'Arrêté Ministériel 1275



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
MHERS

Algérie



Premier axe

Présentation du projet

1. L'idée de projet (solution proposée)

- ✓ **Nous ciblons l'industrie agroalimentaire et la santé humaine en produisant des tisanes médicinales à des fins thérapeutiques et préventives pour l'ensemble de la population, en particulier pour les personnes souffrant de calculs biliaries.**
- ✓ L'idée de ce projet est née d'une recherche qui a révélé que les traitements à base de plantes sont largement préférés par de nombreux patients, en particulier ceux souffrant de calculs biliaries.
- ✓ Nous avons constaté que les patients préfèrent souvent les traitements à base de plantes aux médicaments prescrits par leur médecin.
- ✓ Nos projets sont mis en œuvre dans des unités de production utilisant des matières premières (plantes médicinales sélectionnées) basées sur les dernières recherches dans ce domaine et les résultats de notre étude *in vitro*.
- ✓ Nos produits sont conçus pour offrir une efficacité élevée et une action ciblée.

2. Les valeurs proposées :

- ✓ Nos produits à base de plantes médicinales, sont adaptés à tous les groupes d'âge et accessibles à toutes les couches de la société en termes de pouvoir d'achat.
- ✓ Offrir des solutions naturelles sans effets secondaires indésirables pour une utilisation en toute sécurité.
- ✓ Assurer une efficacité équivalente voire supérieure à celle des traitements conventionnels pour les calculs vésiculaires.
- ✓ Intégrer des technologies et des méthodes innovantes dans le développement et la production de produits à base de plantes.
- ✓ Promouvoir le bien-être en utilisant des ingrédients naturels qui respectent le corps et l'environnement.

3.Équipe de travail :

L'équipe du projet est composée des membres suivants :

- **Étudiant 01 :** SENOUCI Hanene , de la spécialité de Biochimie appliquée.
- **Étudiant 02 :** KHATEM chayma , de la spécialité de Biochimie appliquée.
- **Étudiant 03 :** KHALIFA hakim, de la spécialité de Biochimie appliquée.







Le rôle de l'étudiante 1 consiste à diriger le projet, assurer une gestion adéquate, fournir la matière première, contribuer à identifier les plans de travail et superviser la production du produit.

L'étudiante 2 se concentre sur l'étude du marché et le marketing de l'entreprise, tandis que le troisième étudiant est chargé de la gestion du budget.

Objectifs du projet :

- ✓ S'assurer d'une acceptation et d'une diffusion étendue sur le marché parmi les individus privilégiant les approches naturelles en médecine, en positionnant la tisane antilithiasique comme une solution attrayante.
- ✓ Établir une position de leader au niveau national dans la production de la tisane antilithiasique, en capitalisant sur son potentiel prometteur sur le marché.
- ✓ Bâtir une réputation solide en tant que référence dans le domaine des produits de santé naturels, en mettant particulièrement l'accent sur les approches naturelles en médecine.
- ✓ Identifier des opportunités d'expansion à l'échelle internationale pour la tisane antilithiasique, en ciblant des marchés étrangers prometteurs et en adaptant les stratégies de commercialisation en conséquence.

2. Calendrier de réalisation du projet :

			Mois						
			1	2	3	4	5	6	7
TRAVAUX	1		Études préalables : choix de l'implantation de l'unité de production, préparation des documents nécessaires	✓	✓	✓			
	2		Commande des équipements		✓	✓			
	3		Construction d'un siège de production (usine)			✓	✓	✓	
	...		Installation des équipements			✓	✓	✓	
	N		Achat de matières premières						✓
	...		La production du tisane						✓



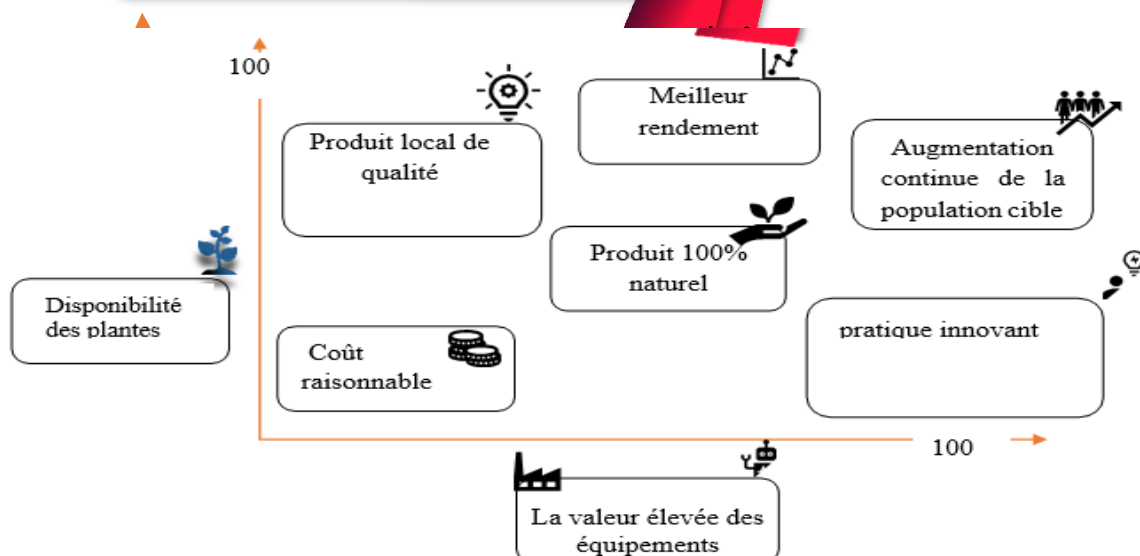
Aspects innovants





Deuxième axe : Aspects innovants

1. Nature des innovations :



Domaine d'innovation :

- **Solution naturelle et alternative pour les calculs biliaires :** Nous proposons une approche naturelle et alternative aux traitements conventionnels des calculs biliaires. Notre solution vise à éviter les effets secondaires indésirables tout en garantissant une utilisation en toute sécurité. Nous utilisons des ingrédients naturels respectueux du corps et de l'environnement, favorisant le bien-être et la promotion d'un mode de vie sain.

Accessibilité économique : Nous nous engageons à rendre nos produits accessibles à toutes les couches de la société, indépendamment du pouvoir d'achat. Nous cherchons à proposer des solutions abordables sans compromettre la qualité et l'efficacité de nos tisanes antilithiasiques.

Variété de tisanes: Nous offrons différentes variations de tisanes antilithiasiques, toutes élaborées avec des ingrédients naturels soigneusement sélectionnés. Nous nous efforçons de fournir des options adaptées aux préférences et aux besoins de nos clients, tout en offrant des bienfaits spécifiques pour les calculs biliaires.



Troisième axe :

Analyse stratégique du marché



Troisième axe

Analyse stratégique du marché

1. Le segment du marché

- ✓ **Marché potentiel** : Cela englobe toute personne qui désire prendre un médicament à base des plantes médicinales.
- ✓ **Marché cible** : Notre objectif est de fournir des produits naturels aux patients atteints de lithiase biliaire, qui touchent environ 10% de la population algérienne, ainsi qu'à toute personne cherchant à prévenir cette maladie.

2. Mesure de l'intensité de la concurrence

- ✓ Les concurrents des tisanes algériennes pour traiter la lithiase biliaire sont peu nombreux.
- ✓ Sur le marché algérien, il existe des extraits liquides de citron antilithiasiques, mais ils ne sont pas spécifiques à la lithiase biliaire. De plus, ces extraits se caractérisent par une durée de conservation limitée et l'utilisation d'agents de conservation qui peuvent avoir un impact négatif sur la santé.
- ✓ Au niveau international, il existe une variété de produits vendus sous différentes formes. Par exemple, on peut mentionner le "Soria cyrasil", qui est un produit diurétique stimulant, et le "pissenlit", qui est notamment indiqué dans le traitement des calculs biliaires et des troubles hépatiques. Il y a également le "Desmodium liquide", un extrait utilisé pour la détoxification du foie et la protection hépatique. Cependant, il convient de noter que ces produits d'importation sont souvent caractérisés par leur prix élevé.

3. La stratégie marketing

- ✓ Lors de la commercialisation de nos produits, nous adoptons une stratégie promotionnelle basée sur des prix compétitifs, un positionnement clair du produit, des canaux de distribution efficaces, ainsi qu'une communication et une publicité ciblées.
- ✓ Nous prévoyons la création d'un site internet dédié à notre activité de vente de tisanes. Cela permettra à nos clients de nous trouver facilement en ligne et nous facilitera la distribution des produits et la gestion des commandes. Le site offrira également la possibilité d'enregistrer les demandes et les réclamations des clients, afin de pouvoir y répondre rapidement et efficacement.
- ✓ Nous serons également activement présents sur les réseaux sociaux tels qu'Instagram, Facebook, YouTube, ainsi que par le biais du marketing par e-mail. Cette présence sur les plateformes sociales nous permettra d'interagir avec notre clientèle, de partager des informations pertinentes et de promouvoir nos produits de manière efficace.

Quatrième axe

Plan de production et d'organisation



Commission nationale de coordination du suivi de l'innovation et des incubateurs universitaires



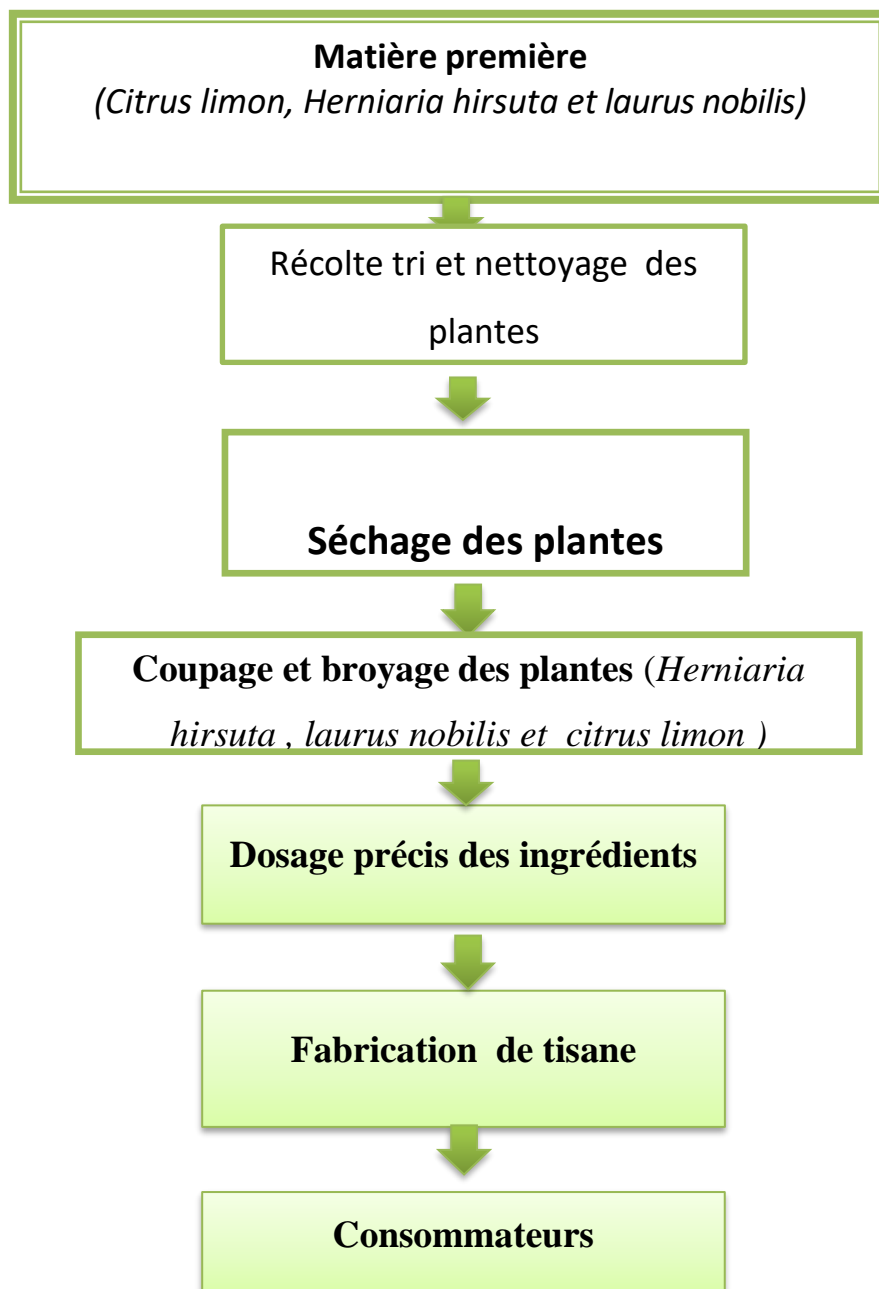


Quatrième axe :

Plan de production et d'organisation

1. Le Processus de production

Nous utilisons le schéma ci-dessous, qui explique les étapes du processus de production :





2. L'Approvisionnement

Nous établissons une communication directe avec nos fournisseurs lors de l'achat de produits et d'équipements. En ce qui concerne le matériel végétal, nous nous approvisionnons en plantes de haute qualité, privilégiant celles issues de l'agriculture biologique afin d'éviter les contaminants et d'assurer une efficacité optimale. Nous accordons

3. La main d'œuvre

Pour garantir une gestion de production efficace, nous recruterons une équipe de professionnels compétents dans différents domaines. Nous engagerons des experts en biologie et des spécialistes de l'industrie pharmaceutique pour superviser la qualité et la conformité des produits. Des techniciens qualifiés seront responsables de la manipulation et du traitement des plantes, tandis que des ingénieurs se chargeront de l'optimisation des processus de production et de contrôle de qualité.

En parallèle, nous aurons également besoin de comptables expérimentés pour gérer les aspects financiers de l'entreprise, y compris la budgétisation, la gestion des coûts et les prévisions financières.

Nous engagerons des professionnels spécialisés dans la gestion du travail à distance, la communication avec des clients internationaux et le marketing. Leur rôle consistera à coordonner, communiquer, gérer les commandes, entretenir des relations commerciales mondiales et promouvoir nos produits. Leur expertise en marketing garantira une communication efficace, la satisfaction des clients et la croissance de l'entreprise.

4. Les Principaux partenaires

Les principaux partenaires de notre projet incluent :

- ✓ les fournisseurs de matières premières, de produits et d'équipements.
- ✓ Société spécialisée dans l'emballage et l'étiquetage.
- ✓ L'incubateur universitaire.



Cinquième axe :

Plan financier



Cinquième axe :

Plan financier

Les Coûts et charges

- Les principales sources de financement sont :
- L'investissement personnel.
 - Participer à un programme d'incubation d'entreprise.
 - Assistance du gouvernement.

Le Chiffre d'affaires:

DETAIL CHIFFRE D'AFFAIRE

	REALISATION			PREVISION				
Produit A ET B destine client	N-2	N-1	N	N+1	N+2	N+3	N+4	N+5
Qantite produit A	40000	45000	50000	55000	58000	62000	66000	68000
Prix HT produit A	500	500	500	500	550	570	590	610
Ventes produit A	20000000	22500000	25000000	27500000	31900000	35340000	38940000	4148000
CHIFFRE D'AFFAIRES GLOBAL	20000000	22500000	25000000	27500000	31900000	35340000	38940000	4148000

les comptes de résultats escomptés:



	REALISATION			PREVISION				
En Milliers DZD	N -2	N -1	N	N+1	N+2	N+3	N+4	N+5
Vente et produits annexes	4117110	5489480	6861850	7223000,00	8814900,00	13222350,00	15866820,00	19833525,00
Variation des stocks produits finis et en cours	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Production immobilisée	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Subvention d'exploitation	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Production de l'exercice	4117110	5489480	6861850	7223000,00	8814900,00	13222350,00	15866820,00	19833525,00
Achats consommés	1122176,1	1496234,8	1870293,5	1968730,00	2409849,00	3614773,50	4337728,20	5422160,25
Services Extérieurs et autres consommations	26106	34808	43510	45800,00	405800,00	405800,00	486960,00	608700,00
Consommation de l'exercice	1148282,1	1531042,8	1913803,5	2014530,00	2815649,00	4020573,50	4824688,20	6030860,25
Valeur ajoutée d'exploitation	2968827,9	3958437,2	4948046,5	5208470,00	5999251,00	9201776,50	11042131,80	13802664,75
Charges de personnel	1222992	1630656	2038320	2145600,00	2360160,00	2832192,00	3398630,40	4248288,00
Impôts et taxes et versement assimilés	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Excédent Brut d'Exploitation	1745835,9	2327781,2	2909726,5	3062870,00	3639091,00	6369584,50	7643501,40	9554376,75
Autres produits opérationnels	0	0	0	0,00	0,00	10000,00	12000,00	15000,00
Autres charges opérationnelles	0	0	0	0,00	0,00	15000,00	18000,00	22500,00
Dotations aux amortissements, Provisions	326040	434720	543400	572000,00	20000,00	20000,00	24000,00	30000,00
Reprise sur pertes de valeurs et provisions	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Résultat opérationnel	1419795,9	1893061,2	2366326,5	2490870,00	3619091,00	6344584,50	7613501,40	9516876,75
Produits Financiers	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Charges financières	52849,48132	70465,97509	88082,46887	92718,39	69729,08	44332,49	53198,99	66498,74
Résultat financier	52849,48132	70465,97509	88082,46887	92718,39	69729,08-	44332,49-	53198,99-	66498,74-
Résultat Ordinaire avant impôt	1472645,381	1963527,175	2454408,969	2583588,39	3549361,92	6300252,01	7560302,41	9450378,01
Impôt exigible sur résultat ordinaire	368161,3453	490881,7938	613602,2422	645897,10	887340,48	1575063,00	1890075,60	2362594,50
Impôt différé (variation) sur résultat ordinaire	0	0	0	0,00	0,00		0,00	0,00
TOTAL DES PRODUITS DES ACTIVITES ORDINAIRES	4117110	5489480	6861850	7223000,00	8814900,00	13222350,00	15878820,00	19848525,00
TOTAL DES CHARGES DES ACTIVITES ORDINAIRES	3118324,927	4157766,569	5197208,211	5470745,49	6152878,56	8507160,99	10208593,19	12760741,49
RESULTA NET DES ACTIVITES ORDINAIRES	998785,0733	1331713,431	1664641,789	1752254,51	2662021,44	4725189,01	5670226,81	7087783,51
Eléments extraordinaire (produits)	0	0	0			0,00	0,00	0,00
Eléments extraordinaire (charges)	0	0	0			0,00	0,00	0,00
Résultat extraordinaire	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
RESULTAT NET DE L'EXERCICE	998785,0733	1331713,431	1664641,789	1752254,51	2662021,44	4725189,01	5670226,81	7087783,51

le plan trésorerie:

Budget prévisionnel de trésorerie

Année 1

	Mois 1	Mois 2	Mois 3	Mois 4	Mois 5	Mois 6	Mois 7	Mois 8	Mois 9	Mois 10	Mois 11	Mois 12	TOTAL
Apports	210 000												210 000
Emprunts	1 026 000												1 026 000
Subventions	0												0
Autres financements	0												0
Encaissements clients (Ventes)	90 000	90 000	80 000	100 000	100 000	115 000	120 000	135 000	140 000	155 000	168 000	180 000	1 473 000
Encaissements clients (Services)	320 000	240 000	360 000	380 000	200 000	550 000	620 000	800 000	720 000	610 000	570 000	380 000	5 750 000
Chiffre d'affaires	410 000	330 000	440 000	480 000	300 000	665 000	740 000	935 000	860 000	765 000	738 000	560 000	7 223 000
Investissements incorporels	384 000												384 000
Investissements corporels	308 000												308 000
Autres Frais immobilisés	0												0
Immobilisations	692 000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	692 000
Acquisition stocks départ													0
Remboursement capital Emprunt	18 295	18 295	18 295	18 295	18 295	18 295	18 295	18 295	18 295	18 295	18 295	18 295	219 546
Palements fournisseurs	0	90 300	118 400	129 800	83 000	178 650	198 400	249 850	230 600	206 650	200 280	154 600	1 840 530
Charges externes	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	45 800
Impôts et taxes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salaires employés	100 000	110 000	110 000	120 000	120 000	120 000	126 000	130 000	130 000	130 000	134 000	134 000	1 464 000
Charges sociales employés	15 000	16 500	16 500	18 000	18 000	18 000	18 900	19 500	19 500	19 500	20 100	20 100	219 600
Prélèvement dirigeant	0	0	10 000	20 000	30 000	40 000	50 000	50 000	50 000	55 000	55 000	60 000	420 000
Charges sociales dirigeant	0	0	1 000	2 000	3 000	4 000	5 000	5 000	5 000	5 500	5 500	6 000	42 000
Total charges de personnel	115 000	126 500	137 500	160 000	171 000	182 000	199 900	204 500	204 500	210 000	214 600	220 100	2 145 600
Intérêts emprunts	8 550	8 404	8 258	8 110	7 960	7 810	7 658	7 505	7 351	7 195	7 038	6 880	92 718
Total des décaissements	837 662	247 317	286 270	320 022	284 072	390 572	428 070	483 967	464 563	445 957	444 030	403 692	5 036 194
Total des encaissements	1 646 000	330 000	440 000	480 000	300 000	665 000	740 000	935 000	860 000	765 000	738 000	560 000	8 459 000
Solde précédent	0	808 338	891 021	1 044 752	1 204 730	1 220 657	1 495 086	1 807 015	2 258 048	2 653 486	2 972 528	3 266 498	
Solde du mois	808 338	82 683	153 730	159 978	15 928	274 428	311 930	451 033	395 437	319 043	293 970	156 308	
Solde de trésorerie	808 338	891 021	1 044 752	1 204 730	1 220 657	1 495 086	1 807 015	2 258 048	2 653 486	2 972 528	3 266 498	3 422 806	



Sixième thème :

Prototype expérimental



1-Nom et logo de l'entreprise et du produit : Nous avons choisi le nom santé bile avec le logo suivant :



Nous avons développé un prototype pour notre produit, la tisane anticalcul, disponible en boîte et en sachets de thé. Cette première version du produit met en évidence ses principales caractéristiques et fonctionnalités liées à la santé biliaire. Le prototype représente un exemplaire tangible du produit, accompagné de son emballage.

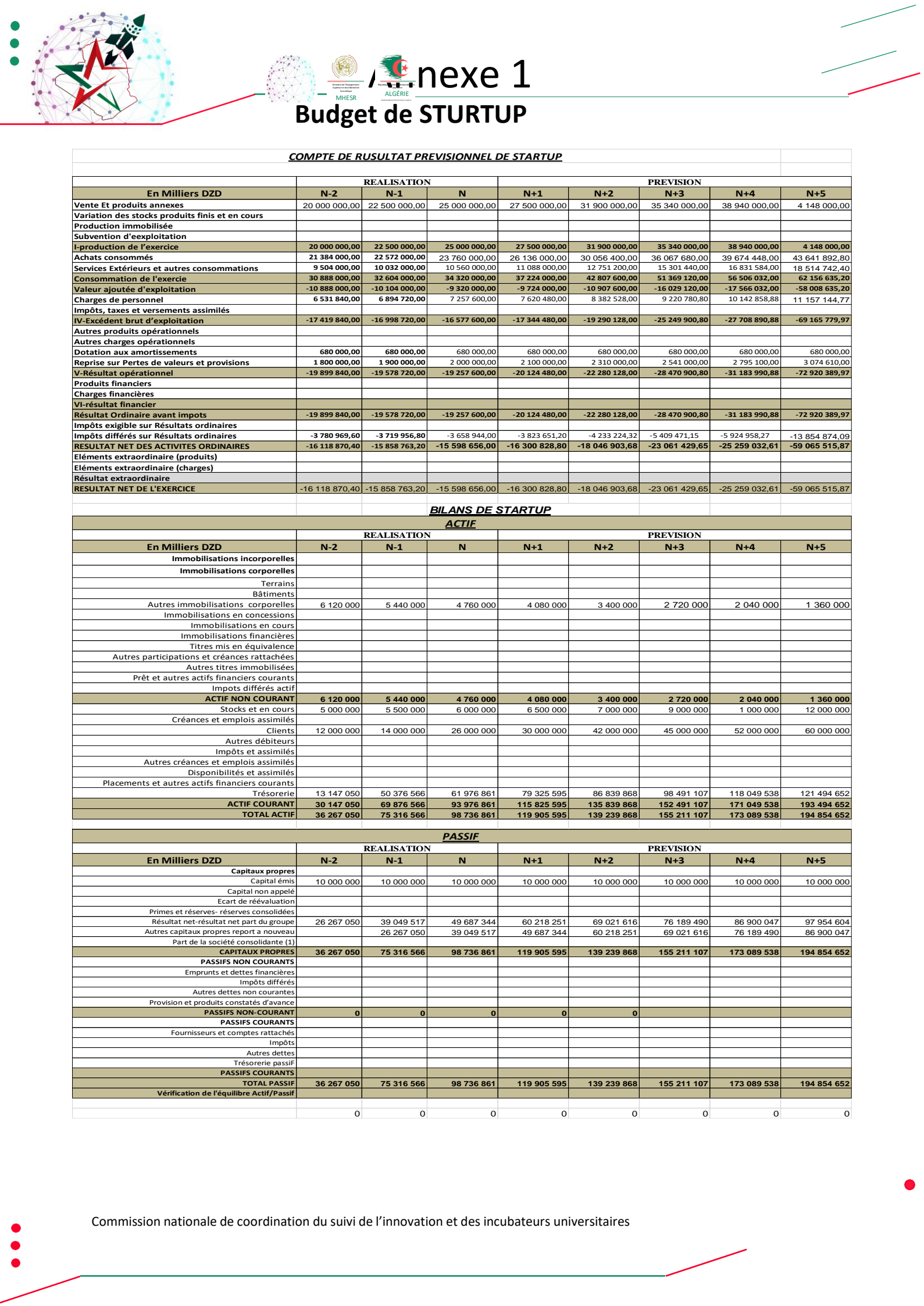
Grâce à ce prototype, nous aurons l'opportunité de tester le produit avant de le produire à grande échelle. Nous prendrons en compte les retours des utilisateurs afin d'améliorer éventuellement certains aspects. Cette étape nous permettra d'optimiser la conception et de nous assurer que le produit final répond aux attentes et aux besoins des consommateurs..





Liste des annexes





les comptes de résultats escomptés:

	REALISATION			PREVISION				
En Milliers DZD	N -2	N -1	N	N+1	N+2	N+3	N+4	N+5
Vente et produits annexes	4117110	5489480	6861850	7223000,00	8814900,00	13222350,00	15866820,00	19833525,00
Variation des stocks produits finis et en cours	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Production immobilisée	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Subvention d'exploitation	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Production de l'exercice	4117110	5489480	6861850	7223000,00	8814900,00	13222350,00	15866820,00	19833525,00
Achats consommés	1122176,1	1496234,8	1870293,5	1968730,00	2409849,00	3614773,50	4337728,20	5422160,25
Services Extérieurs et autres consommations	26106	34808	43510	45800,00	405800,00	405800,00	486960,00	608700,00
Consommation de l'exercice	1148282,1	1531042,8	1913803,5	2014530,00	2815649,00	4020573,50	4824688,20	6030860,25
Valeur ajoutée d'exploitation	2968827,9	3958437,2	4948046,5	5208470,00	5999251,00	9201776,50	11042131,80	13802664,75
Charges de personnel	1222992	1630656	2038320	2145600,00	2360160,00	2832192,00	3398630,40	4248288,00
Impôts et taxes et versement assimilés	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Excédent Brut d'Exploitation	1745835,9	2327781,2	2909726,5	3062870,00	3639091,00	6369584,50	7643501,40	9554376,75
Autres produits opérationnels	0	0	0	0,00	0,00	10000,00	12000,00	15000,00
Autres charges opérationnelles	0	0	0	0,00	0,00	15000,00	18000,00	22500,00
Dotations aux amortissements, Provisions	326040	434720	543400	572000,00	20000,00	20000,00	24000,00	30000,00
Reprise sur pertes de valeurs et provisions	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Résultat opérationnel	1419795,9	1893061,2	2366326,5	2490870,00	3619091,00	6344584,50	7613501,40	9516876,75
Produits Financiers	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Charges financières	52849,48132	70465,97509	88082,46887	92718,39	69729,08	44332,49	53198,99	66498,74
Résultat financier	52849,48132	70465,97509	88082,46887	92718,39	69729,08-	44332,49-	53198,99-	66498,74-
Résultat Ordinaire avant impôt	1472645,381	1963527,175	2454408,969	2583588,39	3549361,92	6300252,01	7560302,41	9450378,01
Impôt exigible sur résultat ordinaire	368161,3453	490881,7938	613602,2422	645897,10	887340,48	1575063,00	1890075,60	2362594,50
Impôt différé (variation) sur résultat ordinaire	0	0	0	0,00	0,00		0,00	0,00
TOTAL DES PRODUITS DES ACTIVITES ORDINAIRES	4117110	5489480	6861850	7223000,00	8814900,00	13232350,00	15878820,00	19848525,00
TOTAL DES CHARGES DES ACTIVITES ORDINAIRES	3118324,927	4157766,569	5197208,211	5470745,49	6152878,56	8507160,99	10208593,19	12760741,49
RESULTA NET DES ACTIVITES ORDINAIRES	998785,0733	1331713,431	1664641,789	1752254,51	2662021,44	4725189,01	5670226,81	7087783,51
Eléments extraordinaire (produits)	0	0	0			0,00	0,00	0,00
Eléments extraordinaire (charges)	0	0	0			0,00	0,00	0,00
Résultat extraordinaire	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
RESULTAT NET DE L'EXERCICE	998785,0733	1331713,431	1664641,789	1752254,51	2662021,44	4725189,01	5670226,81	7087783,51

Budget prévisionnel de trésorerie

Année 1

	Mois 1	Mois 2	Mois 3	Mois 4	Mois 5	Mois 6	Mois 7	Mois 8	Mois 9	Mois 10	Mois 11	Mois 12	TOTAL
Apports	210 000												210 000
Emprunts	1 026 000												1 026 000
Subventions	0												0
Autres financements	0												0
Encaissements clients (Ventes)	90 000	90 000	80 000	100 000	100 000	115 000	120 000	135 000	140 000	155 000	168 000	180 000	1 473 000
Encaissements clients (Services)	320 000	240 000	360 000	380 000	200 000	550 000	620 000	800 000	720 000	610 000	570 000	380 000	5 750 000
Chiffre d'affaires	410 000	330 000	440 000	480 000	300 000	665 000	740 000	935 000	860 000	765 000	738 000	560 000	7 223 000
Investissements incorporels	384 000												384 000
Investissements corporels	308 000												308 000
Autres Frais immobilisés	0												0
Immobilisations	692 000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	692 000
Acquisition stocks départ													0
Remboursement capital Emprunt	18 295	18 295	18 295	18 295	18 295	18 295	18 295	18 295	18 295	18 295	18 295	18 295	219 546
Paiements fournisseurs	0	90 300	118 400	129 800	83 000	178 650	198 400	249 850	230 600	206 650	200 280	154 600	1 840 530
Charges externes	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	45 800
Impôts et taxes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salaires employés	100 000	110 000	110 000	120 000	120 000	120 000	126 000	130 000	130 000	130 000	134 000	134 000	1 464 000
Charges sociales employés	15 000	16 500	16 500	18 000	18 000	18 000	18 900	19 500	19 500	19 500	20 100	20 100	219 600
Prélèvement dirigeant	0	0	10 000	20 000	30 000	40 000	50 000	50 000	50 000	55 000	55 000	60 000	420 000
Charges sociales dirigeant	0	0	1 000	2 000	3 000	4 000	5 000	5 000	5 000	5 500	5 500	6 000	42 000
Total charges de personnel	115 000	126 500	137 500	160 000	171 000	182 000	199 900	204 500	204 500	210 000	214 600	220 100	2 145 600
Intérêts emprunts	8 550	8 404	8 258	8 110	7 960	7 810	7 658	7 505	7 351	7 195	7 038	6 880	92 718
Total des décaissements	837 662	247 317	286 270	320 022	284 072	390 572	428 070	483 967	464 563	445 957	444 030	403 692	5 036 194
Total des encaissements	1 646 000	330 000	440 000	480 000	300 000	665 000	740 000	935 000	860 000	765 000	738 000	560 000	8 459 000
Solde précédent	0	808 338	891 021	1 044 752	1 204 730	1 220 657	1 495 086	1 807 015	2 258 048	2 653 486	2 972 528	3 266 498	
Solde du mois	808 338	82 683	153 730	159 978	15 928	274 428	311 930	451 033	395 437	319 043	293 970	156 308	
Solde de trésorerie	808 338	891 021	1 044 752	1 204 730	1 220 657	1 495 086	1 807 015	2 258 048	2 653 486	2 972 528	3 266 498	3 422 806	

Business Model Canvas

Partenaires clés -Les établissements de thérapie alternative - les pharmacies - les laboratoires de phytothérapie -les para pharmacies	Activités Clés -Récolte et tri de la matière première :les plantes médicinales sauvages (<i>laurus, herniaria</i>) et ciron - pour jus de Citron -Les appariels (industrial citrus juicier , Biextracteur) Matériels d'emballage (sac de tisane ,...)	Propositions de valeur Nos produits à base de plantes médicinales, sont adaptés à tous les groupes d'âge et accessibles à toutes les couches de la société en termes de pouvoir d'achat. Offrir des solutions naturelles sans effets secondaires indésirables pour une utilisation en toute sécurité. Assurer une efficacité équivalente voire supérieure à celle des traitements conventionnels pour les calculs vésiculaires. Intégrer des technologies et des méthodes innovantes dans le développement et la production de produits à base de plantes. Promouvoir le bien-être en utilisant des ingrédients naturels qui respectent le corps et l'environnement.	Relation Client - Fournir des services après-vente -Assistance technique par téléphone, sites de réseaux sociaux, e-mail,	Clients - Les patients souffrant de lithiase - Chaque individu qui souhaite profiter des avantages des plantes.
	Ressources clés -Fermes de citron -Fournisseures des produites chimiques et verreries -Centres de vente de matériel médical - Comptable -Travailleurs spécialisés (laborantines, techniciens, nutritionnistes) -Sociétés de livrison et centre de distribution.		Canaux -Livraison directe et via des Pharmacie -les réseaux sociaux -Avec des distributeurs -revendeurs locaux pour livrer les produits aux clients	
	Coûts La mise en place des équipements, le travail des employés et les autres coûts liés à la production du produit.La fourniture des produits, des équipements et du matériel requis Des moyens financiers pour la promotion, le marketing... les services publics, les coûts administratifs et autres dépenses internes. les évaluations de la qualité de notre produit.		Revenus Les revenus proviennent de la vente directe de notre produit (Tisane anti lithiasique) -Bénéficier des partenariats et des coopérations avec d'autres entreprises dans le domaine de vente des produits naturels	

Commission nationale de coordination du suivi de l'innovation et des incubateurs universitaires

Guide du projet

**Pour obtenir un diplôme/startup
Dans le cadre de l'Arrêté Ministériel 1275**

**Décembre
2022**

