

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Filière : Biochimie Appliquée
Option : Pharmacologie moléculaire



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Evaluation de l'activité
antioxydante et de la toxicité aigue
des alcaloïdes de « *Fumaria
officinalis* »**

Présenté par :

ALITOUCHE Lamia &TAZARART Kaïssa

Soutenu le : **30 MAI 2015**

Devant le jury composé de :

Mme Kadji. H	MCB	Présidente
Mme Abderrahim.S	MAA	Promotrice
Mme Benmessaoud. Y	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la Patience de mener à bien ce modeste travail.

*Nous avons la reconnaissance et la gratitude à remercier notre promotrice **M^{me} Abderrahim**, de nous avoir confié ce thème et de nous avoir orienté et conseillé afin de réaliser ce modeste pat de recherche.*

*Notre grande considération et notre vive reconnaissance, à **M^{me} Benmessaoud** et **M^{me} Kadji**, pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de faire partie de jury, pour évaluer notre travail, en dépit de leurs nombreuses autres obligations.*

Nous remercions également toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

KAISSA ET LAMIA

Dédicace

Je commence par rendre grâce à dieu et sa bonté, pour la patience, la compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade.

Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions je dédie ce travail :

Ma très chère mère tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

A mon cher père rien ne peut exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

Aucune dédicace ne saurait être assez bonne pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accordez santé, longue vie et bonheur.

A mes chères frères MASSINISA et YOUGHARITHEN je vous remercie pour votre gentillesse, dans les moments les plus difficiles. Je vous souhaite une vie prospère plein d'amour et de joie, que la vie ne puisse jamais nous séparer.

A ma très chère sœur THIZIRI que j'aime tant tu es mon éclair de lune chaque jour qui passe je remercie ALLAH de t'avoir dans ma vie je te souhaite tout le bonheur du monde que dieu te protège.

A ma grand mère louiza et mes tantes et ma cousine louiza malgré la distance vos précieux conseils mon toujours été d'un grand secours je vous remercie que dieu vous garde.

A la mémoire de mon ancle Idir que dieu ait son âme et l'accueille dans son vaste paradis.

A toi Lamia , ma chère collègue merci pour tous les moments qu'on a passé ensemble.

A toute la promotion Pharmacologie 2015

Merci pour tous ceux et celles qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre dans ce travail, Je les remercie du fond du cœur.

T. Kaissa

Dédicaces

Prière et bénédictions d'Allah sur le prophète Mohamed, Paix et Salut sur lui, le seau des prophètes, ainsi que ses compagnons, pour nous avoir apporté une religion comme l'Islam.

☞ A mes parents :

Papa, J'ai toujours trouvé auprès de toi, compréhension et soutien. Tes prières et tes conseils ne m'ont jamais fait défaut tout au long de mes études. Trouve à travers ce modeste travail, la récompense de ton affection, de tes sacrifices et de la patience,

Maman, Les mots me manquent pour t'exprimer tout ma reconnaissance. Que tes sacrifices, des peines et tes privations trouvent leur récompense dans l'aboutissement de ce modeste travail qui est aussi le fruit de ta persévérance, de ton courage, de ton amour, tes bénédictions, ta bonne éducation et surtout de ta patience. Je voudrais à travers ce modeste travail, te dire que sans toi je ne serais jamais ce que je suis aujourd'hui et te dire combien je suis fier de l'éducation que tu nous as donnée.

☞ A mes sœurs :

Fatiha, Rafika pour leur amour et leur tendresse.

Et surtout Samia et son mari Abdelhak, qui m'ont toujours encouragé et souhaités la réussite.

☞ A mon frère unique :

Mohamed tu es le meilleur frère sur terre.

☞ A mon meilleur ami :

Habib merci pour ta compréhension.

☞ A tous (es) mes amis (es) pour leur soutien, aide, présence: Siham, Yasmine, Kahina, Sarah, Biba, Djidji, Foufa, Samia, Fili, Mona, Nassim, Amirouch

☞ A toi Kaissa, ma chère collègue merci pour tous les moments qu'on a passé ensemble.

☞ A toute la promotion Pharmacologie 2015

Merci pour tous ceux et celles qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre dans ce travail, Je les remercie du fond du cœur.

Lamia. A

Figure	Titre	Page
Figure 01	Aspect morphologique de <i>Fumaria officinalis</i>	4
Figure 02	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie	11
Figure 03	Mécanismes d'action des antioxydants	13
Figure 04	Structure chimique de La vitamine E	15
Figure 05	Réaction entre l'acide ascorbique et un radical (R•)	15
Figure 06	Structure des caroténoïdes	16
Figure 07	Conditions d'élevage des souris <i>albinos Wistar</i> au sein de l'animalerie de l'Université de Bejaia (Mars-Avril 2015)	19
Figure 08	Photographie de <i>Fumaria officinalis</i> dans la région de la récolte Akbou (originale).	20
Figure 09	Carte géographique de Bejaia avec la région de récolte de <i>Fumaria officinalis</i> (originale)	20
Figure 10	Photographique du séchage de <i>Fumaria officinalis</i> dans l'étuve (Laboratoire de Biologie Végétal et d'Ethnobotanique, Bejaia)	21
Figure 11	Photographie de la poudre végétale de la partie aérienne <i>Fumaria officinalis</i> . (Laboratoire de Biologie Végétal et d'Ethnobotanique, Bejaia)	22
Figure 12	Photographie de tamiseur avec des tamis . (laboratoire de Biologie Végétal et d'Ethnobotanique, Bejaia)	22
Figure 13	Photographie d'extracteur « Soxhlet » au niveau de laboratoire de Biologie Végétal et d'ethnobotanique de la Faculté SNV de Bejaia	23
Figure 14	Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux (AT) de <i>Fumaria officinalis</i> (Suau et al., 2002).	25
Figure 15	protocole d'extraction par fractionnement des alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i> « FN ; FA ; FB » (Farzana, 1997).	26
Figure 16	protocole d'étude de l'activité « Scavenging » de l'ABTS ⁺	27
Figure 17	Protocole d'étude de l'activité « scavenging » du DPPH	28
Figure 18	protocole d'étude du pouvoir réducteur	30
Figure 19	photographie de l'administration des extraits par voie orale	31
Figure 20	Les étapes de prélèvement des différents organes (laboratoire de Biologie Végétal et d'ethnobotanique, Bejaia)	32
Figure 21	Effet scavenger du DPPH des alcaloïdes (AT),(FN),(FA),(FB) de <i>Fumaria officinalis</i> à différentes concentrations	34
Figure 22	Activitéscavenging du radical DPPH des standards à différentes concentration	35
Figure 23	les IC50 des standards et des alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i>	36

Figure 24	Activité scavenging du radical ABTS ^{•+} des différents alcaloïdes de <i>F.officinalis</i> à différentes concentrations.	38
Figure25	Activité scavenging du radical ABTS par l'antioxydant de synthèse (Trolox)à différentes concentration .	38
Figure26	Capacité antioxydant exprimées en équivalent Trolox	40
Figure27	Pouvoir réducteur des différents extraits de <i>F.officinalis</i> et le standard BHA	41
Figure28	les IC50 de standards et des alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i>	42
Figure 29	les effets toxiques des extraits <i>Fumaria officinalis</i> sur le comportement des souris.	44
Figure 30	Variation du poids corporel des souris durant le test de la toxicité aigüe.	46
Figure 31	Evaluation de la quantité de la nourriture consommée durant le test de la toxicité aigüe	47
Figure 32	Évaluation de volume d'eau consommé durant le test de toxicité	48

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Principales caractéristiques des différentes parties de <i>Fumaria officinalis</i>	2
Tableau II	représente les différentes nomenclatures	3
Tableau III	Constituants chimiques principaux	4
Tableau IV	Principaux radicaux libres et leur structure chimique	10
Tableau V	Echelle de la classification des substances toxiques chez les rongeurs	18
Tableau VI	Le rendement en alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i> .	33
Tableau VII	L'effet toxique des l'extraits de <i>Fumaria officinalis</i> sur le comportement des animaux et le taux de mortalité.	43
Tableau VIII	Évaluation du rapport poids d'organe/100 g de poids corporel de toxicité aigüe.	48

- **Abs** : Absorbance
- **ABTS** : Acide **2,2**-azino-bis-**3**ethyl-**B**enzo **T**hiazoline-**6**-Sulfonique
- **ADN**: Acide **d**ésoxyribonucléique
- **AMM** : Autorisation de **M**ise sur le **M**arché
- **AT**: Alcaloïdes **T**otaux
- **BHA**: **B**utyl **H**ydroxy **A**nisol
- **°C**: Degré Celsius
- **DL 50** : Dose **L**étale à **50**%
- **DPPH**: **2,2**-**D**iPhenyl-**1**-**P**icryl **H**ydrazyl
- **ERO**: Espèce **R**éactive de l'**O**xygène
- **FA** : Fraction **A**cide
- **FB** : Fraction **B**asique
- **Fe²⁺**: **F**er ferrique
- **Fe³⁺**: **F**er ferreux
- **FeCl₃**: Chlorure **F**errique
- **FN** : Fraction **N**eutre
- **g**: gramme
- **h**: **H**eure
- **H₂O D**: **E**au **D**istillé
- **H₂O₂** : **P**eroxyde d'**h**ydrogène
- **H O O[•]** : **R**adical hydroperoxyde
- **IC₅₀** : **C**oncentration **I**nhibitrice à 50%
- **K₃Fe(CN)₆** : **F**erricyanure de **P**otassium
- **LDL** : **L**ipoprotéines de **B**asse **D**ensité
- **MeOH** : **M**ethanol
- **Mg** : **M**illigramme
- **ml**: **M**illilitre
- **min**: **M**inute
- **nm** : **n**anometer

- **O 2⁻** : Anion superoxyde
- **OH[·]** : Radical hydroxyle
- **O N O O[·]** : Peroxynitrite
- **PH** : Potentiel hydrogen
- **r.p.m** : Rotation par minute
- **RO[·]** : Radical alkoxyde
- **R O O[·]** : Radical peroxyde
- **SNC** : Système Nerveux Central
- **SNP** : Système Nerveux Périphérique
- **T°** : Température
- **TCA** : Acide Trichloracétique
- **VO** : Voie Orale
- **CNTL** : Controle

- **Antalgique:** Qui calme les douleurs.
- **Anticholinergique:** Un agent anti cholinergiques est une substance appartenant à une classe pharmacologique de composés qui servent à réduire les effets ou l'acétylcholine joue le rôle de médiateur dans le système nerveux central et le système nerveux périphérique.
- **Antioxydant:** Lutte contre le stress oxydatif, protège la cellule d'une oxydation par les radicaux libres et empêche l'altération des composés organiques.
- **Antispasmodique:** Fait baisser la tension et soulage les spasmes musculaires.
- **Antiparkinsonien:** Diminuant les tremblements de la maladie et parkinson.
- **Antipyrétiques :** Substance médicamenteuse contre la fièvre.
- **Conjonctivite:** La conjonctivite est une inflammation de la conjonctive provoquée par un virus (conjonctivite virale), une bactérie (conjonctivite bactérienne), une allergie (conjonctivite allergique) ou encore une irritation.
- **Dépurative:** Qui purifie l'organisme, en favorisant l'élimination des toxines, des déchets organisme.
- **Diurétique:** terme caractérisant de façon générale ce qui augmente la sécrétion urinaire.
- **Eczéma:** maladie chronique allergique ou infectieuse de la peau, caractérisée par des lésions consistant en squames couvertes de boutons séreux provoquant des démangeaisons.
- **Eruptions cutanées:** Les éruptions cutanées se manifestent généralement par des rougeurs, des démangeaisons ou une sensation de brûlure ainsi que par la formation de petites vésicules, de croûtes ou de squames. Si elles apparaissent souvent sur les mains, elles peuvent aussi se former sur pratiquement n'importe quelle partie du corps.
- **Goutte:** Maladie inflammatoire qui touche les articulations.
- **Migraine:** en pathologie élancement aigu et répété qui touche le plus souvent un seul Côté de la tête, accompagnée de nausées.
- **Nausée:** Envie de vomir.
- **Rhumatismes:** l'inflammation des os.
- **Phytothérapie:** Traitement médical par l'emploi de la plantes médicinales comme remèdes.
- **Psoriasis:** Maladie de la peau caractérisée par des plaques rouges.

- **Spasmodique:** Provoque des relâchements des muscles lisses.
- **Toxicité:** Caractère des substances chimiques qui, en contact ou après pénétration dans l'organisme, ont la propriété de causer un dysfonctionnement à l'échelle moléculaire, cellulaire ou organique.
- **Toxicocinétique:** Étude du sort d'une substance toxique dans l'organisme. La quantité de substance qui agit avec l'organisme pour causer un effet néfaste dépend de quatre facteurs biologiques principaux qui sont : l'absorption, la distribution, le métabolisme (ou la biotransformation) et l'excrétion.
- **Virulicides:** Substance capable de détruire les virus.
- **Xénobiotique :** substance possédant des propriétés toxiques même à faible concentration. En toxicologie, substance étrangère au consommateur qui peut causer des troubles plus ou moins importants. Ce sont des polluants, des contaminants et des résidus de produits agrochimiques et vétérinaires.

- **Annuel, elle** : qui revient chaque année.
- **Corolle** : Ensemble de pétale d'une fleur.
- **Cholagogue** : sont des plantes médicinales agissent au niveau du foie comme les plante cholérétique, favorisent aussi l'évaluation de la bille hors de la vésicule biliaire.
- **Dicotylédone** : Plante angiosperme dont la graine dont la graine contient deux cotylédons.
- **Fleur** : Structure reproductrice des angiospermes, une fleur complète comprend le calice, la corolle, l'androcée (étamines) et le gynécée (carpelles) mais toutes les fleurs comprennent au moins une étamine ou un carpelle.
- **Fruit** : Chez les angiospermes, ovaires (ou groupe d'ovaires) arrivé à maturité et contenant les graines, ainsi que toutes les parties contigües qui peuvent y être fusionnées à maturité, parfois appliqué, à tort, lorsqu'on parle de «fructification » aux structures reproductrices d'autres types d'organismes.
- **Glabres** : Se dit d'un organe végétal dépourvu de poils.
- **Ovoïdes** : Qui présente la forme d'un œuf.
- **Pennatiséquées** : Se dit d'une feuille dont le limbe est penné et divisé en segments séparés par des sinus qui atteignent presque la nervure médiane.
- **Pétale** : Pièce florale, généralement bien colorée ; partie de la corolle.
- **Racine** : Axe de la plante, généralement orienté vers le bas et situé dans le sol, servant à la fixation de la plante, ainsi qu'à l'absorption et au transport de l'eau dans celle-ci.
- **Tronqués** : Extrémité de fruit.

Liste des figures**Liste des tableaux****Liste des abréviations**

Introduction	1
---------------------------	----------

Chapitre I: Revue bibliographique

I.1-Présentation de la plante <i>Fumaria officinalis</i>	2
I.1.1-Description botanique de la plante <i>Fumaria officinalis</i>	2
I.1.2-Répartition géographique origine et habitat.....	3
I.1.3-Nomenclature de la plante.....	3
I.1.4-Classification de <i>Fumaria officinalis</i>	4
I.1.5-Composition chimique des parties aériennes fleuries.....	4
I.1.6-Utilisation thérapeutiques des <i>Fumariacees</i>	5
I.1.7-Toxicité de <i>Fumaria officinalis</i>	6
I.1.8- Les alcaloïdes.....	6
I.1.8.1-Définition.....	6
I.1.8.2-Classification des alcaloïdes.....	6
I.1.8.3-Localisation des alcaloïdes chez les plantes.....	7
I.1.8.4-Rôle des alcaloïdes dans la plante.....	7
I.1.8.5-Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes.....	8
I.1.8.6-Les alcaloïdes isoquinoleiques.....	8
I.1.8.7-Les propriétés thérapeutiques des alcaloïdes isoquinoleiques.....	8
I.1.8.8-Toxicité des alcaloïdes isoquinoleiques de <i>Fumaria officinalis</i>	9
I.2-Activités antioxydantes.....	10
I.2.1-Définition des radicaux libres.....	10
I.2.2-Principales sources de production des radicaux libres.....	10
I.2.3-Les espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	11

I.2.4-Conséquences du stress oxydant.....	11
I.2.5-Définition des antioxydants.....	12
I.2.6-Le système de défense contre les radicaux libres ou système antioxydant	13
I.2.6.1-Les antioxydants endogènes ou enzymatiques	14
I.2.6.2-Les antioxydants exogènes ou non enzymatiques.....	14
I.3- Généralités sur la toxicité.....	16
I.3.1-Définition de la toxicité.....	16
I.3.2-Classification.....	17
I.3.2.1-Toxicité aigüe.....	17
I.3.2.2-Toxicité sub-chroniqu.....	17
I.3.2.3-Toxicité chronique.....	17
I.3.3-Organes cibles des toxiques.....	18

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1- Matériels.....	19
II.1.1-Matériel animal	19
II.1.2-Matériel végétal.....	20
II.2-Méthodes.....	20
II.2.1-Préparation du matériel végétal.....	20
II.2.2-Extractions des alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i>	23
II.2.2.1-Principe de l'extracteur « Soxhlet ».....	23
II.2.2.2-Les Protocoles d'extraction des alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i>	25
II.3-Evaluation <i>In vitro</i> de l'activité antioxydant des alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i>	27
II.4-Evaluation <i>In vivo</i> de la toxicité aigüe des alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i>	30
II.4.1-Évaluation de la toxicité aigüe.....	30

II.4.2-Prélèvement des organes.....	32
-------------------------------------	----

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1-Taux d'extraction d'alcaloïdes du <i>Fumaria officinalis</i>	33
III.2-Evaluation de l'activité antioxydant de <i>Fumaria officinalis</i>	34
III.2.1-Effet scavenging du radical DPPH.....	34
III.2.1.1-Détermination des IC50	36
III.2.2-Effet « scavenging » du radical ABTS ⁺	37
III.2.2.1-Capacité antioxydant exprimées en équivalent Trolox (TEAC).....	39
III.2.3-Le pouvoir Réducteur	40
III.2.3.1-Détermination des IC50	42
III.3-Evaluation de la toxicité aigue des alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i>	43
III.3.1-Toxicité aiguë.....	43
III.3.1.1-Observations cliniques et de survie.....	43
III.3.1.2-Évolution pondérale.....	46
III.3.1.3-Evaluation de la quantité de nourriture et le volume d'eau consommées durant la période de la toxicité aigue.....	47
III.3.1.3.1-Évaluation de la quantité de nourriture consommée.....	47
III.3.1.3.2 -Évaluation de volume d'eau consommée.....	48
III.3.1.3.3-La masse relative des organes.....	48
Conclusion	50
Références bibliographiques	51
Annexes	



Introduction

Les plantes ont constitué depuis toujours la source majeure de médicaments grâce à leur richesse en métabolites secondaires. Cependant, l'homme n'a découvert leurs vertus bénéfiques que par une approche progressive (**Fouché *et al.*, 2000**).

Une plante est dite médicinale lorsqu'un de ses organes renferme des substances actives, qui confèrent à cette dernière une activité pharmacologique pouvant conduire à des emplois thérapeutiques très efficaces avec moins d'effets secondaires (**Didier, 2004**).

Du point de vue historique, les chinois sont les premiers à avoir utilisé les plantes comme remèdes thérapeutiques et cela depuis 5000 ans avant J.C (**Garnier *et al.*, 1961**).

Parmi ces plantes on trouve l'espèce *Fumaria officinalis* qui appartient à la famille des *Fumariceae*. Cette dernière est connue pour ces multiples activités biologiques : antioxydantes, antimicrobiennes, diurétiques (**Schnebelen *et al.*, 2008**).

Ses multiples propriétés pharmacologiques sont dues à la richesse de la plante en alcaloïdes qui sont parmi les groupes les plus importants de produits naturels en raison de leurs propriétés biologiques et de leur diversité structurale (**Bruneton, 1999**).

Actuellement, les spécialistes en botanique dénombreaient environ 50 espèces de fumeterre. Elles sont éparpillées à travers le monde, en Afrique comme en Europe, en Asie comme en Australie ou en Amérique (**Poiret *et al.*, 2010**).

A cause de la popularité de l'utilisation traditionnelle de *Fumaria officinalis*, il est important de l'étudier afin de mettre en évidence ses propriétés pharmacologiques et surtout toxicologiques. Pour cette raison, le présent travail consiste :

- ✓ L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'alcaloïdes de *Fumaria officinalis*, par trois méthodes, le piégeage du radical libre DPPH, pouvoir réducteur et l'effet scavenging du radical ABTS⁺.
- ✓ L'intérêt de la plante exige qu'une approche de sa toxicité puisse être entreprise en vue de son adaptation en médecine traditionnelle, c'est pour cela on a réalisé une étude préliminaire de la toxicité aigue des alcaloïdes de *Fumaria officinalis*.

Chapitre I




Revue Bibliographique


I.1-PRESENTATION DE LA PLANTE *FUMARIA OFFICINALIS*

I.1.1-DESCRIPTION BOTANIQUE DE LA PLANTE *FUMARIA OFFICINALIS*

Les *Fumariacées* sont des *Papavéracées* évoluées, forment une famille de 16 genres et 450 espèces, d'herbes annuelles ou vivaces, de hauteur variant de 30 cm à 1m(Bach, 1998). De goûts amers à l'état frais, salé à l'état sec(Jauzein, 1995). Les différentes parties de la plantes sont représentées dans (Tableau I).

Tableau I :Principales caractéristiques des différentes parties de *Fumaria officinalis*.

	Description	Figure
Une tige	Très fragile dressée, de 30 à 70 cm de longueur, souvent couchée, ramifiée et parfois grimpante d'un vert bleuté(Perrot et René; 1995).	
Des feuilles	De forme alternes;couleur gris-vert,pennatiséquées a lobes étroits, glabres, ressemble à une patte de poule (d'où son surnom de pied de geline) (Dubray, 2010).	
Les fruits	petites capsules ovoïdes, mures plus large que long, tronqués, engrainés au sommet (Beloued, 2009).	

Les fleurs	Sont purpurines ou rosées, très irrégulières, sont disposées en grappes assez lâches ou denses sur la partie terminale de la tige, le pétale supérieur prolongé en éperon. Les sépales sont ovales-lancéolés irrégulièrement dentés, plus larges que le pédicelle et plus étroits que la corolle (Goetzet <i>al.</i> , 2009).	
-------------------	---	---

I.1.2-REPARTITION GEOGRAPHIQUE ORIGINE ET HABITAT

Elle est originaire d'Europe et d'Afrique du nord, elle pousse en Asie, en Amérique du nord et en Australie (Schnebelenet *al.*, 2008). Elle se retrouve sur les bords des chemins, les terres incultes et le long des vieux murs, jusqu'à 1500m d'altitude (Goetzet *al.*, 2009).

I.1.3-NOMENCLATURE DE LA PLANTE

Fumaria vient du mot latin « fumus » fumée de terre, la plante semble sortir de la terre comme une fumée, d'où le nom français « fumeterre ».

Cependant d'après « olivier de Serre », ce nom serait dû au fait que le suc de la plante fait pleurer les yeux comme la fumée à cause de ses propriétés lacrymogènes (Tableau II) (Cost, 1937; Dellile, 2007).

Tableau II : représente les différentes nomenclatures (Goetzet *al.*, 2009 ; Dellile, 2007).

La langue	Nomenclature
Kabyle	Zalamit, Tedjoudjaryasghi.
Arabe	Ichikh el kanoun.
Français	fumeterre, herbe à la veuve, fiel de terre, herbe à la jaunisse.
Espagnol	Fumariaoficinal, sangrede Cristo, fumdeterra, palomilla.
Anglais	fumatory, common fumitory.

I.1.4- CLASSIFICATION DE *FUMARIA OFFICINALIS*

(Goetz et al., 2009) (Figure 01).

- Règne : Plantae (plantes).
- Sous-règne : Tracheobionta (plantes vasculaires).
- Superdivision : Spermatophyta (plantes à graines).
- Division : Magnoliophyta (plantes à fleurs).
- Sous division : Angiospermes.
- Classe : Magnoliopsida (dicotyledones).
- Sous classe : Magnoliidae.
- Ordre : Papaverales.
- Famille : *Fumariaceae*.
- Genre : *Fumaria* L.
- Espèce : *Fumaria officinalis* L.



Figure 01: Aspect morphologique de *Fumaria officinalis* (Munné-Bosch et al., 2000)

I.1.5-COMPOSITION CHIMIQUE DES PARTIES AERIENNES FLEURIES

Tableau III: Constituants chimiques principaux (Goetz et al., 2009).

Familles de constituants chimiques	Constituants chimiques
Alcaloïdes	<p>Dérivés de l'isoquinoléine (0,3-1 %) : protopine (= fumarine 0,13 %), cryptopine.</p> <p>Protoberbérines : aurotensine, stylopine, sinactine et N-méthylsinactine.</p> <p>Dérivés de type spirobenzylisoquinoléine: fumaricine, fumaritine, fumariline.</p> <p>Dérivés de type benzophénanthridine : sanguinarine.</p>

	Dérivés de type indenobenzazepine : fumaritridine, fumaritrine, etc
Hétérosides flavoniques	Hétérosides de la quercétine : isoquercitrine, rutine (= rutoside) et le quercitrine-3,7-diglucoside-3-arabinoglucoside.
Acides phénols	Acides caféique, chlorogénique et fumarique. Esters maliques de l'acide cinnamique et de l'acide caféique.
acides organiques	Acides malique, éritique, succinique, lactique, glycolique.
Autres Principes	Principes amers, mucilage, résine, sels de potassium.

I.1.6-UTILISATION THERAPEUTIQUES DES FUMARIACEES

Les effets thérapeutiques de cette plante sont induits par divers composés chimiques (alcaloïde, flavonoïdes, polyphénols, polyterpènes, saponosides, stérols et tanins catéchiques) qu'elle renferme. On utilise la plante entière sans les racines (**Sturm et al., 2006; Rakotondramasy-Rabesiakaet al., 2007; 2008**).

Fumaria officinalis joue un rôle important dans la médecine traditionnelle; elle a été employée pendant des siècles dans plusieurs pays pour le traitement des éruptions cutanées, des conjonctivites et du rhumatisme (**Sturm et al., 2006**).

La fumeterre est un remède populaire employé dans les troubles de type spasmolytique liés au tractus digestif, utilisée également comme cholagogue (**Fintelman et Weiss; 2002**).

La plante est dépurative, diurétique, hypotensive, elle exerce également une action anticholinergique et antihistaminique et utilisée pour des troubles gastro-intestinaux ou d'origine biliaire, troubles du rythme cardiaque, hypertension artérielle, asthme, psoriasis et eczéma (**Schnebelen et al., 2008**), elle permet ainsi de traiter certaines formes de constipation (**Duke et al., 2002; Valnet, 2003**). Elle est aussi indiquée en cas de difficulté respiratoire (**Iserin, 2001**). Chez les femmes enceintes, la fumeterre soigne avec succès les migraines et les nausées provenant d'un mauvais fonctionnement hépatique (**Fintelman et Weiss; 2002**).

I.1.7-TOXICITE DE *FUMARIA OFFICINALIS*

L'utilisation de produits de phytothérapie est rarement signalée spontanément par les malades, bien souvent convaincus de leur innocuité. Pourtant, ces produits peuvent être responsables d'effets indésirables graves (**Bonnet, 2007**).

Si le phytomédicament à base de fumeterre est une poudre de partie aérienne, le dossier d'AMM doit comporter une étude toxicologique allégée. Celle-ci n'est pas nécessaire pour fumeterre sous forme de tisane, d'extrait aqueux ou de teintures. La monographie établie par la commission Européenne précise que la posologie de *Fumaria officinalis* est de 6 g par jour (**Bruneton, 2009**).

Aucune étude documentée de toxicité n'a été rapportée. Cependant, des effets indésirables potentiels peuvent survenir, notamment une augmentation de la pression intraoculaire et un œdème (**Goetz et al., 2009**).

I.1.8- LES ALCALOÏDES

Depuis l'identification du premier alcaloïde qui est la morphine à partir de l'opium en 1806 (**Harborne et al., 1995**) puis la Strychnine (1818), la caféine (1918) (**Bruneton, 1999**), plus de dix mille alcaloïdes ont été isolés des plantes (**Hesse et al., 2002**).

I.1.8.1-DEFINITION

Le terme alcaloïdes il provient de « Alkaly-like » ; alkaly signifiant : soude, like signifiant apparence (**Bruneton, 1987**), Il a été introduit au début du XIX^{ème} siècle par W.Meisner pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, comme les alcalis (de l'arabe alkaly) (**Bruneton, 1999**).

Un alcaloïdes est un métabolite secondaire naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, biosynthétisé à partir des acides aminés, de faible poids moléculaire, de structure chimique complexe plus ou moins doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (**Aniszewski, 2007**).

I.1.8.2-CLASSIFICATION DES ALCALOÏDES

Les alcaloïdes sont généralement classés en 3 groupes, selon leurs structures moléculaires et l'origine de biosynthèse: alcaloïdes vrai, proto alcaloïdes et pseudo alcaloïdes (**Bhat et al., 2005**).

- **alcaloïdes vrais:** dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ce sont des substances douées d'une grande activité biologique, même à faibles doses. Ils apparaissent dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme d'un sel, exemple la strychnine dérivée du tryptophane (**Bhatet al., 2005**).
- **proto alcaloïdes:** sont des alcaloïdes qui ne possèdent pas un atome d'azote intracyclique, ils ont une structure simple (**Guignard, 2000**).
- **Pseudoalcaloïdes:** présentant le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés. Ils s'agissent dans la majorité des cas connus d'alcaloïdes terpéniques: alcaloïdes mono terpéniques et ses quiterpinéques, il existe également des substances azotées hétérocycliques issues du métabolisme de l'acétate: c'est le cas de la conine(**Bruneton, 1999**).

I.1 .8.3-LOCALISATION DES ALCALOÏDES CHEZ LES PLANTES

On trouve les alcaloïdes, en tant que métabolites secondaires, principalement chez les végétaux où ils peuvent se retrouver dans toutes les parties de la plante, ils s'accumulent uniquement dans les écorces, dans les racines, dans les feuilles ou dans les fruits. Dans la pomme de terre, les tubercules comestibles ne contiennent pas d'alcaloïdes, tandis que les parties vertes contiennent la solanine toxique. La partie dans laquelle les alcaloïdes s'accumulent n'est pas forcément celle où ils sont synthétisés. Dans le tabac par exemple, la nicotine est produite dans les racines mais transférée ensuite vers les feuilles où elle est stockée (**Harborne et al., 1995**).

I.1.8.4-ROLE DES ALCALOÏDES DANS LA PLANTE

Le rôle des alcaloïdes dans les plantes est souvent inconnu, et leur importance dans le métabolisme de la plante n'est pas très bien définie. Une plante peut contenir plus de 10% du poids sec (**Guignard, 2000 ; Grycova, 2006**).

Plusieurs alcaloïdes sont très toxiques et offrent par conséquent un arsenal chimique de défense des plantes contre l'attaque des herbivores et également leur goût amer les repousse.

En outre, les alcaloïdes protègent les plantes contre les dommages provoqués par les UV. Ils constituent aussi une réserve de substances capables de fournir l'azote (**Hurabielle et Paris; 1981**).

I.1.8.5-PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES ALCALOIDES

- ❖ La connaissance de la solubilité des alcaloïdes et de leurs sels est d'une importance pharmaceutique considérable(**Bruneton, 2009**).
 - ✓ **En milieu alcalin** : les alcaloïdes sont solubles dans les solvants organiques non polaires (benzène, chloroforme,...) et dans les solvants organiques polaires (alcools) mais insolubles dans l'eau.
 - ✓ **Au contraire en milieu acide** : leurs sels sont insolubles dans les solvants organiques apolaires et solubles dans les solvants organiques polaires et dans l'eau(**Roux et Catier; 2007**).

Les alcaloïdes en milieu aqueux et acide se caractérisent par des réactions de précipitation avec certains réactifs spécifiques appelés « réactifs généraux des alcaloïdes ».

I.1.8.6-LES ALCALOIDES ISOQUENOLEIQUES

Les alcaloïdes isoquinoléiques résultent de la condensation des dérivés de phényléthylamine et de phénylacétaldehyde, leurs précurseurs sont respectivement la phénylalanine et la tyrosine, qui réagissent après décarboxylation avec un autre acide aminé aromatique ou non (**Dewick, 2002**).

I.1.8.7-LES PROPRIETES THERAPEUTIQUES DES ALCALOIDES ISOQUINOLEIQUES

Vu la diversité des alcaloïdes isoquinoléiques, ils possèdent différentes propriétés pharmacologiques (**Moreau, 1948; Chia et al., 2005; Vercautere, 2007**), telles que :

- La papavérine qui est un antispasmodique ;

- Les alcaloïdes isoquinoléiquesmonoterpéniques qui sont des antimicrobiens et virulicides ;
- La noscapine qui est un antitussif ;
- L'oxyacanthine qui est un antioxydant ;
- Les alcaloidesisoquinoleiques du type tropolonique qui sont utilisés dans le traitement des accès aigus de la goutte ;
- Les curares qui agissent sur le système nerveux central comme dépresseurs ;
- L'Apomorphine qui est un antiparkinsonien ;
- La morphine, codéine, thébaine et noscapine qui sont utilisés comme des antalgiques, antipyrétiques, antitussifs et antispasmodiques respectivement.

I.1.8.8-TOXICITE DES ALCALOIDES ISOQUINOLEIQUES DE *FUMARIA OFFICINALIS*

Beaucoup d'alcaloïdes sont connus pour engendrer des effets toxiques. Leur biotoxicité est sélective et dépend des organismes et de leurs structures chimiques.

Les alcaloïdes isoquinoléiques peuvent diffuser passivement dans le milieu intracellulaire, ils sont des inhibiteurs du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale et de l'acétyl-CoA déshydrogénase, ainsi que perturbateurs du métabolisme et du transporteur de la dopamine.

✚ **Protopine** : connue pour ses effets cardiotoxiques. Elle provoque chez la souris de la bradycardie, des contractions irrégulières apparaissent aux fortes doses, elle augmente le nombre des pulsations, sensibilise le cœur aux rythmies ventriculaires provoquées par l'épinéphrine, et comme la papavérine, augmente le flux de l'artère coronaire et la protopineexerce aussi une action puissante sur l'utérus. Elle est douée d'activités stimulantes sur la respiration, muscles triés et lisses, la pression sanguine (**Kerharo et Adam, 1974**).

✚ **Sanguinarine** : Des études ont montrés l'action de la sanguinarine sur la production d'une évaluation aigue de la tension oculaire de la souris, elle est première substance naturelle connue pouvant êtres utilisée comme matériel expérimental pour la production et l'étude du glaucome (**Kerhano et Adam, 1974**).

I.2-L'ACTIVITES ANTI OXYDANTES

I.2.1-DEFINITION DES RADICAUX LIBRES

Les radicaux libres « R° » sont des molécules ou des atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe. Ce sont des espèces chimiques, qui peuvent être formés par la perte ou le gain d'électrons à partir d'un composé non radicalaire. Ils peuvent aussi apparaître au moment de la rupture symétrique d'une liaison covalente après la quelle chaque atome conserve un électron et devient un radical libre (Tableau IV) (**Haliwell et Gutteridge; 2006**).

Tableau IV: Principaux radicaux libres et leur structure chimique (**Haton, 2005**).

Radicaux libres (nomenclature)	Structure chimique
Radical hydroxyle	OH^\bullet
Radical hydroperoxyde	H O O^\bullet
Radical peroxyde	R O O^\bullet
Radical alkoxyde	RO^\bullet
Peroxyde d'hydrogène	$\text{H}_2 \text{O}_2$
Peroxynitrite	O N O O^\bullet
Anion superoxyde	$\text{O}_2^{\bullet -}$

I.2.2.PRINCIPALES SOURCES DE PRODUCTION DES RADICAUX LIBRES

- **Sources endogènes :** les radicaux libres peuvent être produit en majorité, au niveau des chaînes respiratoires mitochondriales des cellules des organismes aérobies, cellules phagocytaires.
- **Sources exogènes :** produit par les radiations (rayons X, lumière UV), polluants de l'air (N, NO₂), solvants organiques, pesticides, xénobiotiques ... etc (**Barouki, 2006**).

I.2.3-LES ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE (ERO)

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) peuvent être le produit de réaction impliquant l' O_2 et les ions métalliques (en particulier les flavoprotéines et surtout les oxydases). Ou bien être les produits de réaction physiologique, ils proviennent surtout de la chaîne respiratoire (Figure 02) (Puy, 2012).

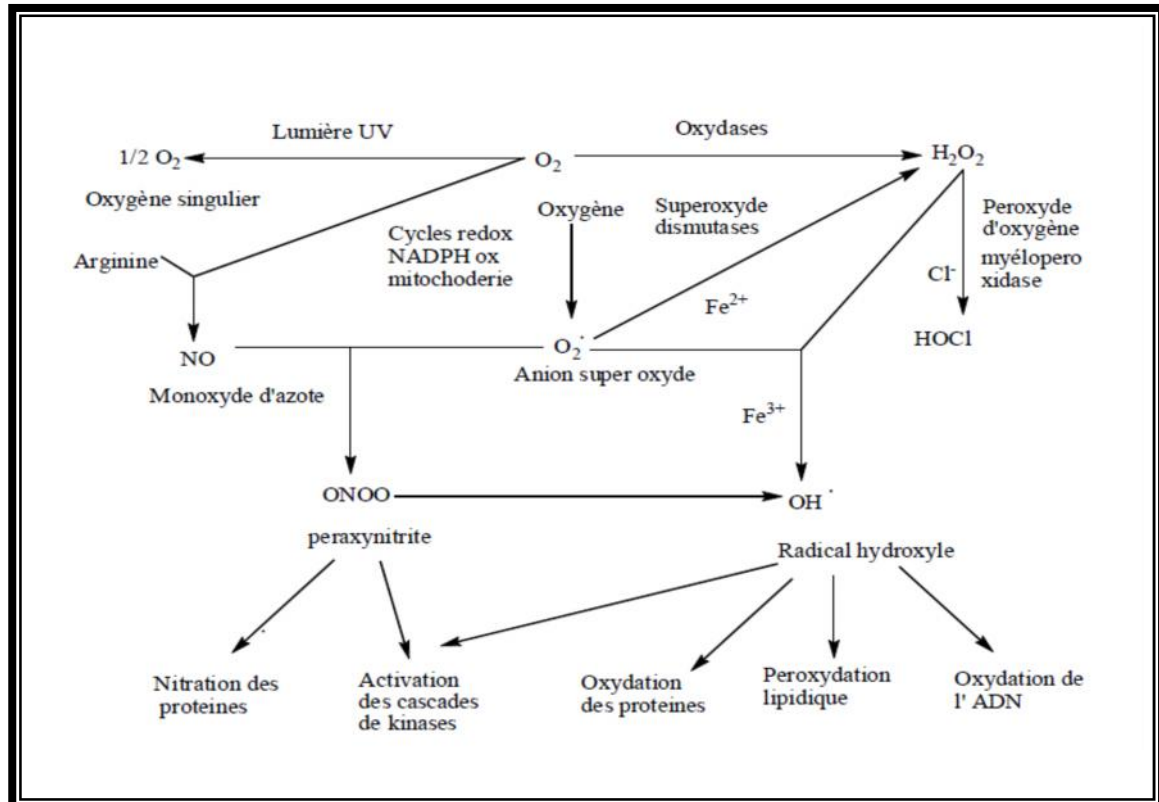


Figure 02 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Mohammedi, 2005).

I.2.4-CONSEQUENCES DU STRESS OXYDANT

La surproduction des espèces réactives oxygènes (ERO) et/ou la faible activité des antioxydants entraîne un stress oxydatif qui est responsable de plusieurs dommages sur toutes les molécules biologiques comme les lipides, les protéines, les acides nucléiques, ou les hydrates de carbone (Favier, 2003) :

- **Au niveau de l'ADN :** les radicaux libres peuvent induire des effets oxydatifs et mutagènes ou un arrêt des réplifications. Ils agissent en provoquant des altérations de bases azotées, des pontages ADN-protéines ou des ruptures de brins (**Shimizu, 2004**).
- **Au niveau des lipides :** les lipides sont une cible privilégiée des radicaux libres. Ceux-ci provoquent en effet l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) des phospholipides membranaires (principaux constituants des membranes des cellules), mais aussi des organites cellulaires et des noyaux. Ce phénomène est appelé peroxydation lipidique ou lipo-péroxydation aboutissant à la formation de LDL (Lowdensitylipoprotein) oxydées qui sont captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (**Favier, 2003**).
- **Au niveau des macromolécules :** Les radicaux libres peuvent aussi agir sur les macromolécules en provoquant des inactivations enzymatiques, des fragmentations de ces molécules (collagène, protéoglycannes, acide hyaluronique) et la formation de dimères ou d'agrégats protéiques dans les membranes cytoplasmiques (**Shimizu, 2004**).

I.2.5-DEFINITION DES ANTIOXYDANTS

Dés le début du XX^{ème} siècle, l'industrie s'est intéressé de près aux antioxydants ou « antioxygène » (**Defraigne et Princemail; 2007**). Un antioxydant est défini comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (**Shimizu, 2004**).

Ils agissent en formant des produits finis non radicaux, d'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras, tandis que d'autres antioxydants

absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur. En même temps, les anti oxydants arrêtent la réaction, la plupart du temps parce que la structure des antioxydants est relativement stable (Haton, 2005).

I.2.6-LE SYSTEME DE DEFENSE CONTRE LES RADICAUX LIBRES LE SYSTEME ANTIOXYDANT

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées. Chaque molécules anti-oxydantes ne peut réagir qu'avec un seul radical libre, et par conséquent, il faut constamment refaire le plan de ressources anti-oxydantes (Kritina et Marika; 2002).

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction des ERO. Ces systèmes peuvent être exogènes ou endogènes et sont réagis en synergie afin de protéger les cellules vis-à-vis des ERO (Figure 03) (Rahman, 2007).

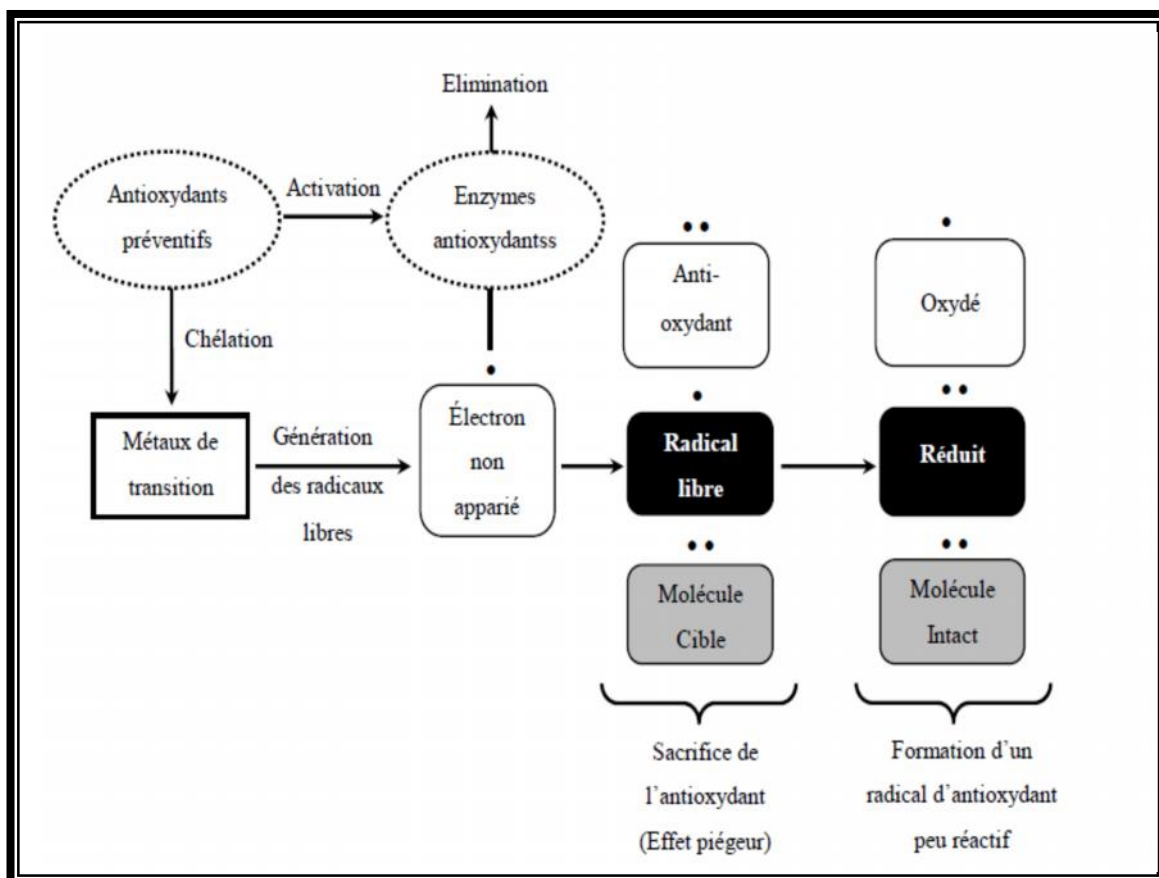


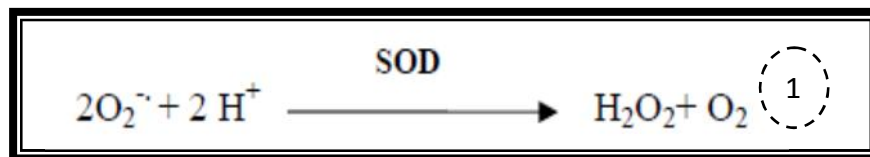
Figure 03: Mécanismes d'action des antioxydants (Kalam *et al.*, 2012).

I.2.6.1-Les antioxydants endogènes ou enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont des systèmes de défense primaire constitués d'enzymes telles que la superoxyde-dismutase, la catalase et la glutathion-peroxydase (**Pincemait al.,2004**).

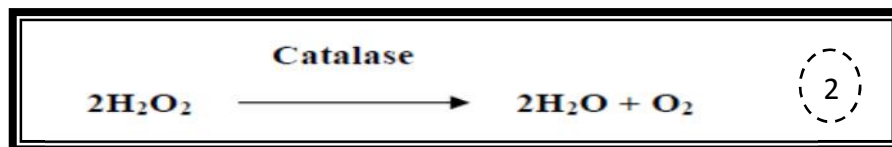
❖ Superoxydes-dismutases (SOD)

Ce sont des métalloenzymes(**Nicholls, 2012**) qui catalysent la dismutation de l'anion superoxyde (O_2^-) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en oxygène (O_2) réaction (1) (**Pariharet al.,2008**).



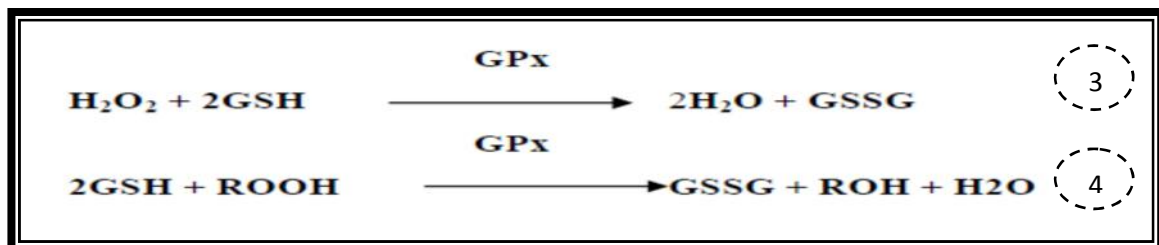
❖ Les catalases

Les catalases sont la classe d'enzymes qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène(H_2O_2) en eau (H_2O) et en oxygène gazeux (O_2) réaction (2) (**Nicholls, 2012**).



❖ La glutathions peroxydases (Gpx)

La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme dépendante dont le cofacteur est le glutathion (**Laguerre et al.,2007**). La GPx fait partie d'un système complet qui joue un rôle central dans le mécanisme d'élimination du H_2O_2 , elle prend aussi en charge des lipidesperoxydés (**Servais, 2004; Valkoet al.,2006**), Selon les réactions 3 et 4:



I.2.6.2-Les antioxydants exogènes ou non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques sont des systèmes de défense secondaires (**Ramonatxo, 2006**) tels que la vitamine E et les caroténoïdes (**Afonso et al., 2007**), à ceux

là s'ajoutent quelques oligo-éléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs importants pour l'activité de certaines enzymes antioxydantes (Pincemail et Defraigne; 2004).

- Les vitamines

- La vitamine E ou l' α -tocophérol (vit E)

Le rôle essentiel de la vitamine E (figure 05) est de capter les radicaux peroxydes lipidiques RO_2^\bullet qui propagent les chaînes de peroxydation. La partie active de la molécule étant la fonction phénol réductrice ($-TH$), celle-ci perd facilement un atome d'hydrogène et se transforme en radical α -tocophéryle, $\alpha-T^\bullet$, tandis que le radical peroxyde est réduit en une molécule d'hydroperoxyde réaction (4). De plus, l' α -tocophérol capte les radicaux superoxydes (sous leur forme protonée HO_2^\bullet), les radicaux hydroxyles OH^\bullet , ainsi que l'oxygène singulet 1O_2 (Albert *et al.*, 2003).

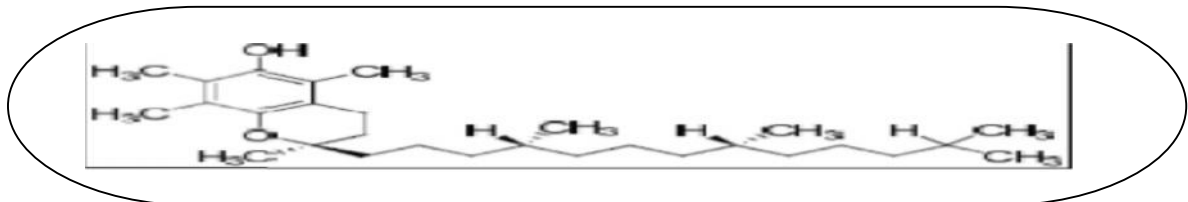
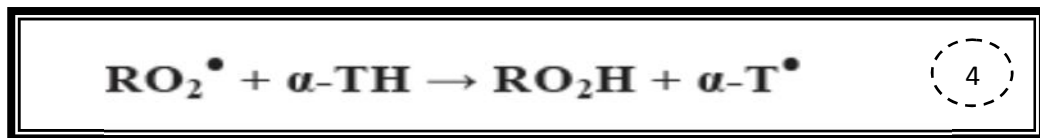


Figure 04: Structure chimique de La vitamine E (Cuvelier *et al.*, 2003).

- La vitamine C

La vitamine C possède une activité antioxydante par sa capacité à piéger le radical peroxyde (ROO^\bullet), en oxydant l'acide ascorbique en acide déhydroascorbique, ou enfin par réduction du radical tocophéryle (figure 06) (Zazzo, 2002).

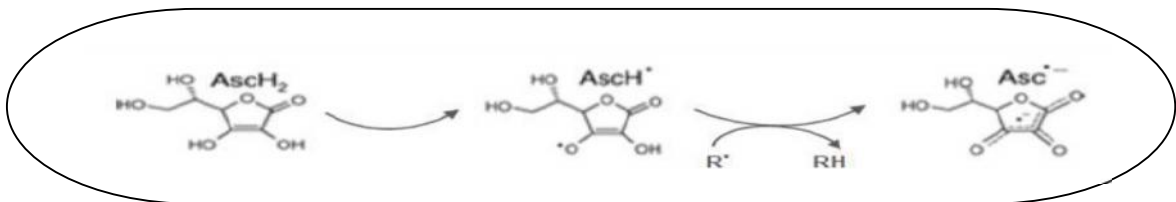
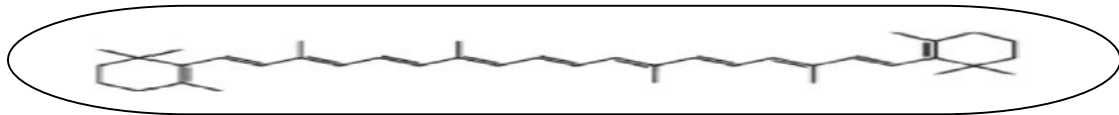


Figure 05: Réaction entre l'acide ascorbique et un radical (R^\bullet) (Valko *et al.*, 2006).

➤ Les caroténoïdes (la provitamine A)

Les caroténoïdes possèdent dans leur structure chimique de très nombreuses doubles liaisons conjuguées qui sont responsables de leur activité anti-oxydante (Figure 07). Ils sont susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique. En outre, le β -carotène est la molécule la plus connue comme étant un puissant désactivateur de l'oxygène singlet ($^1\text{O}_2$) (réaction 5) (Pincemilet *al.*, 1998; Laguerre, 2007).



β Carotène

Figure 06 : Structure des caroténoïdes (Laguerre, 2007).

- Les oligoéléments

Ils jouant le rôle d'antioxydants endogènes (Forceville *et al.*, 2008) sont des matériaux présents en faible quantité dans un organisme, et sont utiles à son fonctionnement, en raison de leur implication effective dans des réactions biochimiques ou physico-chimiques (Khaled *et al.*, 1997).

I.3- GENERALITES SUR LA TOXICITE

I.3.1-DEFINITION DE LA TOXICITE

Traditionnellement, on qualifie de toxique un composé qui peut être nuisible à la santé des organismes vivants, en particulier à celle des hommes. L'effet d'un toxique dépend toujours de l'espèce et de la dose. Selon leur origine, on distingue les toxiques synthétiques et les toxiques naturels (toxines) provenant des microorganismes, des plantes ou des animaux (Reichil, 2004).

I.3.2-CLASSIFICATION

Selon la fréquence et la durée de l'exposition ou l'administration du toxique, on peut distinguer plusieurs formes de toxicité :

- la toxicité aiguë
- la toxicité à court terme (subaiguë ou sub-chronique)
- la toxicité à long terme (ou chronique) (**Viala et Botta, 2005**).

I.3.2.1-Toxicité aiguë

La toxicité aiguë englobe tous les phénomènes spécifiques et les signes adverses, qui se manifestent juste après l'exposition de l'organisme à une prise unique ou plusieurs prises très rapprochées d'un agent chimique. L'effet toxique aigu est généralement considéré comme un effet qui se produit immédiatement ou dans les premiers jours après l'exposition (**LeBlanc, 2010**).

I.3.2.2-Toxicité sub-chronique

Lors de la toxicité sub-chronique, le xénobiotique est administré plusieurs fois pendant une période plus longue, de 28 aux 90 jours. On cherche à définir les organes et les fonctions touchées par ce toxique. Pour une dose déterminée l'effet attendu peut manifester immédiatement ou avec retard (**Claverie et Hedde., 2008**).

I.3.2.3-Toxicité chronique

La toxicité chronique est définie comme étant la mise en évidence d'effets toxiques près l'administration répétée d'une dose de la substance à tester, pendant une période de temps longue, supérieure à 90 jours (**Boukeloua, 2009**).

Cependant, la DL50 a une valeur très limitée, car il ne concerne que la mortalité et ne donne aucune information sur les mécanismes en jeu et la nature des lésions. Il s'agit d'une appréciation grossière et préliminaire (première analyse) qui peut être influencée par plusieurs facteurs tels que l'espèce animale, le sexe, l'âge, le moment de traitement, etc (Tableau V) (**Lapointe, 2004**).

Tableau V :Echelle de la classification des substances toxiques chez les rongeurs selon(Hodge et Sterner, 1949).

DL50 Orale	Indice de toxicité
Jusqu'à 1mg/kg	extrêmement toxique
1 à 50mg/kg	hautement toxique
50 à 500mg/kg	modérément toxique
500 à 5000mg/kg	légèrement toxique
5000 à 15000mg/kg	presque pas toxique
Plus de 15000mg/kg	relativement inoffensif

I.3.3-ORGANES CIBLES DES TOXIQUES

Un toxique n'affecte pas tous les organes avec la même intensité. Ils agissent plus spécifiquement sur certains organes (organes cibles) du fait d'une très grande sensibilité de ces organes ou d'une concentration plus élevée de la molécule inchangée et/ou de ses métabolites à leur niveau.

Le foie et les reins, qui ont des fonctions métaboliques et excrétoires plus importantes et bénéficient d'une très large irrigation sanguine, sont particulièrement exposés aux toxiques. Les substances capables de traverser la barrière hémato-encéphalique peuvent exercer leur toxicité au niveau de système nerveux. Ainsi, le système respiratoire constitue un organe cible pour les toxiques gazeux ou volatiles (Viala et Botta, 2005).



Chapitre II

Matériels et méthodes

II.1-MATERIELS

Le matériel expérimental et les réactifs utilisés durant le présent travail pratique sont reportés en (Annexe I)

II.1.1-MATERIEL ANIMAL

Pour évaluer la toxicité *In vivo* des extraits de la partie aeriene de *Fumaria officinalis*, des souris femelles de l'espèce *albinos Wistar* (Figure 08), ayant un poids variant entre 20 - 25g avec une moyenne d'âge de 8 semaine ont été employées pour l'étude. Ces animaux proviennent des centres d'élevage de l'institut Pasteur d'Alger.

- **Condition d'élevage des animaux**

Les animaux ont été logés dans des cages standards inoxydables, ont été disposé d'eau du robinet et l'aliment à bouchon, la litière est renouvelée 3 fois par semaine.

Les animaux sont acclimatés aux conditions de l'animalerie de Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université d'A. Mira de Bejaia à la température ambiante (20-27)°C. Pendant une quinzaine de jours avant l'expérimentation.



Figure 07 : Conditions d'élevage des souris *albinos Wistar* au sein de l'animalerie de l'Université de Bejaia (Mars-Avril, 2015).

II.1.1-MATERIEL VEGETAL

Cette étude a été réalisée sur la partie aérienne fleurie d'une plante fumariacées d'une espèce de *Fumaria officinalis* appelée localement « Zalamit ou Tijujar-yesghi ».



Figure 08: Photographie de *Fumaria officinalis* dans la région de la récolte Akbou (originale).

II.2-METHODES

II.2.1-Préparation du matériel végétal

❖ Récolte

Le matériel végétal a été récolté dans la région rurale: Akbou (EL- HAMMAM) dans la wilaya de Bejaïa, durant la période de floraison et de fructification (Mars-Avril 2015).



Figure 09 : Carte géographique de Bejaïa avec la région de récolte de *Fumaria officinalis* (originale)

❖ Identification de la plante

L'identification de notre plante a été effectuée, au niveau du laboratoire de physiologie végétale et d'écologie, de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, de l'Université de Bejaïa, et en utilisant la flore des plantes Algériennes (Quezel et Santa, 1962).

❖ Lavage

Après avoir identifié que l'espèce récoltée est de *Fumaria officinalis*, cette dernière a été bien nettoyée « on a enlevé toutes les racines et on a laissé juste la partie aérienne fleurie », puis lavée avec de l'eau afin de se débarrasser de toute poussière et d'autres contaminants.

❖ Séchage

Une fois la plante a été bien nettoyée, l'échantillon a été séché à l'étuve à une T° de 40°C pendant une période de 8 jours jusqu'à stabilisation de leur poids afin d'obtenir une meilleure extraction.



Figure 10: Photographique du séchage de *Fumaria officinalis* dans l'étuve (Laboratoire de Biologie Végétal et d'Ethnobotanique, Bejaia)

❖ Broyage

Le produit obtenu par le séchage est réduit en poudre de couleur vert grâce à un broyeur électrique.

La poudre ensuite conservé dans une boîte en verre couverte avec du papier aluminium à l'abri de la lumière pour éviter la photo oxydation des substances actives présentes dans la poudre.

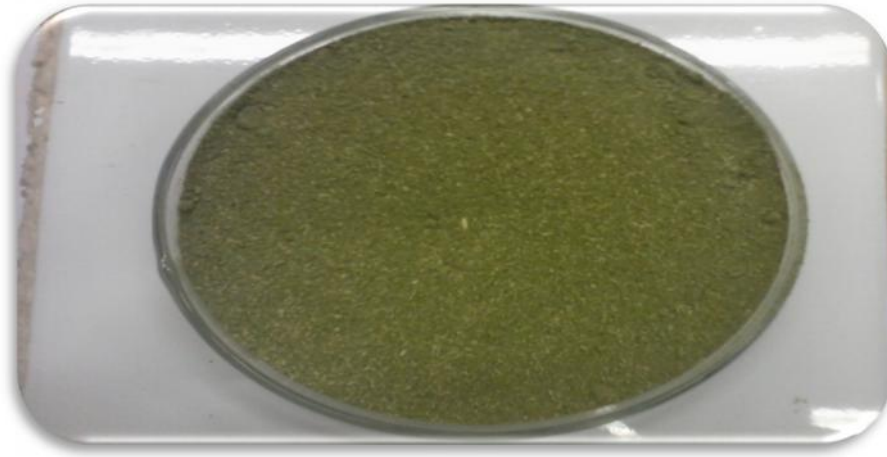


Figure 11 : Photographie de la poudre végétale de la partie aérienne *Fumaria officinalis*.
(Laboratoire de Biologie Végétal et d'Ethnobotanique, Bejaia)

❖ Tamisage

La poudre ainsi obtenues après broyage est tamisées par un tamiseur sur des tamis de diamètre de 250 μ m pour avoir une poudre homogène prête à l'extraction.

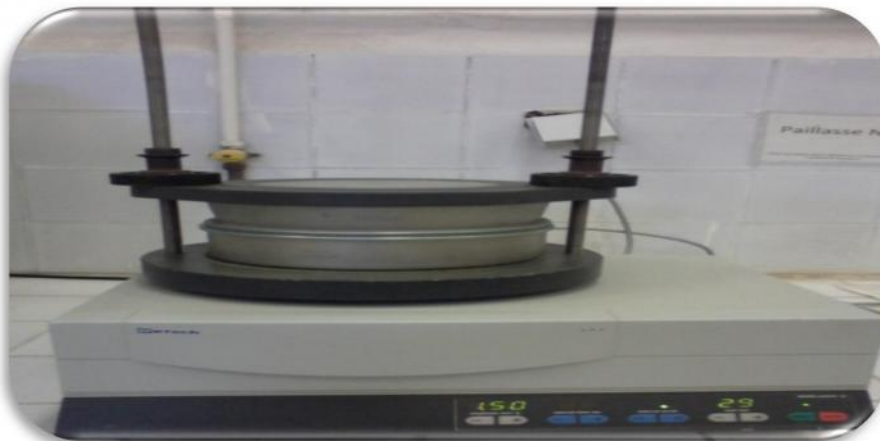


Figure 12: Photographie de tamiseur avec des tamis . (laboratoire de Biologie Végétal et d'Ethnobotanique, Bejaia)

II.2.2-EXTRACTIONS DES ALCALOÏDES DE *FUMARIA OFFICINALIS*

Pour l'extraction des alcaloïdes à partir de *Fumaria officinalis* on a utilisé un extracteur qui s'appel soxhlet (Figure 13).

II.2.1.1- Principe de l'extracteur « Soxhlet »

L'extracteur de « Soxhlet » permet le traitement de (solides) (matériel végétal) en plus grande quantité que la macération, avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés. Le corps de l'extracteur, contient une cartouche en cellulose remplie de matériel végétal. Cette cartouche est fixée sur un réservoir de solvant (ballon) et est surmontée d'un réfrigérant.

Le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec le matériel végétal. La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction et le matériel végétal est toujours en contact avec du solvant fraîchement distillé. L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient de plus en plus clair (Lagnika, 2005).

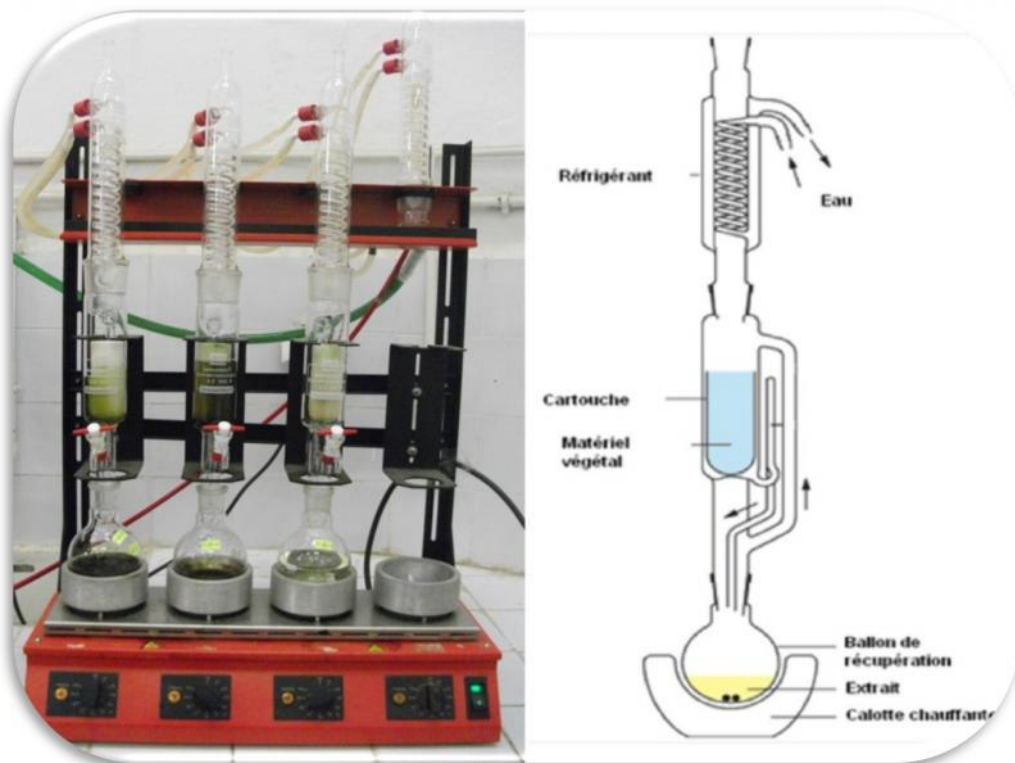


Figure 13: Photographie d'extracteur « Soxhlet » au niveau de laboratoire de Biologie Végétal et d'Ethnobotanique de la Faculté SNV de Bejaia.

II.2.2.2-LES PROTOCOLES D'EXTRACTION DES ALCALOÏDES DE *FUMARIA OFFICINALIS*

Pour pouvoir extraire les alcaloïdes à partir de notre plante *Fumaria officinalis*, deux protocoles d'extraction ont été utilisés par « soxhlet » celui de (Suau *et al.*, 2002 ; et Farzana, 1997)

❖ **L'extraction des alcaloïdes de *Fumaria officinalis* (AT) selon le protocole, Suau *et al.*, 2002.**

La partie aérienne de la plante (30g) a été séchée à l'étuve (au-dessous de 40°C), extraite avec de l'éthanol (300ml) dans un extracteur de soxhlet pendant une semaine, évaporée dans l'étuve. L'extrait obtenu est évaporé par la suite sous vide jusqu'à l'obtention d'un extrait sec qui a été délipidé avec (150ml) d'éther diéthylique puis solubilisé dans (150ml) d'eau distillée acidifiée avec de l'acide acétique jusqu'à pH=2.5, laissée décanter pendant (48h); puis la phase aqueuse a été récupérée pour lui ajouter de l'ammoniac jusqu'à pH= 8 et du dichlorométhane (150ml), après décantation pendant (48h). L'extrait a été récupéré dans des boites de pétries puis séché dans l'étuve pour obtenir des extraits d'alcaloïdes totaux (AT) (Suau *et al.*, 2002) (Figure14).

❖ **L'extraction par fractionnement des alcaloïdes de *Fumaria Officinalis* selon le protocole de Farzana, 1997.**

Le fractionnement des alcaloïdes est réalisé selon la méthode de Farzana 1997. La poudre végétale (30g) est extraite dans l'éthanol à l'appareil de soxhelt, l'extrait obtenu à été évaporé par la suite sous vide jusqu'à l'obtention d'un extrait sec qui a été délipidé avec l'éther diéthylique puis solubilisé dans l'eau distillée, après décantation, la phase aqueuse récupérée est solubilisé dans le chloroforme, après décantation la phase chloroformique qui constitue la fraction neutre (FN), la phase aqueuse récupérée par la suite est acidifiée avec de l'acide acétique jusqu'à pH=2,5 puis solubilisée dans le chloroforme, après décantation la phase chloroformique constitue la fraction acide (FA), la phase aqueuse subit une alcalinisation avec de l'ammoniaque jusqu'à pH= 8 puis solubilisée dans le chloroforme pour l'obtention de la fraction basique (FB) (Figure15).

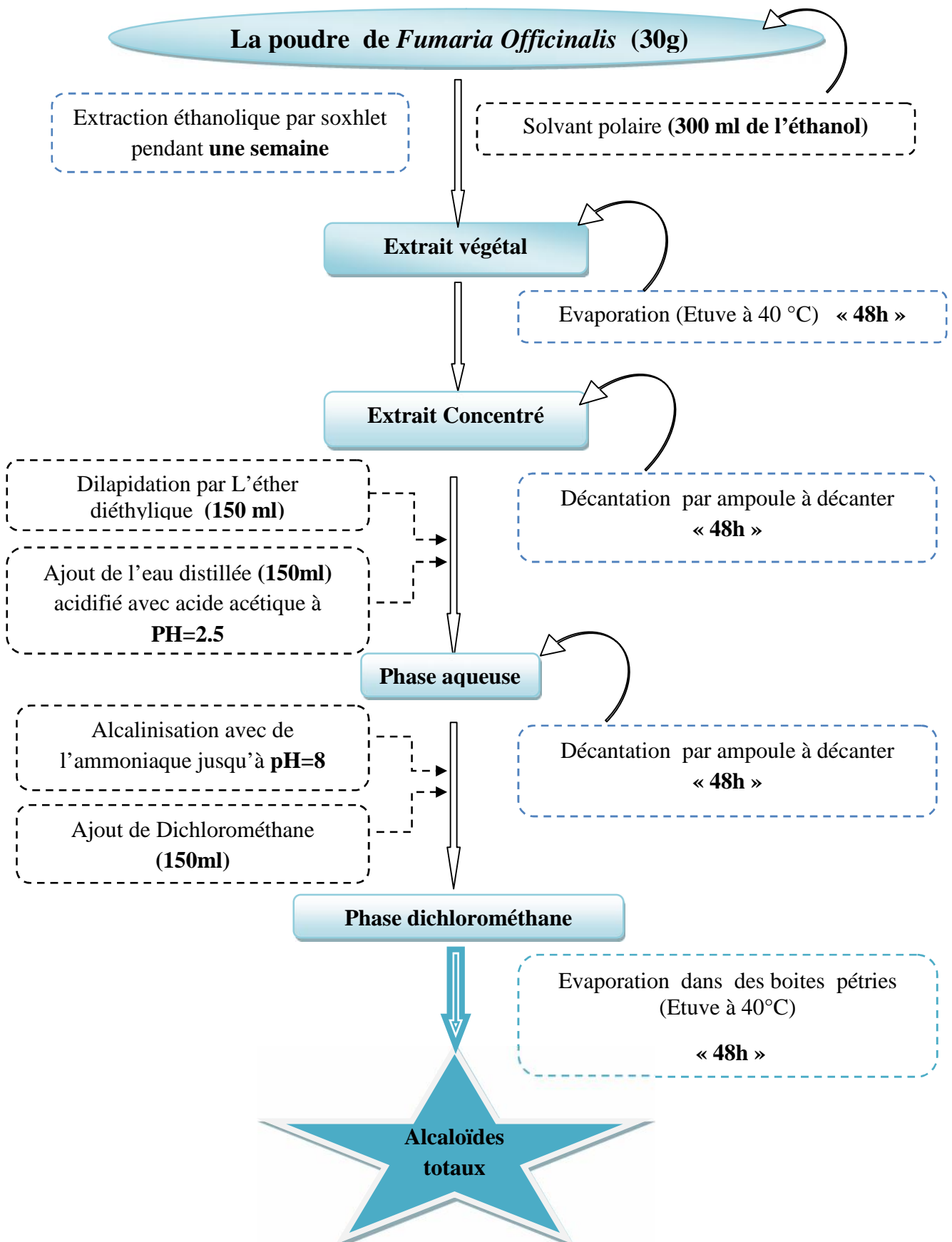


Figure 14: Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux (AT) de *Fumaria officinalis*

(Suau *et al.*, 2002).

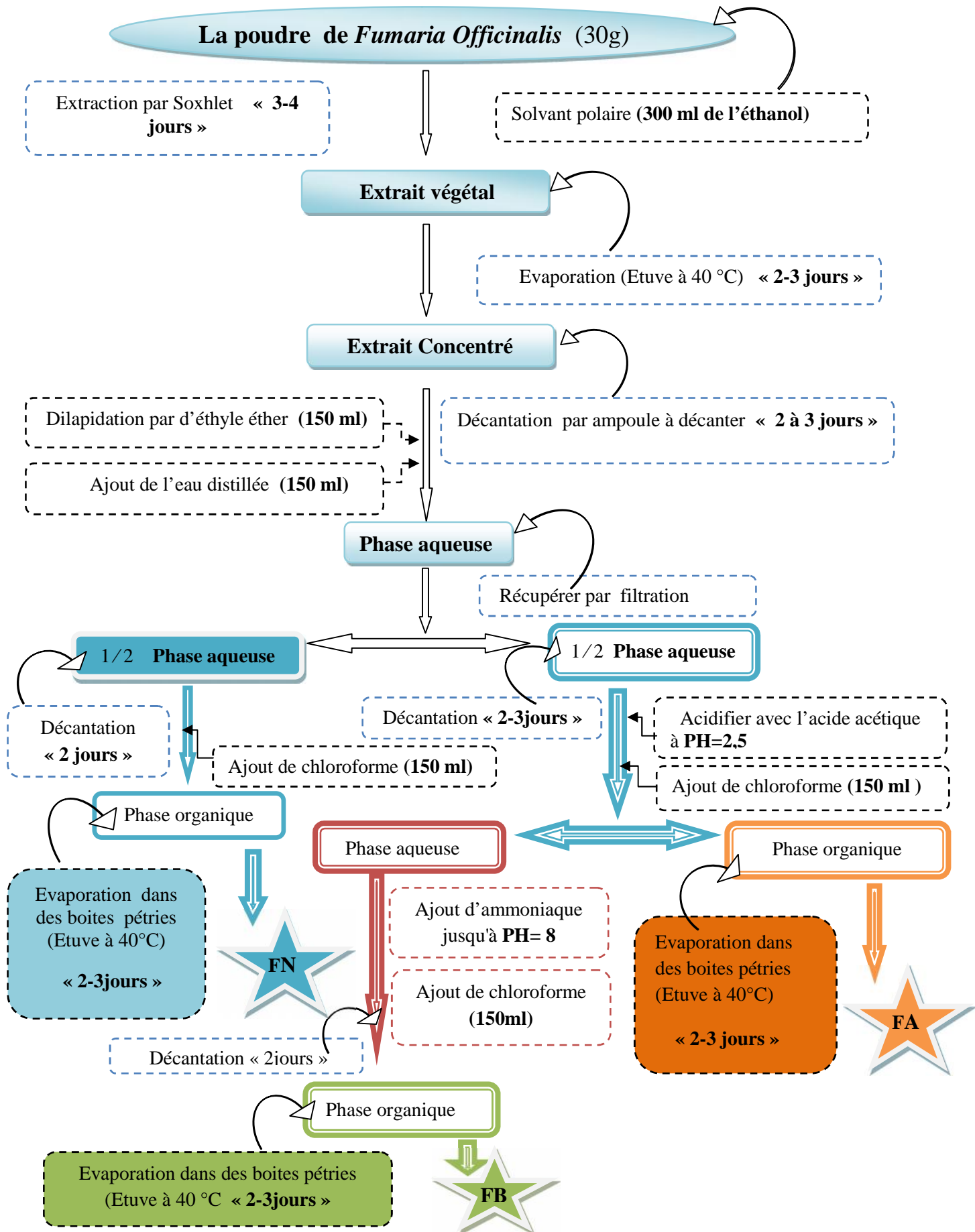


Figure 15: protocole d'extraction par fractionnement des alcaloïdes de *Fumaria officinalis* « FN ; FA ; FB » (Farzana, 1997).

II.3-EVALUATION *IN VITRO* DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DE *FUMARIA OFFICINALIS*

1-Test de réduction du radical-cation ABTS^{•+}

❖ Principe :

Ce test est basé sur le mécanisme d'oxydoréduction de ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)), Au cours de ce test, le sel d'ABTS perd un électron pour former un radical cation (ABTS^{•+}) de couleur sombre (vert bleu) en solution. En présence de l'agent antioxydant, le radical ainsi formé est réduit pour donner le cation ABTS⁺, ce qui entraîne la décoloration.

❖ Mode opératoire

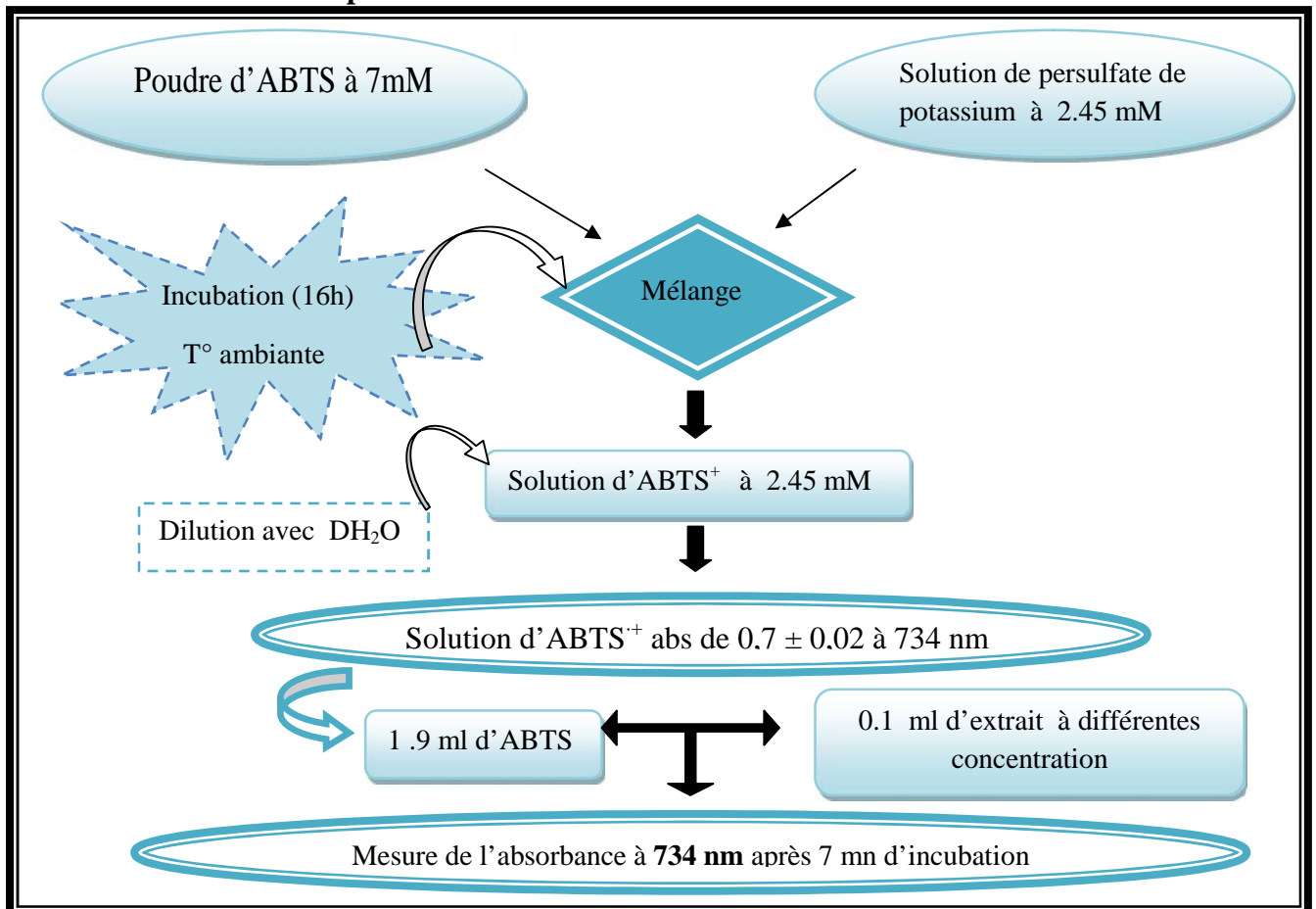


Figure 16: protocole d'étude de l'activité « Scavenging » de l'ABTS^{•+} (Le *et al.*, 2007).

Le pourcentage de réduction du radical $ABTS^{•+}$ est donné par l'équation suivante :

$$\% \text{ Scavenging du radical } ABTS^{•+} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A_0 : Absorbance du control (sans extrait).

A_1 : Absorbance du test (avec extrait ou standard).

2- Test au Diphényle picryl-hydrazyle (DPPH)

❖ Principe

Le Diphényle picryl-hydrazyle « DPPH » est un radical libre stable, de couleur violet en solution présentant une absorbance caractéristique à **517 nm**. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényl picryl-hydrazine de couleur jaune par un composé à propriété anti radicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons). On peut résumer la réaction sous forme de l'équation suivante :



Où (AH) n représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (**violet**) pour le transformer en Diphényle picryl hydrazine (**jaune**). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à **517 nm** (Popovici et al., 2009).

❖ Mode opératoire

Le protocole expérimental utilisé est celui de (Hemalatha et al., (2010)) (Figure 17).

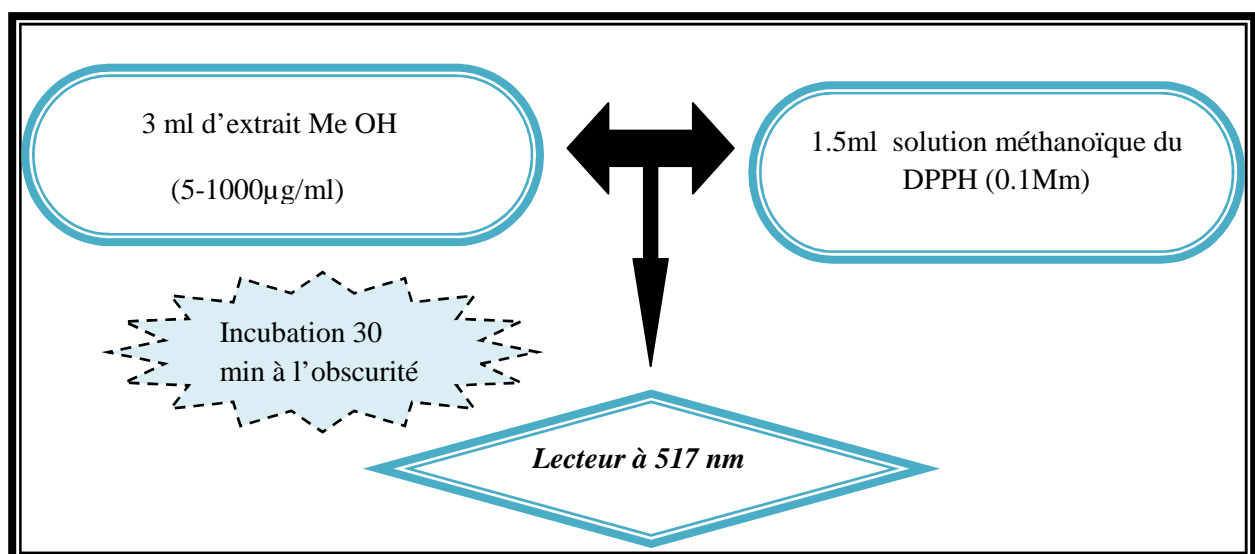


Figure 17: Protocole d'étude de l'activité « scavenging » du DPPH (Hemalatha et al., (2010))

Remarque

- Une quantité égale de méthanol et de DPPH à servi comme contrôle.
- Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour l'acide ascorbique et la BHA pris comme antioxydants standards.

✓ L'activité anti radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité anti-radicalaire DPPH} = [(A_C - (A_T - A_B)) / A_C] \times 100$$

- A_T : absorbance du test (extrait + DPPH)
- A_C : absorbance du contrôle (DPPH + méthanol)
- A_B : absorbance du blanc (extrait + méthanol)

Dans ce test, on définit la concentration inhibitrice à 50 % (**IC 50**).

Les **IC 50** sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'extrait testée (**Torres et al ., 2006**).

3- Pouvoir réducteur**❖ Principe du test**

La méthode est basée sur la réaction de réduction du Fe^{3+} présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe^{2+} . La réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique Fe^{3+} en couleur bleu vert du fer ferreux Fe^{2+} « l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à **700 nm**.

❖ Mode opératoire

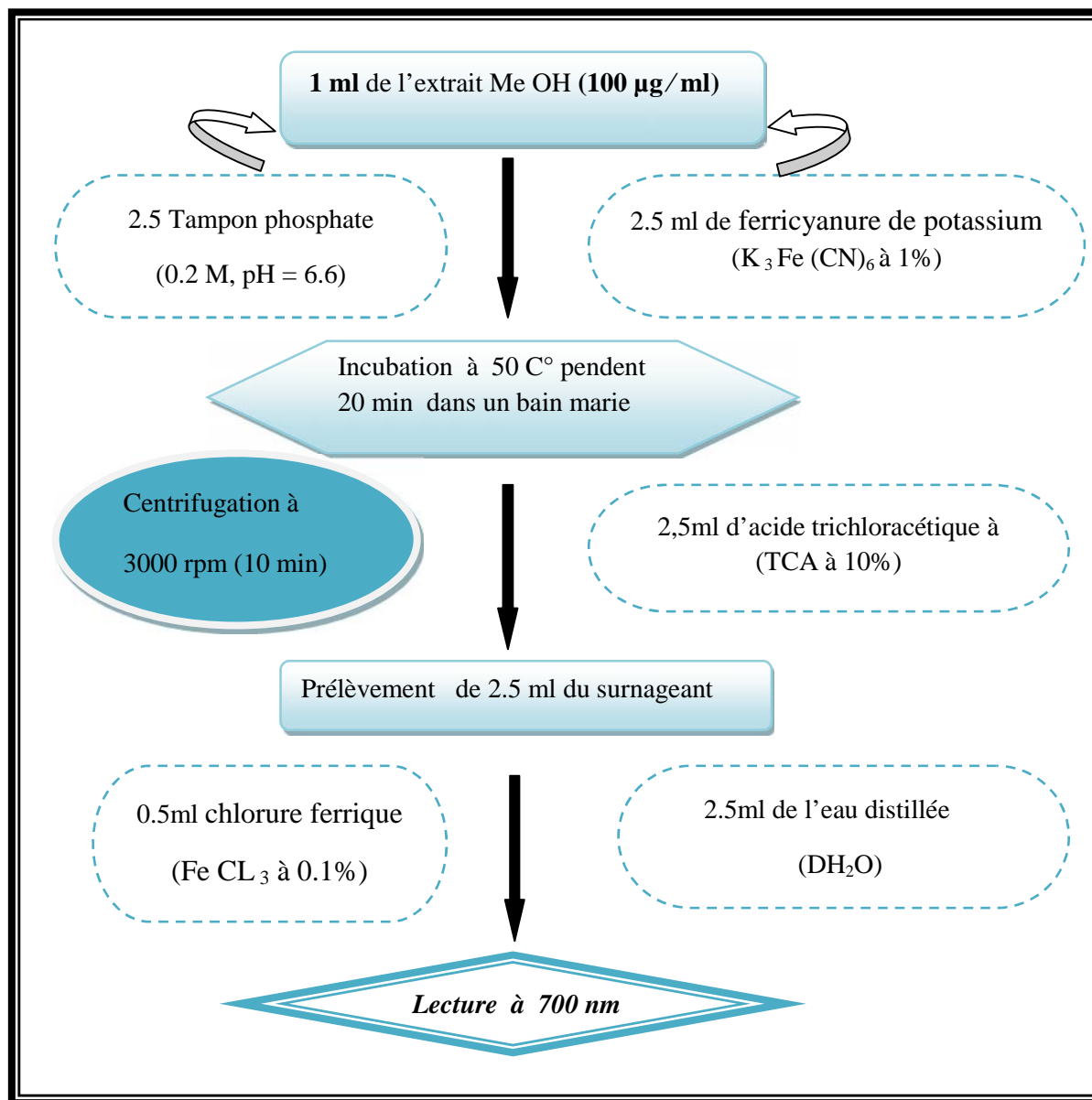


Figure 18: Protocole d'étude du pouvoir réducteur (Amarowicz *et al.*, 2004)

II.4-EVALUATION *IN VIVO* DE LA TOXICITE AIGUE DES ALCALOIDES DE *FUMARIA OFFICINALIS*

II.4.1-ÉVALUATION DE LA TOXICITE AIGUË

La toxicité aiguë a été déterminée selon la méthode préconisée par l'article de l'OCDE n°425.

❖ Principe de la méthode

Les essais de la toxicité aiguë permettent d'évaluer les effets toxiques qui apparaissent dans un temps court (de 1 à 14 jours) après l'administration d'une substance chimique (les alcaloïdes du *Fumaria officinalis*) préparées sous forme d'infusion, par voie orale à une dose unique.

- Les principaux effets recherchés sont :
 - ✓ Les signes cliniques et les modifications pathologiques visibles à l'œil nu,
 - ✓ la baisse de la consommation de nourriture et/ou de boisson,
 - ✓ les variations de poids du corps ou des organes,
 - ✓ Et la létalité (mortalité).

❖ Mode opératoire

Le protocole consiste à suivre les étapes suivantes :

1-Répartition des souris en lots

Lors de cette étude, les souris ont été laissées à jeun la veille du test « environ 16h », puis réparties selon l'homogénéité de leur poids sur 3 lots de 4 souris chacun :

- **Lot I** (lot témoin) : ces souris ont reçu uniquement de l'eau physiologique [0.9% solution de Na Cl].
- **Lot II et III** (lots traités) : ces groupes de souris ont reçu respectivement les doses **500** et **1000** mg/kg.

2- Administration de l'extrait

L'administration des extraits [AT, FN, FA, FB] de la plante de *Fumaria officinalis* ont été effectuée par gavage orale (Figure 19).

- ✓ Notant que le volume de la solution administrée pour chaque souris est constant (0.5ml).



Figure 19: Photographie de l'administration des extraits par voie orale.

3-Surveillance du comportement des souris

Après l'administration des extraits, les souris ont été surveillées en permanence, au moins pendant les 4 premières heures suivant l'administration des échantillons, puis quotidiennement durant une durée de 30 min pour une période d'observation totalisant 14 jours.

4- Mesure du volume d'eau et de la quantité de nourriture consommés

Le volume d'eau et la quantité de nourriture consommés ont été mesurés quotidiennement pendant une période de 14 jours. La nourriture déposée dans l'auge (couvercle des cages), a été préalablement pesée, et cela rendait possible la mesure de la quantité consommée en pesant la nourriture restante dans l'auge. Le volume d'eau consommé a été mesuré par la même méthode, en mesurant le volume d'eau restant dans les biberons.

5- Étude de l'évolution pondérale des souris

Le poids corporel des souris utilisées dans cette étude a été mesuré, avant l'administration de l'échantillon, et après chaque 7 jour du début du test de la toxicité aiguë (7^{ème} et 14^{ème} jours).

II.4.2-PRELEVEMENT DES ORGANES

Après 14 jours de surveillance, les souris ont été mises à jeun la veille du prélèvement. Le lendemain, elles ont été sacrifiées afin de récupérer les organes.

Après l'examen macroscopique du cadavre, il a été fixé en décubitus dorsal sur une plaque, en fixant solidement les quatre pattes à l'aide d'aiguilles de fixation (Figure 20). Une petite incision au niveau périnée a été pratiquée, jusqu'au menton. Deux autres incisions perpendiculaires à la première ont été également pratiquées. Après dissection les organes : le foie, la rate, les reins, le cœur sont observés macroscopiquement *In situ*, puis prélevés (Figure20), et déposés dans l'eau physiologique, dégraissés, séchés par le papier absorbant et pesés pour évaluer la masse relative des organes.



Figure 20: Les étapes de prélèvement des différents organes (laboratoire de Biologie Végétal et d'ethnobotanique, Beiaia).

Chapitre III

Résultats et discussions

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. TAUX D'EXTRACTION DES ALCALOÏDES DE *FUMARIA OFFICINALIS*

L'extraction d'alcaloïdes a été réalisée dans un milieu alcalin en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction, c'est une méthode d'extraction à chaud, solide-liquide continue par le soxhlet suivant les protocoles de **Suau et collaborateurs (2002)** et celui de **Farzana (1997)**. Cette méthode est plus rapide et permet de donner un meilleur rendement avec une grande spécificité.

Le choix du solvant a été porté sur l'éthanol comme solvant d'extraction car il permet d'extraire le maximum de composés y compris les alcaloïdes, et possède l'avantage d'être plus facilement éliminer grâce à son aspect volatil et par comparaison au méthanol il est moins toxique (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

Le taux d'extraction d'alcaloïdes de *Fumaria officinalis* a été calculé par rapport à la masse de la poudre initiale (30g) selon la formule suivante :

$$\text{Le rendement \%} = [P_a - P_b / P_a] \times 100$$

Avec :

P_a : Le poids initial de la poudre végétale.

P_b : Le poids d'extrait d'alcaloïdes.

Le (Tableau VI) résume le pourcentage d'alcaloïdes que renferme la plante étudiée.

Tableau VI : Le rendement en alcaloïdes de *Fumaria officinalis*.

P_a (g)	P_b (g)	Taux d'alcaloïdes
30	0,298 (AT)	0,99%
30	0,076 (FN)	0,25 %
30	0,067 (FB)	0,22 %
30	0,107 (FA)	0,35 %

Certaines plantes alcaloïdiques peuvent renfermer jusqu'à 4 % voir 10 % d'alcaloïdes, les *Fumariaceae* sont classées dans la catégorie de plantes riches en alcaloïdes(Bruneton,1999).

D'après les résultats obtenus et en terme de rendement on peut conclure que *Fumaria officinalis* est riche en alcaloïdes et les travaux de Sousek et ses collaborateurs (1999) ont confirmé la richesse de cette espèce en alcaloïdes.

III. 2. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DE *FUMARIA OFFICINALIS*

La capacité antioxydante des extraits d'une plante est largement dépendante de la composition de ces extraits ainsi que les conditions de manipulation des tests *In vitro*. L'évaluation de l'activité est donc nécessairement réalisée par au moins trois méthodes différentes.

III. 2. 1. Effet scavenging du radical DPPH

L'extrait d'alcaloïdes de la plante *F.officinalis* a montré une activité anti radicalaire contre le radical DPPH, dépendante de la concentration de l'extrait, par diminution ou changement de la couleur de la solution DPPH du violet vers le jaune. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH augmente en fonction de la concentration de l'extrait.

Les résultats de l'activité anti-radicalaire, vis-à-vis du radical DPPH, des standards et des extraits sont exprimés en pourcentage d'inhibition et représentés dans les Figures (21 et 22) :

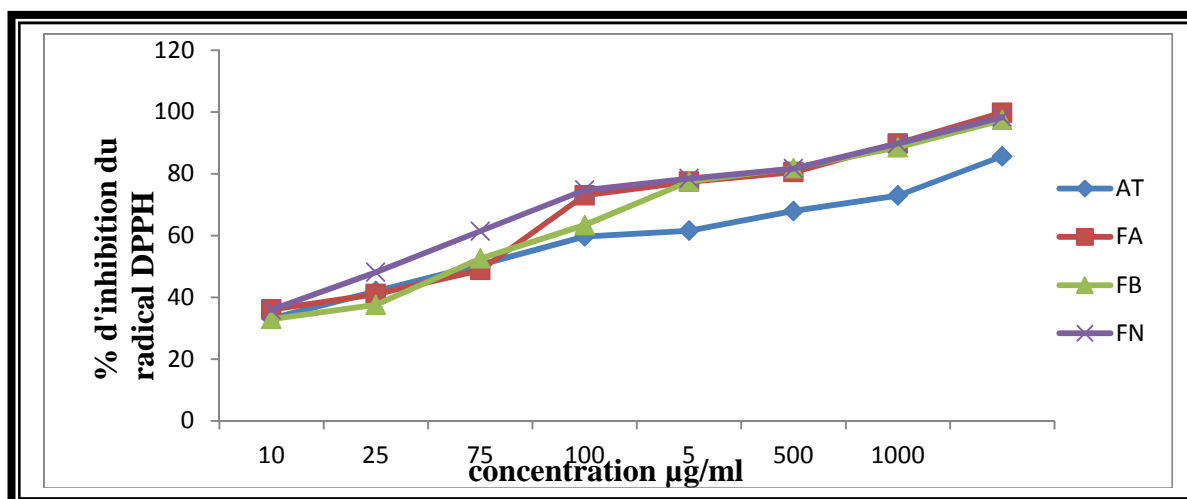


Figure 21: Effet scavenger du DPPH des alcaloïdes (AT),(FN),(FA),(FB) de *Fumaria officinalis* à différentes concentrations

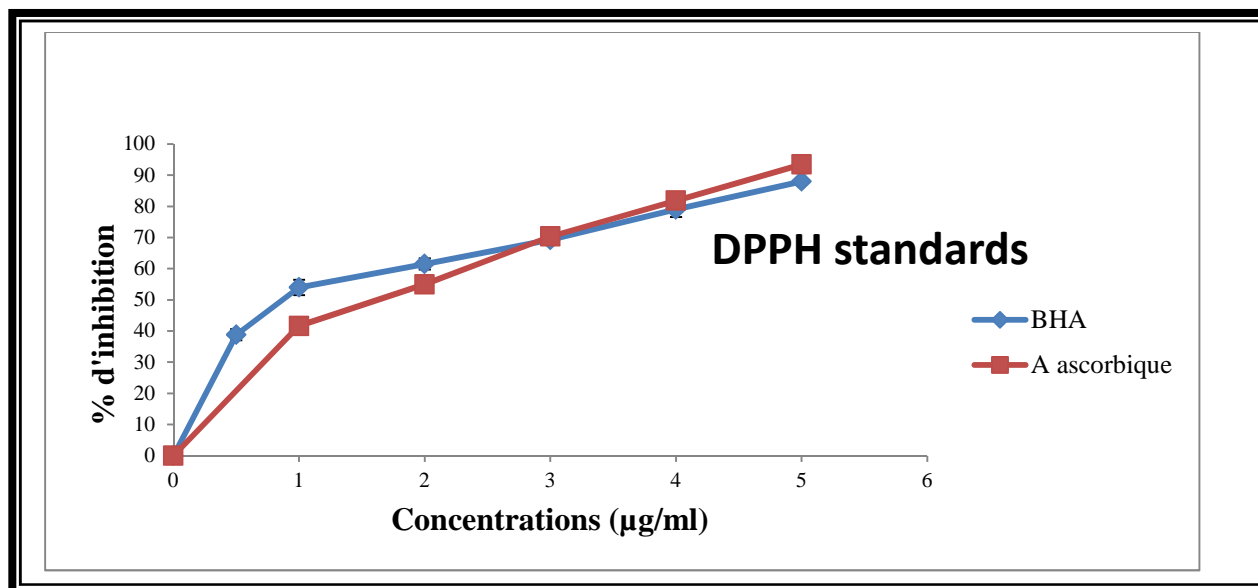


Figure 22 :Activité scavenging du radical DPPH des standards à différentes concentrations

L'activité anti radicalaire de l'extrait est mesurée par sa capacité à piéger un électron non apparié du radical DPPH, qu'est exprimée par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution (**Pourmorad et al., 2006**). Après addition de la solution de DPPH, le changement de couleur apparu avec différentes intensités dans les solutions méthanoliques de l'extrait à des concentrations variées, cela est due à la présence de composés antioxydants dans le milieu possédant une capacité scavenger(**Katalinic et al.,2006**).Le pourcentage de décoloration est lié à la nature chimique des antioxydants et à leurs concentration (**Qian et Venant,2004**).

On a remarqué expérimentalement, lorsqu'on additionne un volume défini de l'extrait (d'alcaloïde) à un volume déterminé de la solution (DPPH[•]) quel que soit l'extrait, l'absorbance du mélange réactionnel diminue et devient stable dans lapse de temps court, ainsi la solution change de couleur instantanément du violé sombre au jaune pâle en fonction des concentrations, suivi par une augmentation dans le pourcentage d'inhibition.

D'après l'analyse statistique à (P 0,05) les résultats obtenus ne montre pas une différence significative, nous constatons que tous les extraits de *Fumaria officinalis* ont exhibé une très forte activité scavenging du radical DPPH comparativement aux pourcentages d'inhibition montrés par les standards utilisés

(BHA, Acide ascorbique). En effet cette activité anti-radicalaire dépendante de la concentration qui veut dire à chaque fois que la concentration augmente, le pourcentage d'inhibition augmente.

À la concentration de $5\mu\text{g/ml}$ pour les extraits **AT**, **FB**, **FA**, **FN** nous avons un pourcentage d'inhibition de l'ordre de [33,17%, 32,94%, 36,07% et 35,92] respectivement. Les extraits étudiés ont exhibé une capacité à piéger le radical DPPH mais qui est proportionnellement faible par rapport à celle obtenue avec BHA et l'acide ascorbique qui sont de [87,96% et 93,42%] à la même concentration.

III.2.1.1. DETERMINATION DES IC50

Le paramètre IC50 (Concentration inhibitrice à 50%) ou EC50 (Efficient concentration) est défini comme étant la concentration du substrat qui entraîne une perte de 50% de l'activité. Les IC50 de l'activité du DPPH sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs les plus faibles reflètent un effet anti-radicalaire important (Molyneux, 2004 ; Vilano et al., 2007).

Le traitement des données obtenus précédemment ont révélé les IC50 représentés dans la Figure suivante :

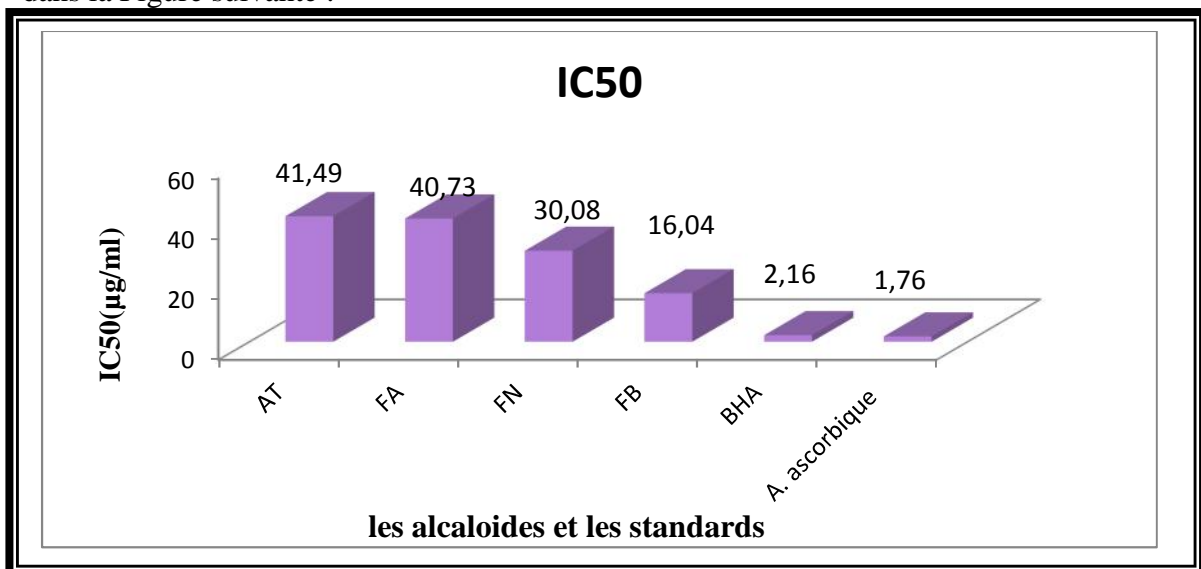


Figure 23: les IC50 des standards et des alcaloïdes de *Fumaria officinalis*

L'IC 50 de l'acide ascorbique et la BHA sont largement inférieures à celle des extraits, donc les standards présentent une meilleure activité antiradicalaire.

D'après les résultats obtenus dans (Figure 23) et comparativement aux standards montre nettement que l'extrait **FB**, ne nécessite pas des concentration élevée pour piéger 50% du radical DPPH avec des IC_{50} proche a celle de l'acide ascorbique et la BHA, donc cette extrait présente une meilleure activité antiradicalaire par rapport aux autres extraits. L'activité antiradicalaire se classe donc dans l'ordre croissant suivant :

AT FA FN FB BHA A.ascorbique

L' IC_{50} de la berbérine (alcaloïdes isoquinoléique) est de l'ordre de [42.7 μ g/ml], cette valeur est supérieure à l' IC_{50} des alcaloïdes FB [16,04 μ g/ml] de *Fumaria officinalis*.

L'acide.ascorbique présente l' IC_{50} la plus basse [1,76 μ g/ml], elle est donc la plus puissante. En revanche l'extrait AT montre l' IC_{50} la plus élève [41,49 μ g/ml] donc présente l'activité la plus faible.

L'activité « scavenging » du radical DPPH peut être attribuée à la présence de groupements hydroxyles, à la structure moléculaire du composé (présence du groupement azoté) et à la disponibilité de l'hydrogène (Dawidowicz, 2006).

Il est aussi important de noter que la position des groupements et le degré de leur méthylation pourrait influencer l'activité anti radicalaire de ces alcaloïdes (Liu et al., 2006).

III. 2. 2. EFFET « SCAVENGING » DU RADICAL ABTS^{•+}

Le radical ABTS^{•+} est largement utilisé pour déterminer l'activité antioxydante des extraits de plantes (Milardovic et al., 2006). L'activité antioxydante de l'extrait d'alcaloïdes de *Fumaria officinalisa* été aussi déterminée par la méthode TEAC (Trolox Equivalent Antioxydant Capacity) qui est utilisée comme antioxydant de référence à cause de son analogie structurale avec la vitamine E. Ainsi la valeur TEAC est élevé, plus l'antioxydant est efficace (Francoise et al., 2004).

L'ABTS^{•+}, en contacte avec un donneur de H[•] conduit à la formation de l'ABTS⁺ et à la décoloration de la solution à 734 nm (Marc et al., 2004).

Unecomparaison est faite avec la capacité du Trolox (analogue structural hydrosoluble de la vitamine E) à capturer ABTS^{•+}, la décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre. La capacité antioxydante exprimée en équivalent Trolox (TEAC), correspond donc à la concentration de Trolox ayant la même activité que la substance à tester à une certaine

concentration. Les résultats de l'activité anti-radicalaire, vis-à-vis du radical $ABTS^+$, du standard et des extraits sont exprimés en pourcentage d'inhibition et représentés dans les Figures (24) et (25).

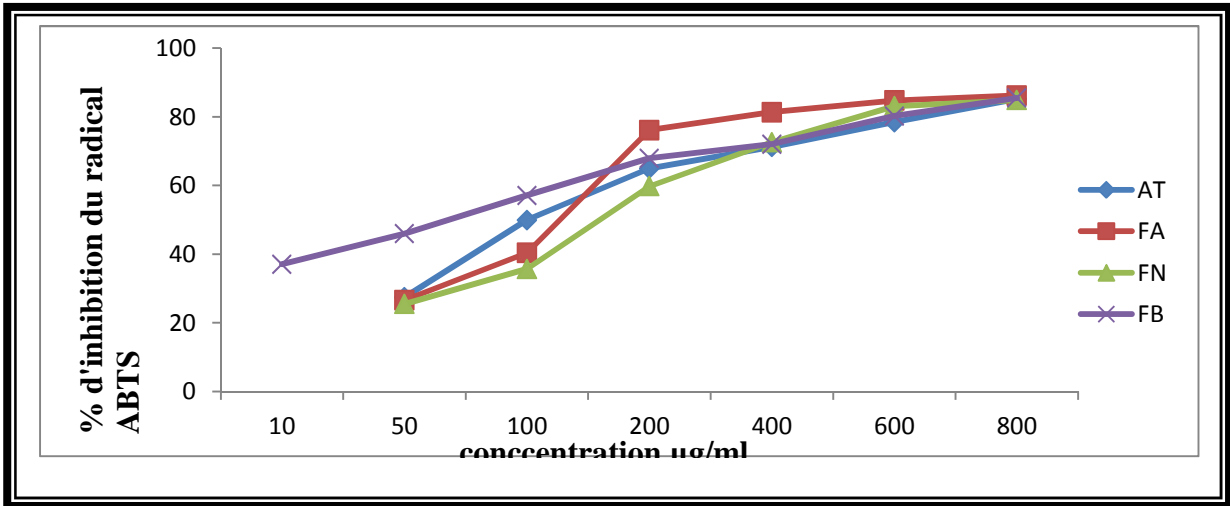


Figure 24: Activité scavenging du radical $ABTS^+$ des différents alcaloïdes de *F. officinalis* à différentes concentrations.

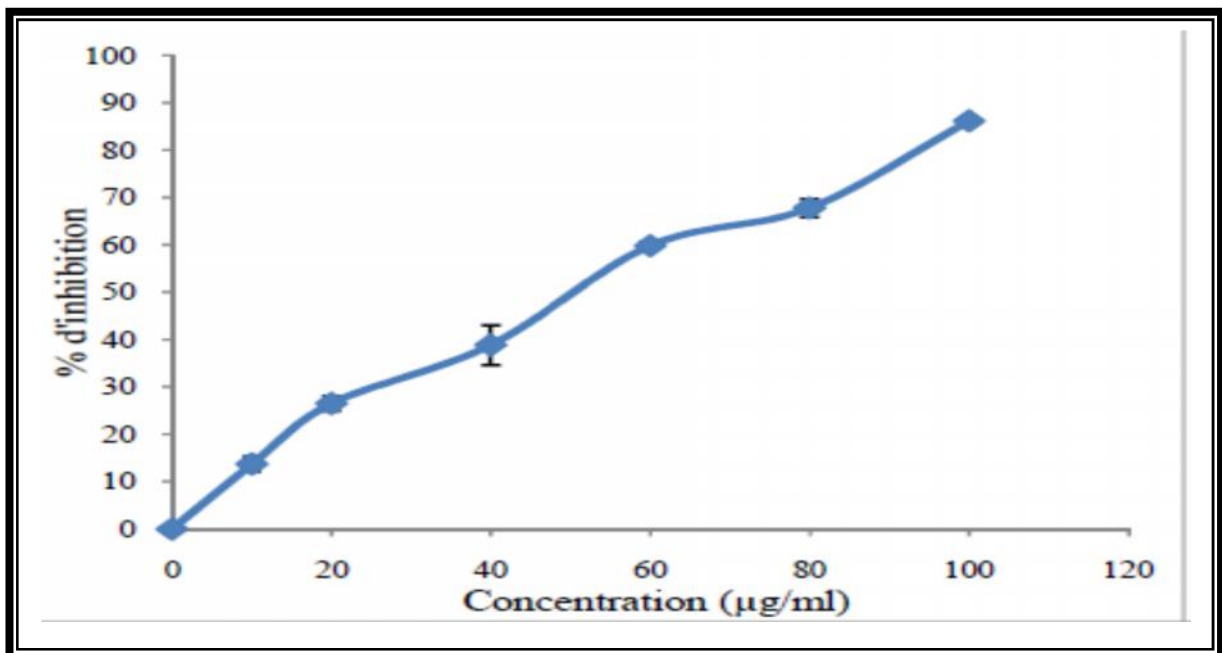


Figure 25 : Activité scavenging du radical ABTS par l'antioxydant de synthèse (Trolox) à différentes concentration .

D'après les résultats illustrés dans la figure (24), on remarque que les extraits de *Fumaria officinalis* ont montré de puissants effets scavenger contre le radical ABTS à différentes concentrations.

Pour déterminer la puissance de ces extraits contre le radical ABTS, un test préliminaire a été réalisé à 100 µg/ml pour chaque extrait étudié.

A partir de la Figure, on constate que tous les extraits présentent une activité antiradicalaire contre le radical ABTS inférieure à celle exprimée par le standard à une concentration de 100µg/ml, avec des pourcentages d'inhibition qui présentent des différences significativement importantes ($P < 0,05$), dont le plus actif on trouve l'extrait FB qui a permis de donner l'inhibition la plus importante qui est de [57.08 %] par comparaison aux autres extraits utilisés, et pour une même concentration de l'extrait FN à donner un pourcentage d'inhibition le plus faible qui est de [35.65%].

La Figure (25), illustre le pourcentage des résultats enregistrés sur l'activité du Trolox à piéger le radical ABTS⁺, ce dernier exerce une forte activité à la concentration de 100µg/ml avec un pourcentage d'inhibition [86,09%].

A partir des graphes précédents, une comparaison est faite entre les résultats obtenus avec le Trolox et ceux obtenus en présence des composés d'alcaloïdes de différents extraits de *Fumaria officinalis*. On peut déduire que le Trolox a une activité plus efficace par rapport à celle de *F.officinalis*.

Ces résultats peuvent être dus au fait que cette plante est aussi riche en différents types d'alcaloïdes et la synergie entre ces derniers peut expliquer leur pouvoir antiradicalaire important à piéger le radical ABTS⁺.

III. 2. 2.1. CAPACITE ANTIOXYDANTE EXPRIMEE EN EQUIVALENT TROLOX (TEAC)

La capacité antioxydante exprimée en équivalent Trolox (TEAC), correspond à la concentration du Trolox ayant la même activité que la substance à tester à une certaine concentration. Ainsi plus la valeur TEAC est élevée, plus l'antioxydant est efficace (Schlesier et al., 2002)

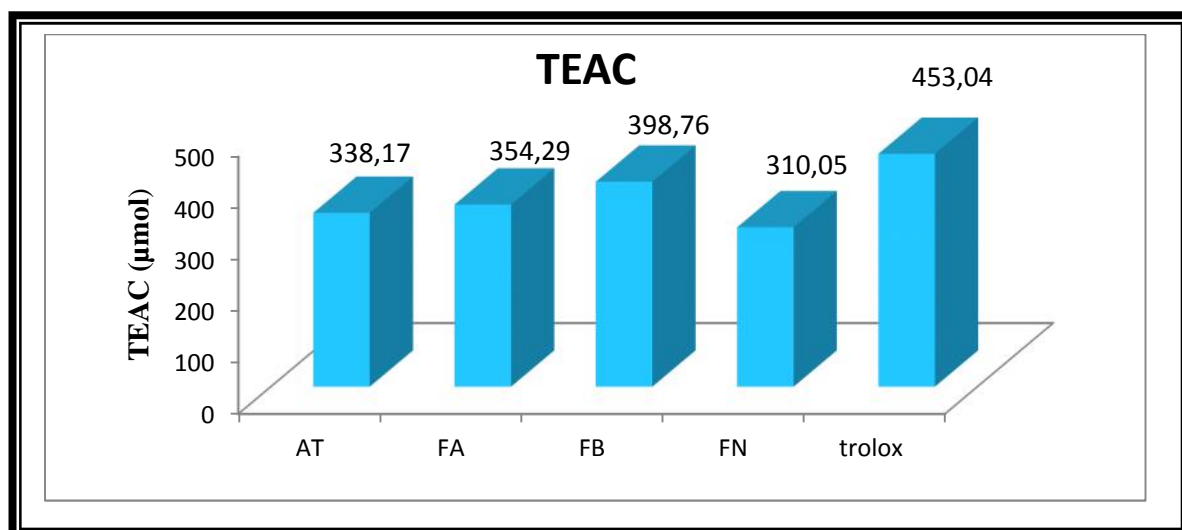


Figure26 : Capacité antioxydant exprimées en équivalent Trolox

A l'issu des résultats obtenus, il s'est avéré clairement que les extraits de cette plante exerce le meilleur pouvoir anti radicalaire contre le radicale ABTS.

L'analyse statistique des teneurs des extraits de plante étudiée ne montre pas des différences significatives ($P < 0,05$). Les extraits ont montré une capacité antioxydant élevée ce qui implique qu'ils possèdent une bonne activité anti ABTS .

Mais l'activité la plus efficace est celle de l'extrait FB qui est riche en groupement hydroxyle.

L'activité antiradicalaire se classe donc dans l'ordre croissant suivant :

FN AT FA FB Trolox

III. 2.3. LE POUVOIR REDUCTEUR

L'évaluation de l'activité antioxydante par réduction de fer est une méthode facile et reproductible, pour cela, elle est très utilisée pour distinguer les extraits les plus actifs (Li et al.,2007) .

De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme un indicateur significatif de son potentiel antioxydant (Kranl et al., 2005)

Dans ce test , on a mesuré le potentiel réducteur à travers la réduction du complexe (Fe^{3+}) en forme ferreuse (Fe^{2+}) qui s'est traduit par une couleur bleue.

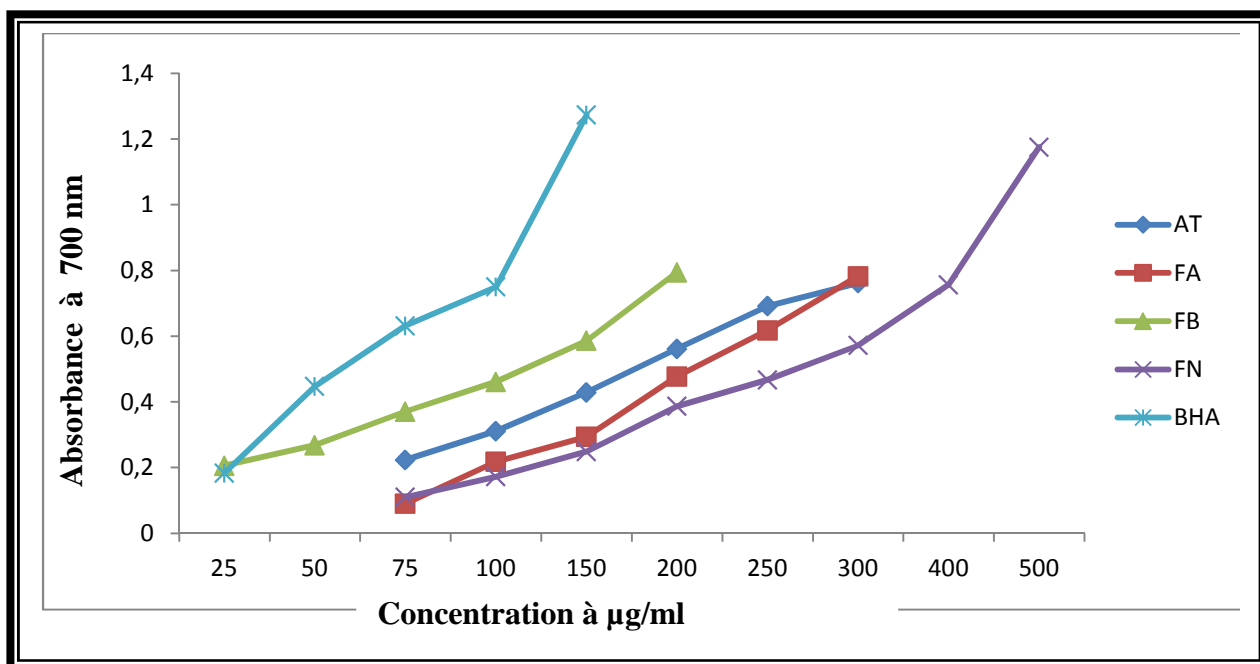


Figure27 :Pouvoir réducteur des différents extraits de *F.officinalis* et le standard BHA

D'après les résultats obtenus, la réduction du fer des extraits présente des activités antioxydantes nettement inférieures à celle du standard utilisé, on constate que les différents extraits FN, FA à une concentration de **100µg/ml** ont des absorbances les plus faibles [0,17et0,21] proportionnellement au standard BHA qui présente une absorbance [0,75±0,025] à la même concentration. En revanche les extraits AT,FB ont une absorbance plus importante [0,31 et 0,46]à la même concentration.

Selon une étude réalisée par **Maiza-Benabdesselam et ses collaborateurs(2007)**, les alcaloïdes de *Fumaria officinalis* possèdent un meilleur pouvoir réducteur à des concentrations largement inférieures par rapport à *Fumaria bastardii* et *Fumaria capreolata*. La nature et la concentration des antioxydants modulent l'intensité du pouvoir réducteur ainsi intervient la position et le nombre des groupements hydroxyles.

III.2.3.1 .DETERMINATIO DES IC50

Le traitement des données obtenus précédemment à révélé les IC50 représentées dans la figure suivante :

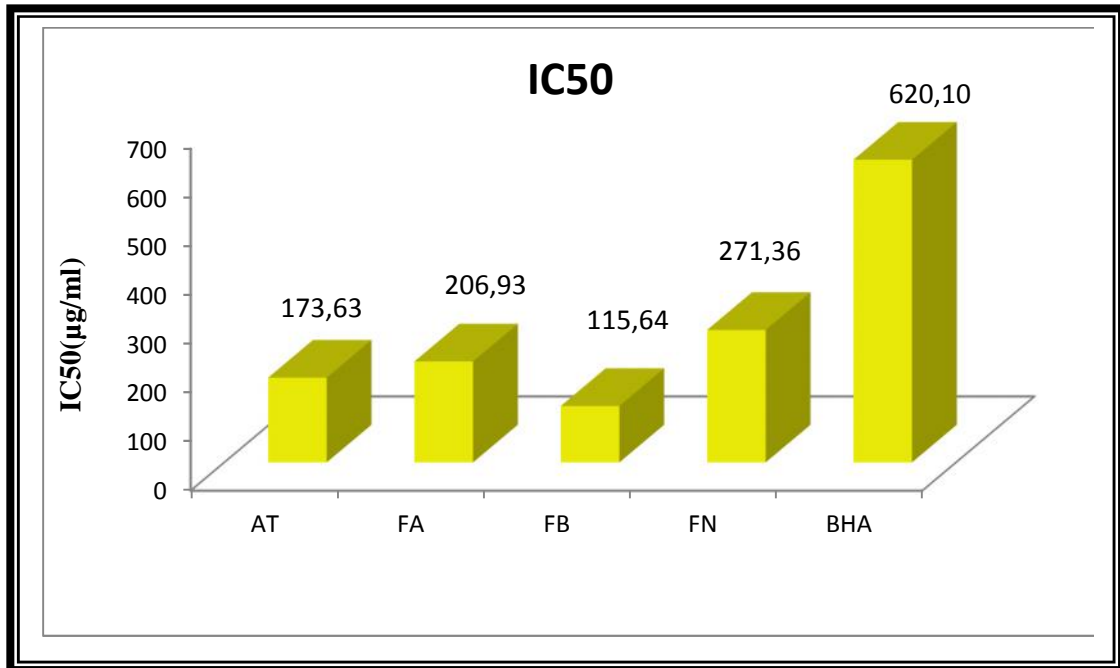


Figure 28 : les IC50 de standards et des alcaloïdes de *Fumaria officinalis*

D'après les résultats obtenus dans la figure et comparativement aux standards montre que les potentiels réducteurs observés se classent dans l'ordre croissant suivant

FB AT FA FN BHA

III.3-EVALUATION DE LA TOXICITE AIGUE DES ALCALOIDES DE *FUMARIA OFFICINALIS*

III.3.1-TOXICITE AIGUE

III.3.1.1-OBSERVATIONS CLINIQUES ET DE SURVIE

Les signes cliniques et de mortalité apparus chez les souris de chaque groupe ont été suivis continuellement pendant 4 heures après l'administration orale des extraits (AT, FN, FA, FB). Cette observation a été étendue le long de la durée d'étude de la toxicité aiguë (14 jours), pour déceler les effets retardés des extraits.

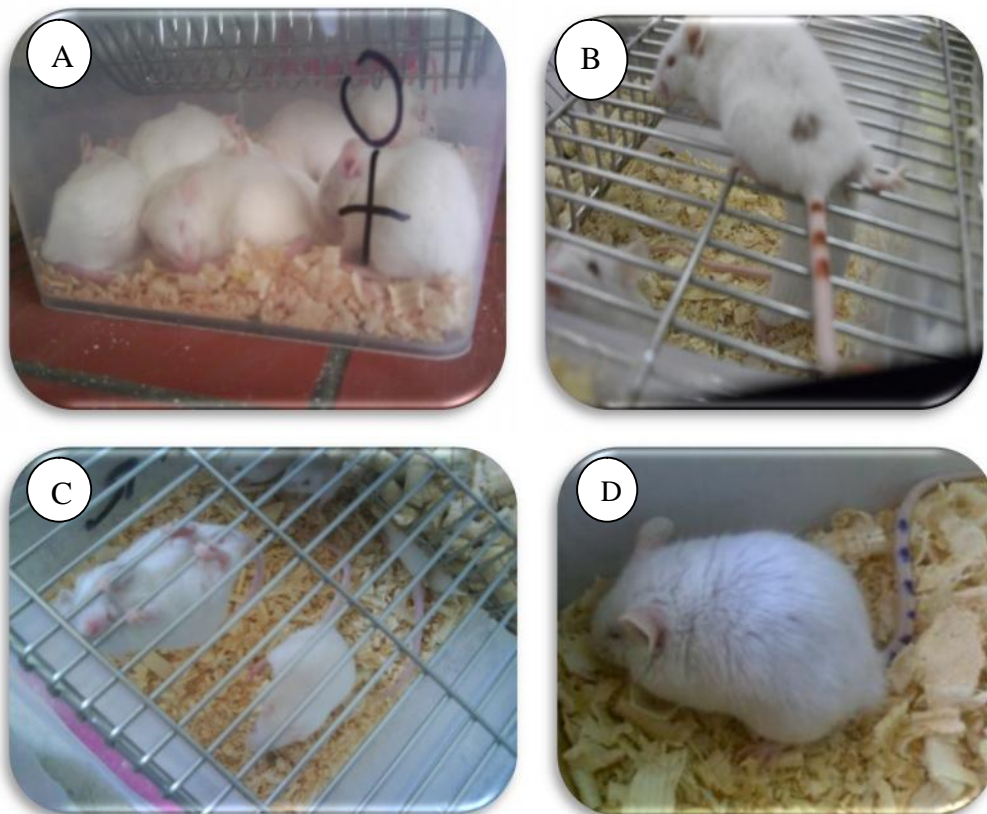
Le lot témoin, contenant les souris gavées par l'eau physiologique (Na Cl 0.9 %), n'a montré aucun signe de toxicité immédiate ou de mortalité. Cependant, la prise des différentes doses des extraits de *Fumaria officinalis*, par voie orale, a provoqué des changements plus ou moins graves dans l'activité physique et le comportement des souris. (Tableau VII), (Figure 28) résumant l'ensemble des troubles enregistrés au cours de cette expérience.

Tableau VII : L'effet toxique des extraits de *Fumaria officinalis* sur le comportement des animaux et le taux de mortalité.

Type d'extrait	Dose (g /kg)	Mortalité (D/T)	Signes de toxicité	
Lot témoin (eau physiologique)	0,5	0 /4	Première(4 h)	Chaque jour
			Normale	Normale
Lot traité par (AT)	0,5	0/4	-diarrhée	-Somnolence (permanente), hypoactivité .
	1	0/4	-Somnolence	-Isolement, redressement des poils ,anorexie.
Lot traité par (FN)	0,5	0/4	-Normale	-Normale
	1		-Somnolence	-Normale
Lot traité par	0,5	0/4	- Normale	-Somnolence permanente.

(FA)	1	0/4	-Somnolence	-Normale
Lot traité par (FB)	0,5	0/4	-somnolence	-Somnolence
	1	0/4	-Somnolence	- Isolement.

T:totale, D:décès,g:gramme, kg: kilogramme



A :Somnolence,B : redressement des poils,C : stresse, D :isolement

Figure28 : les effets toxiques des extraits *Fumaria officinalis* sur le comportement des souris.

On constate d'après les résultats obtenus, que les doses des extraits du *Fumaria officinalis* administrées aux souris (500mg/kg et 1000mg/kg) ont été bien tolérées, d'ailleurs aucun cas de mortalité liée à la substance d'essai n'a été signalé. selon l'échelle de classification de la toxicité de **Hodge et Sterner** chez les souris de laboratoire (**Hodge et Sterner, 1949**) et dont laquelle une DL50 orale ($500 < DL50 < 5000 \text{ mg/kg}$) signifie une substance légèrement toxique, ce qui confirme que les extraits testés lors de cette étude sont légèrement toxiques.

En raison de l'absence de mortalité, nous pouvons dire que la DL50 des extraits administrés est largement supérieure à 1000mg/kg qui est présente. Notant également que ce test sert d'un essai limite, qui détermine la dose de l'essai principal, lorsque plus de 50% des animaux meurent.

En effet, au cours de cette étude, on a remarqué que les animaux après les 4 h suivant l'administration des extraits avaient des diarrhées et présentaient des effets de somnolence, ceci est dû à la richesse des extraits de *Fumaria officinalis* en substances osmotiquement actives et peu absorbables les concentrations élevées dans la lumière intestinale, pouvant être la cause principale de cette diarrhée.

Selon l'étude de **wang et ses collaborateurs en 2012**, sur la toxicité de l'acide cinnamique, l'administration de cet acide provoque des diarrhées chez des souris traitées avec des différentes doses. Cet acide serait à l'origine de la diarrhée observée lors de cette étude.

À quelques jours de l'essai, les souris montrent des changements de comportements et des signes d'intoxication plus ou moins graves (isolement, hypoactivité, anorexie).

Mahmoudian et ses collaborateurs (2002) et **Frison et ses collaborateurs (2008)** décrivent des symptômes d'intoxications humaine et animale, par les alcaloïdes, similaires à ceux observés dans cette étude (tableau VII) : somnolence, anorexie, redressement des poils, ainsi qu'un état d'hypoactivité. Ces signes viennent suite à une atteinte du SNC et SNP. Une atteinte qui est due, probablement, à la présence des alcaloïdes isoquinoléiques tels que la protopine ou la cryptopine qui sont toxiques pour les cellules PC12, modèles de neurones catécholaminergiques (**Verba et al., 2011**).

III.3.1.2-ÉVOLUTION PONEDRALE

L'un des paramètres auquel nous nous sommes intéressés durant notre travail, est l'évolution pondérale des souris étudiées. Ce paramètre est en relation directe avec la toxicité.

En fait l'apparition d'une toxicité s'accompagne souvent d'un amaigrissement et perte considérable du poids.

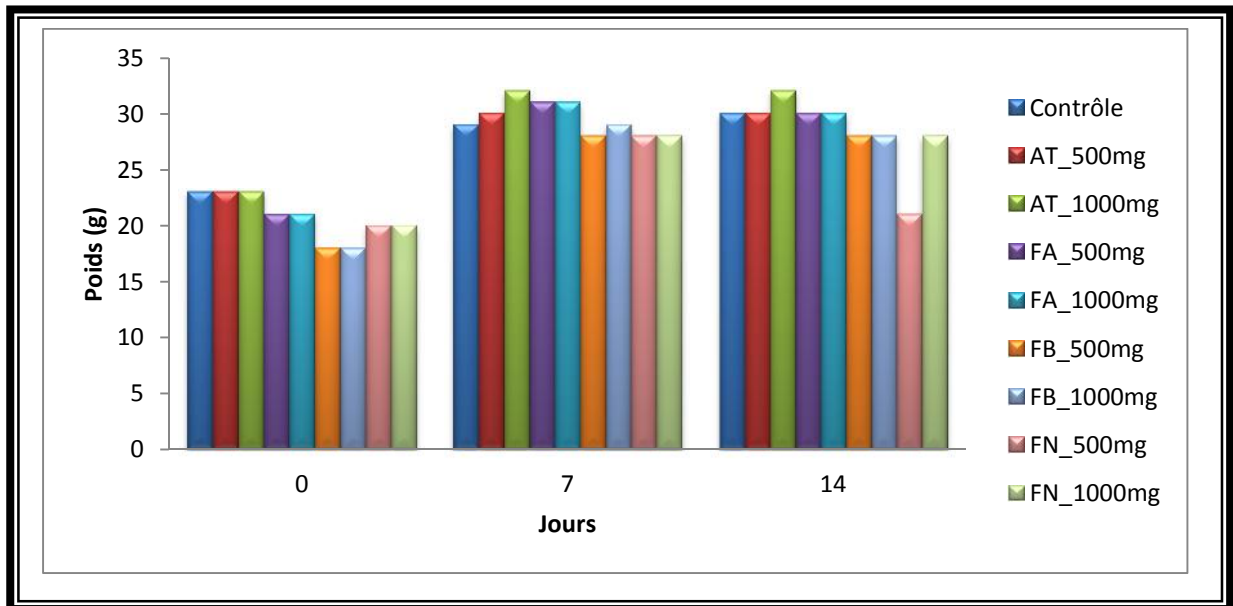


Figure 29: Variation du poids corporel des souris durant le test de la toxicité aigüe.

Après 07 jours de l'administration des extraits (AT, FN, FA, FB), une élévation considérable du poids corporel a été notée chez les souris traitées sa due a la richesse des alcaloïdes isoquinoléiques qui sont des acides aminés comme le principal constituant de la cellule, représentant plus de 50% du poids sec des êtres vivants. A la différence du lot contrôle où l'augmentation du poids corporel est relativement faible.

Après 14 jours de l'administration des doses (500 et 1000 mg/kg), le poids corporel des souris traitées et non traitées est resté relativement stable à part les souris traité par l'extrait (FN) à une dose (500 mg/kg) la perte du poids est corrélée à l'état physiologique de l'animal et peut être expliquée, non seulement par l'anorexie (Betti *et al.*, 2012), mais aussi par l'altération du métabolisme des animaux (Mukinda et Syce, 2007).

III.3.1.3 EVALUATION DE LA QUANTITE DE NOURRITURE ET LE VOLUME D'EAU CONSOMMES DURANT LA PERIODE DE LA TOXICITE AIGUE

III.3.1.3.1-Évaluation de la quantité de nourriture consommée

La quantité de nourriture consommée est représentée sur la Figure 30 suivante :

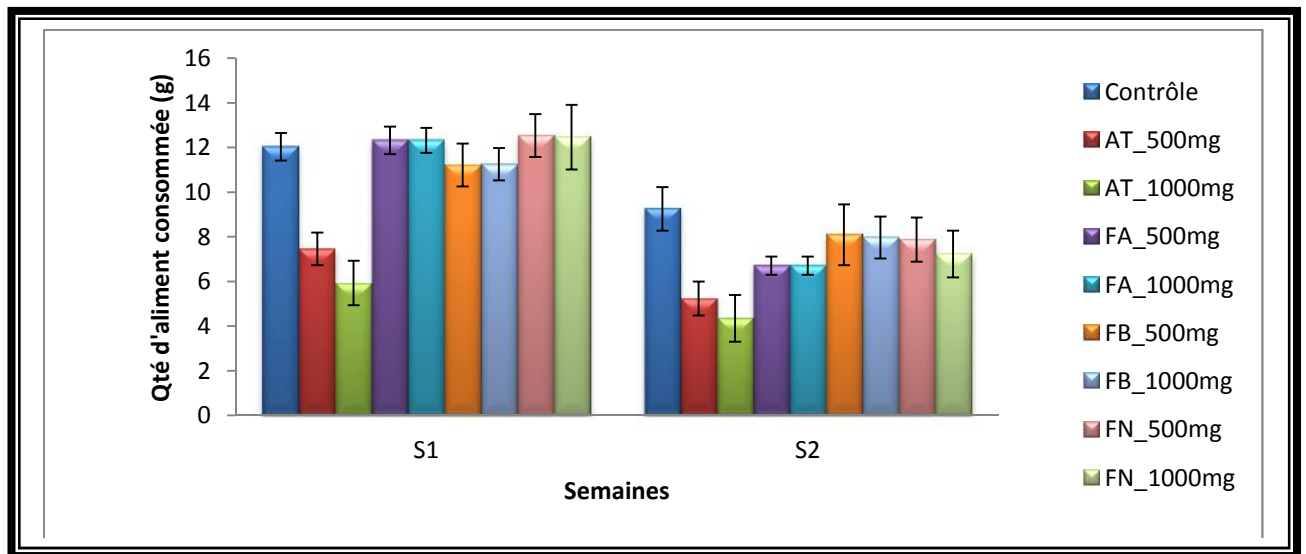


Figure 30 : Evaluation de la quantité de la nourriture consommé durant le test de la toxicité aigüe.

(Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type.(p 0.05))

- Les résultats obtenus montrent une différence dans la prise de la nourriture entre les groupes de souris traitées et le groupe contrôle après la première semaine de l'administration des extraits. On a remarqué une diminution de la quantité de nourriture consommée par les souris traitées par l'extrait AT (500mg/kg et 1000 mg/kg), cette diminution est due à l'effet anorexique probablement exercé par l'extrait d'alcaloïdes totaux car cet extrait contribuerait dans la diminution de la prise alimentaire.
- Les résultats obtenus montrent clairement une différence significative dans la quantité de la nourriture consommée après la deuxième semaine du test, pour tous les groupes de souris, la diminution de la quantité de nourriture consommée par les souris traitées par les extraits est probablement due à la richesse de ces extraits en acides aminés, qui présentent une source d'énergie très importante.

III.3.1.3.2 -Évaluation de volume d’eau consommée

La quantité de volume d’eau consommés sont représentés sur la figure31 suivante :

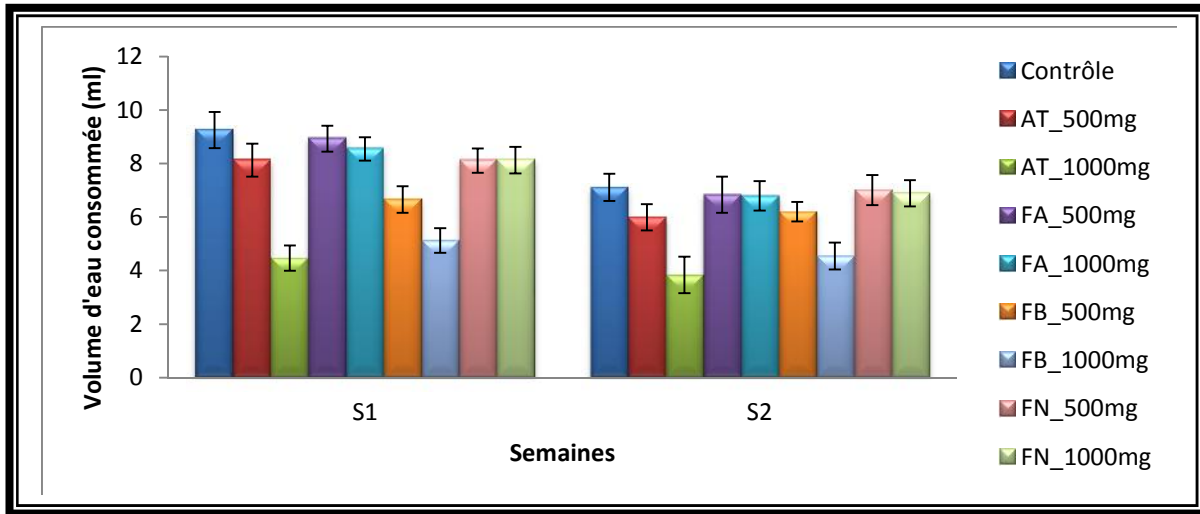


Figure 31: Évaluation de volume d’eau consommé durant le test de toxicité

(Les résultats sont exprimés en moyenne ±écart type.(p 0.05))

- D’après les résultats obtenus durant la première et la deuxième semaine de l’administration des extraits ; on constate une différence significative dans le volume d’eau consommée à différents groupes des souris traitées par rapport au contrôle notamment les extraits **AT** (1000mg/kg)et **FB** (500 et1000 mg/kg) , ceci est probablement du au facteur du stress et les conditions d’élevages des souris.

III.3.1.3.3-La masse relative des organes

Tableau VIII : Évaluation du rapport poids d’organe/100 g de poids corporel de toxicité aigüe.

Poids de l’organe/100 g de poids corporel	CNTL	AT 500 mg/kg	AT 1000 mg/kg	FA 500 mg/kg	FA 1000 mg/kg	FB 500 mg/kg	FB 1000 mg/kg	FN 500 mg/kg	FN 1000 mg/kg
Rien gauche	0,62	0,76	0,58	0,56	0,59	0,57	0,71	0,61	0,62
Rien droit	0,53	0,55	0,94	0,53	0,57	0,48	0,87	0,52	0,51
Foie	4,47	3,10	4,24	4,86	4,52	4,32	5,47	4,50	4,33
Rate	0,67	0,59	0,60	0,69	0,65	0,66	0,61	0,62	0,63
Cœur	0,51	0,41	0,61	0,48	0,49	0,51	0,60	0,52	0,53

D'après les résultats obtenus, une variation significative a été observée pour tous les organes prélevés sauf la rate car les extraits n'ont pas un effet toxique sur cet organe. Cette variation ça ce diffère d'un organe à l'autre :

- **Les reins**

On remarque que le volume de cet organe est approximativement proche pour tous les groupes traités par rapport au groupe contrôle sauf pour deux extraits AT (500 mg/kg) et FB (1000mg/kg) pour le rein gauche, et AT (1000 mg/kg) et FB (1000mg/kg) pour le rein droit

- **Les Foies**

On observe que le poids de cet organe pour tous les groupes des souris traité sont comparables à celles obtenues chez les témoins, à l'exception d'une diminution et d'une augmentation faiblement significative dans la masse relative des foies des souris traitées avec AT (500mg/kg) et au FB (1000mg/kg) respectivement.

Généralement, le foie et le reins ce sont les organes les plus susceptibles d'être touchés par les xénobiotiques, car les deux organes intervenant dans la détoxification des substances toxiques et ce changement du poids des organes (les rein et lesfoies) à des doses d'extraits précédentes, est probablement au extrait qui induisent généralement des nécroses et des dégénérescence cellulaire (**Razaet al.,2002 ;Teoet al., 2002**).

- **Cœurs**

D'après les résultats de tableaux, on remarque aucun changement significatif dans le poids de cet organe, à l'exception d'une augmentation faiblement significative dans la masse relative des cœurs pour les extraits AT (1000mg/kg) et FB (1000mg/kg), et cette élévation peut êtres dues à la présence d'alcaloïdes isoquinoléique (protopine) qui à exercé un effet cardiotoxique selon l'étude de (**Kerharo et Adam en 1974**).

Conclusion et perspectives

La présente étude a été portée sur la partie aérienne de *Fumaria officinalis* qui appartient à la famille des *Fumariaceae*, une des familles les plus importantes dans la flore Algérienne et les plus utilisées par les thérapeutes traditionnelle.

Ce travail a permis l'extraction des alcaloïdes, l'étude de la toxicité aigüe sur des souris femelles *albinos Wistar* ainsi que l'évaluation de leur activité antioxydante (anti DPPH, anti ABTS et pouvoir réducteur).

Les résultats obtenus ont montré que *Fumaria officinalis* est une espèce riche en alcaloïdes avec un taux **0,99%**.

Les données expérimentales de l'activité antioxydante par les tests, pouvoir réducteur, effet «scavenging» du radical DPPH, piégeage du radical ABTS⁺, ont montré la capacité des extraits étudiés à se comporter comme des substances antioxydantes. L'activité scavenging du radical DPPH, la concentration inhibitrice (**IC50**) de l'activité scavenging du radical DPPH la plus efficace est celle obtenue avec l'extrait **FB (16,04)** ce qui confirme la bonne activité inhibitrice de ces alcaloïdes.

Pour les résultats de l'ABTS, l'extrait FB a donné un meilleur pourcentage d'inhibition qui est de (**57,80 %**) à une concentration de **100ug/ml**.

L'étude du pouvoir réducteur, de *Fumaria officinalis* a révélé une capacité réductrice du fer. D'où l'absorbance la plus grande est de **0,46** pour l'extrait **FB** à une concentration de **100ug/ml**.

On peut déduire ainsi que les différents extraits d'alcaloïdes (**AT, FN, FA, FB**) de *Fumaria officinalis* possèdent une activité antioxydante et une capacité assez importante à piéger les radicaux libres.

L'étude de la toxicité aigüe des extraits de *Fumaria officinalis*, après administration orale d'une dose unique de **500** et **1000mg/kg**, montre quelques signes de toxicité sur le comportement des souris traitées, la consommation de l'aliment et le volume d'eau ainsi que la masse relative des organes.

Néanmoins, ce travail reste préliminaire et plus superficiel, et il nécessite, donc :

- ❖ D'autres études approfondies pour mieux se concentrer sur les effets révélés. La contribution à la recherche de propriétés antioxydante à partir des extraits de cette plante est introductive. Celle-ci constitue une estimation d'une éventuelle activité antioxydante *In vivo* qui pourrait, également, prévenir contre plusieurs maladies et altérations tissulaires.
- ❖ Comme il nécessite de compléter l'étude des toxicités subaigües et chroniques ainsi que la caractérisation des alcaloïdes de l'espèce étudiée par les différentes méthodes d'investigations.



Références bibliographiques

«A»

- Afonso, V., Champy. R., Mitrovic. D., CollinP. et Lomri. A. (2007). Reactive oxyge species and superoxide dismutases: role in joint diseases. 74: 636–643.
- Albert, M.G., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh , Z. et Jore , D. (2003). Espèce réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91-96.
- Aniszewski, T. (2007). Allkaloids Secrets of Life Alkaloide Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role. *Elsevier B.V.All rights reserved*, P:6.
- Amarowicz,R., Pegg, R.B., Rahimi-Moghaddam, P., Bral, B. et Weile, J.A.(2004). Free radical scavenging capacity and antiaxydant activité of selected plant species from the Canadien prairies. *Food Chemistry*,84:551-562.

«B»

- Bach, D. (1998). Cours de botanique générale. P :171-238.
- Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Médecine Sciences*, 22 :266-272.
- Beloued, A. (2009). *Plantes médicinales d'Algérie*. Office des publications universitaire. 102p.
- Betti, H.A., Betti, H.A., Stein, A.C, Dallegrove, E., Barth Wouters, A.T., Negrão Watanabe, T.T., Driemeier, D., Buffon, A., Kuz Rates, M.S., (2012). Acute and repeated-doses txicity study of *Hypericum polyanthemum* Klotzsch ex Reichardt (Guttiferare) in mice. *Food and Chemical Toxicology (In press)*.
- Bhat, S.V Nagasampagi, B.A; Sivakumar, M. (2005). *Chemistry of Natural Products*.
- Bonnet, D., Mejdoubi, S., Sommet, A. et Alric, L.(2007). Hépatite aigue probablement imputable au fumeterre et à la vigne rouge, produits de phytothérapie. *Gastroenterol Clin Biol*. 31:1041-1042.
- Boukeloua, A. (2009). Caractérisation botanique et clinique et évaluation pharmactoxicologique d'une préparation topique à base d'huile de *Pistacia lentiscus* L.(Anacardiaceae). 73p.
- Boyd, B., Ford, C., Koepke, M.C., Gary, K., Horn, E., McAnalley, S., et McAnalley, B. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience & Nutrition*. 4 (6):7.
- Bruneton, J. (1987). *Elément de phytochimie et de pharmacognosie*. Paris : Technique et Documentaire Lavoisier.. 345p.

- **Bruneton, J. (1991).** *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales.* Paris : Technique et Documentation Lavoisier. 239-915p.
- **Bruneton, J. (1999).** *Pharmacognosie, Phytochimie, Plante médicinales.* Paris : TEC et DOC Lavoisier.784-800p.
- **Bruneton, J. (1999).** *Pharmacognosie, Phytochimie, Plante médicinales.* Paris : TEC et DOC Lavoisier.784-800p.
- **Bruneton, J. (2009).** Alcaloides. In : *pharmacognosie. Phytochimie, Plante médicinales.* Paris : TEC et DOC Lavoisier (4). P.1067-1068.

«C»

- **Chia, Y.L., Hsin, J.L. and Tian,S.W. (2005).** Arapid and simple determination of protoberberine alkaloids in cortex phellodendri by H NMR and its application for quality control of commercial traditional Chinese medicine prescriptions.*Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*,(5378):6-17.
- **Claverie, I. et Hedde, H. (2008).** Pharmacologie générale, mécanisme fondamentaux. *Porphyre*,48-61.
- **Coste, H. (1937).** *Flore descriptive et illustré de la France, de la corse et des contées limitrophes.* Paris : Ed Librairie des sciences et des arts. 191p.
- **Cuvelier ,C., Dotreppe,O. et Istasse, L. (2003).** Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann. Méd. Vét*, 147: 315-324.

«D»

- **Dawidowicz, A., Wianwoska, D. et Baraniak, B. (2006).** The antioxidant properties of alcoholic extrats from *Sambucus nigra L.* *LWT*,39: 308-315.
- **Defraigne, J.O. et Princemail, J. (2007).** Stress oxydant et Antioxydants, mythes et réalités. *Rev Med Liege* ,62 :4.
- **Dellile, L. (2007).** *Les plantes médicinales d'Algérie.* Alger : Ed Berti.120-121p.
- **Dewick, P.M. (2002).** *Medicinal Natural products.* 315-346p.
- **Didier, C.K. (2004).** *les plantes médicinales.* Ed LAS. 58-59p.
- **Dubray, M. (2010).** *Fumaria officinalis.* Cour d'erboristerie Tout droit réservé, reproduction strictement interdite, Document réservé à un usage personnel.
- **Duke, J.A., Bogenschntz., Godwin., Du cellier J and Ducke, P.A.K. (2002).** Hand bok of medicinal herbs. *Ed Lavoisier*, (2) : 314.

«F»

- **Farzana, A. (1997).** Isolation and structural studies on the chemical constituent of *Withania somnifera*, *Fumaria flabellata* and x-ray diffraction studies., 106-107.
- **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, **108-115**.
- **Fintelmen, V. et Weiss, R.F. (2002).** *Manuel pratique de phytothérapie*. Paris :Ed Masson. 417p.
- **Forceville, X. P. et Antwerpen, V. (2008)** .Composés sélénés et sélénium, quelle place en réanimation ,17 :442-453.
- **Fouché, J.C., Marquet, A . et Hambuckers, A. (200)**. Les plantes médicinales, de la plante au médicament. *Observation du monde des plantes, Star-Tilman*.
- **Francoise, M., André, D., Laurence, D.B., Carine, F., Michel, B. et Pierre, F. (2004).** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *M/S : médecine science*, 20(4):458-463.

«G»

- **Granier, G., Bezanger, L., Beauquesn et Debraux, G. (1961).** *Ressources médicales de flore française*. Tom 1. Edition vigot. P: 509.
- **Grycova, L; Dostál, J. et Mrek, R. (2006).** Ouaternary proberberine alkaloids. *Phytochemistry*, **68** : 150-175.
- **Goetz, P., Ghedira, K . et Le Jeune, R. (2009).** *Fumaria officinalis L. (Fumariacée): Matière médicale pratique*. Phytothérapie, 221- 225p.
- **Goetz, P. (2010).** Traitement de fond de l'asthme par la phytothérapie. **8**:302-305.
- **Goetz, P. (2011).** Insuffisance biliaire (non lithiasique). *Phytothérapie*, **9**: 172-175.
- **Guignard, J.L. (2000).** *Abrégé de Biochimie végétale*. Paris :Masson , 201-209p.

«H»

- **Halliwell B, Gutteridge JM.(2006).**Cross CE. Free radicals, *antioxidants and human disease*. 598–620p.
- **Harborne, J.B., Herbert, B. (1995).** *Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. Bristol: Taylor & Francis.
- **Haton, C.(2005).**Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale, **43**.

- **Hemalatha, S., Lalitha, P. et Arulpriya, P. (2010).** Antioxidant activities of the extracts of the aerial roots of *Pothosaurea*(Linden ex Andre). *Der Pharma Chemica*, 2 (6): 84-89.
- **Hesse, M. (2002).** Alkaloids – Nature’s Curse or Blessing, VHCA, Zürich.
- **Hodge, H.C. and Sterner, J.H. (1949).** Tabulation of Toxicity Class. *Americans Industrial Hygien Association Quarterly*, 10(4):93-96.
- **Hurabielle, M et Paris, M. (1981).** *Pharmacognosie. Abrégé de Matériel Médical. Plante à alcaloïdes.* Masson (2). 256-262p.

<<I>>

- **Iserin, P. (2001).** *Encyclopédie des plantes médicinales.* Identification, *preparation, soins.* Belgique : Masson. 10-11-213.
- **Iwasa, K. Moriyas, M. Tachibana, Y. Kim, H.S , Wataya, Y. Wiegrebe, W. Bastow, K.F. Cosentino, L.M, Kozukab, M. and Lee, K.H.(2001).** Simple Isoquinoline and Benzylisoquinoline Alkaloids as Potential Antimicrobial, Antimalarial, Cytotoxic, and Anti-HIV Agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 9: 2871-2884.

<<J>>

- **Jauzzein, P. (1995).** *Flore des champs cultivés.* Paris : Ed INRA..557p.

<<K>>

- **Kalam, S., Singh, R., Mani, A., Patel, J., Naem, K.F. et Pandey, A. (2012).** Antioxidants: elixir of life. *International Multidisciplinary Research Journal*, 1: 18-34.
- **Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., and Jukic, M. (2006).** Screening of 70 medical plant extracts of antioxidant capacity and totalphenol. *Food Chemistry*,94:550-557.
- **Kerharo, J. et Adam, J.M. (1974).** *La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques.* , Paris : Vigot frères. 623-625p.
- **Khaled , S., Bru., J. F. Bardet, L. et Cassanas, G. (1997).** Importance physiologique du zinc dans l'activité physique. *Science et sports*, 12: 179- 191.
- **Kranl, K., Schlesier, K., Bitsch, R., Hermann, H., Roche, M. and Bohm, V. (2005).** Comparing antioxidative food additives and secondary plant products-use of different assays. *Food Chemistry*, (93): 171-175.

- **Kritina Pelli et Marika Ily. (2002)** .Les antioxydant dans l'alimentation. *Institut National de la recherche Agronomique France*, 68 .
- **Kuete, V., Beng, P., Etoa, F.X., Modjon, S.L; Bogue, P; Assob, J.C. et Lontsi, D.B. (2004).** *Activités antimicrobiennes de l'extrait total et des fractions de jus de fruits de Citrus Medicalin (Rutaceae).* *Pharm. Méd. Trad*, **13**: 91-94.

«L»

- **Lagnika, L. (2005).** Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes Béninoises. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur. Strasbourg. P: 90-94.
- **Laguerre. M., Lecomte, J. et Villeneuve, P. (2007).** Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research*, 46: 244–282.
- **Lapointe, G. (2004).** *Notions de Toxicologie.* Canada : Commission de la santé et de la sécurité du travail. 16-20p.
- **Le, K., Chiu, F. et Ng K. (2007).** Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, 105: 353–363.
- **LeBlanc, G.A. (2010).** Acute toxicity. In: *A Textbook of Modern Toxicology.* John Wiley & Sons. New Jersey. 125-236.
- **Li, H.B., Cheng, K. W., Wong, C.C., Fan, K. W., Chen, F. et Jiang, Y. (2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae *Food chemistry*, **102**:771-776.
- **Linden, M., Fukuhara, T., Rylander, J. and Oxelman, B. (1997).** Phylogeny and classification of Fumariaceas, with Emphasis on *Dicentra S.I* based on the plastid gene RPS. *Plant systematic and Evolution*, **206**: 411-420.
- **Lopez, S., Tojo, E., Blanco, O., Villavarde, M.C. et Castedo, I. (1991).** Alkaloids from Spanish *Sarcocapnos* species. *Photochemistry*, **30**: 1175-1182
- **Liu, H., Jensen, K.M., Tran, L.M., Chen, Zhai, L., Oisen, C.E., SOhoel, H., Denmeade, S.R., Issacs, J., T. et Christensen, S.B. (2006).** Cytotoxic phenylpropanoids and an additional thapsigargin analogue isolated from *Thapsia gargaris*. *Phytochemistry*, **67**: 2651-2658.

<<M>>

- **Mahmoudian, M., Jalilpour, H. et Salehian, P. (2002).** Toxicity of *Peganum harmala*: Review and a Case Report . *Iranian Journal of Pharmacology*, **1**: 1-4.
- **Maiza-Benabdesselam, F; khemtache, S; Bougoffa, K; Chibane, M; Adach, S; Chapeleur, Y; Max, H et Laurain-Mattar, D. (2007).** Antioxidation activities of alkaloid extracts of two Algerian species of Fumaria :Fumaria capreolata and Fumaria Bastardi. *Rec. Nat.Prod.*2-3-28-35.
- **Marc, F., André, D., Laurence, D.B., Carine, F., Michel, B. et Pierre, F. (2004).** Méthode d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *médecin science*, *20(4)*:458-463.
- **Milardovic, S., Ivekovic, D. and Grabaric, B.S. (2006).** A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical Bioelectrochemistry. (68): 175-180.
- **Mohammedi, Z. (2005).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région du Tlemcen , Thèse de magistère , Université-Abou Bakr Belkaid-Telemcen .
- **Mohammedi, Z. (2006).** *Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques régions de tlemcn.* These de magister. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen, 155 p.
- **Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 26.2: 211-219.
- **Moreau, F. (1948).** *Alcaloïdes et plantes alcaloïferes.* Paris. 13-14p.
- **Mukinda, J.T. et Syce, J.A. (2007).** Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, **112**: 138-144.
- **Munne-Bosch S., Alegre L & Schwarz K . (2000).** The formation of phenolic diterpenes in *Rosmarinus officinalis L.* Under Mediterranean Climate. *Eur Food Res Technol.* **210**: 263–267.

<<p>>

- **Parihar , A., Parihar, M. S., Milner, S. et Bhat, S. (2008).** Oxidative stress and anti-Focus on antioxidant enzymes and antioxidant oxidative mobilization in burn injury. *Burns*, 34: 6-17.

- **Perrot, E. et René. (1995).** *Les plantes médicinales.* Ed De boek, 100p.
- **Pincemail, J., Defraigne, J. O., Meurisse, M. et Limet, R. (1998).** Antioxydants et prévention des maladies cardiovasculaires, 2ème partie: la vitamine E. *Medi Sphere.*
- **Pincemail, J. et Defraigne, J.O. (2004).** Les antioxydantes : un vaste réseau de déférence pour lutter contre effet toxiques de l’oxygène.
- **Poiret, D. et SPRL, W. (2010).** Fumeterre (*Fumaria officinalis*). *Phytothérapie. Plantes médicales.*
- **Polat, R. et Satil, F. (2012).** An ethnobotanical survey of medicinal plants in Edremit Gulf (Balikesir-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, **139**: 626-641
- **Popovici, C ; Saycova, I et Tylkowski, B.(2009).**Evaluation de l’activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel.*25-39p.
- **Pourmorad, F., Hosseinimiehr, S.J. et Shahabimajid, N.(2006).** Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected iranian medicinal plants. *African journal of biotechnology.* 5(11): 1142-1145.
- **Puy, H.(2012).** Cours n°7 : Introduction aux radicaux libres et espèces réactives de l’oxygène. 34p.

«Q»

- **Quezel, P. et Santa, S. (1962).** *Nouvelle Flore de l’Algérie et Régions Désertiques Méridionales.* Edition CNRS, 259.
- **Qian, H. et Venant, N.B. (2004).** Antioxidant power of phytochemical form *Psidium guajava* leaf. *Zhejianguniv SCI.* **5(6)**: 656-683.

«R»

- **Rahman, K. (2007).** Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging.*, **2**: 219-236.
- **RakotondramasyRabesiaka, L., Havet, J.L. Porte, C. and Fauduet, H. (2007).** Solid-liquid extraction of protopine from *Fumaria officinalis* L.–Analysis determination, kinetic reaction and model building. *Separation and purification Technology*, **54**:253-261.
- **RakotondramasyRabesiaka, L., Havet, J.L., Porte, C and Fauduet, H. (2008).** Solid-liquid extraction of protopine from *Fumaria officinalis* L.–Experimental study and process Analysis optimization. *Separation and purification Technology*, **59**:253-261.

- **Ramonatxo, K.C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires, 20 :165–177.
- **Raza, M., Al-Shabanah, O.A., El-Hadiyah, T.M. and Al-Majed, A.A. (2002).** *Effects* of prolonged vigabatrin treatment on hematological and biochemical parameters in plasma, liver and kidney of Swiss albino mice. *Scientia Pharmaceutica*, **70**: 135-145.
- **Reichil, F.X. (2004).** *Toxicologie générale* « Guide pratique de toxicologie ». Boeck 6p.
- **Ribéreau, Gayon. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Paris : *Ed Dunod*. 55-86p.
- **Richter, G. (1993).** Métabolisme *des végétaux physiologie, biochimie*. 12: 431-456.
- **Roux, D. et Catier, O. (2007).** *Butanique Pharmacognosie Phytothérapie*. France: *Wolters Kluwer(3)*. 89p.



- **Salinas, M.J. and Suarez, S.V. (2002).** Floral biology of genus *Sarcocapnos* DC; (Fumariaceae). *Acta Botanica Malacitana*, (**27**): 27-40.
- **Schlesier, K., Harwat, M., Bohm, V., Bitsch, R. (2002).** Assessment of antioxidant activity by using different in vitro method. *Free Radic*, 36(2): 177-187.
- **Schnebelen, B.A., Goetz, P., Grassart, E., Hunin, M., Iserin, P., Jacquemin, M., Lejeune, R., Leroux, J., Martin, G., Paris, M. et al. (2008).** *Les plantes médicinales*. Canada: Sélection du Reader's Digest(2). 226p.
- **Shimizu, H.(2004).** Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population :the Hisayama study. *Stroke*, **35** (9): 2072-2077.
- **Sturm, S., Strasser, E.M. and Stuppner, H. (2006).** Quantification of *Fumaria officinalis* isoquinoline alkaloids by nonaqueous capillary electrophoresis–electrospray ion trap mass spectrometry. *Journal of chromatography A*, 331-338.
- **Sosek, K.j; Guedon, D; Adam, T; Bochorakova, H; Taborska, E; Valka, I; Simanek, A. (1999).** Alkaloides and organic acids content of eight *Fumaria* species. *Phytochemical analysis*. 6-11p.
- **Suau, R., Cabezudo, B., Rico, R., Lopez-Romero, J.M. and Najera, F. (2002).** Alkaloids from *Fumaria sepium* and *Fumaria agraria*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **30**: 263-265.

«T»

- **Teo, S., Strlig, D., Thomas, S., Hoberman, A., Kiorpes, A. and Khetani, V. (2002).** A 90 days oral gavage toxicity study of d-methylphenidate and d,l-methylphenidate in Sprague-Dawley rats. *Toxicology*, **79**: 183-196.
- **Torres, R et al., Berinck G.S, Nascimento G.F, Fortier S.C, perssoa C, Morases M.O.(2002).** Antibacterial activity against resistant bacteria and cytotoxicity of four alkaloid toxins isolated from the marine sponge *Arenosclera brasiliens*. *Toxicon*.891p

«V»

- **Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M. and Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, **160**: 1–40.
- **Valnet, J. (2003).** *Phytothérapie*. Ed Vigot. 348-349p.
- **Verba, J., Vrubleova, E., Modriansky,M. and Ulrichova, J.(2011).**Protopine and allocryptopine increase Mrna levels of cytochromes P450 1A in humain hepatocytes and HepG2cells indepently of AhR. *Toxicology Letters*, 203:135-141
- **Vercauterne, P.J. (2007).** *Cours de pharmacognosie spéciale-Généralistés. Drouges à alcaloides isoquinoléiques issus de tyrosine ou de phénylalanine*. 205-240p.
- **Viala, A . et Botta, A. (2005).** Notions sur la toxicologie. In: *Toxicologie*. Paris : *Lavoisier* (2). 1026-1037.
- **Vilano D.M., Fernandez-Pachon, M.S., Moya M.L., Traoncoso, A.M. et Garcia-Parrila, M.C. (2007).** Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*. 71: 230-235.

«W»

- **Wang, W., Wu, N., Zu Yand, et Y Fu (2012).** Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chemistry*, 108: 1019-1022.

«Z»

- **Zazzo, J.F. (2002).** Stress oxydant au cours des états inflammatoires aigus et des états d'agression. *implications pour la pratique clinique*, **16** : 268–274.



Annexes

ANNEXE I

1- MATERIEL UTILISE PENDANT LA PARTIE PRATIQUE

- Agitateur ;
- Ampoule à décanter ;
- Balance analytique RADWAG ;
- Balance de précision RADWAG ;
- Baillons ;
- Barreaux magnétique ;
- Bain –marie ;
- Béchers ;
- Boîtes de pétries ;
- Broyeur électrique ;
- Compte – gouttes ;
- Cristalliseur ;
- Cuves ;
- Eprovettes ;
- Etuve WTC binder ;
- Gants chirurgicaux ;
- Micropipette 100 – 1000 μ l ;
- Micropipette 10 – 100 μ l ;
- Papier absorbant ;
- Papier aluminium ;
- Papier filtre Wattman ;
- Paraffine ;
- PH mètre HANNA ;
- Pissette ;
- Soxhlet Gerhardt ;
- Spatule ;
- Spectrophotomètre Unico ;
- Seringues ;

- Tamiseur électrique Retsch ;
- Tubes héparinés ;
- Tubes à essais ;
- Trousse à dissection contenant, des aiguilles, des pinces hémostatiques, la paire de ciseaux fins, de gros ciseaux, aiguilles de fixation ect.
- Vortex ;

2-LES PRODUITS

- Ammoniac ;
- Acide acétique ;
- Acide trichloracétique « **TCA** »
- Chloroforme ;
- Chlorure de sodium « **NaCl** » ;
- Dichlorométhane ;
- Diéthyléther ;
- Ethanol « **C₂H₆O** » ;
- Eau distillé «**D H₂O** » ;
- Méthanol « **MeOH** » ;
- Tampon phosphate ;
- Ferricyanure de potassium « **K₃Fe(CN)₆** »
- Diphényle picryl-hydrazyle (**DPPH**)

3-Préparation des solutions pour les tests de l'activité antioxydante

3.1- préparation d'ABTS (Pour 7Mm)

- Solution d'ABTS à 7mM : dissoudre 72 mg d'ABTS dans 20 ml d'eau distillée, ajouter 13.24 mg de persulfate de potassium.
Incuber 12 à 16h à
T° ambiante et à l'obscurité puis placer au réfrigérateur pour stopper la réaction.

3.2- Préparation des solutions pour le pouvoir réducteur

A- Préparation de tampon phosphate à pH=6,6

- $\text{Na H}_2\text{PO}_4$: 3.12g/100 ml d' H_2O_D
 - Na_2HPO_4 : 7.16 g g/100 ml d' H_2O_D
- } Neutraliser la solution basique par la Solution acide jusqu'à pH 6,6.

B-Préparation de ferricyanure de potassium

- Ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) à 1% :1 g/100ml d' H_2O_D

C-Préparation de l'acide trichloracétique

- Acide trichloracétique (TCA) à 10% :10 g/100ml d' H_2O_D .

D-Préparation de chlorure ferrique

- Chlorure ferrique (FeCl_3) à 0,1% : 0,1g / 100ml d' H_2O_D .

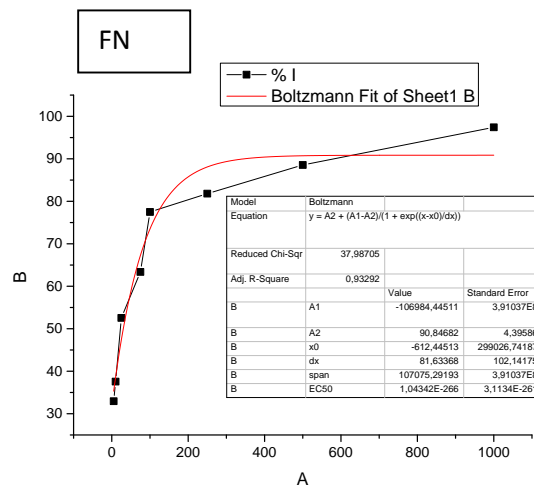
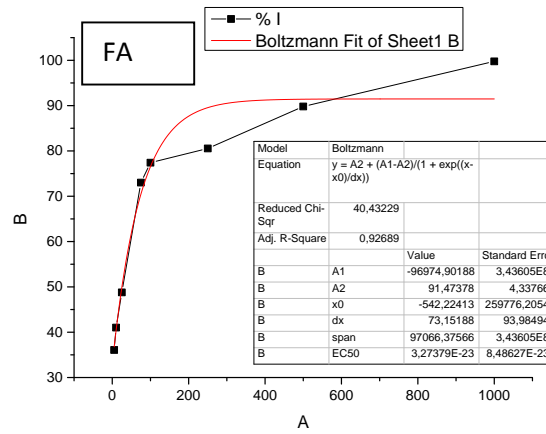
3.3- Préparation du DPPH à 0,1 mM

- Solution de DPPH à 0.1mM : dissoudre 3.49 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol.
- Solution d'extrait mère à 1mg/ml : 10mg d'extrait dans 10ml de méthanol.

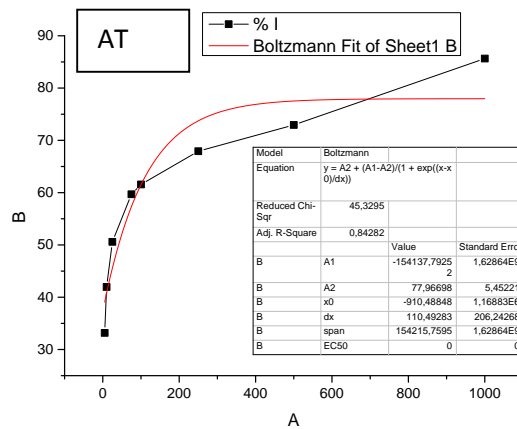
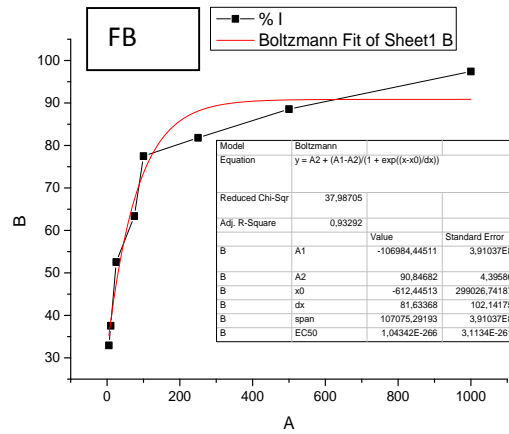
4-ANTIOXYDANTS STANDARDS

- Acide ascorbique ;
- BHA ;
- Trolox.

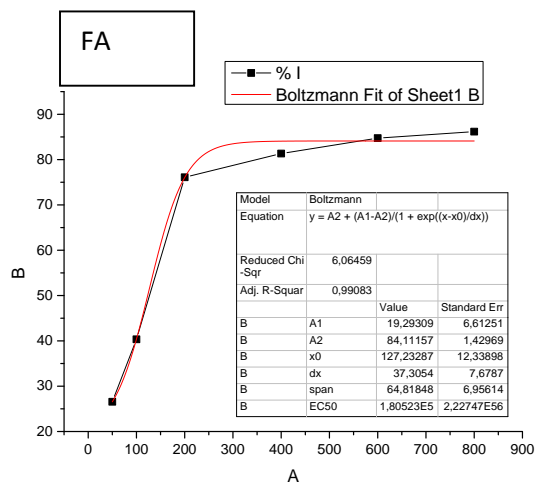
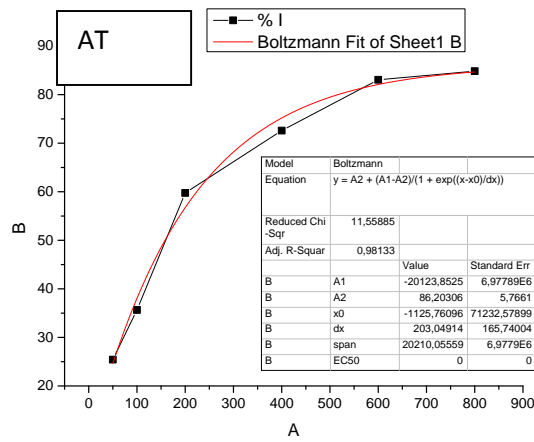
ANNEXES II: Courbes de calcul de l'IC50 dans l'activité scavenging du radical DPPH



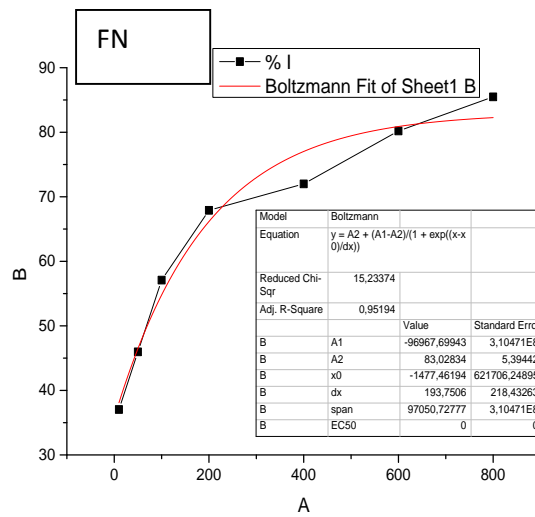
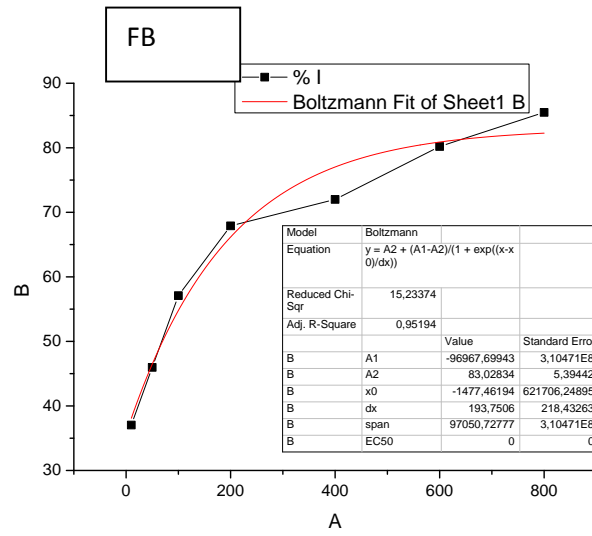
ANNEXES II: Courbes de calcul de l'IC50 dans l'activité scavenging du radical DPPH



ANNEXES III : Courbes de calcul de l'IC50 dans l'activité scavenging du radical ABTS



ANNEXES III : Courbes de calcul de l'IC50 dans l'activité scavenging du radical ABTS



Résumé

Fumaria officinalis appelée communément «Zalamit» est une plante de la famille des Fumariaceae, très répandue en Algérie. Dans ce travail on recherché les éventuelles activités antioxydantes et les effets toxiques des alcaloïdes de la partie aérienne de *Fumaria officinalis*. La présente étude est divisée en deux parties essentielles. la première est consacrée à l'étude *In vitro* du pouvoir antioxydant réalisée par trois méthodes différentes qui sont : test au DPPH, pouvoir réducteur et le test de réduction du radical ABTS⁺. En revanche, la deuxième partie consiste en une étude *in vivo* de la toxicité aigüe en suivant l'évolution des effets toxiques. L'extrait alcaloïdique a montré, *In vitro*, une bonne activité scavenging DPPH avec un IC50 de FB qui est le plus efficace = 16,04 % , pour le pouvoir de réduction du fer avec un IC50 de FB 115,64% et le piégeage de radicale ABTS est de 398,76 % . L'étude préliminaire de la toxicité aigüe chez les souris *albinos Wistar* traitées par des doses croissantes (50mg/kg, 100mg/ml) des alcaloïdes isoquinoléiques de *Fumaria officinalis* par voie orale ne montrée pas de mortalité pendant les 14 jours qui suivent l'administration des extraits , à l'exception des signes cliniques et des modifications pathologiques qui sont remarquable.

Mots-clés : *Fumaria officinalis*, alcaloïdes, activités antioxydantes, toxicité.

Abstract

Fumaria officinalis, commonly called "Zalamit" is a plant of the family Fumariaceae very answered in Algeria. In this work sought possible antioxidant activity and toxic effects of alkaloids aerial part of *Fumaria officinalis*. The presentation paper is divided into two main parts. the first is devoted to the study of *in vitro* antioxidant produced by three different methods which are: DPPH test, and reducing power reduction test ABTS + radical. However, the second part consists of an *in vivo* study of the acute toxicity following the evolution of toxic effects. The alkaloid extract to show, *in vitro*, a good scavenging activity DPPH with FB IC50 = that the most effective 16.04% for power reduction with iron 115.64% FB IC50 and radical trapping ABTS is 398.76%. The preliminary study of acute toxicity in Wistar albino mice treated with increasing doses (50mg / kg, 100mg / ml) of isoquinoline alkaloids of *Fumaria officinalis* orally only showed no mortality during the 14 days following administration extracts, with the exception of clinical signs and pathological changes are remarkable.

Fumaria، ويطلق عليه "Zalamit" هو نبات من العائلة Fumariaceae أجاب جدا في الجزائر. في هذا العمل يسعى الممكن النشاط المضاد للأكسدة والآثار السامة من القلويدات جزء من الجو *Fumaria* المخزنية. وتنقسم الورقة العرض إلى قسمين رئيسيين. ويخصص أول من الدراسة في المختبر مضادات الأكسدة التي تنتجها ثلاث طرق مختلفة وهي: اختبار DPPH والحد من تخفيض استهلاك الطاقة اختبار ABTS + راديكالية. ومع ذلك، فإن الجزء الثاني يتكون من الدراسة المجراة من السمية الحادة بعد تطور من التأثيرات السامة. استخراج قلويد لظهار، في المختبر، جيدة DPPH FB IC50 = 16.04٪ للحد من السلطة بالحديد 115.64 FB IC50 ABTS هو 398.76٪. الدراسة الأولية من السمية الحادة في الفئران البيضاء ويستار تعامل مع جرعات متزايدة (50 mg / 100 mg / مل) من القلويدات *Fumaria isoquinoline* المخزنية شفوياً أظهر فقط أي وفيات خلال 14 يوماً التالية الإدارة مقتطفات، مع استثناء من العلامات السريرية والتغيرات المرضية لافتة للنظر.

Fumaria المخزنية، وقلويدات، ومضادات الأكسدة، والسمية.