

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira –Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique



Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

Thème

*Effet in-vitro des alcaloïdes de Fumaria agraria sur
les calculs rénaux*

Élaboré par :

Mr. GUENDOUL Khaled

Mme. MEGRI Fahima Epse. OUKACHEBI

Composition du jury :

Président : Mr. OUCHEMOUKH S.

(Pr. Université de Bejaia)

Examinatrice : Mme KASMI S.

(MAA Université de Bejaia)

Promotrice : Mme BOUGOFFA-SADAOUI K.

(MCA. Université de Bejaia)

Année Universitaire : 2021-2022

Dédicaces

C'est avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie que je dédie ce travail à ma chère **Mère** et mon cher **Père** qui m'ont soutenu tout au long de ma vie ainsi qu'à ma chère et unique **Sœur**.

À ma collègue **MEGRI Fahima** et à toute sa famille et à son époux **OUKACHEBI Missipssa**.

À mon cher ami **ABBOU Nassim** qui m'a toujours soutenu et encouragé, et à tous mes amis qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, santé et de réussite.

Khaled

Dédicaces

C'est avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie que je dédie ce travail à ma chère **Mère** et mon cher **Père** qui m'ont soutenu tout au long de ma vie, pour l'amour qu'ils m'ont toujours donné et pour leurs encouragements. Aucun mot, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mon amour pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon instruction et mon bien-être.

À mes très chers frères **Mohand** et **Lyes**, à mes chères sœurs **Mounia**, **Hania** et **Samia** ainsi qu'à mon très cher neveu **Youba**.

À mon très cher mari **MISSIPSSA** pour tout l'encouragement, le respect et l'amour que tu m'as offert, je te dédis ce travail, qui n'aurait pas pu être achevé sans ton éternel soutien et optimisme.

À mon collègue **GUENDOUL Khaled** et à toute sa famille,
À ma chère copine **Nouna** pour tous son soutien et son amour,
À mes très chère **Hanan** et **Ryma** pour tous leurs soutiens, amour et tendresse, je vous remercie du fond du cœur.

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, santé et de réussite.

Fahima

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout-puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce travail.

Nos sincères remerciements sont adressés à notre chère promotrice, **Mme BOGOFFA-SADAOUI**, qui a mis toutes ces compétences à notre disposition, pour ces directives et Conseils judiciaires durant la réalisation de notre mémoire qui n'aurait pas été possible sans son intervention.

Nous remercions les membres du jury **Mr OUCHMOUKH, Mme KASMI** d'avoir accepté de juger notre travail.

Nous tenons à exprimer nos remerciements à **Mr. Zaidi Sid Ali** pour son aide précieuse.

Nos remerciements s'adressent au **Pr KHETAL** et **Pr BEDJOU** et à **Mr. BOUDJOUANE** de l'Université de Béjaïa pour leurs conseils et explications.

Nos remerciements s'adressent aussi au Professeur **SAHNOUN** de l'Université de Bejaia pour son aide dans l'identification de l'espèce végétale.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation.

Nos profondes gratitudes aussi au **Dr. KHEDER, Dr. ABDELFETTAH** et **Dr. CHIKHOUNE** pour leurs précieuses explications et conseils.

Nous remercions également tous les membres de laboratoire de recherche de Biologie Physico-chimique ainsi le laboratoire de Biologie Marine, qui nous ont aidés à réaliser ce travail.

Nos derniers remerciements et ce ne sont pas les moindres, vont à tous nos amis et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.

Fahima & Khaled

Sommaire

Table des matières	I
Liste des figures	IV
Liste des tableaux	V
Liste des abréviations	VI
Glossaire médicale	VII
Introduction	1

Partie I : Étude Bibliographique

Chapitre I : Lithiase urinaire

I- Anatomie et physiologie de l'appareil urinaire :	3
I-1- Anatomie du rein :.....	3
I-2- Anatomie des voies urinaires excrétrices :.....	4
I-2-1- Les calices :.....	4
I-2-2- Bassinet rénal (pelvis) :.....	4
I-2-3- L'uretère :.....	5
II- Pathologies de l'appareil urinaire :	5
II-1- Les maladies principales du rein :.....	5
II-2- Les maladies des voies excréto- urinaires :.....	5
II-3- Définition de la lithiase et le calcul urinaire :.....	5
III- Incidence et Épidémiologie :	6
IV- Mécanisme de formation des calculs :	6
V- Étiologies de la lithiase urinaire :	7
VI- Diagnostique des calculs urinaires et procédures à suivre :	7
VI-1- Étape Clinique :.....	7
VI-2- Bilan biologique :.....	7
VI-3- Imagerie :.....	8
VI-3-1- Échographie :.....	8
VI-3-2- Rayon X :.....	8
VI-3-3- Tomodensitométrie de l'appareil urinaire (uroscanner) :.....	8
VII- Classification morpho-constitutionnelle des calculs urinaires les plus fréquents :	9
VII-1- Lithiases d'organe :.....	9
VII-2- Lithiases d'organisme :.....	9
VII-3- Lithiase d'Oxalate de calcium :.....	11

VIII- Traitement de la lithiase urinaire :	13
VIII-1- Traitement urologique :	13
VIII-2- Traitement médicamenteux :	14
IX- Phytothérapie :	14
IX-1- Plante anti-lithiasiques et diurétiques :	14

Chapitre II : Les Fumariacées

I- Fumariacées :	15
I-1- Description de la plante <i>Fumaria agraria</i> :	15
I-2- Classification phylogénique :	16
II- Effet thérapeutique des Fumariacées :	17
III- Composition chimique de la fumeterre :	17
IV- Effet thérapeutique des alcaloïdes isoquinoléiques :	18

Partie II : Étude Expérimentale

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I- Matériels :	19
I-1- Matériel végétale :	19
I-2- Matériel et réactifs :	20
II- Méthodes :	20
II-1- Préparation de la poudre végétale :	20
II-2- Préparation des extraits alcaloïdiques :	20
II-2-1- Extraction des alcaloïdes de <i>Fumaria agraria</i> :	20
II-2-1-1- Extraction des alcaloïdes totaux :	21
II-2-1-2- Extraction des fractions alcaloïdiques :	22
II-2-2- Dosage pondéral des extraits alcaloïdiques (rendement massique) :	23
II-3- Formation des cristallites d'oxalate de calcium :	24
II-4- Préparation des solutions alcaloïdiques :	25
II-5- Inhibition de la formation des cristallites :	25
II-6- Test de dissolution des cristallites :	25

Chapitre II : Résultats et Discussion

I- Taux d'extraction des alcaloïdes « Dosage pondéral » :	26
I-1- Taux d'extraction des alcaloïdes totaux :	26
I-2- Taux d'extraction des fractions alcaloïdiques :	26
II- Formation des cristallites d'oxalate de calcium :	27
III- Inhibition de la formation des cristallites « Aspect préventif »:	28

III-1-	Résultats de l'inhibition préventive	28
III-1-1-	Effet inhibiteur des alcaloïdes totaux « AT »	28
III-1-2-	Effet inhibiteur de la fraction alcaloïdique neutre « FN »	30
III-1-3-	Effet inhibiteur de la fraction alcaloïdique acide « FA »	31
III-1-4-	Effet inhibiteur de la fraction alcaloïdique basique « FB »	32
III-2-	Discussion générale de l'inhibition préventive	34
IV-	Test de dissolution des cristallites d'oxalate de calcium « Aspect curatif »	37
IV-1-	Résultats du test curatif	37
IV-1-1-	Effet dissolutif des alcaloïdes totaux « AT » sur les cristallites d'oxalate de calcium.....	37
IV-1-2-	Effet dissolutif de la fraction neutre « FN » sur les cristallites d'oxalate de calcium.....	38
IV-1-3-	Effet dissolutif de la fraction acide « FA » sur les cristallites d'oxalate de calcium.....	39
IV-1-4-	Effet dissolutif de la fraction basique « FB » sur les cristallites d'oxalate de calcium.....	39
IV-2-	Discussion générale de la dissolution curative	40
Conclusion & perspectives :		42
Références bibliographiques :		44
Annexe : Appareils et réactifs		48

Liste des figures

Figure 1 : Anatomie générale de l'appareil urinaire.....	3
Figure 2 : Localisation et structure des reins.....	4
Figure 3 : Exemple des calculs urinaires de type d'oxalate de calcium.....	6
Figure 4 : Mécanismes et étapes de formation des calculs rénaux.....	6
Figure 5 : Densité et composition chimique des calculs	8
Figure 6 : Calcul d'oxalate de calcium montrant la transformation des cristaux Weddellite en Whewellite par conversion cristalline	12
Figure 7 : La composition chimique de la fumeterre	17
Figure 8 : Noyaux de bases d'isoquinoléine et ces principaux acides aminés dont il provient.....	18
Figure 9 : Photographie de la partie aérienne de <i>Fumaria agraria</i>	19
Figure 10 : Zone géographique de récolte de la plante, Tamokra , wilaya de Bejaïa- Algérie.....	19
Figure 11 : Photographie du Soxhlet (A) et schémas d'extraction par Soxhlet (B).	21
Figure 12 : Schéma du protocole d'extraction des alcaloïdes totaux de <i>Fumaria agraria</i>	22
Figure 13 : Schéma du protocole d'extraction par fractionnement des alcaloïdes de <i>Fumaria agraria</i>	23
Figure 14 : Les solutions utilisées pour la formation des cristallites : solution 1 et solution 2	24
Figure 15 : Les solutions d'alcaloïdes totaux et des fractions alcaloïdiques.....	25
Figure 16 : Réaction de formation des cristallites d'oxalate de calcium.....	27
Figure 17 : Formation des cristallites en solution sous forme d'un trouble blanc.....	28
Figure 18 : Effet inhibiteur des alcaloïdes Totaux sur la formation des cristallites.....	29
Figure 19 : Effet inhibiteur de la fraction neutre sur la formation des cristallites.	31
Figure 20 : Effet inhibiteur de la fraction acide « FA » sur la formation des cristallites.	32
Figure 21 : Effet inhibiteur de la fraction basique « FB » sur la formation des cristallites.	33
Figure 22 : Chromatogramme GC-MS de la fraction alcaloïdique basique « FB » de la partie aérienne de <i>Fumaria agraria</i>	35
Figure 23 : Interaction entre l'oxalate d'ammonium et l'extrait alcaloïdique.....	36
Figure 24 : Formation des Filaments et des Cristallites d'oxalate de calcium	37
Figure 25 : Résultat de dissolution des cristallites d'oxalate de calcium par les alcaloïdes totaux.....	38
Figure 26 : Résultat de dissolution des cristallites d'oxalate de calcium par la fraction FN	38
Figure 27 : Résultat de dissolution des cristallites d'oxalate de calcium par la fraction FA	39
Figure 28 : Résultat de dissolution des cristallites d'oxalate de calcium par la fraction FB	40
Figure 29 : Formation du polymère d'oxalate de calcium	41

Liste des tableaux

Tableau I : La classification morpho-constitutionnelle des calculs urinaires les plus fréquents	10
Tableau II : Les techniques de traitements urologiques	13
Tableau III : Description de la partie aérienne de <i>Fumaria agraria</i>	15
Tableau IV : Préparation des solutions d'inhibition de la formation des cristallites avec les alcaloïdes totaux/fraction.	25
Tableau V : Taux d'extraction d'alcaloïdes totaux de la partie aérienne de <i>Fumaria agraria</i>	26
Tableau VI : Taux d'extraction des fractions alcaloïdiques de la partie aérienne de <i>Fumaria agraria</i> . 27	

Liste des abréviations

AT : Alcaloïdes Totaux.

BU : Bandelette urinaire.

diH : Dihydrate.

DRX : diffractométrie de rayons X.

ECBU : Examen cyto bactériologique.

FA : Fraction Acide.

FB : Fraction Basique.

FN : Fraction Neutre.

FTIR : spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier.

GC-MS : Chromatographie Gazeuse couplée Spectromètre de Masse.

GV : Gomme Végétale.

HU : Unite Hounsfield.

LEC : Lithotritie Extra-Corporelle.

moH : Monohydrate.

NLPC : Néphrolithotomies percutané.

pH : Potentiel d'Hydrogene.

SPIR : Spectrophotométrie infrarouge.

TDM : Tomodensitométrie.

Glossaire médicale

Acide urique : un produit de la dégradation des protéines qui est éliminé par les urines.

Analgésique : supprime ou atténue la sensibilité à la douleur.

Analyse morpho constitutionnelle : méthodes d'observation par méthodes optiques, complétées par des méthodes d'identification des espèces moléculaires et cristallines.

Antalgique : médicament qui calme la douleur.

Anti cancéreuse : médicament utilisé pour traiter le cancer.

Anti hypertensif : médicament utilisé pour traiter l'hypertension artérielle.

Anti inflammatoire : Médicament utilisé dans le traitement local de l'inflammation.

Anti lithiasique : médicament pour le traitement des lithiases biliaires.

Anti oxydant : protège les cellules de l'organisme de l'effet des radicaux libres.

Anti spasmodique : médicament utilisé dans le traitement des spasmes musculaires.

Calcémie : taux de calcium dans le sang.

Cristallerie : présence de cristaux dans les urines.

Cystinurie : maladie génétique responsable de lithiase rénale.

Diabète : maladie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit.

Diurèse totale : volume des urines émises en 24h.

Diurétique : terme caractérisant de façon générale ce qui augmente la sécrétion urinaire.

Glycémie à jeun : taux de sucre dans le sang le matin au réveil, suite à une période de 8h sans manger.

Hépatoprotectrice : médicament qui protège le foie.

Hyper calciurie : excrétion urinaire du calcium supérieure à 0,1 mmol/kg/24 heures.

Hyper oxalurie : excès d'oxalate entraînant des calculs rénaux.

Infection urinaire : infection bactérienne qui se limite à la vessie.

La bile : liquide qui facilite la digestion des graisses.

La créatinine : déchet de l'organisme qui provient de la dégradation de la créatine musculaire. Elle est éliminée dans les urines par filtration au niveau des reins.

La dérivation de type Bricker : consiste à dévier l'urine vers un segment de l'intestin grêle.

Laxatif : médicaments ou des préparations purgatives douces qui agissent sans irriter l'intestin.

Le méat urétral : situé à l'extrémité de l'urètre.

L'hyperparathyroïdie primaire : sécrétion excessive d'hormone parathyroïdienne par une ou plusieurs glandes parathyroïdes.

L'insuffisance rénale : l'incapacité des reins à filtrer correctement les déchets métaboliques du sang.

Lithiase urinaire : maladie caractérisée par la formation de calculs dans les voies urinaires (reins, uretère, vessie).

Lithogène : engendre la formation de calcul biliaire ou rénal.

Lithotritie extra corporelle : technique de lithotripsie qui consiste à éliminer en fragments les calculs (rénaux ou biliaires) par le biais d'ondes de choc ultrasonores.

Néphrolithotomie percutanée : intervention chirurgicale pratiquée à l'aide d'une incision d'environ 1 centimètre au flanc ou au dos pour retirer des pierres aux reins.

Perturbation métabolique : affections dues à l'accumulation dans les cellules de quantités anormalement élevées de substances normales ou pathologiques.

Région lombaire : située dans le bas du dos, correspond à la zone des cinq vertèbres lombaires.

Retro péritonéale : partie de l'abdomen en arrière de la cavité péritonéale. Il contient des organes des appareils urinaire et digestif

Syndrome sjogron : maladie auto-immune caractérisée par une infiltration lymphoïde des glandes salivaires et lacrymales responsable d'une sécheresse buccale et oculaire.

Urée : Substance cristalline que l'on rencontre dans le sang et l'urine.

Urétroscopie : l'urétroscope est inséré dans l'urètre jusque dans la vessie puis remonte dans l'uretère jusqu'au site à examiner.

Introduction

Introduction

À l'heure de la mondialisation et de l'industrialisation, la population humaine doit faire face à un certain nombre de maladies qui demeurent sans traitement adapté.

Pour beaucoup de maladies, un diagnostic et une prise en charge précoce sont souvent le garant d'une évolution favorable ou d'une guérison, la lithiase ne fait pas exception. Néanmoins, les calculs sont diagnostiqués au hasard lors d'examens radiologiques de routine chez le patient ou présentant des douleurs aiguës.

La lithiase urinaire est une pathologie fréquente qui affecte **4 à 18 %** de la population selon les études et les pays, c'est aussi une pathologie qui se transforme avec le temps et selon l'évolution des sociétés humaines, en raison de la modification des facteurs de risque de lithogénèse (**Jungers P, 1999**). Elle constitue un problème qui prend de l'ampleur dans les pays développés et en voie de développement. Cette maladie, caractérisée par la présence de calculs au niveau de l'appareil urinaire, est multifactorielle allant du simple défaut d'apports hydriques aux maladies génétiques en passant par la malnutrition, engendrant des anomalies d'excrétion urinaire et d'infections (**Harrache et al., 1997**).

La fréquence de la maladie lithiasique semble augmenter parallèlement avec l'augmentation du niveau de vie et l'évolution socio-économique et sanitaire des populations (**Fournier et al., 1991**).

Les coûts élevés des traitements restent un réel problème pour le patient, d'où l'urgence de la découverte de nouvelles thérapies plus actives, avec une balance bénéfice/risque acceptable à moindre coût. Face à ce constat, les scientifiques se retournent vers les produits naturels pour trouver des solutions (**Karou et al., 2005**). Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances thérapeutiques.

Le recours à la phytothérapie remonte à plusieurs siècles, en l'occurrence pour le traitement et la prévention des calculs urinaires (**Lucienne, 2007**), vue l'absence d'un traitement pharmacologique spécifique à cette maladie (**Lemaire, 2018**).

L'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes connues dans la médecine traditionnelle telles que les fumariacées. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs (**Teixeira da Silva, 2004**).

Au cours de ces dernières années, une étude menée sur l'espèce qui a fait l'objet de notre travail, *Fumaria agraria* de la famille des Fumariacées, a débuté par une enquête ethnobotanique et pharmacologique afin de prendre connaissance avec les différentes plantes médicinales utilisées dans la région de Béjaïa et de ses alentours (**Bougoffa-Sadaoui et al., 2015**).

Le genre « *Fumaria* » est très répandu dans notre région, son utilisation dans la médecine traditionnelle couvre plusieurs pathologies (**Maiza-Benabdessellem et al., 2007**). Des propriétés cytotoxiques vis-à-vis des lignées cellulaires cancéreuses mammaires et pulmonaires de l'espèce *Fumaria agraria* ont été mises en évidence, elles sont dues en grande partie à la présence d'alcaloïdes isoquinoléiques dans sa composition chimique et notamment la protopine (**Bougoffa-Sadaoui et al., 2015, Bougoffa-Sadaoui et al., 2021**).

Notre étude s'est déroulée au sein du laboratoire de Biologie physico-chimique de l'université de Bejaia où, le travail pratique a été divisé en deux parties : **i)** En premier lieu, il a été procédé à la collecte des échantillons et à la préparation des extraits de plantes et leurs dosages. **ii)** En second lieu, on a visé l'évaluation de l'effet inhibiteur des extrait alcaloïdique (totaux et fractions) sur la formation *in-vitro* des cristallites d'oxalate de calcium, un indicateur de lithiase oxalo-calcique, notamment leur effet dissolutif.

Dans cette optique, l'objectif de cette étude est d'examiner le pouvoir inhibiteur des alcaloïdes totaux et des fractions alcaloïdiques de la partie aérienne de *Fumaria agraria*, sur la formation et la dissolution des cristallites d'oxalate de calcium.

Pour cela, notre document a été organisé en deux parties, commençant par une introduction suivie par :

i) Une partie théorique qui englobe deux chapitres, le premier chapitre est consacré à des généralités sur la lithiase urinaire, tandis que le deuxième s'est porté sur l'étude bibliographique des fumariacées.

ii) La deuxième partie qui est une étude expérimentale comprend le chapitre des matériels et méthodes ainsi que le chapitre résultats et discussion.

Notre travail se clôture par une conclusion sous forme d'un récapitulatif des différents résultats obtenus où on a répondu à notre problématique : **les alcaloïdes de *Fumaria agraria* ont-ils un effet sur les calculs rénaux ?**

Partie I :
Étude Bibliographique

Chapitre I :
Lithiase urinaire

La partie frontale du rein présente une zone externe rouge appelée cortex rénal (*Cortex* : écorce) et une zone interne brune rougeâtre appelée médullaire rénale (*Medulla* : moelle) (Charier, 2002).

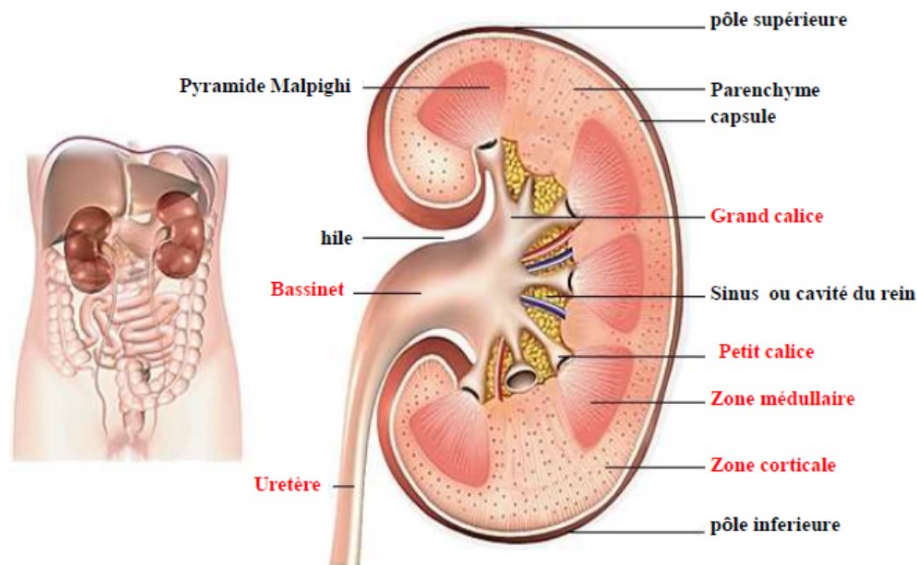


Figure 2 : Localisation et structure des reins (Michel, 2012).

I-2- Anatomie des voies urinaires excrétrices :

Les voies urinaires sont constituées par l'ensemble des conduits que l'urine traverse. Les calices reçoivent l'urine depuis les néphrons qui est ensuite déversée dans le bassinet. L'urine s'écoule ensuite par les uretères jusqu'à la vessie, où elle sera stockée avant d'être évacuée par l'urètre.

I-2-1- Les calices :

Les calices rénaux sont de petites cavités recevant l'urine provenant des papilles, qui sont d'autres petites cavités minuscules en provenance des cellules permettant la filtration du sang (les néphrons). Il existe deux types de calices :

- Les petits calices (calices mineurs).
- Les grands calices (calices majeurs).

I-2-2- Bassinet rénal (pelvis) :

Le bassinet du rein est un organe contractile qui facilite le passage de l'urine dans les voies urinaires. Ce dernier a une forme triangulaire, aplati d'avant en arrière. Elle est le résultat de l'union du grand calice, qui constitue un réservoir au niveau de chaque rein, recueillant l'urine sécrétée et la déversant dans l'uretère.

I-2-3- L'uretère :

Les uretères, droit et gauche, sont les conduits urinaires rétro-péritonéales qui relient le bassinet rénal à la vessie. Les uretères s'étendent de la jonction pyélo-urétérale jusqu'au méat-urétéral dans la vessie. Chez l'adulte, ils mesurent de 25 à 30 cm de long et ont un diamètre intérieur de 2 à 5 mm. Ils sont divisés en quatre parties : **rachis lombaire** (10 à 12 cm), **iliaque** (3 à 4 cm), **bassin** (10 à 12 cm) et **intravésical ou intramural** (2 cm). Ils se terminent dans la vessie par une voie sous-muqueuse oblique et participent à la formation du trigone ; les orifices des deux uretères sont distants d'environ 2 cm (**Henry et al., 2008**).

II- Les pathologies de l'appareil urinaire :

II-1- Les maladies principales du rein :

La glomérulonéphrite, le syndrome néphrotique, l'insuffisance rénale, anomalies congénitales des reins et tumeurs du rein, sont les principales atteintes au niveau rénal.

II-2- Les maladies des voies excréto- urinaires :

Il existe cinq groupes principaux d'affections des voies excrétrices basses : l'infection secondaire à un stade urinaire ou à une obstruction du flux urinaire ; l'obstruction due à une occlusion intrinsèque ou à une compression extrinsèque ; **la formation de calculs (lithiase urinaire)**, souvent secondaire à une stase urinaire infectée ; la formation des tumeurs, par exemple de l'urothélium ; et les malformations (**Stevens et al., 1997**).

Dans notre étude, on s'est intéressée à **la lithiase urinaire**.

II-3- Définition de la lithiase et le calcul urinaire :

Le terme « lithiase urinaire » désigne la maladie caractérisée par la formation de calcul dans les reins ou dans les voies urinaires. Le mot lithiase vient du grec : *lithos* "pierre" et celui de calcul vient du latin : *calculus*, nom des petits cailloux utilisés par les comptables romains.

Un calcul urinaire est un amas compact d'une ou plusieurs substances cristallisées. Ces substances sont de nature minérale ou organique, qui se précipite dans les cavités pyélocalicielles (les calices, bassinet) du rein ou dans les cavités des voies excrétrices urinaires (uretère, vessie) (**Hymam et al., 1996**).



Figure 3 : Exemple des calculs urinaires de type d'oxalate de calcium (Daudon et al., 2012).

III- Incidence et Épidémiologie :

L'incidence de la lithiase urinaire a en effet triplé depuis le début du XXème siècle, reflétant les habitudes alimentaires des pays industrialisés, où la consommation de sel, de sucre et de protéines animales a considérablement augmenté. Un apport hydrique insuffisant est un autre facteur de risque (Hannache, 2014).

L'évolution de l'Algérie vers un pays industrialisé se traduit par des changements dans la composition chimique des calculs rénaux, plus spécifiquement l'oxalate de calcium sous forme de "Whewellite" observé comme la phase chimique prédominante. Désormais, près de 50 % du calcul, est constitué principalement d'Oxalate de calcium, à 50,3 % dans l'Ouest algérien et 49,4% dans l'Est algérien (Hannache, 2014).

IV- Mécanisme de formation des calculs :

Le mécanisme de base de la formation de calculs se repose sur une concentration élevée de composés insolubles dans l'urine, ce qui entraîne la précipitation de cristaux, en s'agglutinant ensuite sous forme de calculs (Fig 4) (Jungers et al., 1999).

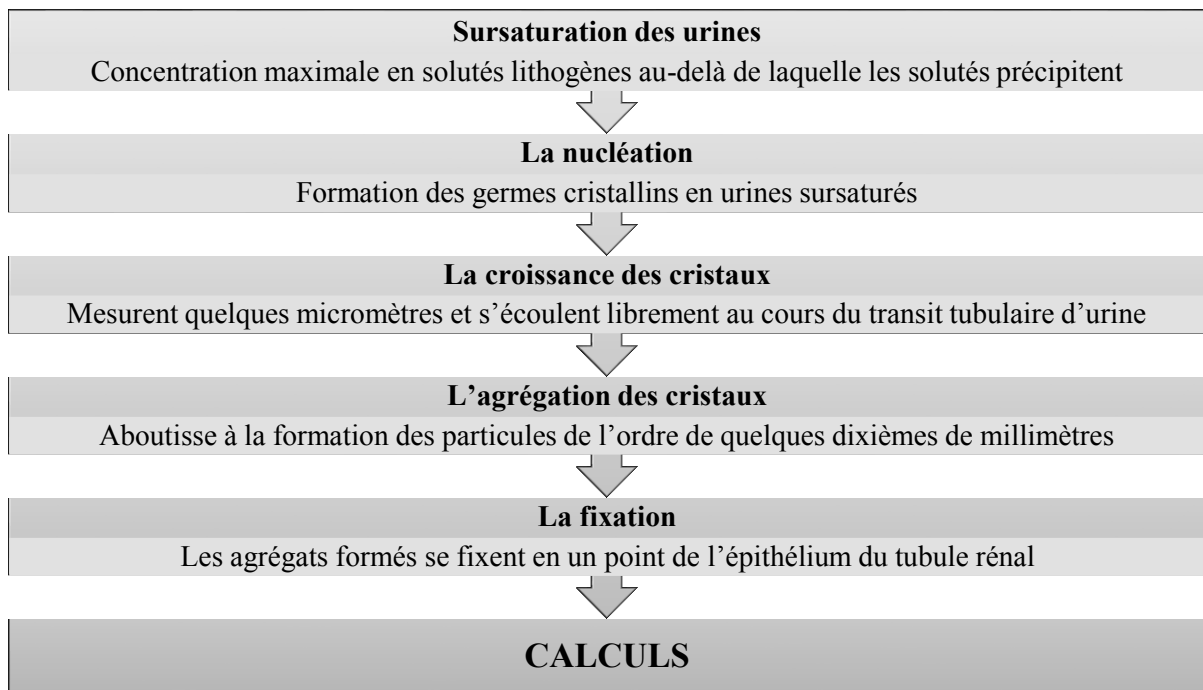


Figure 4 : Mécanismes et étapes de formation des calculs rénaux (Jungers et al., 1999).

V- Étiologies de la lithiase urinaire :

Les lithiases urinaires ont plusieurs origines citées ci-dessous :

- **Causes nutritionnelles** : apports hydriques insuffisants, alimentation riche en protéines et déséquilibrée.
- **Anomalies métaboliques génétiques** : rares, elles donnent souvent des lithiases très sévères, multi récidivantes, pouvant altérer la fonction rénale.
- **Pathologies acquises** : hyperparathyroïdie primaire, syndrome de Sjögren, diabète.
- **Causes iatrogènes** : interventions sur l'arbre urinaire, bypass (pour obésité) ou Bricker (reconstructions vésicales).
- **Causes médicamenteuses.**

Plusieurs de ces causes peuvent être associées ou se succéder dans le développement d'un calcul (Emile, 2009).

VI- Diagnostique des calculs urinaires et procédures à suivre :

Le diagnostic de la lithiase urinaire passe par plusieurs étapes :

VI-1- Étape Clinique :

Les principaux signes cliniques sont l'apparition de douleur brutale et persistante au niveau du dos ou sur le côté, elle est souvent associée à des nausées, vomissement et fièvre.

Le patient se plaint de miction fréquente et de présence du sang dans les urines. Le dépistage urinaire par bandelette (BU) constitue un moyen simple et rapide pour la révélation de la lithiase à un stade précoce.

VI-2- Bilan biologique :

Il est recommandé de prescrire systématiquement un bilan métabolique de base dès le premier épisode lithiasique :

- Sur les urines de 24 h : créatinine, calcémie, acide urique, urée, sodium, diurèse totale.
- Les urines du réveil : densité, pH urinaire, cristallurie, bandelette urinaire (BU).
- Bilan sanguin : créatinine, calcémie, acide urique, glycémie à jeûne.
- Examen cyto bactériologique (ECBU) (Jungers et al., 1999).

VI-3- Imagerie :

VI-3-1- Échographie :

Il confirme le diagnostic clinique de colique néphrétique par la détection de calculs radio-opaques.

VI-3-2- Rayon X :

Il s'agit d'une directive clinique importante, car les calculs calciques sont opaques aux rayons X. En revanche, les calculs d'urate (sans calcium) sont radiotransparents.

VI-3-3- Tomodensitométrie de l'appareil urinaire (uroscanner) :

Elle est considérée comme un test de référence pour l'exploration des calculs urinaires. La dureté du calcul peut être évaluée par la TDM (**Tomodensitométrie**), qui permet de prédire la composition chimique du calcul en mesurant sa densité en unités Hounsfield (HU). Les mesures de densité peuvent varier de 200 à 2460 HU. Plusieurs études ont tenté de corréler les mesures de la densité du calcul avec ses propriétés chimiques et sa dureté (**Fig 5**) (**Joseph et al., 2002 & Lechevallier et al., 2008**).

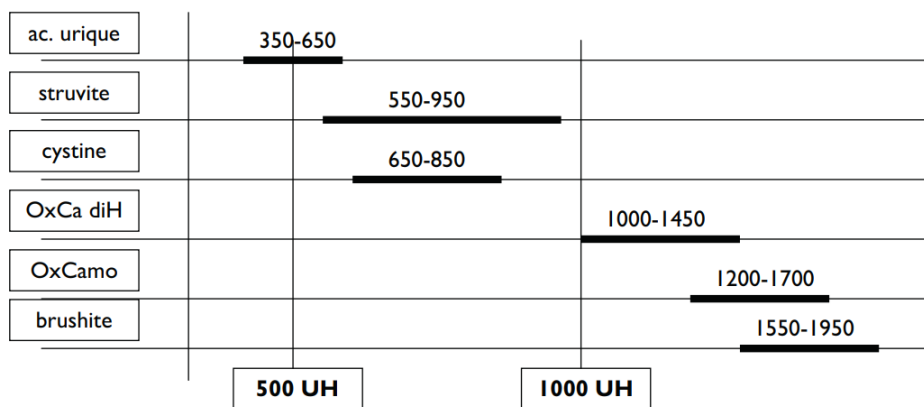


Figure 5 : Densité et composition chimique des calculs (Joseph et al., 2002 & Lechevallier et al., 2008).

La Spectrophotométrie infra-rouge “**SPIR**” est une technique physique d’analyse moléculaire qui permet l’analyse **morpho-constitutionnelle** du calcul urinaire.

VII- Classification morpho-constitutionnelle des calculs urinaires les plus fréquents :

VII-1- Lithiases d'organe :




Les lithiases d'organes sont secondaires à des anomalies du système urinaire, favorisant la stase et la formation de calculs.

Lorsque des calculs et des anomalies anatomiques sont détectés, les calculs doivent être retirés et les anomalies anatomiques doivent être corrigées (**Jungers et al., 2005**).

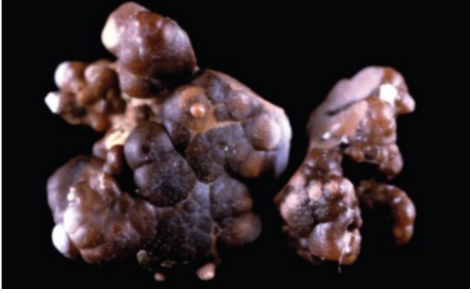



VII-2- Lithiases d'organisme :

Elles sont dues à une perturbation du métabolisme. On les classe en fonction de la nature des calculs (**tableau 1**).

Tableau I : La classification morpho-constitutionnelle des calculs urinaires les plus fréquents (Daudon *et al.* 1993 & Daudon, Jungers, 2012).

Classification	Composition chimique	Principales caractéristiques morphologiques	Facteurs favorisants	Photographie
Acide urique	Acide et sel d'urate	<p>Surface : Lisse homogène, orange Bosselée.</p> <p>Section : Concentrique et radiale, orange Inorganisée.</p>	pH urinaire acide	
Struvite	Phosphate d'ammonium et de magnésium	<p>Surface : Rugueuse ou cristaux ± soudés, blanche</p> <p>Section : Inorganisée ou radiale lâche, blanche à beige</p>	Infection urinaire à germes uréasiques	
Cystine	Cystine	<p>Surface : Grenue, rugueuse, brun-jaune</p> <p>Section : Radiale diffuse ou inorganisée, brun-jaune</p>	Cystinurie	

Dans notre présente étude, on s'est intéressé aux calculs rénaux de type **Oxalate de calcium**.

<p>Whewellite (moH)</p>	<p>Monohydrate d'oxalate de calcium</p>	<p>Surface : Mamelonnée, ombiliquée, brune</p> <p>Section : Concentrique et radiale, brune</p>	<p>Hyperoxalurie</p>	
<p>Weddellite (diH)</p>	<p>Dihydrate d'oxalate de calcium</p>	<p>Surface : Spicules anguleuses, brun- jaune</p> <p>Section : Coque concentrique, centre inorganisé brun-jaune</p>	<p>Hypercalciurie</p>	
<p>Brushite</p>	<p>Phosphates de calcium</p>	<p>Surface : Pommelée ou rugueuse, beige</p> <p>Section : Concentrique et radiale beige</p>	<p>Hypercalciurie, hyperparathyroïdie, diabète phosphaté,</p>	
<p>Lithiase infectieuse</p>	<p>Carbonate Phosphate d'ammonium et de magnésium</p>	<p>Surface : Lisse, Pommelée ou rugueuse, beige</p> <p>Section : Concentrique Inorganisée ou radiale, brun.</p>	<p>Infection urinaire, Présence de cristaux de struvite dans les urines, pH urinaire > 7</p>	

VII-3-Lithiase d'Oxalate de calcium :

L'oxalate de calcium, de formule moléculaire $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, avec $n = 1, 2, 3$, est largement décrit comme le principal composant inorganique des calcifications pathologiques. Chez

l'homme, ces phases cristallines sont le résultat d'une précipitation d'ions d'oxalate avec des cations de calcium Ca^{2+} , dues à une sursaturation de ces espèces ioniques. Cela se déroule dans les reins, principalement dans les tubules collecteurs et le bassinet du rein, ce qui entraîne la formation des calculs rénaux (**Daudon et Jungers, 2012**).

L'oxalate de calcium représente la principale phase minérale des calculs rénaux, environ 75% à 80 %, ils peuvent exister sous de nombreuses formes cristallines. Les deux principales phases rencontrées dans la lithiase urinaire sont la phase monohydratée $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**Whewellite**) et la phase dihydratée $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**Weddellite**) (**Xie et al., 2015**).



Figure 6 : Calcul d'oxalate de calcium montrant la transformation des cristaux Weddellite en Whewellite par conversion cristalline (**Daudon M., 2008**).

VIII- Traitement de la lithiase urinaire :**VIII-1- Traitement urologique :**

L'évolution naturelle se fait le plus souvent vers l'expulsion spontanée, mais un geste urologique est parfois nécessaire. Quatre techniques sont alors utilisées : la lithotritie extracorporelle par ondes de choc, l'urétéroscopie, la néphrolithotomie percutanée et la chirurgie (De Debre et al., 1992 et Hymam et al., 1996).

Tableau II : Les techniques de traitements urologiques (De Debre et al., 1992 et Hymam et al., 1996).

	Types	Principe	Indication
Extracorporelle	Lithotritie extracorporelle (LEC)	Destruction in situ du calcul par des ondes de choc produites par un générateur externe.	<ul style="list-style-type: none"> • Calculs rénaux < 20 mm sauf calice inférieur • Urétéraux < 10mm
Intracorporelle	Urétéroscopie	Fragmentation et extraction du calcul par l'introduction d'un urétéroscopie rigide jusqu'au calcul, puis l'extraire à l'aide d'une sonde à panier.	• Calculs urétéraux et rénaux de taille moyenne (< 15 mm).
	Néphrolithotomie percutanée (NLPC)	Ponction et dilatation du trajet urinaire, abord des cavités rénales par voie percutanée puis fragmentation et extraction du calcul.	• Calculs rénaux volumineux > 20 mm
	Chirurgie ouverte (classique)	Se fait par anesthésie générale.	<ul style="list-style-type: none"> • Calculs coralliformes du rein • Calculs volumineux enclavés dans l'uretère • Échecs des autres techniques • Cas pédiatriques souvent

VIII-2- Traitement médicamenteux :

Actuellement, aucun traitement ne permet la dissolution des calculs rénaux (**Lemaire, 2018**). Cependant, on peut calmer la douleur en prescrivant quelques médicaments tels que les anti-inflammatoires, les antispasmodiques, antalgiques voire même des analgésiques (**Parks et al., 1996**).

Allant dans ce sens, on s'est intéressé dans notre partie pratique au monde des plantes médicinales afin d'apporter des solutions.

IX- Phytothérapie :

La phytothérapie est l'ensemble des traitements qui utilisent les plantes médicinales. Ces dernières, peuvent être utilisées sous nombreuses formes : fraîches ou séchées, elles peuvent être utilisées dans les tisanes, les infusions, les bouillons, ou les compresses, etc.

De nos jours, la phytothérapie connaît une renaissance remarquable dans le monde, elle est utilisée pour traiter une variété de maladies tels que l'asthme, les maladies cardiovasculaires, le diabète, et même la lithiase (**Iserin et al., 2001**).

IX-1- Plante anti-lithiasiques et diurétiques :

Presque toutes les plantes médicinales ont des propriétés diurétiques et anti-lithiasique appartiennent au sous-embranchement des Angiospermes.

Ces espèces sont reconnues pour leur capacité à dissoudre les calculs dans le corps humain grâce aux principes actifs synthétisés dans ces plantes (**Finte et Weiss, 2004**).

Dans notre travail, on s'intéresse à l'effet anti-lithiasique des alcaloïdes de la partie aérienne de *Fumaria agraria* et leur effet inhibiteur de formation de calculs rénaux.

Chapitre II :
Les Fumariacées

En médecine traditionnelle, des milliers de plantes sont utilisées pour diverses vertus, leurs propriétés pharmacologiques sont dues à leur richesse en métabolites secondaires. Selon l'OMS, plus de 50 % des 252 médicaments essentiels sont d'origine végétale (**Rates, 2001**).

I- Les Fumariacées :

Le nom "*Fumaria*" vient du latin : "*fumus terrae*", il signifie la fumée de la terre. Le nom vient de la sève qui fait pleurer les yeux comme de la fumée (**Finte et Weiss, 2004**). Elle est nommée dans la région kabyle : tidjudjar – yesghi ou takejirte teskourte (**Idres et Madi, 2009**). Ils sont répartis dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord, en Europe et en Afrique du Nord (**Suau et al., 2004 ; Gilani et al., 2005**).



Parmi les espèces caractéristiques des fumariacées, on trouve : *Fumaria capreolata*, *Fumaria officinalis*, *Fumaria agraria*... etc. (**Lidden et al., 1997**).



Dans notre travail, nous nous intéressons à l'étude de l'espèce *Fumaria agraria*.

I-1-Description de la plante *Fumaria agraria* :

Fumaria agraria est une plante annuelle, facilement reconnaissables grâce à ses caractéristiques décrites dans le tableau ci-dessous :

Tableau III : Description de la partie aérienne de *Fumaria agraria* (Susplugas et al., 1975 ; Jauzein, 1995).

Organe	Description	Photos
Fleurs	<ul style="list-style-type: none"> • Volumineuses • Couleur blanc a rose • Taches pourpres aux extrémités 	
Fruits	<ul style="list-style-type: none"> • Formé d'une capsule, • Granuleux (+ 2.4 mm de largeur). 	

<p>Feuilles</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Couleur verte, • Alternées, • Pétiolées • Composées. 	
<p>Tiges</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Epaisse • Longue • Grimpante • Rameuse 	

I-2- Classification phylogénique :

Plusieurs classifications des plantes existent selon plusieurs critères. La classification phylogénique de notre espèce *Fumaria agraria* est citée ci-dessous (**Preininger, 1986 ; Salinas et al., 2003**) :

Règne Plantae

Sous règne : Métaphytes

Embranchement : Cormophytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Papavérales

Famille : *Fumariaceae*

Genre : *Fumaria*

Espèce : *Fumaria agraria* L.

II- Effet thérapeutique des Fumariacées :

La médecine traditionnelle fait appel aux fumeterres pour leur richesse en alcaloïdes, elles sont utilisées comme antihypertensives, diurétiques, hépatoprotectrices et laxatives (**Suau et al., 2002**).

Aujourd'hui, il existe plusieurs médicaments à base des fumeterres sur le marché, « **l'Actibil gélules** », « **l'Actisane digestion** » et « **les Super-diet-ampoules** » favorisent la production de bile dans le foie et sa sécrétion dans l'intestin, aussi favorisent l'élimination rénale et aident à la perte de poids, respectivement (**Marchand et al., 2004**).

Le traitement à base des Fumariacées est généralement sans effet secondaire dans la limite du respect de la posologie. Des doses élevées peuvent entraîner des déséquilibres de santé, notamment une paralysie des muscles striés (le myocarde) (**Komaszewska et al., 2007**).

III- La composition chimique de la fumeterre :

L'analyse phytochimique des fumeterres a montré une richesse en substances secondaires, en particulier en alcaloïdes isoquinolines. Certains de ses composants sont présentés dans la figure ci-dessous :

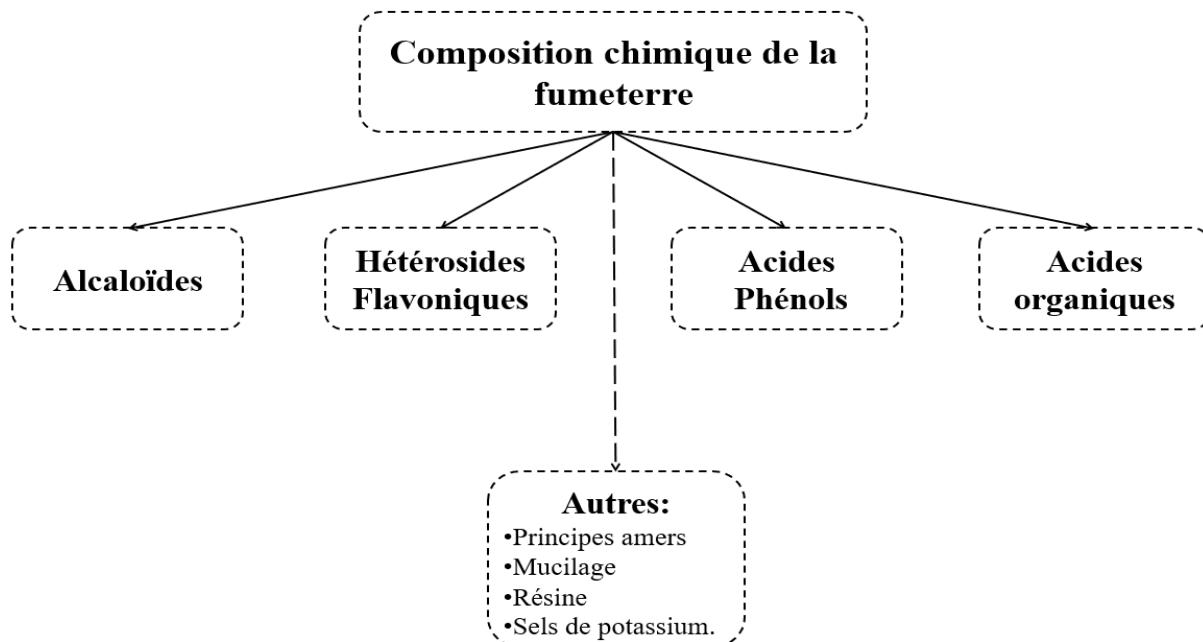


Figure 7 : La composition chimique de la fumeterre (**Wang et al., 2009**).

IV- Effet thérapeutique des alcaloïdes isoquinoléiques :

La diversité de l'effet thérapeutique des fumariacées est en relation directe avec leurs richesses en alcaloïdes de la classe des isoquinoléines (Suau *et al.*, 2002).

Les alcaloïdes isoquinoléiques représentent un groupe très important des alcaloïdes. Ils sont issus de métabolisme des acides aminés aromatiques notamment le phényle alanine et la tyrosine. Ils ont comme élément structural de base le noyau isoquinoléique (**Fig 8**). Cette classe regroupe de multiples molécules à activité pharmacologique très importante rencontrée dans les espèces de la famille fumariacées : *F. capreolata*, *F. bastardii*, *F. officinalis* et *F. agraria* qui fait l'objet de notre étude (Bruneton, 1987).

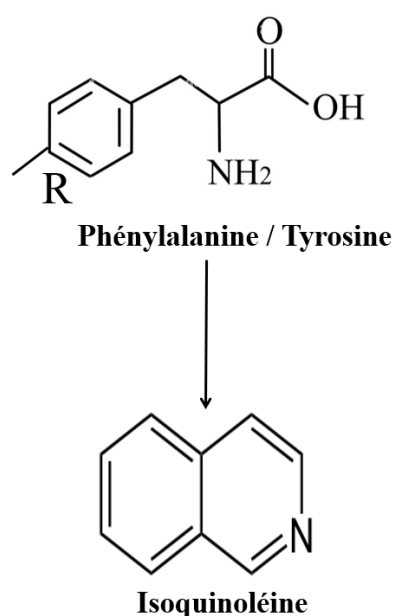


Figure 8 : Noyaux de bases d'isoquinoléine et ces principaux acides aminés dont il provient (Aniszewski, 2007).

Plusieurs études ont permis la caractérisation en alcaloïdes isoquinoléiques de l'espèce *F. agraria* avec dominance de « la Protopine », « la Stylopine » et « la Fumarilline » (Bougoffa-Sadaoui *et al.*, 2015).

Ces alcaloïdes ont prouvé leur large spectre d'activités pharmacologiques, ils sont de bons antioxydants (Maiza-Benabdesselam *et al.*, 2007), des anticancéreux (Bougoffa-Sadaoui *et al.*, 2015 ; Bougoffa-Sadaoui *et al.*, 2021) et des anti-inflammatoires (Khamtache-Abderrahim *et al.*, 2016).

Partie II :
Étude Expérimentale

Chapitre I :
Matériel et Méthodes

I- Matériels :

I-1- Matériel végétale :

Dans notre étude, la partie aérienne de la plante *Fumaria agraria* nous a servi comme matériel végétal (Fig 9).



Fumaria agraria dans son environnement



Partie aérienne bien individualisé

Figure 9 : Photographie de la partie aérienne de *Fumaria agraria*.

La plante a été récoltée au niveau du village **Tamokra**, commune d'Akbou située à 90 km de la wilaya de Bejaïa, dans la région de la Kabylie (Algérie) qui se caractérise par les coordonnées géographiques (Latitude : 36.3932, Longitude : 4.66446 et 36° 23' 36" Nord, 4° 39' 52" Est) en Mars 2022 (Fig 10).



Figure 10 : Zone géographique de récolte de la plante, **Tamokra**, wilaya de Bejaïa- Algérie.

L'identification de la plante a été effectuée au niveau du laboratoire de la FSNV a l'université Abderrahmane Mira de Bejaia par **Mr SAHNOUN**.

Un échantillon d'herbier a été collecté par **Bougoffa-Sadaoui Khalida** et déposé à l'Herbier des Conservatoire et Jardins botaniques de Nancy, France sous la référence "NCY013571" **Bougoffa et al., (2015)**.

I-2- Matériel et réactifs :

Le matériel et les différents réactifs utilisés pour l'extraction et les différents tests sont reportés dans l'annexe (**Annexe I**).

II- Méthodes :

II-1- Préparation de la poudre végétale :

La préparation de la poudre végétales est effectuée via plusieurs étapes (**Bougoffa et al., 2015**) :

- La partie aérienne (tiges, feuilles, fleurs et fruits) de la plante a été soigneusement lavée à l'eau, puis mis à séchée dans l'étuve à 40° C pendant 6 jours (jusqu'à stabilisation du poids),
- Une fois la plante séchée, elle a été broyée la plus finement possible à l'aide d'un broyeur électrique,
- La poudre récupérée est stockée dans un flacon propre et opaque.

II-2- Préparation des extraits alcaloïdiques :

Deux types d'extractions ont été réalisés en utilisant deux protocoles différents, l'un pour l'extraction des alcaloïdes totaux « **AT** » et l'autre pour le fractionnement. L'extraction a été réalisée à l'aide d'un appareil d'extraction solide-liquide "**le Soxhlet**" en utilisant l'éthanol comme solvant.

II-2-1- Extraction des alcaloïdes de *Fumaria agraria* :

L'extraction des alcaloïdes de notre plante a été réaliser en suivant les étapes ci-dessous (**Bougoffa et al., 2015**) :

- 20 g de poudre de la partie aérienne de notre plante ont été misent dans la cartouche (semi-perméable) placée dans le réservoir du Soxhlet,
- 200 ml d'éthanol ont été misent dans le ballon, ce dernier est mis à chauffer à 40° C,

- Une fois chauffer, le solvant passe par la tubulure et est condensé par le réfrigérant. Il tombe dans le réservoir contenant la cartouche et solubilise la substance à extraire. Dès que le réservoir se remplit, il se vidange automatiquement : c'est ce qu'on appelle « **le siphonage** » (Fig 11). Pour réaliser une extraction correcte, on réalise alors plusieurs cycles.
- Après récupération de l'extrait éthanolique, celui-ci subit une évaporation sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif jusqu'à obtention d'une **gomme végétale (GV)**. Cette dernière fera l'objet des deux extractions ci-dessous (totaux et fractions) :

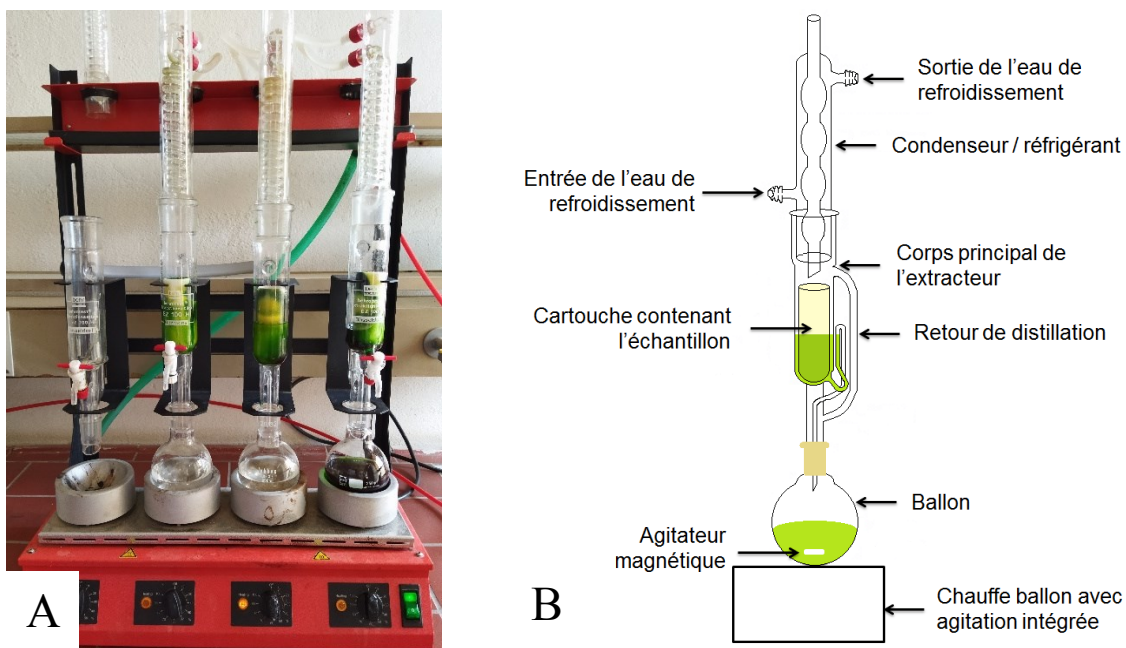


Figure 11 : Photographie du Soxhlet (A) et schémas d'extraction par Soxhlet (B).

II-2-1-1- Extraction des alcaloïdes totaux :

Selon le protocole de **Suau et ces collaborateurs (2002)**, la **GV** obtenue a été reconstituée dans de l'eau acidifiée à pH=2.1 avec de l'HCl, puis délipidée à l'aide de l'éther de pétrole. La phase aqueuse acidifiée a été récupérée par filtration, puis alcalinisée à pH=10 par NH₄OH, la phase aqueuse basique subira une extraction par le dichlorométhane.

La phase dichlorométhanique récupérée après décantation sera séchée sous hôte, l'extrait sec récupéré constitue l'**extrait brut d'alcaloïdes totaux « AT »**.

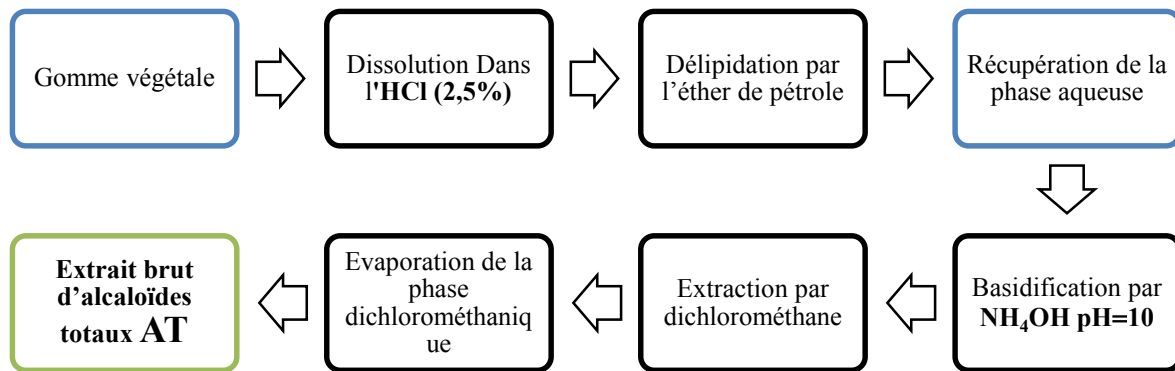


Figure 12 : Schéma du protocole d'extraction des alcaloïdes totaux de *Fumaria agraria* (Suau et al., 2002).

II-2-1-2- Extraction des fractions alcaloïdiques :

Selon **Bougoffa et al., (2015)**, le processus de fractionnement comporte plusieurs étapes comme suit :

- Reconstitution de la **GV** dans de l'eau distillée et délipidation avec l'éther de pétrole,
- Récupération de la phase aqueuse et extraction par le chloroforme,
- Après décantation, la phase chloroformique récupérée est appelée **Fraction Neutre** «**FN**».
- La phase aqueuse est acidifiée avec de l'HCl, puis décantée à nouveau avec du chloroforme. La phase chloroformique obtenue est nommée dans ce cas la **Fraction Acide** «**FA**».
- La phase aqueuse acide restante est basidifiée à pH= 10 avec de l'ammoniaque, puis extraite également avec du chloroforme. La phase chloroformique est nommée **Fraction Basique** «**FB**».
- De ce fait, on a obtenu nos 3 fractions : **FN, FA et FB**.

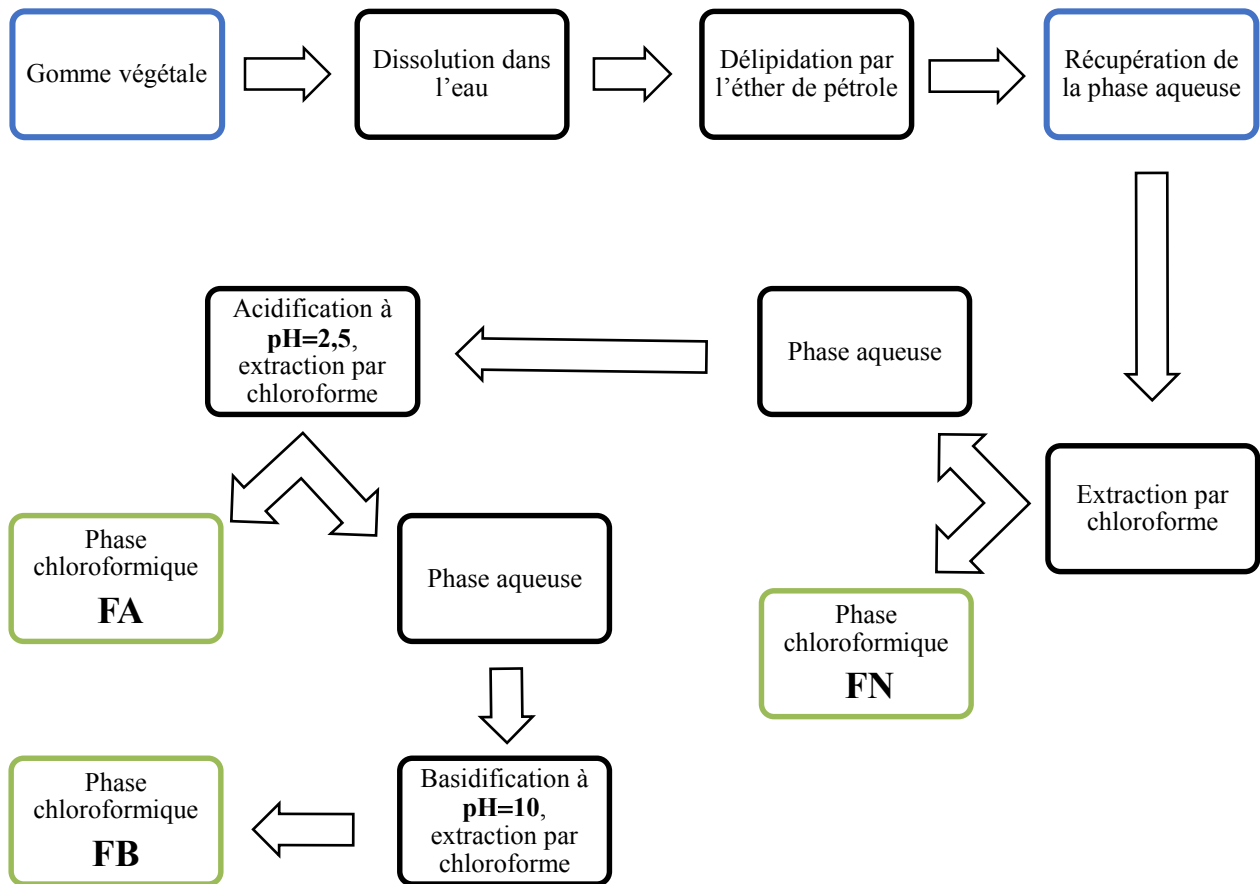


Figure 13 : Schéma du protocole d'extraction par fractionnement des alcaloïdes de *Fumaria agraria* (Bougoffa et al., 2015).

II-2-2- Dosage pondéral des extraits alcaloïdiques (rendement massique) :

Le rendement en alcaloïdes (totaux, fraction) est défini comme le rapport entre la masse d'extrait sec d'alcaloïdes obtenu et la masse de matière végétale traitée. Ce rendement est calculé comme suit (Harborne, 1998).

$$R (\%) = (Me / Mv) \times 100$$

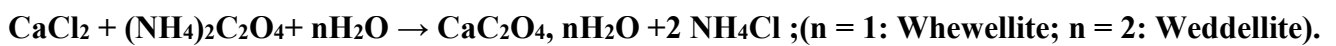
R (%) : Rendement en %.

Me : Masse de l'extrait en alcaloïde après l'évaporation du solvant.

MV : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction.

II-3- Formation des cristallites d'oxalate de calcium :

Afin d'évaluer l'activité anti-lithiasique des extraits alcaloïdiques préalablement préparés (AT, FN, FA et FB), deux produits à savoir le **Chlorure de calcium dihydrate (CaCl₂ 2H₂O)** et l'**Oxalate d'ammonium ((NH₄)₂C₂O₄)** ont permis la formation d'un mélange de cristallites d'**Oxalate de calcium (CaC₂O₄)** monohydratée et dihydratée (selon la réaction chimique ci-dessous), correspondants aux deux types **Whewellite** et **wheddellite** les plus dominants dans les calculs rénaux humains (citée préalablement au **Chapitre I**) (**Baddade et al., 2018**).



Après plusieurs essais de mise au point pour la formation de nos cristallites d'oxalate de calcium, les concentrations des deux substrats précédents ont été fixées comme suit (**Fig 14**) :

- **Contrôle 1** : une concentration de **0,01g /ml** du Chlorure de Calcium dihydrate (CaCl₂).
- **Contrôle 2** : une concentration de **0,01g /ml** d'Oxalate d'Ammonium ((NH₄)₂C₂O₄).

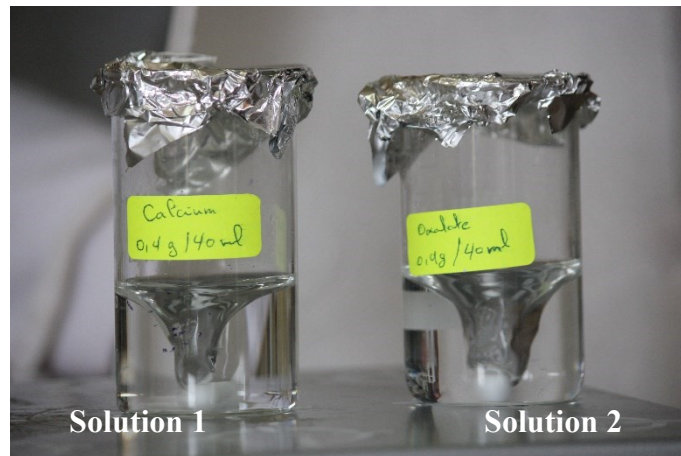


Figure 14 : Les solutions utilisées pour la formation des cristallites : **contrôle 1** et **contrôle 2**.

II-4- Préparation des solutions alcaloïdiques :

Les extraits alcaloïdiques (totaux et fractions) ont été préparé en solution dans de l'eau distillée a une concentration de **10 mg/ml**. Pour une bonne homogénéité, les solutions ont subi une filtration.

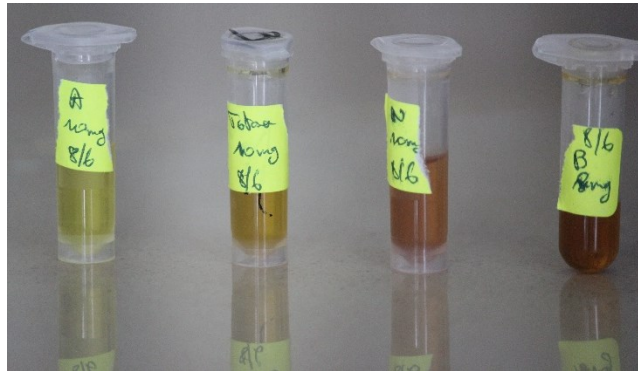


Figure 15 : Les solutions d'alcaloïdes totaux et des fractions alcaloïdiques.

II-5- Inhibition de la formation des cristallites :

L'effet inhibiteur des alcaloïdes sur la formation des cristallites a été visualiser sous microscope a camera embarquer, chaque **30 min** pendant **120 min** (Baddade et *al.*, 2018). Le protocole d'inhibition ici employé est résumé dans le tableau suivant :

Tableau IV : préparation des solutions d'inhibition de la formation des cristallites avec les alcaloïdes totaux/fraction.

Produit	Contrôle totaux / fractions (10mg/ml)	Solution 1 (0,01g/ml)	Solution 2 (0,01g/ml)
Volume (µl)	400	250	150

II-6- Test de dissolution des cristallites :

Ce test nous permet d'évaluer l'effet de nos extraits (totaux et fractions), sur la désagrégation des cristallites déjà formé.

Pour cela, une goutte d'extrait d'une concentration de **10 mg/ml** est déposée sur un cristallite bien visible et préalablement formé. L'observation sous microscope optique se fait chaque **30 min** pendant **120 min**.

Chapitre II :
Résultats et Discussion

Dans notre étude, la poudre végétale de la partie aérienne de *Fumaria agraria* L. nous a servi pour préparer les extraits alcaloïdiques, totaux et fractions. Ces extraits ont été utilisés pour tester leur effet inhibiteur sur la formation des calculs rénaux et la dissolution de ces derniers *in-vitro*.

I- Taux d'extraction des alcaloïdes « Dosage pondéral » :

L'utilisation du « Soxhlet » pour l'extraction des alcaloïdes en utilisant l'éthanol comme solvant présente plusieurs avantages : d'une part, il permet une extraction maximale des composés végétales. D'une autre part, il est facilement volatile et présente une faible toxicité par rapport au méthanol (Ribéreau-Gayon, 1968).

Le broyage est un facteur très important dans l'extraction, il augmente la surface d'échange entre la matière végétale et le solvant ce qui permet d'avoir un meilleur rendement (Debuigne, 1991).

I-1- Taux d'extraction des alcaloïdes totaux :

Le rendement d'extraction de la partie aérienne de *Fumaria agraria* en alcaloïdes totaux est de **0,75 % (Tableau 5)**. Ce taux reste dans les normes comparant au résultat précédent trouvé par Bougoffa-Sadaoui et al. (2015) qui est de **0,7 %** chez la même espèce, et à celui trouvé chez la même espèce espagnole par Suau et al. (2002) (**0,8 %**).

Cette légère différence quantitative peut être due à divers facteurs tels que la composition du sol, la saison de croissance et la période de la récolte (Grycova et al., 2007).

Tableau V : Taux d'extraction d'alcaloïdes totaux de la partie aérienne de *Fumaria agraria*.

Fraction	Masse végétale (g)	Masse de l'extrait après évaporation (g)	Rendement (%)
AT	20	0,15	0,75

I-2- Taux d'extraction des fractions alcaloïdiques :

Le taux d'extraction des fractions alcaloïdiques de la partie aérienne de *Fumaria agraria* a été calculé en fonction de la masse de la poudre initiale (40 g). Le rendement d'extraction de ces fractions est de **0,41, 0,04 et 0,25 %** pour **FN, FA et FB** respectivement.

Les résultats obtenus sont similaires à ceux obtenus par Bougoffa-Sadaoui et al. (2015) et sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau VI : Taux d'extraction des fractions alcaloïdiques de la partie aérienne de *Fumaria agraria*

Fractions	Masse végétale (g)	Masse de l'extrait après évaporation (g)	Rendement (%)
FN	40	0,164	0,41
FA		0,016	0,04
FB		0,1	0,25

II- Formation des cristallites d'oxalate de calcium :

L'**oxalate de calcium** est la forme cristalline la plus fréquente des calculs rénaux chez l'être humain, il présente **50 %** des cas lithiasique, dont la forme du cristallite « **Weddellite** » constitue **33 %** et la forme « **Whewellite** » **8 %** (Jungers et al., 1999).

Cette phase cristalline est issue de la précipitation des ions d'oxalates ($C_2O_4^{2-}$) avec les cations de calcium (Ca^{2+}) (Cesar L., 2016), selon la réaction chimique suivante :

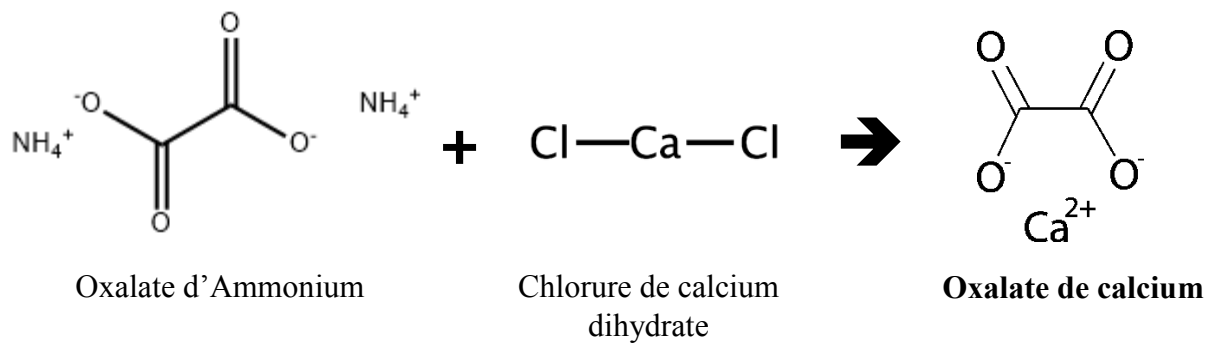


Figure 16 : Réaction de formation des cristallites d'oxalate de calcium (Baddade et al., 2018).

L'apparition lente d'un précipité ou d'un trouble blanc indique la présence d'oxalate de calcium (Houhamdi et al., 2000) (Fig 17).

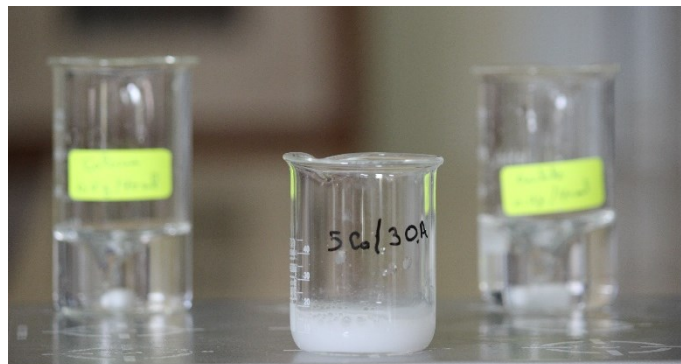


Figure 17 : Formation des cristallites en solution sous forme d'un trouble blanc.

III- Inhibition de la formation des cristallites « Aspect préventif »

Selon l'origine métabolique, il existe deux types de lithiase à savoir les lithiases d'organes et les lithiases d'organismes (Jungers et al., 2005).

La lithiase d'organisme est due aux différentes perturbations métaboliques, d'où la récurrence de ce type de lithiase. Le traitement repose sur la chirurgie chaque fois que le calcul réapparaît, ce qui influence sur l'état morale et physique du patient. (De Debre et al., 1992 et Hymam et al., 1996).

Grâce à l'analyse morpho-constitutionnel des calculs on peut déterminer le type de la lithiase, ici dans notre cas, la lithiase oxalo-calcique (Baddade et al., 2018).

Suite aux inconvénients cités ultérieurement, il a été proposé l'inhibition de la formation des cristallites d'oxalate de calcium en se référant au principe de Baddade et al. (2018), par les alcaloïdes totaux et les fractions alcaloïdiques de la partie aérienne de *Fumaria agraria*. Les résultats sont observés chaque 30 min pendant 2 h sur lame au microscope optique au grossissement X4, et sont montrés ci-dessous :

III-1- Résultats de l'inhibition préventive

III-1-1- Effet inhibiteur des alcaloïdes totaux « AT »

D'après la figure 18, on remarque la diminution de la formation des cristallites d'oxalate de calcium en fonction du temps, cela en comparaison avec les lames contrôles : sans ajout d'alcaloïdes. À l'issue des 2 h d'incubation en présence des 10 mg/ml de l'extrait AT, nous remarquons une absence de formation de cristallites, mais présence de petites graines.

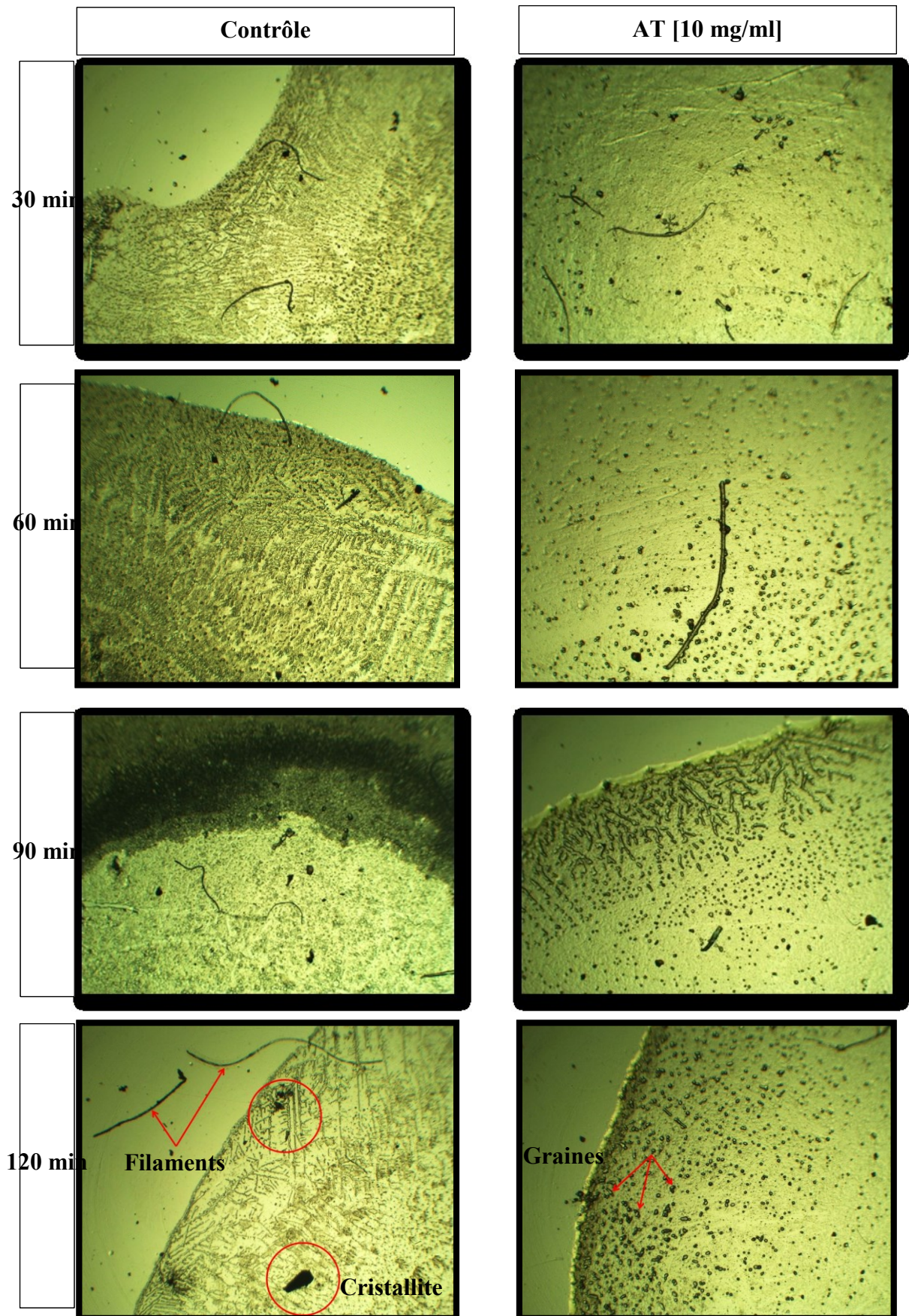
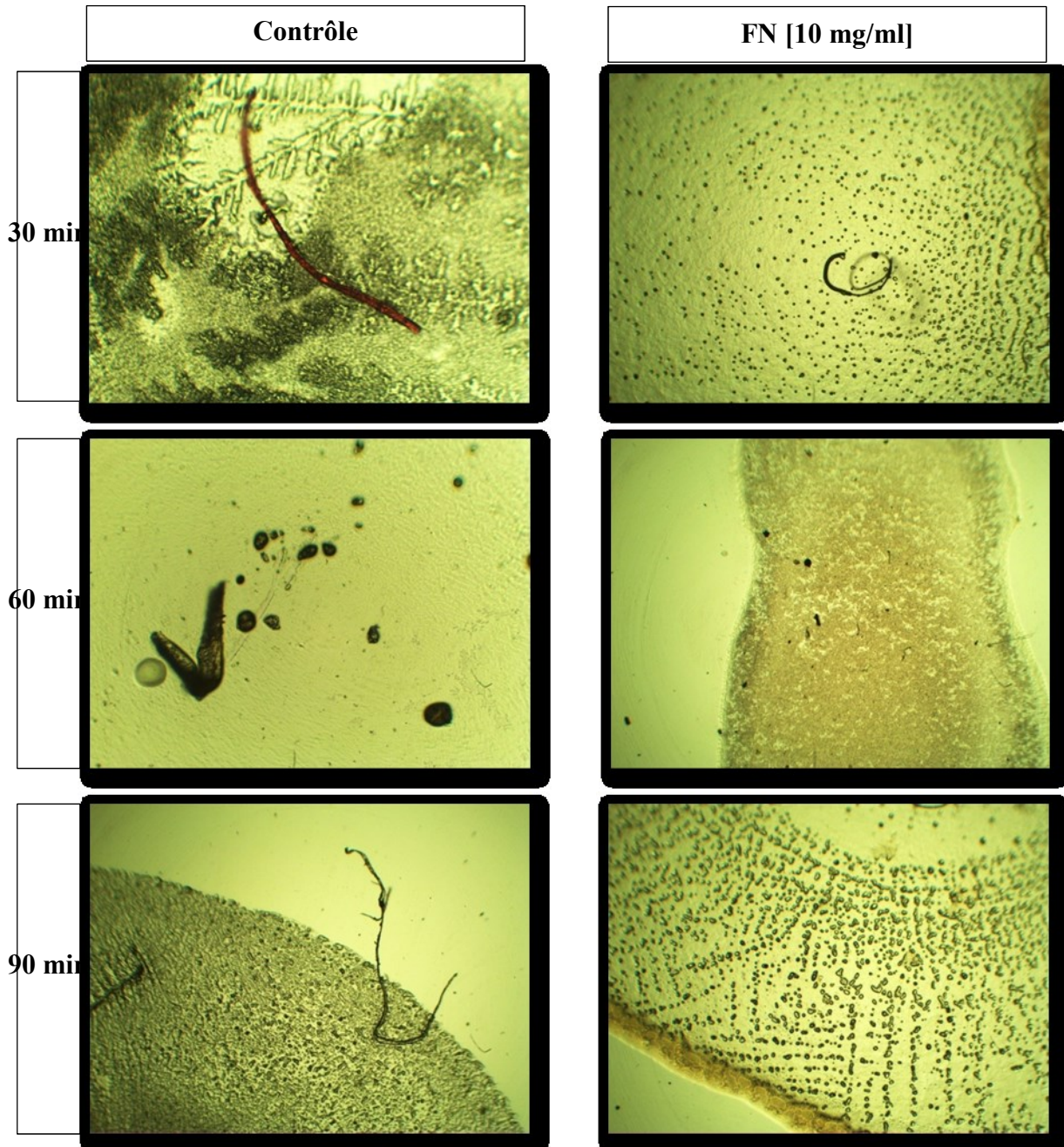


Figure 18 : Effet inhibiteur des **alcaloïdes Totaux** sur la formation des cristallites
Observation au microscope optique (Grossissement x4).

III-1-2- Effet inhibiteur de la fraction alcaloïdique neutre « FN »

Dans le cas de la fraction alcaloïdique neutre « FN », comme le montre la **figure 19**, l'effet inhibiteur est bien visible dès les premières 30 minutes suivant l'incubation avec les **10 mg/ml** de la FN, tout en comparant au contrôle. On remarque bien que la taille, l'opacité et le nombre de cristallites formés sont moindres comparant au contrôle en fonction de temps.



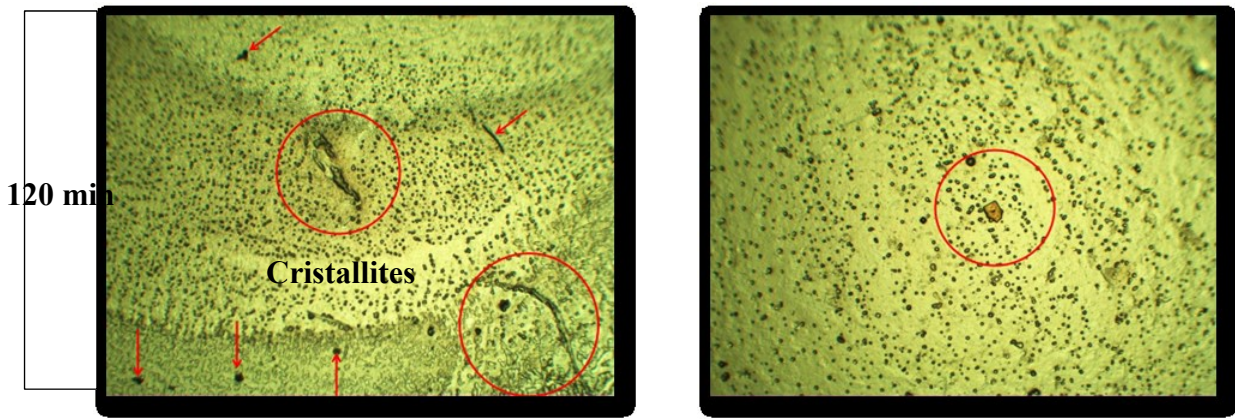
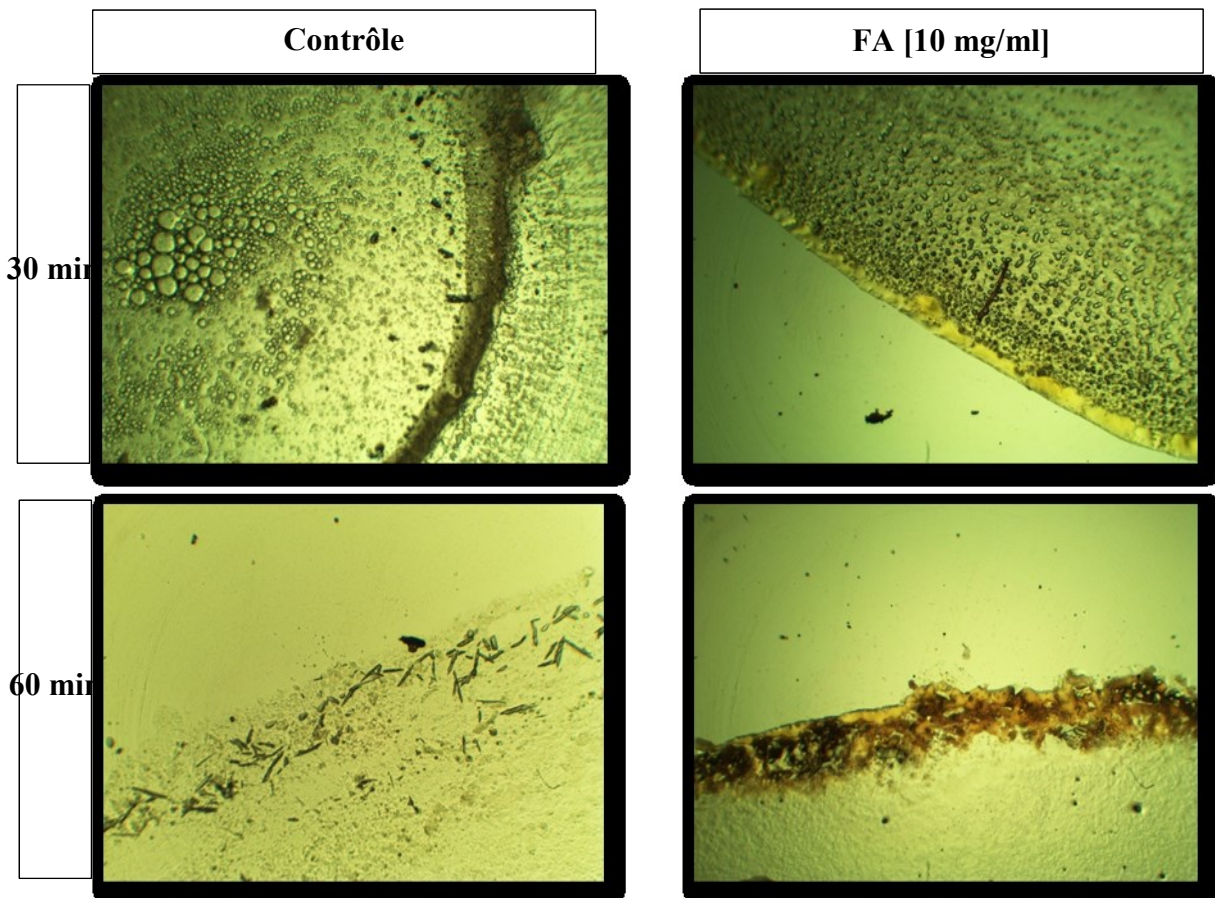


Figure 19 : Effet inhibiteur de la **fraction neutre** sur la formation des cristallites. Observation au microscope optique (Grossissement x4).

III-1-3- Effet inhibiteur de la fraction alcaloïdique acide « FA »

La **figure 20** nous montre l'effet inhibiteur de la fraction acide sur la formation des cristallites. De même que la fraction alcaloïdique précédente (**FN**) et à la même concentration de **10 mg/ml**, la **FA** présente le même profil cinétique d'inhibition, à savoir diminution de formation de cristallites dès les premiers **30 mins** toujours en comparaison au contrôle jusqu'à disparition de la formation de cristallites en fonction de temps.



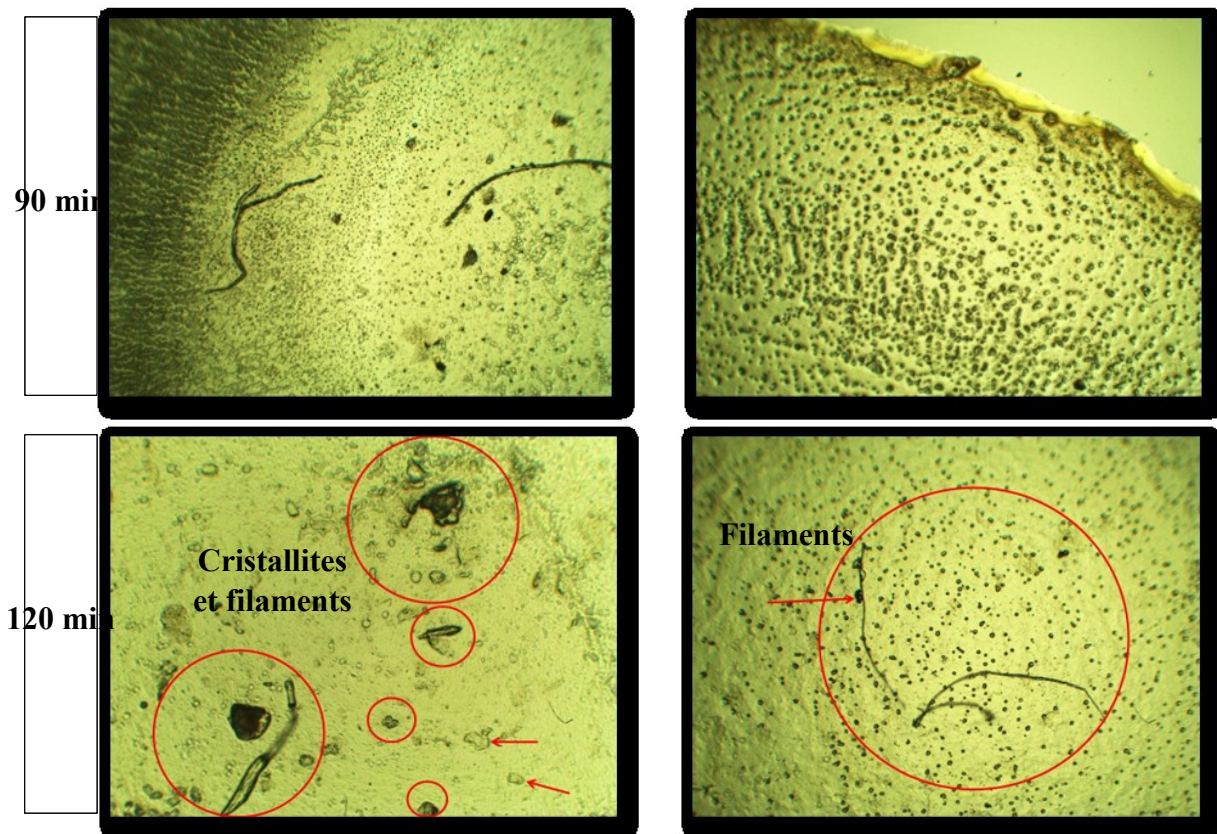
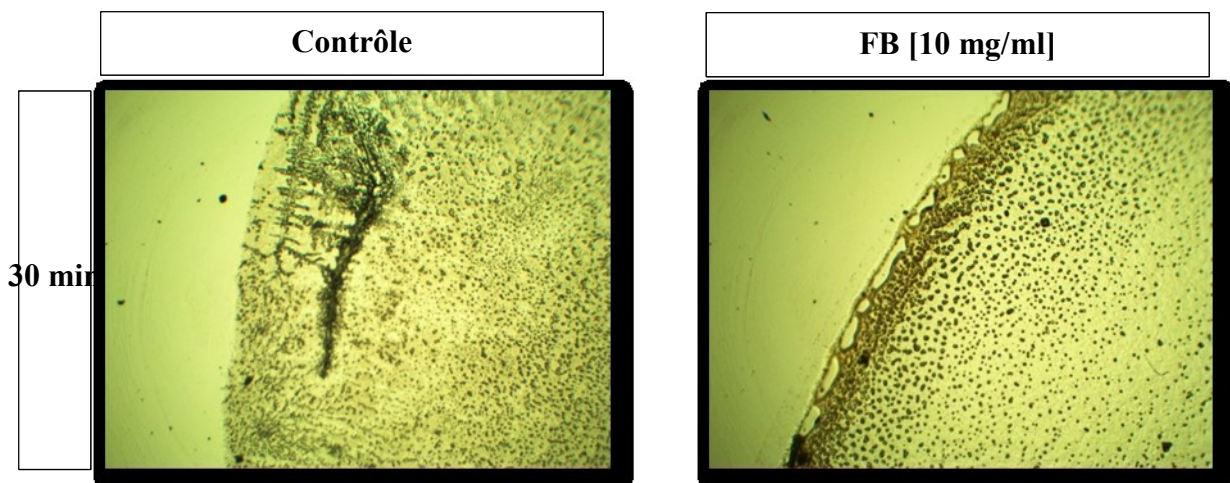


Figure 20 : Effet inhibiteur de la fraction acide « FA » sur la formation des cristallites.
Observation au microscope optique (Grossissement x4).

III-1-4- Effet inhibiteur de la fraction alcaloïdique basique « FB »

La fraction **FB** en comparaison aux deux autres fractions « **FN** et **FA** » et à l'extrait total « **AT** », présente le meilleur effet via l'inhibition de formation des cristallites d'oxalate de calcium dès le premier contact (**Fig 21**).



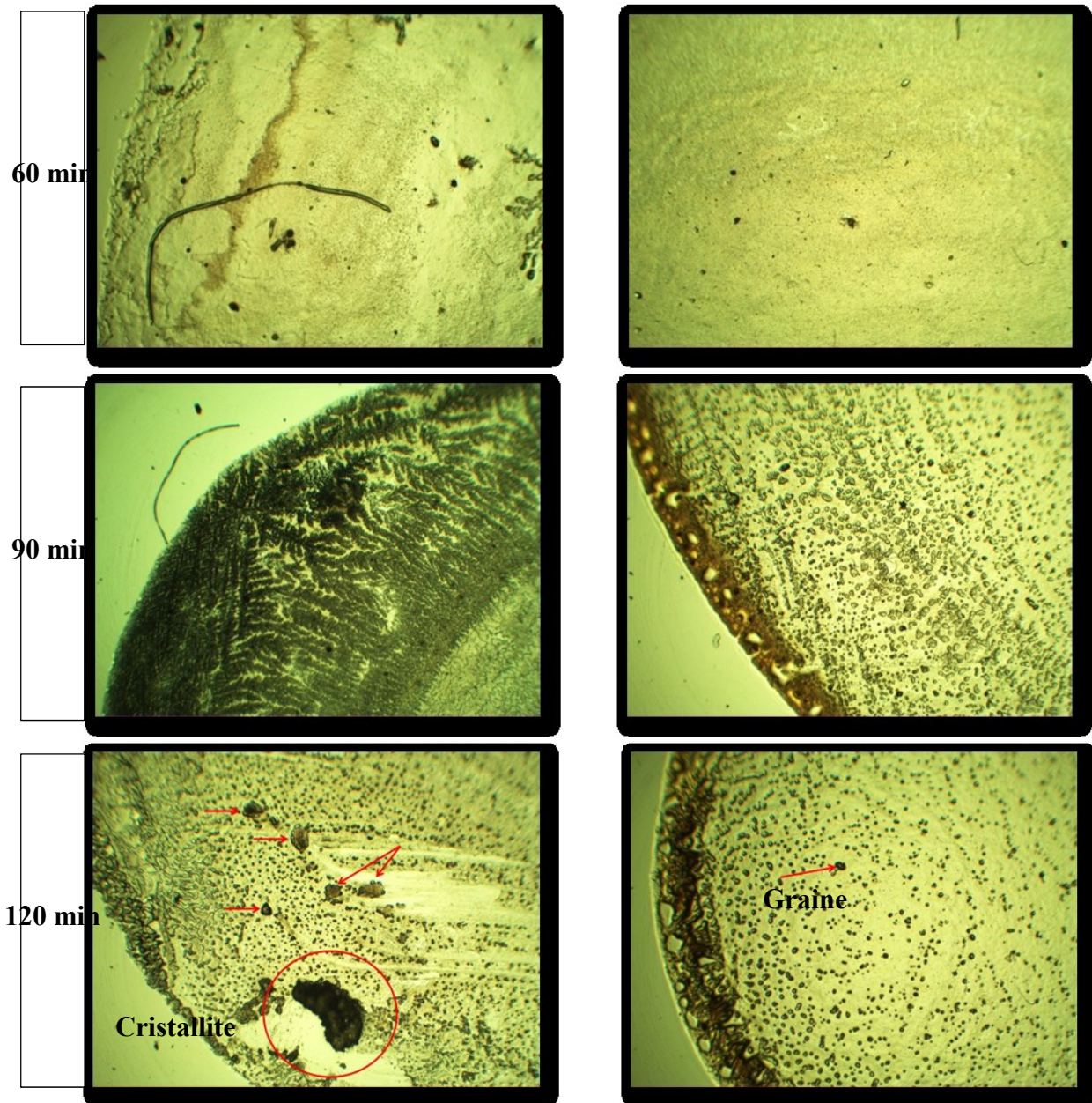


Figure 21 : Effet inhibiteur de la **fraction basique** « **FB** » sur la formation des cristallites.
Observation au microscope optique (Grossissement x4).

III-2- Discussion générale de l'inhibition préventive

Le dépistage à grande échelle des effets des médicaments est une première étape importante dans l'évaluation de leur efficacité potentielle dans l'application clinique. Pratiquement, aucune étude n'a exploré l'effet des substances bioactives et notamment des alcaloïdes isoquinoléines *in-vitro* vis-à-vis les maladies lithiasiques.

Dans notre étude, après les extractions, nous avons évalué l'effet inhibiteur de l'extrait d'alcaloïdes totaux « **AT** » et des fractions (**FN**, **FA** et **FB**) sur la formation des cristallites d'oxalate de calcium, la forme la plus dominante dans les maladies lithiasiques chez l'être humain (**Hannache, 2014**).

Les figures citées précédemment comme résultats (de **18** à **21**), montrent la présence d'un effet inhibiteur avec les différents extraits (**AT**, **FN**, **FA** et **FB**) en fonction de temps à des degrés variables.

L'effet inhibiteur de la formation des cristallites d'oxalate de calcium est meilleur par l'ordre décroissant suivant : **FB** > **FA** > **FN** > **AT**.

La plante récoltée a été sélectionnée pour son intérêt thérapeutique sur terrain, et sa richesse en alcaloïdes de la classe isoquinoléique. Les résultats de l'analyse GC-MS des trois fractions **FN**, **FA** et **FB** ainsi que de l'extrait **AT** montrent la présence de « **la Protopine** » comme alcaloïde dominant (**Bougoffa-Sadaoui et al., 2015**).

Au cours de nos extractions, l'extrait **AT** correspond à un extrait brut contenant le maximum possible des alcaloïdes de la partie aérienne de notre plante et cela été confirmé par les études de caractérisation par GC-MS réalisées par **Bougoffa-Sadaoui et al. (2015)**. Qualitativement, la **FN**, la première fraction récupérée, est plus riche suivit de la **FA**, deuxième fraction récupérée, puis la **FB** qui est la dernière fraction récupérée du procédé de fractionnement et qui a permis d'avoir une fraction plus pure que les précédentes (**Bougoffa-Sadaoui et al., 2015**).

Comme l'a déjà démontrée la même étude, la **FB** étant la fraction la plus pure entre les autres fractions alcaloïdiques avec **70%** de **protopine (Fig 22) (Bougoffa-Sadaoui et al., 2015)**.

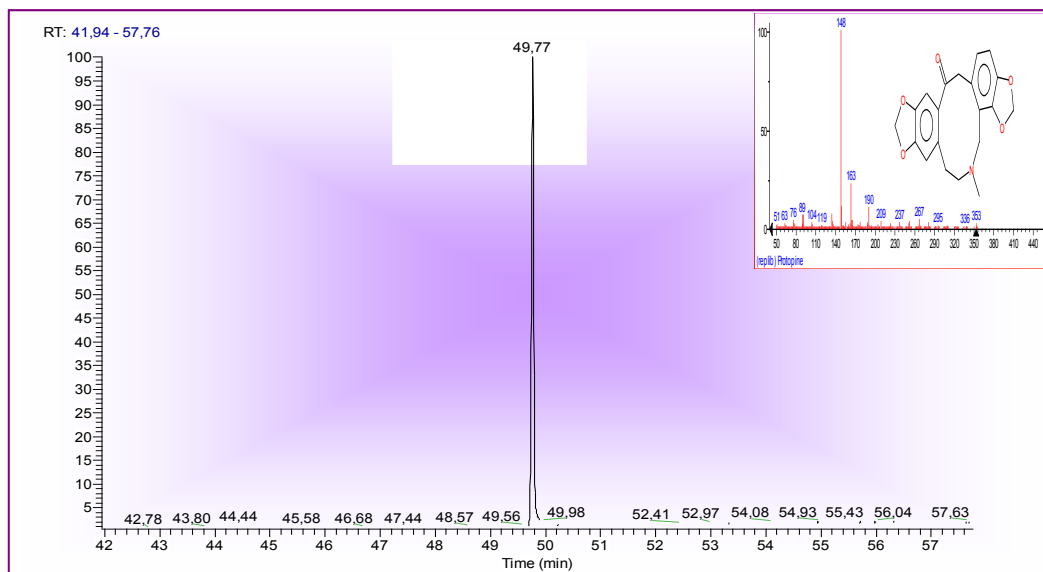


Figure 22 : Chromatogramme GC-MS de la fraction alcaloïdique basique « **FB** » de la partie aérienne de *Fumaria agraria* (Bougoffa-Sadaoui et al., 2015).

Le degré de pureté élevé de la **FB** comparant aux autres extraits lui permet d'avoir le meilleur effet inhibiteur, et cela, en minimisant l'encombrement stérique dû aux autres molécules dans les autres extraits à savoir la **FA** puis la **FN** puis l'**AT**.

D'autres résultats d'études sur la même espèce de la même région notamment des activités anticancéreuses vis-à-vis du cancer de sein et le cancer pulmonaire ont aussi montré l'efficacité de la fraction **FB** comparant aux deux autres fractions **FA** et **FN** ainsi que l'**AT** dans le même ordre d'efficacité décroissante comme suit : **FB** > **FA** > **FN** > **AT** (Bougoffa-Sadaoui et al., 2015 ; Bougoffa-Sadaoui et al., 2021). De même à titre d'information, l'ensemble des travaux déjà réalisés dans le cadre des projets de recherches et aussi dans le cadre des études de fin de cycle, comme dans notre cas, l'étude de l'activité antioxydant, hémolytique, cytotoxique et autres, ont aussi montré le même profil d'efficacité vis-à-vis l'activité en question de la fraction **FB** suivit des autres extraits comme suit **FA**, **FN** puis **AT**.

Ceci ne permet que confirmer davantage que le facteur de pureté est très important dans l'efficacité des molécules.

On suppose que les alcaloïdes par leur caractère alcalin et leur charge positive en solution sous forme de sel, interagissent avec l'acide oxalique, chargé négativement, par une liaison covalente, ce qui empêche la complexation de l'oxalate avec le calcium, expliquant ainsi l'inhibition de formation des cristallites d'oxalate de calcium. Des analyses avec **DRX** (Diffraction aux Rayon X) pourront conclure notre hypothèse.

Néanmoins, pour s'approcher de notre hypothèse, on a effectué un essai en mettant en contact la solution d'oxalate d'ammonium avec la solution d'extrait alcaloïdique. Le résultat est montré ci-dessous :

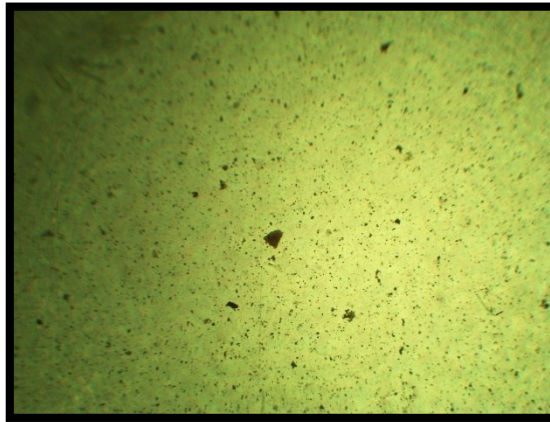


Figure 23 : Interaction entre l'oxalate d'ammonium et l'extrait alcaloïdique
Observation au microscope optique (Grossissement x4).

Ce résultat aille dans le même sens que notre hypothèse, ou on voie bien une complexation entre l'extrait alcaloïdiques et l'oxalate.

IV- Test de dissolution des cristallites d'oxalate de calcium « Aspect curatif »

Les cristallites se forment en superposition de plusieurs couches, ce qui se traduit par une opacité visualisée sous microscope optique (Cesar L., 2016).

La solution de cristallites d'oxalate de calcium est formée **2h** après interaction des deux solutions CaCl_2 et $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ a raison de **0,01 g/ml** par solution.

La **figure 24** illustre les photos microscopiques (grossissement **x4**) des filaments ainsi que les cristallites d'oxalate de calcium formés après 2h d'interaction.

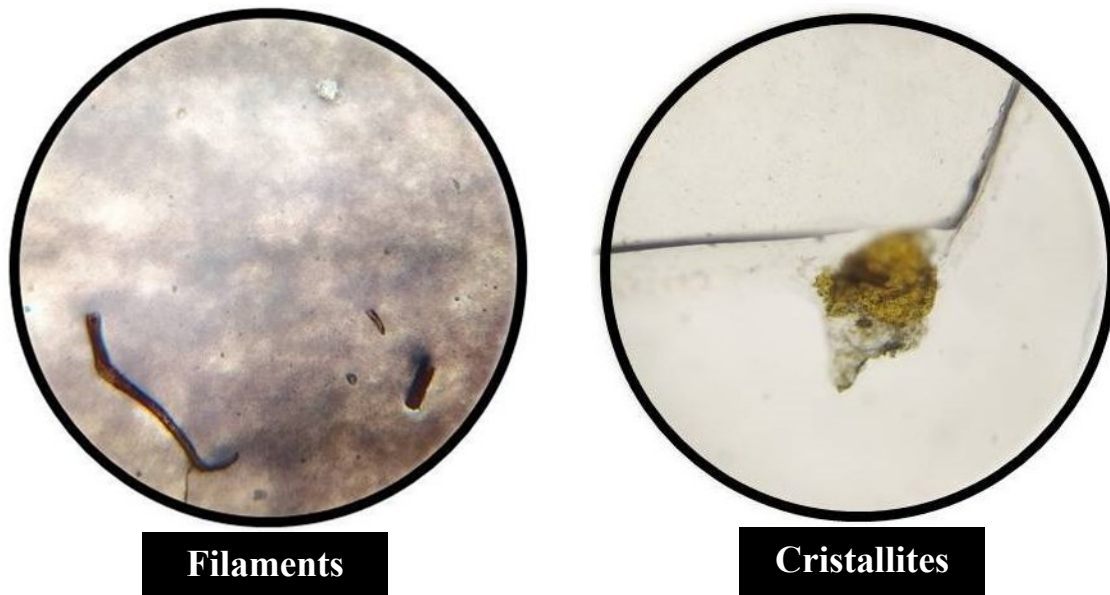


Figure 24 : Formation des Filaments et des Cristallites d'oxalate de calcium
Observation au microscope optique (Grossissement x4).

L'observation au microscope optique se fait **deux heures** après incubation des cristallites, préalablement synthétisés, avec nos concentrations des extraits alcaloïdiques. Les résultats ainsi que la discussion sont illustrés ci-dessous :

IV-1- Résultats du test curatif

IV-1-1- Effet dissolutif des alcaloïdes totaux « AT » sur les cristallites d'oxalate de calcium

Au bout des **2h** d'incubation des cristallites préalablement formés avec les **10 mg/ml** d'AT, aucune différence n'est remarquable entre le contrôle (**Fig 25A**) et la lame test (**Fig 25B**), ce

qui nous laisse conclure que notre extrait **AT**, a cette concentration, ne présente pas d'effet dissolutif sur les cristallites.

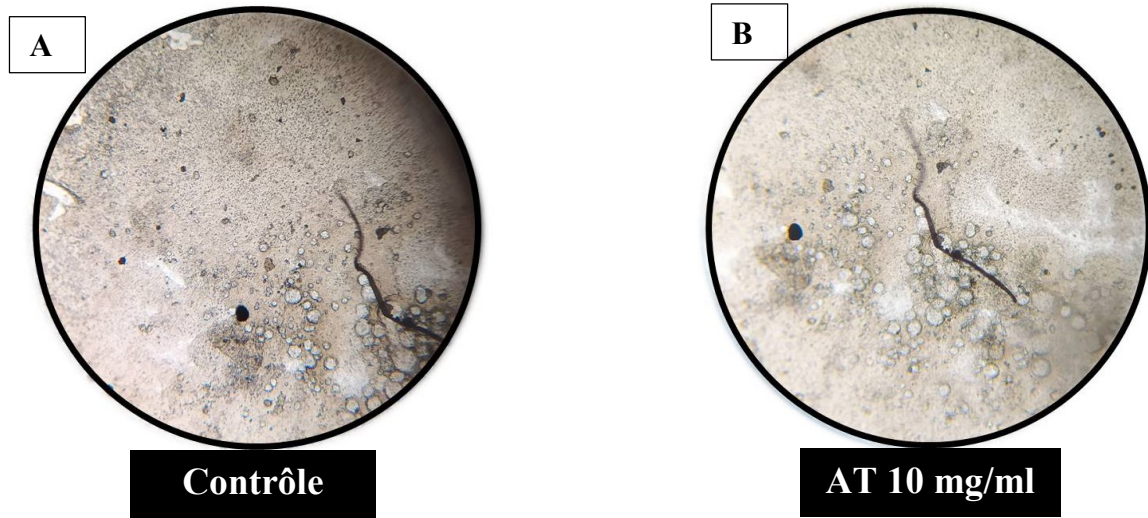


Figure 25 : Résultat de dissolution des cristallites d'oxalate de calcium par les alcaloïdes totaux.
Observation au microscope optique (Grossissement x4).

IV-1-2- Effet dissolutif de la fraction neutre « FN » sur les cristallites d'oxalate de calcium

De même que l'extrait totaux, la fraction **FN** ne présente pas, à son tour, un effet dissolutif a la même concentration et au même temps d'incubation à savoir **10 mg/ml** et **2 h** après interaction (**Fig 26**).

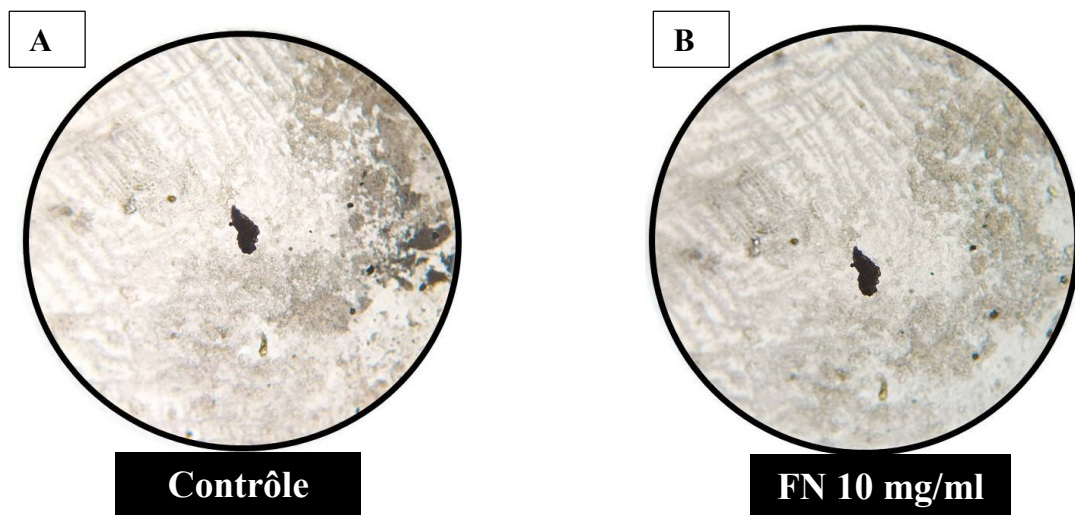


Figure 26 : Résultat de dissolution des cristallites d'oxalate de calcium par la fraction **FN**.
Observation au microscope optique (Grossissement x4).

IV-1-3- Effet dissolutif de la fraction acide « FA » sur les cristallites d'oxalate de calcium

Pour l'effet de dissolution de la fraction acide « FA » sur le cristallite pour une durée de **2h**, on visualise bien une différence remarquable par rapport à l'opacité du calcul, qui est très dense dans le cas du contrôle comparant à la photo de la lame traitée par les **10 mg/ml** de la fraction **FA** comme l'illustre la figure 27.

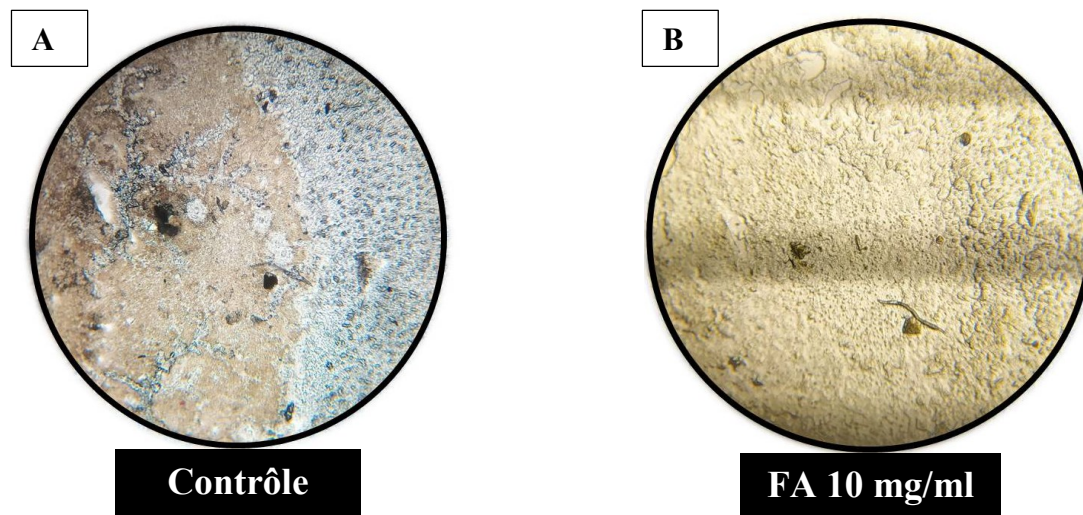


Figure 27 : Résultat de dissolution des cristallites d'oxalate de calcium par la fraction **FA**.
Observation au microscope optique (Grossissement x4).

IV-1-4- Effet dissolutif de la fraction basique « FB » sur les cristallites d'oxalate de calcium

La fraction **FB** montre encore une fois un effet très remarquable pour ce test, comme les autres activités préalablement étudiées.

La photo sous microscope optique (**x4**) de la lame traitée par **10 mg/ml** de **FB** (**Fig 28B**) nous visualise une opacité du cristallite plus claire et un contraste plus éclairé, cela en comparaison à la photo sous microscope optique (**x4**) de la lame contrôle (**Fig 28A**).

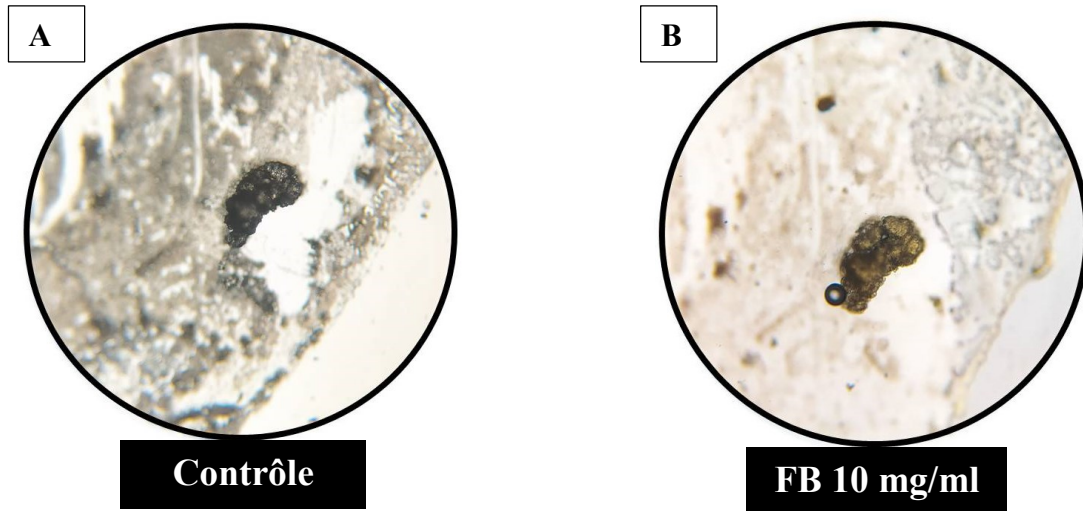


Figure 28 : Résultat de dissolution des cristallites d'oxalate de calcium par la fraction **FB**.
Observation au microscope optique (Grossissement x4).

IV-2- Discussion générale de la dissolution curative

Pour ce test, seules les fraction **FA** et **FB**, a une concentration de **10 mg/ml**, ont présentées des effets remarquables vis-à-vis la dissolution des cristallites d'oxalate de calcium préalablement formés, **2 h** après interaction (**Fig 27** et **28** respectivement).

Dans notre cas, la formation du cristallite d'oxalate de calcium **X** ($[\text{Ca}(\text{COO})_2]_x$) est la résultante de la formation des liaisons ioniques covalentes entre l'ion oxalate ($\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$) et l'ion calcique (Ca^{2+}), formant ainsi un polymère d'oxalate de calcium $[\text{Ca}(\text{COO})_2]_x$. Ce polymère et grâce aux interactions hydrostatiques, se réorganise en feuillets formant ainsi le cristallite stable d'oxalate de calcium mono ou dihydraté **X** $\{([\text{Ca}(\text{COO})_2]_x)(\text{H}_2\text{O})_n\}$ (**Fig 29**) (**Cesar L., 2016**), à savoir :

- $n = 1$: Whewellite monohydrate ; $n=2$: Weddellite dihydrate.
- x = nombre de molécules d'oxalate de calcium.
- X = nombre de polymères d'oxalate de calcium pour former les feuillets.

Il est connu, que l'intensité de l'opacité d'un cristal ou d'un cristallite est proportionnelle au nombre de feuillets formés (**Cesar L., 2016**).

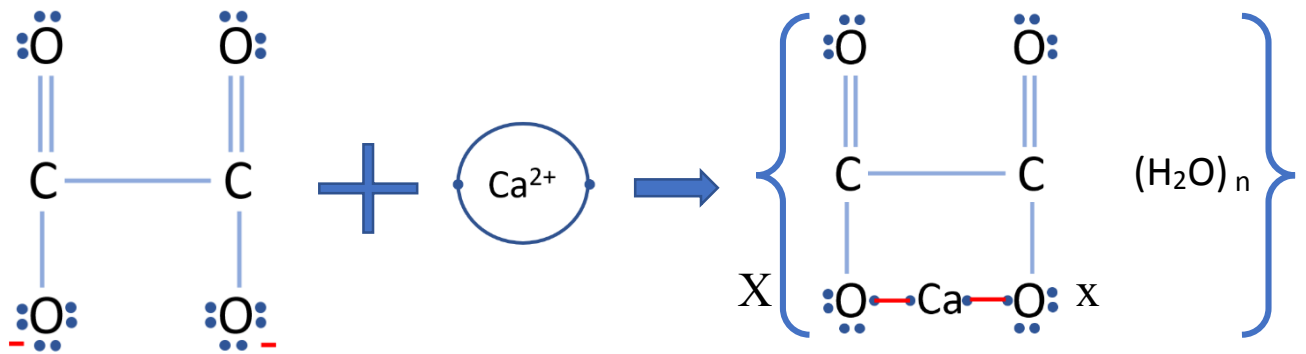


Figure 29 : Formation du polymère d'oxalate de calcium.

La diminution de l'intensité d'opacité du cristallite d'oxalate de calcium résulte de la perturbation des interactions hydrostatiques afin de déstabiliser le feuillet du polymère d'oxalate de calcium, suivit d'une destruction des liaisons ioniques covalentes existantes entre les constituants de chaque couche à savoir entre l'oxalate et le calcium. Ce phénomène peut être, probablement, le mode d'action de nos deux extraits **FA** et surtout **FB** via la dissolution et donc la désagrégation de la structure stable des cristallites **d'oxalate de calcium**, rappelons qu'il s'agit de la forme la plus dominante des calculs rénaux chez l'Homme. Cet effet se traduit, comme observé dans nos résultats (**Fig 27 et 28** respectivement) par la diminution de la taille du cristallite ainsi que la diminution de son opacité après observation sous microscope optique.

Pour les deux extraits **AT** et **FN**, l'absence de l'effet dissolutif à cette concentration peut être attribué à un effet antagoniste des différents constituants des deux extraits (étant les deux extraits les plus riches qualitativement) (**Bougoffa-Sadaoui et al., 2015**). Cela, peut-être, aussi expliqué par un encombrement stérique entre les différents constituants des extraits **AT** et **FN** conduisant au masquage des groupements fonctionnels au sein de ces alcaloïdes.

Encore une fois, via ce test, la théorie de l'importance du degré de pureté dans l'efficacité de l'activité s'affirme via notamment la fraction **FB** (70% de **protopine**) (**Fig 22**).

*Conclusion &
perspectives*

Conclusion & perspectives :

Afin de lutter contre diverses pathologies, l'Homme a depuis la nuit des temps, utilisé différents médicaments, mais qui peuvent entraîner aussi certaines complications. C'est pourquoi il s'est tourné vers la médecine traditionnelle en utilisant des substances naturelles, absorbées par l'organisme, qui représentent le premier réservoir de nouveaux médicaments.

Fumaria agraria, une espèce végétale de la famille des fumariacées a fait l'objet de notre étude afin d'évaluer l'effet inhibiteur et dissolutif des extraits alcaloïdiques (totaux et fractions) sur les cristallites d'oxalate de calcium, les cristaux les plus abondants dans les maladies lithiasiques.

Deux types d'extractions ont été réalisés à l'aide d'un extracteur solide-liquide "le Soxhlet" en utilisant l'éthanol comme solvant, à savoir : i) l'extraction des alcaloïdes totaux « **AT** » nous a donné un rendement comparable au résultat trouvé chez la même espèce et ii) l'extraction par fractionnement qui nous a permis de récupérer trois fractions alcaloïdiques : la Fraction Neutre « **FN** » suivie de la Fraction Acide (**FA**) puis la Fraction Basique « **FB** ».

Plusieurs mis au point ont été effectués afin de former des cristallites d'oxalate de calcium en utilisant deux produits à savoir : l'oxalate d'ammonium ((NH₄)₂C₂O₄) et le chlorure de calcium dihydrate (CaCl₂).

Notre travail élabore un test de dissolution des cristallites d'oxalate de calcium formée *in-vitro*, en présence et en absence des extraits alcaloïdique (totaux et fractions) de la partie aérienne de *Fumaria agraria*.

Suite aux résultats trouvés, nous avons observé un meilleur effet inhibiteur de la formation des cristallites d'oxalate de calcium dans l'ordre croissant suivant : **FB** > **FA** > **FN** > **AT**. Le degré de pureté élevé de la **FB** comparant aux autres extraits lui a permis d'avoir le meilleur effet inhibiteur, et cela, en minimisant l'encombrement stérique dû aux autres molécules dans les autres extraits (**FA**, **FN** et **AT**).

Nous sommes rapprochés également de notre hypothèse, qui propose que les alcaloïdes par leur caractère alcalin et leur charge positive interagissent avec l'acide oxalique, chargé négativement, par une liaison covalente, ce qui empêche la complexation de l'oxalate avec le calcium, expliquant ainsi l'inhibition de formation des cristallites d'oxalate de calcium.

Pour l'effet dissolutif des extraits alcaloïdiques de la partie aérienne de *Fumaria agraria*, la **FB** et **FA** ont un effet de désagrégation qui a permis de diminuer la densité de l'opacité des cristallites visualisés sous microscope optique, d'où la diminution de leurs tailles.

Les deux autres extraits **AT** et **FN** ont montré une négativité d'inhibition dissolutive du cristallite d'oxalate de calcium déjà formé à la concentration de **10 mg/ml**. Ce résultat peut être expliqué par :

- i)** Un phénomène d'encombrement stérique, suite à la présence d'un nombre important de molécules dans ces extraits, pouvant démasquer ainsi l'effet des groupements fonctionnels ou encore,
- ii)** Par un effet antagoniste entre les constituants des deux extraits.

A la lumière de nos travaux, on a pu initier, pour **la première fois**, l'effet anti-lithiasique des alcaloïdes de la partie aérienne de *Fumaria agraria* :

- i)** **Préventif** via l'inhibition de formation des cristallites d'oxalate de calcium et ;
- ii)** **Curatif** via la dissolution de ces mêmes cristallites préalablement formées.

En perspectives, des études complémentaires sont envisagées afin de mieux comprendre le mécanisme moléculaire responsable de l'inhibition de la formation des cristallites et de son effet de dissolution. Plusieurs démarches peuvent être proposées pour compléter ce travail, à savoir :

- ❖ Refaire les essais sur de vrais calculs rénaux.
- ❖ Effectuer une analyse diffractométrie de rayons X (**DRX**).
- ❖ Réaliser une spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (**FTIR**).
- ❖ Travailler avec des doses différentes que celle de notre travail (> **10 mg/ml**) et des durées différentes plus prolongée (> **2 h**).

Références bibliographiques :*A*

Aniszewski, T. (2007). Alkaloids-Secrets of Life: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role: Elsevier.

B

Baddade L., El Bir M., Oubenali M., Echajia M., Rabi S., Berkani M., and Mbarki M. (2018). Inhibition de la cristallisation in vitro de l'oxalate de calcium par extrait aqueux de Zizyphus Lotus, International Journal of Innovation and Applied Studies.

Bougoffa K., Gontier K., Lequart-Pillon M., Ouadid-Ahidouch H., Benabdesselam F. (2015). Characterization of isoquinolin alkaloids from Fumaria agraria and evaluation of their antiproliferative activity against human breast cancer cell lines. Phytothérapie.

Bougoffa-Sadaoui k., Maiza-Benabdesselam F. and Ouadid-Ahidouch H. (2021). Antiproliferative Activity of Protopine Extract from Fumaria agraria Against Human Lung Cancer Cell Lines. Phytothérapie.

Bruneton, J. (1987). Element de phytochimie et de pharmacognosie. 1ere Edit Lavoisier, Paris.

C

Cesar L. (2016). Oxalates de calcium hydroxyapatite : des matériaux synthétiques et naturels étudiés par techniques RMN et DNP. Chimie analytique. Université Pierre et Marie Curie-Paris VI.

Charier E. (2002). Urologie 4^{éd}, 12 rue de Texel –Paris.

Chevrel J.-P., Gueraud J.-P., Levy J.-B. (1991). Anatomie générale 5^{ème} édition ; Masson, Paris.

D

Daudon M ; Traxer.O ; Lechevallier.E ; Saussine.C. (2008). Épidémiologie des lithiases urinaires. Progrès en urologie.

Daudon M, Bader CA, Jungers P., (1993). Urinary calculi: review of classification methods and correlations with etiology. Scanning Microsc.

Daudon M, Jungers P. (2012). Stone Composition and Morphology A Window on Etiology; Springer-Verlag London.

De Debre P. Teyssier P. Evrard B. Dufour. (1992). Urologie, Masson Edition –Paris.

Debuigne, G. (1991). Dictionnaire des plantes qui guérissent. Paris.

E

Emile C. (2009). Du calcul urinaire à la lithiase. Option bio.

F

Finte, I.V., Weiss, F.R. (2004). Manuel pratique de phytothérapie. Edit Vigot, Paris.

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

G

Gilani, A.H., Bashir, S., Janbaz, K.H., khan, A. (2005). Pharmacological basis for the use of *Fumaria indica* in constipation and diarrhea. Journal of ethnopharmacology.

Grycova, L., Dostál, J., & Marek, R. (2007). Quaternary protoberberine alkaloids. Phytochemistry.

H

Hannache B. (2014). La lithiase urinaire : épidémiologie, rôle des éléments traces et des plantes médicinales. Médecine humaine et pathologie. Université Paris Sud-Paris XI.

Harborne, J.B. (1998). Phytochemical Methods: A guide to moderne techniques of plant analysis.

Harrache D., Mesri Z., Addou A., Semmoud A., Lacour B., Daudon M. (1997). Analyse des calculs urinaires de l'adulte dans l'ouest algérien par spectroscopie infrarouge transformée de Fourier. L'Eurobiologiste.

Henry N, Sèbe P. (2008). Anatomie des reins et de la voie excrétrice supérieure. EMC. Paris: Elsevier Masson.

Houhamdi L., Chefrou A., (2000). Etude de la dissolution in vitro des calculs de l'appareil urinaire par la sanguinaire *Paronychia argentea* (Caryophyllacées), Département de pharmacie –université Annaba d'Alger.

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

I

Idres, A., and Madi, R. (2009). Dictionnaire Universel Bilingue Français. Tamazight. Edition Jazz, Alger.

Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deelesalle –Féat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J. et Botrel A. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales –préparation, soin, thérapeutique-, Larousse Edition.

J

Jauzein, P. (1995). Flore des champs cultivés. Edit INRA, Paris.

Joseph P, Mandal AK, Singh SK, Mandal P, Sankhwar SN, Sharma SK. (2002). Computerized tomography attenuation value of renal calculus: can it predict successful fragmentation of the calculus by extracorporeal Shockwave lithotripsy.

Jungers P, Joly D, Barbey F, Choukroun G, Daudon M. (2005). Insuffisance rénale terminale d'origine lithiasique : fréquence, cause et prévention. Nephrol Ther.

Jungers P., Daudon M., Conort P. (1999). Lithiaserénale. Diagnostic et traitement. Paris, Flammarion Médecine-Sciences.

K

Karou, D., Dicko, M.H., Simporé, J. et Traore, A.S. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*.

Khamtache-Abderrahim S. Michelle Lequart-Pillon M. Gontier E. Gaillard I. Pilard S. Mathiron D. Djoudad-Kadji H. Maiza-Benabdesselam F. (2016). Isoquinoline alkaloid fractions of *Fumaria officinalis*: Characterization and evaluation of their antioxidant and antibacterial activities. *Industrial Crops and Products*, Elsevier.

Komaszewska, E., Petruczynik, A., Jozwaik, G., Kesik, T., Waksmundzka- Hajnos, M. (2007). Quantitative demonstration of protopine in *Fumaria officinalis* extracts by High Performance Liquid Chromatography. *Annals Universitatis Mariae Curie- Sklodowska. Lublin- Polonia*.

L

Lechevallier E, Saussine C, Traxer O. (2008). Imagerie et calcul de la voie excrétrice urinaire supérieure.

Lemaire, M., (2018). La lithiase rénale : comment éviter la récurrence ? Congrès UCL de Médecine Générale.

Liden, M., Fukuhara, T., Rylander, J., and Oxelman, B. (1997). Phylogeny and classification of *Fumariaceae*, with emphasis on *Dicentra* S.I. based on the plastid gene *rps*. *Plant Systematic and Evolution*.

Lucienne D. (2007). Les plantes médicinales d'Algérie ; BERTI Editions –Alger.

M

Maiza-Benabdesselam, F., Khamtache, S., Bougoffa, K. (2007). Antioxidant activities of alkaloid extracts of two Algerian species of *Fumaria*: *Fumaria capreolata* and *Fumaria bastardii*. *Rec.Nat.Prod*.

Marchand, F., Forget, J. F.T. (2004). Dictionnaire des médicaments conseil et produits de parapharmacie.

Michel S. (2012). Edition Larousse médicale.

N

Nguyen S. Y., Bourouina R., et Allin-Pfister A.C.M. (2008). d'anatomie et de physiologie.- 4^{ème} édition.- Paris : Editions LAMARRE. Chap.3, L'abdomen.

Nicole M., (2009). Anatomie physiologie biologie 4^{ème} édition ; Maloine.

P

Parks J.H., Coe F.L. (1996). Pathogenesis and treatment of calcium stones *Semin Nephrol*.

Preininger, V. (1986). Chemotaxonomy of *Papaveraceae* and *Fumariaceae*. In Brossi A (Ed), *the Alkaloids*. Academic Press. New York.

R

Rate, S.M.K. (2001). Plants as source of drugs. *Toxicon*.

Ribereau-Gayon, P. (1968). Notion générale sur les composés phénoliques. In « Les composés phénoliques des végétaux ».

S

Salinas, M.J., Romero, A.T., Blanca, G., De la Herran, R., Garrido-Ramos, M., Ruiz-Rejon, C., Morales, C., Suarez, V. (2003). Contribution to the taxonomy and phylogeny of *Sarcocapnos*(DC) (*Fumariaceae*). Plant Systematic Evolution.

Stevens, L. (1997). Anatomie pathologique –générale et spéciale- ; De Boeck édition.

Suau, R., Cabezudo, B., Rico, R. (2002). Alkaloids from *Fumaria sepium* and *Fumaria agraria*. Biochem Sys and Ecol.

Suau, R., Cabezudo, B., Rico, R. (2004). Phytochemical variations within populations of *Platycapnos saxicola* Willk. Journal Biochem Syst Ecol.

Susplugas, J., Massa, V., Susplugas, P. (1975). Fumeterres en Languedoc Roussillon. Anales del Instituto Botánico A. J.

T

Teixeira da Silva, J. A. (2004). Mining the essential oils of the Anthemideae. Afr. Journal of Biotechnology.

W

Wang, W., Lu, A.M., Ren, Y., Endress, M.E., Chen, Z.V. (2009). Phylogeny and classification of Ranunculales: Evidence from four molecular loci and morphological data. Perspectives in Plant Evolution and Systematic.

X

Xie B., Halter T. J., Borah B. M., and Nancollas G. H. (2015). “Aggregation of Calcium Phosphate and Oxalate Phases in the Formation of Renal Stones,” Cryst. Growth Des.

Annexe : Appareils et réactifs

Appareils

- Ampoule a décanté.
- Balance de précision **RADWAG (AS 220/C/2)**.
- Barreaux magnétiques.
- Bêchers.
- Broyeur **COMAF**.
- Eppendorf.
- Eprouvettes graduées.
- Etuve **BINDER**.
- Evaporateur rotatif **HEIDOLP**.
- Fioles.
- Micropipette.
- Microscope à caméra embarquée.
- Microscope optique.
- PH mètre **BANTE INSTRUMENTS 920**.
- Plaque chauffante.
- Soxhlet **BEHR LABOR-TECHNIK R 104 S**.
- Spatule magnétique.

Produit

- Acide chlorhydrique (**HCLK**).
- Ammoniaque (**NH₄OH**).
- Chloroform (**CHCl₃**).
- Chlorure hydrogen.
- Dichloro-méthane (**CH₂Cl₂**).
- Dihydrate de Calcium (**CaCl₂**).
- Eau distillé (**H₂O**).
- Ethanol (**C₂H₆O**).
- Ether de pétrole.
- Oxalate d'ammonium (**(NH₄)₂C₂O₄**).

Résumé :

La lithiase urinaire est une pathologie fréquente qui touche, selon les pays, de **4 %** à **20 %** de la population. Il existe quelques préparations traditionnelles utilisées en thérapie anti-urolithiasique traditionnelle. *Fumaria agraria* fait partie de la famille des Fumariacées, plantes médicinales largement répandues en Algérie pour son large potentiel thérapeutique. Leurs multiples propriétés pharmacologiques sont dues à leur richesse en substances actives, notamment en **alcaloïdes isoquinoléines**. Nous nous sommes intéressés d'une part à l'extraction des alcaloïdes totaux et des fractions alcaloïdiques de la partie aérienne de cette plante. D'autre part, on s'est intéressé à l'évaluation de l'effet *in-vitro* de ces extraits alcaloïdiques sur les calculs rénaux via la dissolution des cristallites d'oxalate de calcium, ainsi qu'à l'inhibition de leurs formations. Le plus grand rendement est enregistré pour la fraction neutre (**FN**) avec **0.41 %** suivi de la **FB (0,25 %)** puis la **FA (0,04 %)**, tandis que l'extrait des alcaloïdes totaux **AT** a présenté un rendement de **0,75 %**. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec la fraction basique puis acide (**FB et FA**) comparée à la fractions **FN** et à l'extrait **AT** en raison de son effet de dissolution sur les cristallites d'oxalate de calcium. En revanche, pour l'effet inhibiteur, la **FB** présente un meilleur effet d'inhibition due au degré de pureté élevé de cette dernière.

Mots-clés : *Fumaria agraria*, lithiase urinaire, oxalate de calcium, alcaloïdes isoquinoléique, cristallite.

Summary:

Urinary lithiasis is a frequent pathology that affects, depending on the country, from **4 %** to **20 %** of the population. There are some traditional preparations used in traditional anti-urolithiasis therapy. *Fumaria agraria* is a member of the Fumariaceae family, medicinal plants widely used in Algeria for its wide therapeutic potential. Their multiple pharmacological properties are due to their richness in active substances, especially in **isoquinoline alkaloids**. We were interested on the one hand in the extraction of total alkaloids and alkaloid fractions from the aerial part of this plant. On the other hand, we were interested in the evaluation of the in-vitro effect of these alkaloid extracts on kidney stones via the dissolution of calcium oxalate crystallites, as well as the inhibition of their formation. The highest yield was recorded for the neutral fraction (**NF**) with **0.41 %** followed by the **BF (0.25 %)** and then the **AF (0.04 %)**, while the total alkaloid extract **AT** showed a yield of **0.75 %**. The best results were obtained with the basic and then acidic fraction (**BF and AF**) compared to the **NF** fraction and the **AT** extract due to its dissolution effect on calcium oxalate crystallites. On the other hand, for the inhibitory effect, **BF** presents a better inhibition effect due to its high degree of purity.

Key words: *Fumaria agraria*, urinary lithiasis, calcium oxalate, isoquinoline alkaloids, crystallite.