



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane Mira- Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-chimique

Mémoire de Master

Discipline : Sciences de la Nature et de la vie

Option : Pharmacologie Moléculaire

Thème

**L'évaluation de l'activité antioxydante et de la toxicité
Des alcaloïdes isoquinoléiques de *Fumaria Officinalis***

Présenté par :

M^{elle} HAROUNE Nadjette

M^{elle} MOUMENI Lynda

Membre de Jury :

Grade et lieu

Présidente : M^{me} Benmassaoud .Y (M.A.B Université de Bejaia)

Promotrice : M^{me} Abderrahim S (M.A.A Université de Bejaia)

Examineurs : M^r Belkacem .N (M.A.B Université de Bejaia)

M^{me} Kadji .H (M.A.A Université de Bejaia)

Co- promotrice : M^{me} Ait Habib .N (Doctorante Université de Bejaia)

Invité : M^r Hammache.L

Année universitaire : 2011/2012



Remerciements

« La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage ».

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donnée la force et la patience.

Nous tenons à remercier tous ceux qui nous ont orienté, dirigé pour la réalisation de ce modeste pas de recherche, à savoir :

Notre promotrice M^{me} Abedrrahim de nous avoir confié ce thème et pour ses conseils et orientation et surtout la confiance quelle nous a accordée

Notre Co-promotrice M^{me} Ait Habib pour son soutien et ses renseignements précieux.

Que les honorables membres du jury veuillent croire en nos remerciements anticipés pour leur acceptation d'examiner ce travail.

Nos reconnaissances vont tout spécialement à monsieur HAMMACHE L., vétérinaire, pour ses précieux conseils et sa grande disponibilité pour l'aboutissement de ce travail.

Tous les membres de laboratoire pour leur disponibilité et leur gentillesse durant notre séjour en laboratoire « M^{Br} Bribi, M^{lle} Bensalem S et M^{lle} SAIDA »

Médicaces

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,

Pour vos mains qui ont tant travaillées,

Pour votre cœur qui m'a tant donné

Pour votre sourire qui m'a tant réchauffé,

Pour vos yeux qui furent parfois mouillés,

Pour vous qui m'avez tant aimé.

A mes chers frères:

Yazid, Adél, Saber et Abdel el Wahid,

A mes chères sœurs :

Soria et son mari Ali et pour leur deux

enfants « Mohamed Sami et Manis »

Khalissa et son mari Atmane et

pour leur enfant « Mohamed amine»

Et surtout a ma petite sœur Lina.

A toute ma promotion pharmacologie « 2012 »

A tous mes amis qui m'ont vraiment aidé « Malika, Lotfi, Hamide, Radiya, Sonia, Mouloud, Nabila, Saïda, Nassima, Akila,.....».

A toi Lynda, merci pour tout ce que tu as fait pour nous, on n'oubliera jamais l'aide que tu nous as apporté.

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

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.

Nadjette.H

Dedicaces

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 ta patience.

Maman, Les mots me manquent pour t'exprimer toute 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 et surtout de ta patience. Ce travail est également le fruit de ton amour, tes bénédictions et surtout ta bonne éducation. 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 et leurs maries:

Merci pour le soutien moral.

Amon frère :

Fares tu est le meilleur frère sur terre.

A toi Lynda :

Merci pour le temps que tu as consacré pour moi, tu es un élément essentiel dans la réalisation de ce mémoire.

A toi Nadjette :

Ma chère amie et sœur qui a partagé avec moi le meilleur et le pire.

A toutes la promotion pharmacologie 2012

Continuons dans la voie de la consolidation de nos liens d'amitié et gardons toujours l'esprit d'équipe. Bonne chance à nous tous.

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.

Lynda.M

Figure	Titre	page
1	<i>Fumaria officinalis</i>	4
2	Photographie de <i>Fumaria officinalis</i> dans son habitat naturel	22
3	Région de la récolte de <i>Fumaria officinalis</i> .	22
4	Conditions d'élevage des lapins albinos au sein de l'animalerie de l'université d'A. Mira de Bejaia.	23
5	Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux	25
6	Protocole d'étude de l'activité « scavenging » du DPPH	26
7	Protocole d'étude du pouvoir réducteur	27
8	Protocole d'étude de l'activité « scavenging » de la ABTS ⁺	28
9	protocole à suivre durant l'expérience	30
10	Représentation graphique de la teneur en eau de la partie aérienne de <i>Fumaria officinalis</i>	33
11	Comparaison de la teneur en alcaloïdes totaux entre des espèces du genre	34
12	La réduction du DPPH oxydé par un antioxydant.	35
13	Activité scavenging du DPPH des antioxydants de synthèse	35
14	Pouvoir réducteur des alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i>	38
15	Pouvoir réducteurs des antioxydants de synthèse (BHA, Q, AG)	38

Liste des figures

16	Activité scavenging du radical ABTS ⁺ des alcaloïdes de fumaria officinalis	40
17	dosage des paramètres hépatiques	50
19	dosage de la créatinine sanguine et de l'acide urique.	51
20	Dosage des électrolytes.	52
21	le dosage de la CPK.	53

Tableau	Titre	Page
I	Principales caractéristique de différentes parties de <i>fumaria officinalis</i>	2
II	Position du genre <i>fumaria</i>	5
III	Médicaments à base de <i>Fumaria officinalis</i> au statut AMM commercialisés ou valides	7
IV	Les propriétés pharmacologiques des alcaloïdes isoquinoléiques de <i>Fumaria officinalis</i>	12
V	Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques	18
VI	Evaluation de l'activité antioxydante in vitro.	21
VII	Taux d'humidité de <i>Fumaria officinalis</i>	32
VIII	Les IC50 des standards et des alcaloïdes de <i>F. officinalis</i>	36
IX	Classe de toxicité selon l'échelle de toxicité	43
X	Etudes macroscopique des organes de lapin témoin	44
XI	Etudes macroscopique des organes du lapin ayant reçu la dose de 60 mg/kg.	45
XII	Etudes macroscopique des organes du lapin ayan reçu une dose de 100 mg/kg.	46
XIII	Paramètres hématologique des lapins sains	49

Liste des Abréviations

ABTS: Acide 2, 2-azino-bis-3-ethyl-BenzoThiazoline Sulfonique

ADN: Acide Désoxyribo Nucléique

AG : Acide Galique

ALAT : Alanine Amino Transférase

ALCAL : Alcaloïdes

AMM : Autorisation de *M*ise sur le *M*arché

ASAT : Aspartate Amino Transférase

AT : Alcaloïdes *T*otaux.

BHA : *B*utyl *H*ydroxy *A*nisole

DA : *D*altons

DL50 : *D*ose *L*étale à 50%

DMSO: *D*i *M*éthyle *S*ulf *O*xide

DPPH : 2,2-DiPhenyl-1-PicrylHydrazyl

ERO : *E*spèces *R*éactives de l'*O*xygène

Fe²⁺ : *F*er *F*errique

Fe³⁺ : *F*er *F*erreux

FeCl₃ : *C*hlorure *F*errique

FRAP: *F*erric ion *R*educing *A*ntioxidant *P*arameter

FRAP: *F*erric ion *R*educing *A*ntioxidant *P*arameter

g : *G*ramme

h : *H*eure

IC₅₀ : *C*oncentration *I*nhibitrice à 50%

IM : *I*ntra *M*usculaire

Liste des Abréviations

K⁺ : Potassium

K₃Fe(CN)₆ : Ferricyanure de Potassium

Kg : Kilogramme

L : Litre

L1 : Lapin 1

LT : Lapin Témoin

MeOH : Methanol

mg : Milligramme

ml : MilliLitre

mM : Millimolaire

mn : Minute

NA⁺ : Sodium

Nm : Nanomolaire.

Nm : Nanomètre

Nm : Nanomètre

O₂ : Oxygène

O₂⁻ : Ion superoxyde

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity

PH : Potentiel d'Hydrogène

PS : Poids Sec

Q : Quercetine

SNC : Système Nerveux Central

T : Température

t/mn : Tours/minute

Liste des Abréviations

TCA : Acide Trichloracétique

TGO : Transaminase Glutamique Oxaloacétique

TGP : Transaminase Glutamique Pyruvique


TH : Taux d'Humidité

TEAC : Capacité Antioxydante Equivalente Trolox

TRAP: Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter

UI : Unité Internationale

UV: Ultra Violet.

A decorative banner with a black outline and rounded corners. The banner is oriented horizontally and contains the word "SOMMAIRE" in a large, bold, black serif font. The banner has a slight 3D effect with a grey shadow underneath. At the top-left and top-right corners, there are small grey circular elements that look like the ends of rolled-up paper or decorative scrolls.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction..... 01

Partie théorique

Chapitre I : Etude phytochimique de *Fumaria officinalis*

I.1 Les <i>Fumariacées</i>	02
I.2 Description botanique.....	02
I.3 Origine et habitat.....	04
I.4 Position dans la systématique	05
I.5 Composition chimique des parties aériennes fleuries	05
I.6 Utilisation traditionnelle et actuelle	06
I.7 Toxicité de <i>Fumaria officinalis</i>	08

Chapitre II : Les effets toxiques des alcaloïdes

II.1 Définition des alcaloïdes	09
II.2 Rôle des alcaloïdes dans la plante	09
II.3 Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes	09
II.4 Origine biosynthétique	10
II.5 Classification	11
II.5.1 Les alcaloïdes isoquinoléiques	11
II.5.1.1 Définition	11
II.5.1.2 classification	11
II.5.1.3 Origine biosynthétique	11
II.5.1.4 les propriétés pharmacologiques des alcaloïdes isoquinoléiques de <i>Fumaria officinalis</i>	12
II.5.1.5 toxicité des alcaloïdes isoquinoléiques de <i>Fumaria officinalis</i>	15

Chapitre III : Radicaux libres et antioxydants

III1. Les radicaux libres dans les systèmes biologiques.....	17
III2. Principales sources de production des radicaux libres	17

SOMMAIRE

III.3. Rôles physiologiques des radicaux libres	18
III.3.1. Rôle dans la phagocytose.....	18
III.3.2. Rôle dans la communication cellulaire.....	19
III.4 Stress oxydant et ses conséquences biologiques	19
III.5 Les antioxydants	20
III.6 Mécanisme d'action des antioxydants.....	20
III.7 Méthodes d'étude de l'activité antioxydante	20

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

I.1. Matériels.....	22
I.1.1. Matériels végétal.....	22
I.1.2. Matériel animale.....	23
I.1.3. Matériel et réactifs.....	24
I.2. Méthodes	24
I.2.1. Séchage	24
I.2.2. Broyage.....	24
I.2.3. Extraction des alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i>	25
I.2.4. Tests biologiques	
I.2.4.1 Evaluation, <i>in vitro</i> , de l'activité antioxydante	26
I.2.4.1.1. Test au DPPH	26
I.2.4.1.2. pouvoir réducteur	27
I.2.4.1.3. Test de réduction du radical-cation ABTS ⁺ ou TEAC	28
I.2.4.2. Etude préliminaire de la toxicité des alcaloïdes totaux de <i>Fumaria officinalis</i>	29
I.2.4.2.1. Toxicité aiguë par voie IM.....	29

Chapitre II: Résultats et discussions

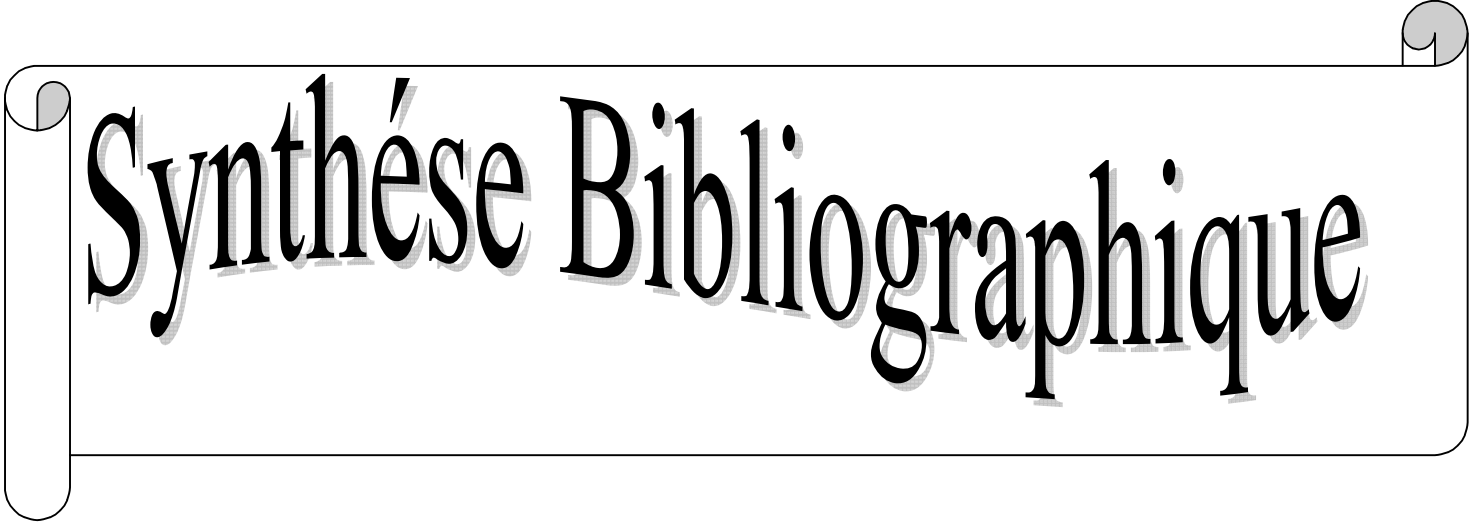
II.1. Taux d'humidité	32
II.2. Rendement d'extraction des alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i>	33
II.3. Tests biologiques.....	34
II.3.1. Evaluation, <i>in vitro</i> , de l'activité antioxydante	34
II.3.2. Etude préliminaire de la toxicité aiguë	41

SOMMAIRE

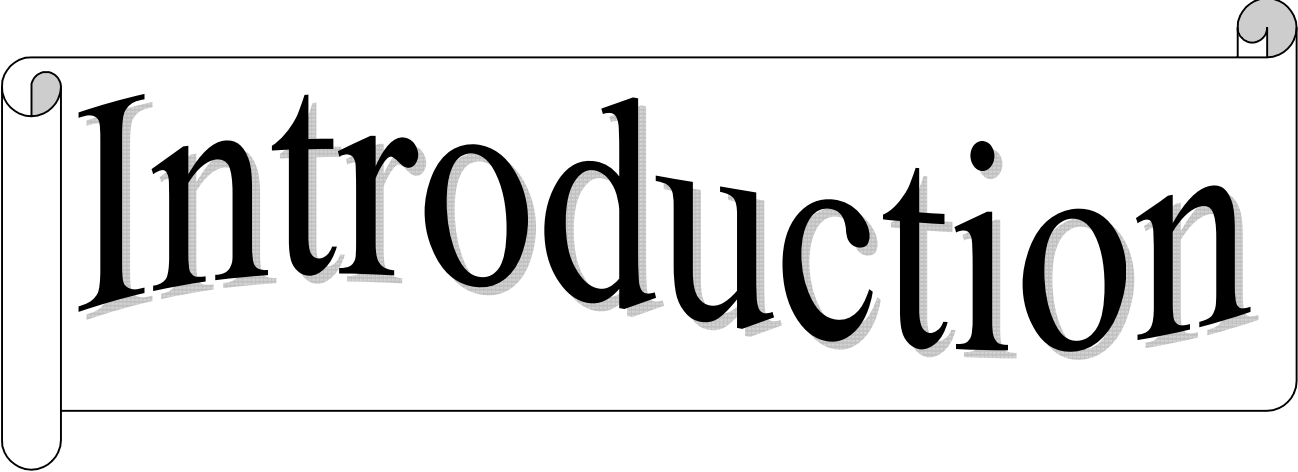
II.3.2.1.Recherche de toxicité	41
II.3.2.1.1.Choix de la voie d'administration	41
II.3.2.1.2.Choix des doses utilisées	41
II.3.2.1.3.Observation du comportement et tableau clinique des animaux.....	42
II.3.2.2.Etude macroscopique des organes.....	44
II.3.2.3.Etudes des paramètres hématologiques	48
II.3.2.3.1.Les tests de la fonction hépatique.....	49
II.3.2.3.2 Les tests de la fonction rénale.....	50
II.3.2.3.3.Dosage des paramètres cardiaques.....	53
Conclusion et perspectives.....	54

Références bibliographiques

Annexes

A decorative horizontal scroll graphic with a black outline and rounded ends. The scroll is unrolled in the center, with the text 'Synthèse Bibliographique' written across it. The scroll has a slight 3D effect with a grey shadow on the top and bottom edges.

Synthèse Bibliographique



Introduction

A travers des siècles passés, l'homme a connu plusieurs maladies. Il a toujours cherché à traiter, à guérir ou à calmer ses douleurs. Sa souffrance l'a poussé à trouver des solutions. Mais quelles solutions ? Ce sont des remèdes naturels, d'origine animale, végétale ou minérale, des thérapies manuelles ou spirituelles. C'est la médecine traditionnelle ou la médecine populaire.

Les plantes médicinales, remèdes naturels sont bien souvent très efficaces avec moins d'effets secondaires reconnus que beaucoup de médicaments de synthèse mais peuvent néanmoins être mortels ou toxiques pour l'organisme (**Aniszewski , 2007**).

Fumaria officinalis appartient à la famille des *Fumariaceae*, accumule des métabolites dits secondaires qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme en particulier dans le domaine pharmacologique. Utilisé en tradithérapie pour traiter plusieurs pathologies tel que : les affections hépatobiliaires, troubles digestifs, maladies infectieuses et parasitaires et surtout l'eczéma (**Guignard, 2000**).

Cette plante médicinale est connue par sa richesse en alcaloïdes isoquinoleiques qui sont parmi les groupes les plus importants de produits naturels en raison de leurs propriétés biologiques et de leur diversité structurale (**Bruneton, 1999**). Ils jouent un rôle important, comme principe actifs de médicaments, malgré l'essor des produits de synthèse.

Les alcaloïdes exercent un nombre très important d'activités, connus beaucoup plus pour leurs effets sur le système nerveux, présentent des effets anti-inflammatoires, anti microbiens , diurétiques , anti-thrombotiques ...(**Iwasa et al ,2001**).

La forte activité biologique des alcaloïdes en fait parfois des toxiques puissants qui ont été impliqués dans des accidents et des affaires criminelles. C'est pour cela le contrôle des doses utilisées lors de traitement est nécessaire (**Iwasa et al ,2001**).

Les objectifs de notre étude est de :

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

Chapitre I

Etude phytochimique de *Fumaria officinalis*

I.1 Les fumariacées

L'origine du mot fumeterre est assez controversée : *Fumaria* viendrait du latin fumus terrae (fumée de la terre), car certains pensaient que fumeterre naissait « des vapeurs de la terre » tant son feuillage grisâtre semblait vaporeux. Pour d'autres, ce nom serait dû au fait que le suc de la plante fait pleurer comme la fumée (rakotondramasy –rabesiaka *et al.*, 2007).

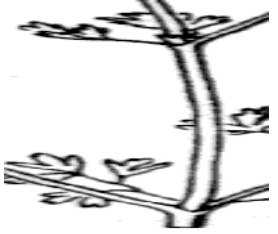

Les fumariacées sont des papavéracées évoluées, forment une famille de 16 genres et 450 espèces, d'herbes annuelles ou vivaces de hauteur variant de 30cm à 1 m (Bach, 1998).

Cette famille fleurit du mois d'avril à septembre, et les fruits ont la forme d'une capsule à graine ronde, avec un creux au sommet (Goetz, 2005).

I.2 Description botanique

Fumaria officinalis (Tableau I) (Figure 1) est une plante annuelle grimpante atteignant 30 cm de haut (Larousse, 2007).

Tableau I : Principales caractéristiques des différentes parties de *Fumaria officinalis* (Bock, 2002 ; Dubray, 2010).

La tige		tige molle et glabre.	
----------------	---	-----------------------	---





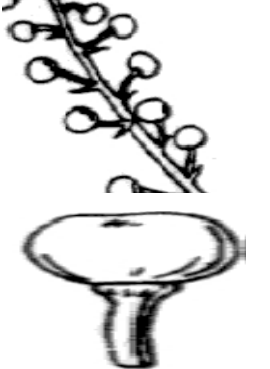

<p>Les feuilles</p>		<p>Les feuilles alternes sont gris-vert, pennatiséquées a lobes étroits, lancéolés et glabres, évoquant l'empreinte d'une patte de poule (d'où son surnom de "pied de geline").</p>	
<p>Les fleurs</p>		<p>Les fleurs poussent en épis -grappe terminales .D'une taille d'environ 1 cm, parfois moins, elles sont tubulaires allongées, bilabiées et prolongées d'un éperon. Contient six étamines en deux faisceaux. Leur couleur varie du blanc au rose plus ou moins sombre, avec des taches pourpres a Leur extrémité.</p>	
<p>Les fruits</p>		<p>Les fruits sont des petites silicules globuleuses (2 mm) avec un sommet déprimé.la capsule formée ne renferme qu'une graine.</p>	



Figure 1 : *Fumaria officinalis* (Bock, 2002 ; Dubray, 2010).

I.3 Origine et habitat

Originnaire d'Europe et d'Afrique du nord, elle pousse en Asie, en Amérique du nord et en Australie (Larousse, 2007), sur les bords des chemins et les terres incultes, le long des vieux murs, jusqu'à 1500 m d'altitude (Dubray, 2010).

I.4 Position dans la systématique (Takhtajan, 1969 ; Cronquist, 1981).

Tableau II: position du *Fumaria officinalis* dans la systématique.

Règne	Plantae (plante)
Sous-règne	Tracheobionta(plantes vasculaires)
Super division	Spermatophyta (plants à graines)
Division	Magnoliophyta (plantes à fleurs)
Classe	Magnoliopsida (dicotylédones)
Sous classe	Magnoliidae
Ordre	Papaverales
Famille	<i>Fumariaceae</i>
Genre	<i>Fumaria L.</i>
Espèce	<u><i>Fumaria officinalis L.</i></u>

I.5 Composition chimique des parties aériennes fleuries

La plante est surtout connue pour ses alcaloïdes, elle recèle 30 alcaloïdes qui représentent environ 0.4% de la plante (l'un d'entre eux, la protopine, et le principe actif le plus intéressant), mais elle compte une centaine de composants parmi lesquelles on peut citer (Bruneton, 2009 ; Goetz *et al.*, 2009) :

➤ **Alcaloïdes**

- **Dérivé de l'isoquinoléine (0,3-1 %) :** protopine (= fumarine 0,13 %), cryptopine.
 - **Protoberbérines :** aurotensine, stylopine, sinactine et N-méthylsinactine.
 - **Dérivés de type spirobenzylisoquinoleine :** fumaricine, Fumaritine, fumariline.
 - **Dérivés de type benzophénanthridine :** sanguinarine.
 - **Dérivés de type indenobenzazepine :** fumaritridine, fumaritrine, etc

➤ **Hétérosides flavonoïques**

Hétérosides de la quercitrine : 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 (**Bruneton, 2009 ; Goetz et al ., 2009**) .

I.6 Utilisation traditionnelle et actuelle

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, les eczéma chroniques, rhumatisme, hypertension, les infections(en cas de syphilis) (**Sturm et al ., 2005**).

Les maladies du foie et de la rate, c'est un régulateur hépatovésiculaire. La fumeterre a également été utilisée, pour faciliter les fonctions d'élimination urinaire et digestive, comme cholérétique ou cholagogue (**British Herbal Pharmacopoeia, 1990**).

De nos jours, cette herbe est un composant de plusieurs produits phytopharmaceutiques, elle est présente dans 13 préparations répertoriées dans le dictionnaire vidal® (**Tableau III**) elle est réputée avoir un tropisme particulier pour les voies biliaires et est proposée dans les pathologies fonctionnelles du tractus biliaire et de l'appareil gastro-intestinale.

Une étude scandinave plus récemment publiée dans la prise en charge du syndrome de l'intestin irritable chez 106 malades a conclu à l'inefficacité de ce produit (**Bonnet et al., 2007**).

Tableau III : Médicaments à base de *Fumaria officinalis* au statut AMM commercialisés ou valides (Goetz et al., 2009).

Formes solides	
Laboratoires Arkopharma (AMM : valide)	Actibil[®] Composition pour une gélule : 160 mg titrant 0.5 en protopine de partie aérienne fleurie de fumeterre. Composition pour une gélule : 220 mg titrant au minimum 0.5 en protopine de partie aérienne fleurie de fumeterre.
Laboratoire lehnig	Depuratum[®] :6 plaquettes de 10 gélules Composition pour une gélule : 38,25 mg de partie aérienne fleurie de fumeterre.
Laboratoires pierre Fabre	Elusanes fumeterre[®] Flacon de 30 gélules. Composition pour une gélule : 200g sec de partie aérienne fleurie de fumeterre.
Coopération pharmaceutique française	Oddibil[®] Plaquette de 40 comprimés. Composition pour un comprimé : 250mgd'extrait sec de partie aérienne fleurie de fumeterre.
Formes liquides	
Pharmacie et laboratoire de l'homme de fer	Azma[®] 20 sachets. Composition pour un sachet-dose de 2g :100mg de fumeterre.

Laboratoire Gabrielle sourd	Bokittol[®] flacon de 125ml. Composition pour 100 ml : 5,4g d'extrait fluide de partie aérienne de fumeterre.
Laboratoire diététiques et santé (AAM valide)	Boribel n° 7 biliaire[®] Composition pour un sachet-dose de 2g : 0.4g de fumeterre. Composition pour 100 g de mélange de plantes pour tisane : 20g de fumeterre.
Laboratoire diététiques et santé (AAM valide)	Boribel n° 10 dépurative[®] Composition pour un sachet –dose de 2g : 0.4g de partie aérienne fleurie de fumeterre. Composition pour 100 g de mélange des plantes pour tisane : 20g de partie aérienne fleurie de fumeterre.
Société de diffusion de promotion et de communication	Dépuratif parnel[®] Flacon de 150ml. Composition pour 100 g de sirop : 2g fluide de la partie aérienne de fumeterre.

I.7 Toxicité 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 la fumeterre pour tisane, l'extrait aqueux, les teintures et les extraits hydro-alcooliques, quel que soit leur titre (**Bruneton, 2009**).

La monographie établie par la commission Européenne précise que la posologie de *Fumaria officinalis* est de 6g 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**).

A decorative graphic of a scroll with a black outline and grey shading on the left and right sides, containing the chapter title.

Chapitre II

Les effets toxiques des alcaloïdes

II.1 Définition des alcaloïdes

Le terme alcaloïde 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*, la soude et du grec *eidos*, l'aspect (**Bruneton, 1999**))

La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par **Winterstein et Trier en 1910**.

Un alcaloïde 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 basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (**Aniszewski, 2007**).

II.2 Rôle 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 ou d'autres fragments nécessaires au développement de la plante (**Paris et Hurabielle ; 1980**).

II.3 Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes

- Il y a deux sortes d'alcaloïdes : oxygénés et non oxygénés, Ces derniers sont le plus souvent liquides à température ordinaire volatiles et odorants (**Bruneton, 1999**).
- La plus part des alcaloïdes sont des substances cristallines bien définies qui se lient à des acides et forment des sels. Dans la plante, ils peuvent exister à l'état libre, sous forme de sels ou N-oxyde.
- Bien que les alcaloïdes colorés soient relativement rares mais on peut trouver par exemple la berbérine qui est jaune et les sels du sanguinarine qui sont rouge.

- La connaissance de la solubilité des alcaloïdes et de leurs sels est d'une importance pharmaceutique considérable, non seulement les alcaloïdes sont souvent administrés en solution, mais également les différences de solubilité entre les alcaloïdes et leurs sels fournissent des méthodes pour leur isolement des plantes et de leurs séparation des substances non alcaloïdales (**Evans, 2007**).
- 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, leurs sels sont insolubles dans les solvants organiques apolaires et solubles dans les solvants organiques polaires et dans l'eau (**Paris et Hurabielle ; 1980**)

Les alcaloïdes sont également doués d'autres propriétés physiques ou chimiques mise à profit dans diverses techniques de dosage :

- La précipitation des alcaloïdes par certain réactifs appelés « réactifs des alcaloïdes ».ces réactions de précipitation ont lieu en milieu aqueux légèrement acide (**Vercautern, 2007**).
- L'absorption par les alcaloïdes en lumière ultra violette.
- La fluorescence des alcaloïdes sous une excitation de 360nm (**Aniszewski, 2007**).

II.4 Origine biosynthétique

La synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique ; se concentrent ensuite dans la vacuole (**Guignard, 1996**).

Il n'existe pas de processus biogénique général. Notons simplement que le précurseur pour les alcaloïdes vrais et les protoalcaloïdes est un acide aminé : ornithine, lysine, phénylalanine, tyrosine, tryptophane, histidine, acide anthranilique. La formation de l'alcaloïde peut nécessiter l'intervention d'une seule molécule d'acide aminé, de deux molécules du même acide aminé, plus rarement de deux acides aminés différents ou de plusieurs molécules du même acide aminé (**Bruneton, 1999**).

II.5 Classification

Les alcaloïdes représentent un des plus grands groupes de produits naturels .Actuellement plus de 12000 structures connus (**Salminen, 2011**).

Proposer une classification pour les alcaloïdes est une tâche difficile, en raison du grand nombre de composés et surtout à cause de la diversité structurale.

L'atome d'azote dans les alcaloïdes provient, en générale, d'un acide aminé dont la structure carbonée reste souvent intacte dans la structure finale de l'alcaloïde .Une façon raisonnable est alors de classer les alcaloïdes en groupes, selon leur précurseur biosynthétique (**Springob et al., 2009**).

II.5.1 Les alcaloïdes isoquinoléiques

II.5.1.1 Définition

Les alcaloïdes isoquinoléiques représentent une classe très importante de métabolites secondaires. La morphine fut le premier alcaloïde de ce type à être isolé. Cette classe regroupe de multiples composants à activités pharmacologiques très importantes (**Shakil, 1998**).

II.5.1.2 classification

Les alcaloïdes isoquinoléiques peuvent être divisés en groupes selon leurs structures et leurs voies de biosynthèse.

II.5.1.3 Origine biosynthétique

Ils sont dérivés des acides aminés phenylalanine ou tyrosine. Formés à partir d'un précurseur 3,4-dihydroxytyramine (dopamine) lié à un aldéhyde ou ketone (**Sato et al., 2007**).

La biosynthèse de la plupart des alcaloïdes isoquinoléiques dépend du modèle d'oxygénation du précurseur 1-benzylisoquinoléique .Ainsi la réticuline, oxygéné aux positions 6,7 du noyau hétérocyclique est un précurseur de la morphine, protopine, protoberbérine,....

D'une part, la crassifoline oxygénée aux positions 7,8 est associée à la biosynthèse de cularine, quettamine,... (**Suau et al., 1998 ; Suau et al., 2005**).

II.5.1.4 Les propriétés pharmacologiques des alcaloïdes isoquinoléiques de *Fumaria officinalis*

Tableau IV : Propriétés pharmacologiques des alcaloïdes isoquinoléiques de *Fumaria officinalis*

Alcaloïdes	Effets pharmacologiques	Références
Protopine	<ul style="list-style-type: none"> -Inhibition de l'aldéhyde réductase I. -Inhibition de l'aldose réductase. -Inhibition de l'alpha amylase. -Activité anti-hépatotoxique. -Activité anti-malarique. -Effet antispasmodique. -Effet anti thrombotique. -Activité antihistaminique. -Activité anti-inflammatoire. -Diminution de la viscosité sanguine. -Stimulation de l'GMPC. -Induction du cytochrome P450. -Effet modulateur des récepteurs GABA. -Activité hypotensive. -Inhibition de la formation du phosphate inositol. -Effet inotrope négatif. -Inhibition de la sécrétion de sérotonine (5-HT). -Inhibition de l'agrégation plaquettaire. -Inhibition des prostaglandines. -Inhibition de la synthèse de thromboxane A-2. -Induction de la synthèse de thromboxane B-2. -Activité vasodilatatrice. 	<p>Sung Bae <i>et al.</i>, 2011 ; Vrba <i>et al.</i>, 2011 ; Wynne <i>et al.</i>, 2004; Rakotondramasy-Rabesiaka <i>et al.</i>, 2006 ; Bin <i>et al.</i>, 2005 ; Wasu <i>et al.</i>, 2009 ; Suau <i>et al.</i>, 2002, Shakil, 1998 ; Rathi <i>et al.</i>, 2008 ; Gilani <i>et al.</i>, 2004 Rakotondramasy-Rabesiaka <i>et al.</i>, 2008 ; Jiang <i>et al.</i>, 2004 ;Xiao <i>et al.</i>,2008 ;Dou <i>et al.</i>,2012.</p>

Sanguinarine	<ul style="list-style-type: none"> -Activité antimicrobienne. -Activité anti-inflammatoire -Activité anti-oxydante. -Activité anti-tumoral. -Effet antiagrégant plaquettaire 	Jeng <i>et al.</i>, 2006 ; Farrow <i>et al.</i>, 2012 ; Al Hayyan, 2006.
Cryptopine	<ul style="list-style-type: none"> -Activité anti-hépatotoxique. -Inhibition de l'ADN polymérase I. 	Da-Cunha <i>et al.</i>, 2005.
Berbérine	<ul style="list-style-type: none"> -Inhibition de l'acétylcholinestérase. -Agoniste adrénergique (α). -inhibition de l'alcool déshydrogénase. -Inhibition de l'alcaline phosphatase. -Activité analgésique. -Activité anti-arythmique. -Activité anti-diarrhéique. -Effet anti-acnéique. -Activité antihémorragique. -Activité anti-inflammatoire. -Effet anti-ischémique. -Effet anti-néphrétique. -Effet anti-thrombotique. -Inhibition de la formation d'interleukine-8. -Effet immunosuppresseur. -Antagonistes des récepteurs muscariniques. -Effet neuroprotecteur. -Blocage de l'activité neuromusculaire. -Blocage des canaux potassiques. -Stimulation de la superoxyde dismutase. 	Farrow <i>et al.</i>, 2012 ; Wu <i>et al.</i>, 2006 ; Grycova <i>et al.</i>, 2006 ; Da-Cunha <i>et al.</i>, 2005, Humbert, 2006.

Fumarine	<ul style="list-style-type: none"> -Action antihistaminique. -Effet antiasthmatique. -Action anti-sérotonine. 	Goetz et al., 2009.
Coptisine	<ul style="list-style-type: none"> -Activité antibactérienne. -Activité antispasmodique -Effet anti-néphrétique. -Activité antioxydante. -Activité cytotoxique. -Activité antiulcéreuse. -Inhibition de la monoamine oxydase. -Inhibition de la lipogenèse. Amélioration de l'absorption percutanée. -Inhibition de l'agrégation plaquettaire. 	Gilani et al., 2005 ; Da-Cunha et al., 2005.
Stylopine	<ul style="list-style-type: none"> -Inhibition de l'activation d'antigène. -Activité anti psychotrope. -Inhibition de l'aldose réductase. -Activité cytotoxique. -Antihistaminique. -Inhibition de l'agrégation plaquettaire. 	Da-Cunha et al., 2005.
Allocryptopine	<ul style="list-style-type: none"> -Activité antiparasitaire. -Activité anti-arythmique. -Activité anti-inflammatoire. -Activité anti-thrombotique. -Effet hépato protecteur. 	Vrba et al., 2011.

II.5.1.5 Toxicité des alcaloïdes isoquinoléiques 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' α cétylglutarate déshydrogénase, ainsi que des perturbateurs du métabolisme et du transporteur de la dopamine.

Les alcaloïdes isoquinoléiques sont toxiques (apoptose) pour les cellules PC12, modèles de neurones catécholaminergiques, et inhibent la respiration mitochondriale (**Alfort, 2010**).

- ❖ **protopine** : connue pour ses effets cardiotoxiques. Elle provoque chez la grenouille de la bradycardie ; des contractions irrégulières apparaissent aux fortes doses, elle augmente le nombre des pulsations, sensibilise le cœur aux arythmies ventriculaires provoquées par l'épinéphrine, et comme **la papavérine**, augmente le flux de l'artère coronaire.
- ❖ **La protopine** exerce 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 élévation aigue de la tension oculaire du lapin, elle est la première substance naturelle connue pouvant être utilisée comme matériel expérimental pour la production et l'étude du glaucome (**Kerharo et Adam, 1974**).

Une étude plus récente explique le mécanisme d'action de cette molécule ; elle réagit avec les charges négatives et les groupes nucléophiles des protéines et inhibe plusieurs enzymes exp :

Na^+ / K^+ ATPase. En plus, elle intercale avec l'ADN (**Springob et al ., 2009**).

Des effets tératogènes ont été observés chez les souris suite à l'administration de la sanguinarine (**Vrba et al, 2011**).

- ❖ **Berbérine** : la berbérine n'est pas très toxique, sa DL50 minimum pour le lapin étant environ 0,1 g/kg par voie sous cutanée.

A la dose de 2mg/kg, elle exerce une action déprimante et vasodilatatrice sur le cœur .elle déprime l'activité respiratoire et stimule les muscles lisses de différents organes : intestin, utérus, bronches (**Kerharo et Adam, 1974**).

La berbérine n'est pas un agent mutagène puissant, mais on ne peut pas éliminer son implication dans l'ADN topoisomérase (**Aniszewski, 2007**).

A decorative graphic of a scroll with a black outline and rounded corners. The scroll is partially unrolled, with the top and bottom edges curving upwards. The text is centered on the scroll.

Chapitre III
Les activités biologiques des alcaloïdes

III.1 Les radicaux libres dans les systèmes biologiques

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires (**Favier, 2003**).

Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule.

Par définition, un radical libre est tout atome, groupe d'atomes ou molécules possédant un électron non apparié (célibataire), sur leur orbitale externe. Il s'agit d'espèces chimiques très réactives qui cherchent dans leur environnement un électron pour s'apparier (pour former une liaison chimique) (**Favier, 2003**).

Les radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ et le radical hydroxyle OH^{\bullet} , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^{\bullet} . D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde ($ONOOH$), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (**ERO**) (**Favier, 2003**).

Tableau V: Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques (Jadot, 1994 ; Bartosz, 2003).

Nom	symbole
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet -}$
Radical hydroxyle	OH
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
L'oxyde nitrite	NO°
Anion Peroxynitrite	$ONOO^\circ$

III.2 Principales sources de production des radicaux libres

- **Sources endogènes :** Production de radicaux libres lors des respirations oxydatives (mitochondries), Cellules phagocytaires, Métabolisme de l'acide arachidonique, Système xanthine/Xanthine oxydase.
- **Sources exogènes :** Rayonnements électromagnétiques, Métaux de transition, Pesticides, Médicaments... (Barouki, 2006)

III.3 Rôles physiologiques des radicaux libres

III.3.1 Rôle dans la phagocytose

Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire. Ils sont produits par les cellules phagocytaires pour être utilisés dans la lutte contre les bactéries.

III.3.2 Rôle dans la communication cellulaire

Les ERO peuvent agir en tant que « molécule-signal » et ainsi intervenir dans la communication intracellulaire et intercellulaire. Ils participent à l'expression de certains gènes

et à leur régulation. Cela leur confère un rôle important dans les phénomènes de croissance et de mort cellulaire.

- ❖ Les radicaux libres joueraient un rôle dans la régulation de l'expression des gènes. La Présence de radicaux libres dans le milieu extracellulaire est à l'origine de l'activation de certains facteurs de transcription par des mécanismes encore mal compris. Il en résulte ensuite l'expression des gènes correspondants.
- ❖ Les radicaux libres extracellulaires peuvent interagir avec certains récepteurs membranaires et les activer. Ils sont ensuite à l'origine d'un signal cellulaire.
- ❖ Les radicaux libres peuvent intervenir en tant que second messager intracellulaire. La fixation d'un ligand extracellulaire sur son récepteur membranaire est à l'origine d'une succession de réactions conduisant à la genèse des ERO. **(Barouki, 2006 ; Huet et Duranteau ; 2008).**

III.4 Stress oxydant et ses conséquences biologiques :

- ✓ Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des ERO et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs. Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire **(Barouki, 2006).**
- ✓ Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » **(Favier, 2003).**
- ✓ L'excès de radicaux libres provoque des dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines, les lipides et l'ADN **(Baudin, 2006).**
- ✓ Les radicaux libres participent à la pathogenèse d'un nombre croissant de maladies, dont le cancer et l'artériosclérose. Ils sont aussi impliqués dans l'asthme, l'inflammation, la neurodégénérescence, la maladie de Parkinson et le mongolisme **(Valko et al., 2006).**

III.5 Les antioxydants

Les antioxydants sont définis par **HALLIWELL (1999)** comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat ». Ils peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (**Gilgun-Sherki et al., 2001**).

Ainsi, lorsque des espèces réactives de l'oxygène sont générées *in vivo*, de nombreux antioxydants interviennent. Il s'agit principalement d'enzymes : le superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, la catalase (**antioxydants endogènes enzymatiques**) et aussi des molécules de faible masse moléculaire comme le tripeptide glutathion, l'acide urique et bilirubine (**antioxydants endogènes non enzymatiques**).

En plus de ces substances propres à l'organisme, les médicaments et l'alimentation peuvent être également d'autres sources d'antioxydants. (**Antioxydants exogènes**) (**Gilgun-Sherki et al., 2001**).

III.6 Mécanisme d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singlet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la complexation d'ions et de métaux de transition (**Popovici et al ; 2009**).

III.7 Méthodes d'étude de l'activité antioxydante :

Il existe une multitude de tests pour la mesure de l'activité antioxydante d'un composé.

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes ROO• par les méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) ; les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) ; ou les radicaux ABTS• (sel d'ammonium de l'acide 2, 2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH• (diphenyl-picrylhydrazyle) (**Popovici et al ; 2009**).

Tableau VI: Evaluation de l'activité antioxydante in vitro.

Test	Solvant	conditions	Mesure, quantification	Références
ABTS ⁺	Milieu tampon phosphate, pH = 7,4	Initiateur : H ₂ O ₂ ou metmyoglobine	Décroissance de ABTS ⁺ à 734 nm Référence : Trolox	Ba <i>et al.</i> , 2010.
DPPH°	Méthanol	Obscurité	Décroissance du DPPH° à 517 nm IC50	Kouamé <i>et al.</i> , 2009.
Pouvoir réducteur	Eau distillé méthanol	Incubation 50°c Pendant 20mn	Croissance de l'absorbance à 700nm	Maiza-Benabdesselam <i>et al.</i> , 2007.



Partie expérimentale



Matériels et méthodes

I.1 Matériels

I.1.1 Matériel végétale

Notre étude a été réalisée sur la partie aérienne de la plante *Fumaria officinalis* (Figure 2). L'échantillon a été récolté dans une région rurale, **Beni Maouche** dans la wilaya de Bejaia (Figure 3) au mois de mars 2012.

Son identification est effectuée, au laboratoire de biologie végétal, de la faculté de science de la nature et de la vie, de l'université de A. Mira de Bejaia.

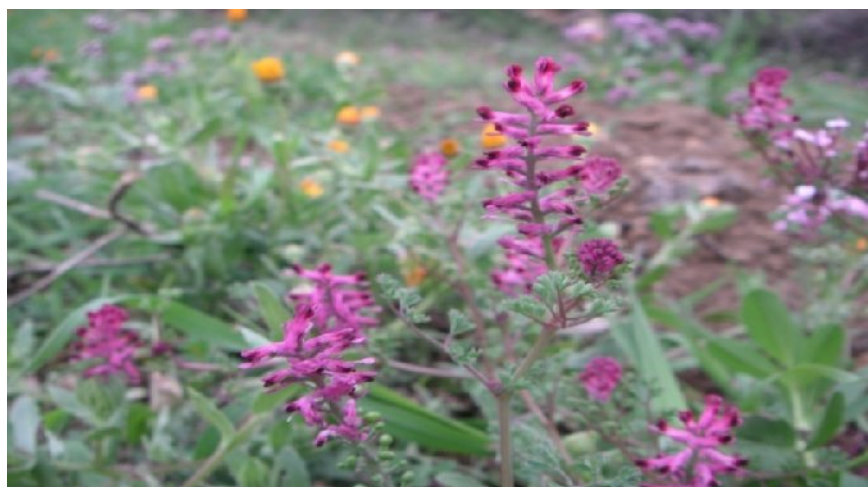


Figure 2: Photographie de *Fumaria officinalis* dans son habitat naturel (Avril, 2012)

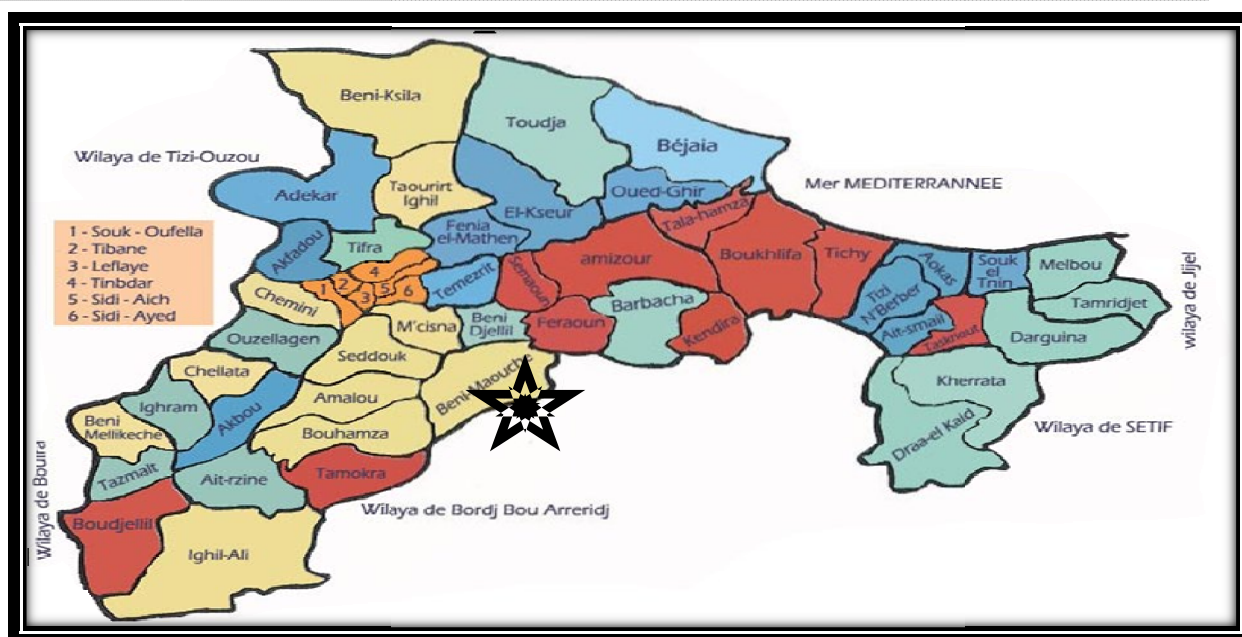


Figure 3 : Région de la récolte de *Fumaria officinalis* ([www.google .Fr](http://www.google.fr)).

Les animaux d'expérience sont des lapins, provenant de l'Institut National de la Recherche Agronomique de Oued Ghir de la Wilaya de Bejaia, (Avril, 2012), l'étude est effectuée sur 08 lapins albinos des deux sexes (4 mâles), pesant entre 2.5 à 3.5 Kg et âgé de 3 à 5 mois.

Dès leur réception, les lapins ont été identifiés et placés dans des cages standards (**Figure 4**) ; pour une période d'acclimatation (2 semaine) avant d'être utilisés dans les différentes expériences. Pendant cette période les animaux ont un accès libre à la nourriture (granulés provenant de la société de production des aliments d'animaux, Bouzaréat, Alger) et à l'eau de robinet.

Ils sont maintenus dans l'animalerie de l'université d'A. Mira de Bejaia à la température ambiante. Les autres conditions comme l'éclairage et la ventilation n'ont pas été pris en considération.



Figure 4 : Conditions d'élevage des lapins albinos au sein de l'animalerie de l'université d'A. Mira de Bejaia (Avril, 2012)

I.1.3 Matériel et réactifs

Le matériel et réactifs utilisés pour les différentes expériences sont reportés en annexe.

I.2 Méthodes

I.2.1 Séchage

Les échantillons de la partie aérienne de la plante sont d'abord lavés à l'eau courante pour éliminer la poussière et autres contaminants, puis séchés à l'étuve à 40°C pendant huit jours jusqu'à stabilisation de leur poids, pour obtenir une meilleure extraction.

Notant qu'avant le lavage une quantité est récupérée pour la détermination de la teneur en eau (taux d'humidité).

❖ Test d'humidité

L'essai réalisé selon la méthode préconisée par (Satrani *et al.*, 2007).

Le test d'humidité est déterminé en évaluant le poids de la plante à partir de 3 échantillons de 30 g mis à l'étuve à 60 °C jusqu'à stabilisation de leurs poids.

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = ((p_f - p_s) / p_f) \cdot 100$$

Tel que : p_f : poids frais de l'échantillon (g).

p_s : poids sec de l'échantillon (g).

Nous avons déterminé la moyenne du pourcentage d'eau des 3 essais dans les mêmes conditions.

I.2.2 Broyage

Le produit obtenu par le séchage est transformé en poudre grâce à un broyeur électrique. La poudre est conservée dans un récipient fermé à l'abri de la lumière.

Le broyat va constituer la matière sèche qui va servir à l'extraction des alcaloïdes.

I.2.3 Extraction des alcaloïdes de *Fumaria officinalis*

L'extraction des alcaloïdes est réalisée selon la méthode de Suau *et al.*, 2002 (Figure 5).



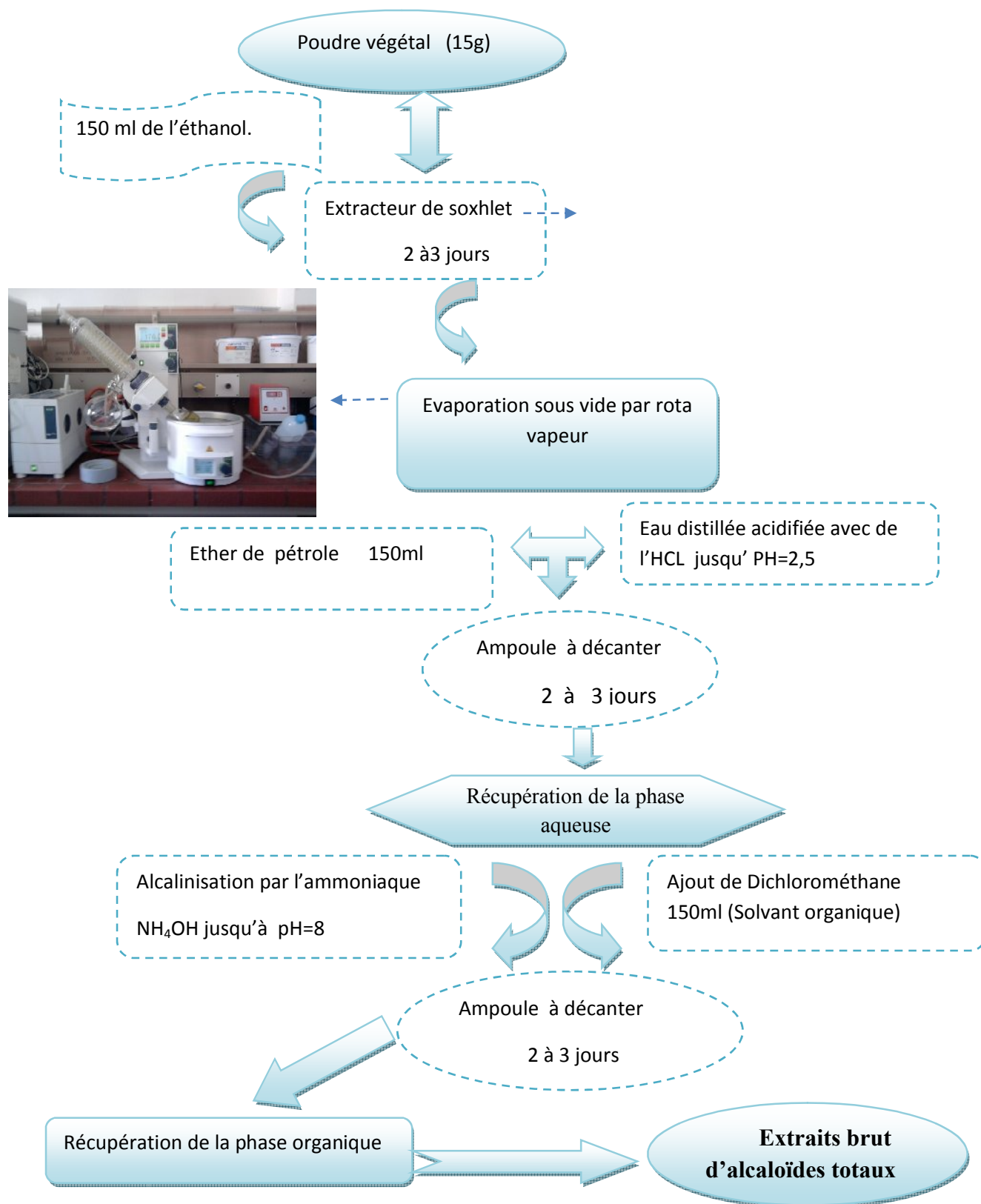


Figure 5 : Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux (Suau *et al.*, 2002).

I.

I.2.4.1 Evaluation, *in vitro*, de l'activité antioxydante

I.2.4.1.1 Test au DPPH

❖ **Principe :**

Le Diphényle picryl-hydrazyle (DPPH), un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle 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 la forme de l'équation :



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 Shirwaikar *et al* (2006) (Figure 6).

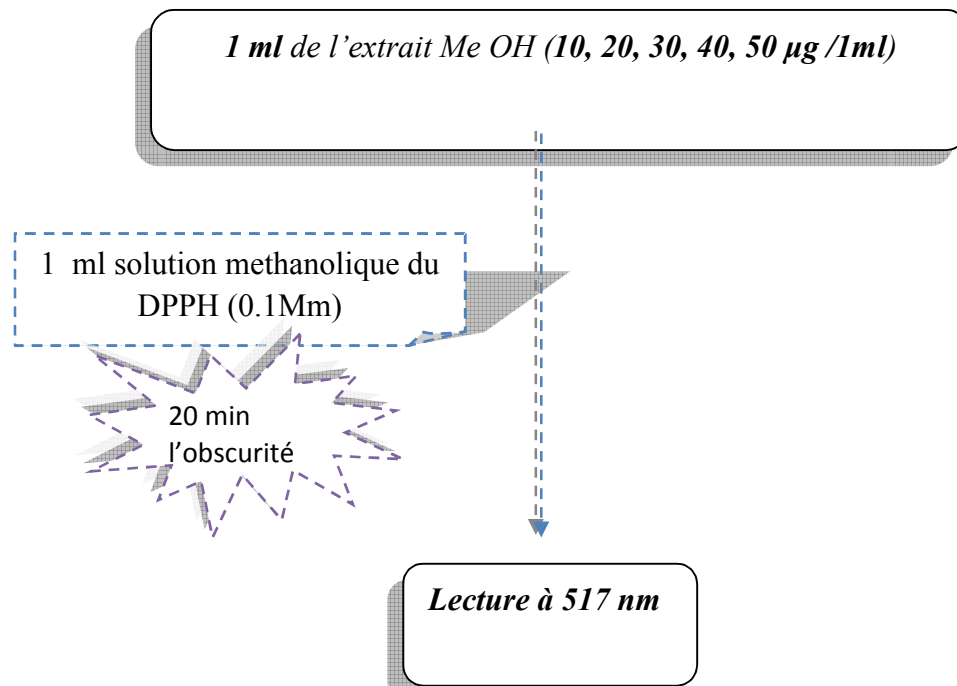


Figure 6 : Protocole d'étude de l'activité « scavenging » du DPPH (shirwaikar *et al.* , 2006).

○ **Remarque**

Une quantité égale de méthanol et de DPPH a servi comme contrôle.

Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour l'acide ascorbique et Butyl Hydroxy Anisol (BHA) pris comme antioxydants standards. L'activité anti radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité anti radicalaire} = \frac{[\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}]}{\text{Abs contrôle}} \times 100.$$

Dans ce test on définit la concentration inhibitrice à 50% « **IC50** ».

Les **IC50** sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'extrait testée (Torres *et al.*, 2006).

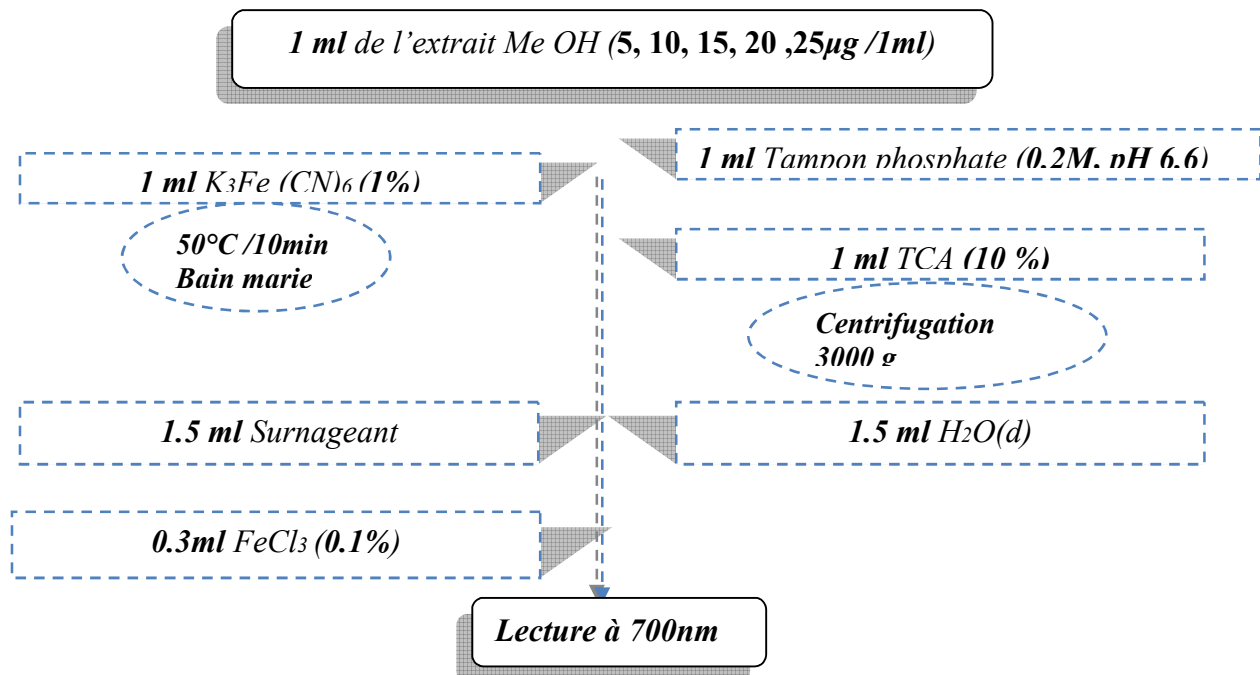
I.2.4.1.2 Pouvoir réducteur

❖ Principe

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 mesuré par spectrophotométrie à 700 nm.

Une augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel indique une augmentation du pouvoir réducteur.

❖ Mode opératoire



I.2.4. Figure 7 : Protocole d'étude du pouvoir réducteur (Amarowicz *et al.*, 2004).

❖ Principe

Cette méthode est basée sur la capacité des composés à réduire le radical-cation $ABTS^{+\circ}$, acide 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique), qui présente une bande d'absorption dans le visible avec trois maxima à 645, 734 et 815 nm. Le radical est formé par oxydation de l'ABTS incolore avec différents composés, comme le dioxyde de manganèse MnO_2 , la metmyoglobine, le peroxyde d'oxygène H_2O_2 , ou le persulfate de potassium. Le composé à tester est ajouté au radical préformé et, 1 minute après, l'absorbance résiduelle du radical $ABTS^{+\circ}$ est mesurée à 734 nm. L'activité des composés est alors exprimée par la Capacité antioxydante Equivalente Trolox (TEAC) qui correspond à la concentration de Trolox (analogue hydrophile de la vitamine E) donnant la même capacité antioxydante qu'une concentration de 1 mM du composé testé en se référant à une courbe d'étalonnage et en pourcentage d'inhibition calculé selon la formule suivante : (Schlesier *et al.*, 2002).

❖ Mode opératoire

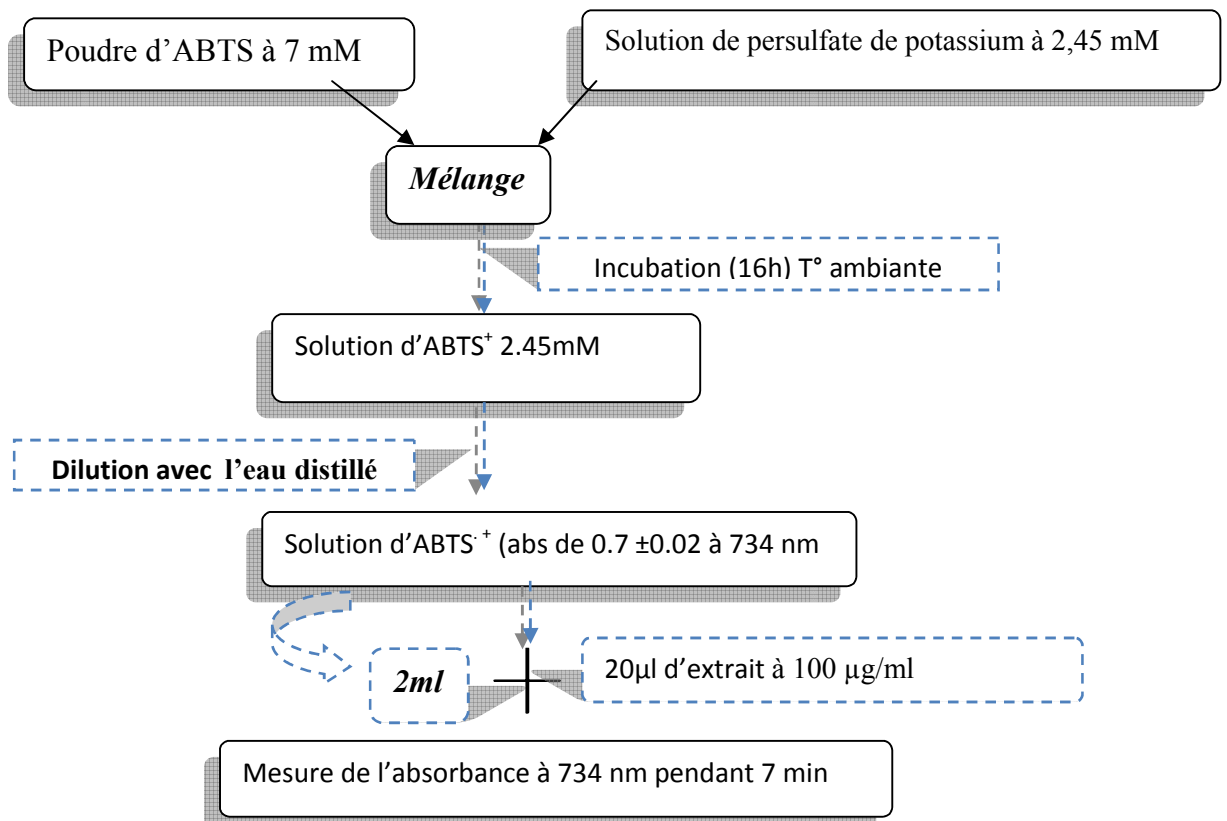


Figure 8 : Protocole d'étude de l'activité « scavenging » de la $ABTS^{+\circ}$ (Re *et al.*, 1999).

Le pourcentage de réduction du radical $ABTS^{+\circ}$ est donnée par l'équation suivante :

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

A₀ : Absorbance du control (sans extrait)

A₁ : Absorbance du test (avec extrait ou standard).

I.2.4.2 Etude préliminaire de la toxicité des alcaloïdes totaux de *Fumaria officinalis*

Les tests de toxicité ont été effectués sur la poudre végétale de partie aérienne préparée sous forme de solution dans le DMSO à 1 % dilué dans l'eau physiologique.

I.2.4.2.1 Toxicité aiguë par voie IM

❖ Principe de la méthode d'étude Toxicité aiguë

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 (ici les alcaloïdes totaux de *fumaria officinalis*), soit à dose unique, soit à doses répétées sur une période maximale de 24 heures (**Lauwerys *et al.*, 2007**).

Les principaux effets recherchés sont :

- Les signes cliniques,
- Les modifications pathologiques visibles à l'œil nu,
- Et la létalité (mortalité).

La méthode consiste en l'administration de doses croissantes des extraits des *alcaloïdes de Fumaria officinalis* solubilisés dans 2 ml de DMSO dilué dans l'eau physiologique, à 4 lapins et d'observer les effets toxiques.

❖ Mode opératoire

Trois doses de 20, 60, 100mg/Kg d'extrait d'alcaloïdes ont été administrées, par voie IM à 4 lapins males, pesants 2.5 à 3.5 kg (**Figure 9**).

Les effets toxiques et la mortalité sont observés pendant toute la période de l'expérimentation.

Administration de 2
ml de DMSO (1 %)
Par voie IM à 8h 30

Dose unique d'extrait d'alcaloïdes de *Fumaria officinalis*
Par voie IM à 8h 30

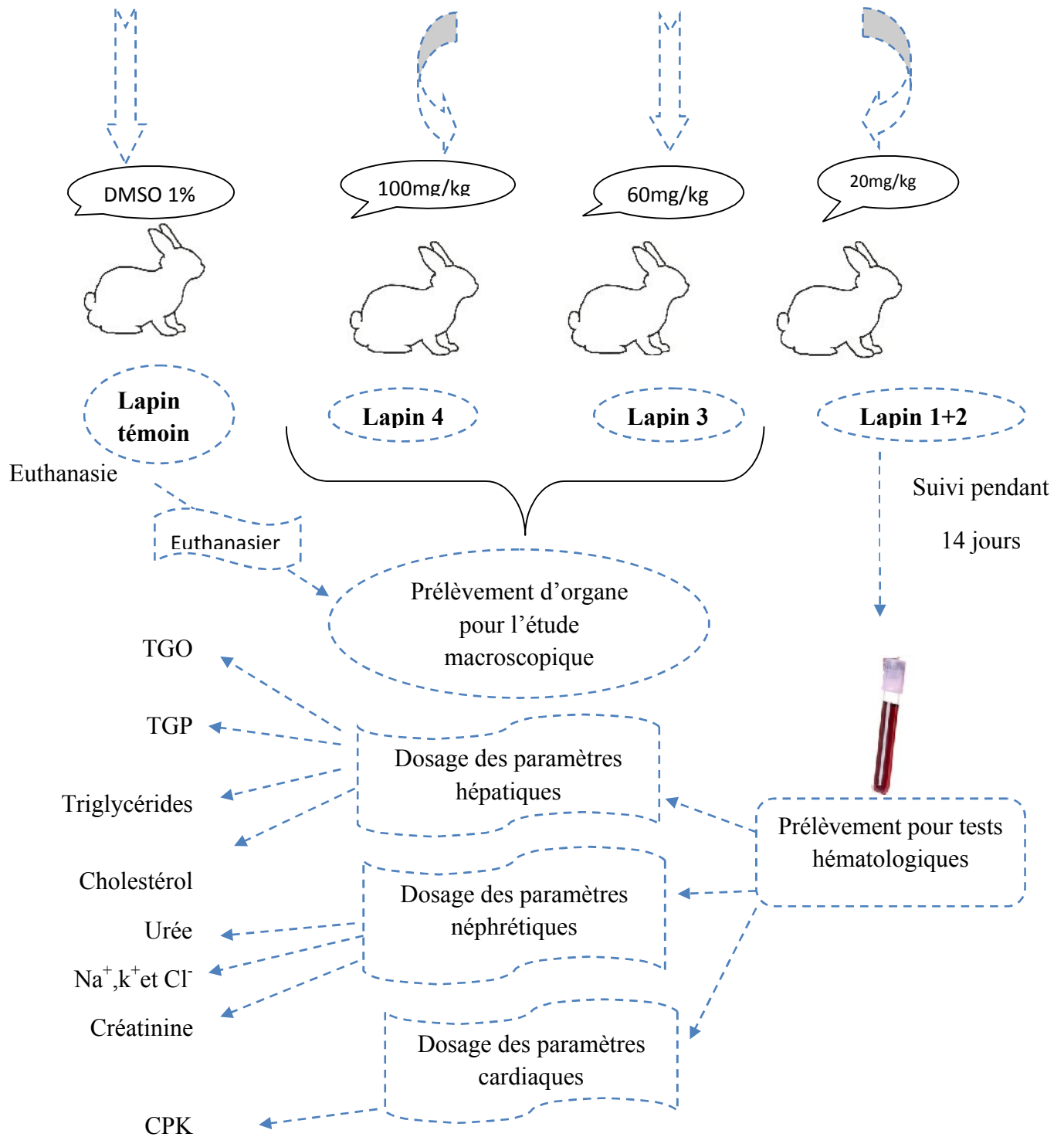


Figure 9 : protocole à suivre durant l'expérience.

❖ **Prélèvement sanguin**

La veille du prélèvement, les lapins sont mis à jeun.

Le prélèvement du sang est effectué à l'aide de seringues épicroâniennes, à travers des veines oculaires au niveau des oreilles. Le recueil de sang dans des tubes héparinés (4 ml).

❖ **Dosage de quelques paramètres hématologiques**

Les dosages hématologiques sont effectués au laboratoire d'analyses médicales (Dr. LALAOUI Kamel).

A decorative graphic of a scroll with a black outline and a light gray shadow. The scroll is unrolled in the middle, with the top and bottom edges curving upwards. The text is centered within the unrolled portion.

Résultats et discussions

II.1 Taux d'humidité

Les résultats du test d'humidité sont représentés dans le (Tableau VII).

Tableau VII: Taux d'humidité de *Fumaria officinalis*.

Poids frais(g)	Poids sec (g)	Taux d'humidité (%)	Taux d'humidité Moyen(%)
30	6.36	78.80	79.26%±0.36
	6.49	78.36	
	5.81	80.63	

Le test d'humidité nous permet de connaître la teneur en eau de nos échantillons et de fixer la période de séchage.

Le taux moyen d'humidité de la plante est de **79.26%±0.36** (Figure 10) se qui indique que la plante est très riche en eau, c'est le cas de la plus parts des plantes du genre *Fumaria*, **Khamtache, (2006)** a trouvé que le taux d'humidité de *Fumaria capreolata* et *Fumaria bastardii* était de **(71% -74.6%)** respectivement, mais ce n'est pas le cas de *Fumaria agraria*, récolté en Algérie, qui renferme **7.8%** d'eau (**Ghout ,2011**).

Le taux d'humidité élevé favorise la multiplication microbienne et altère les principes actifs de la plante (**Timbo, 2003**).

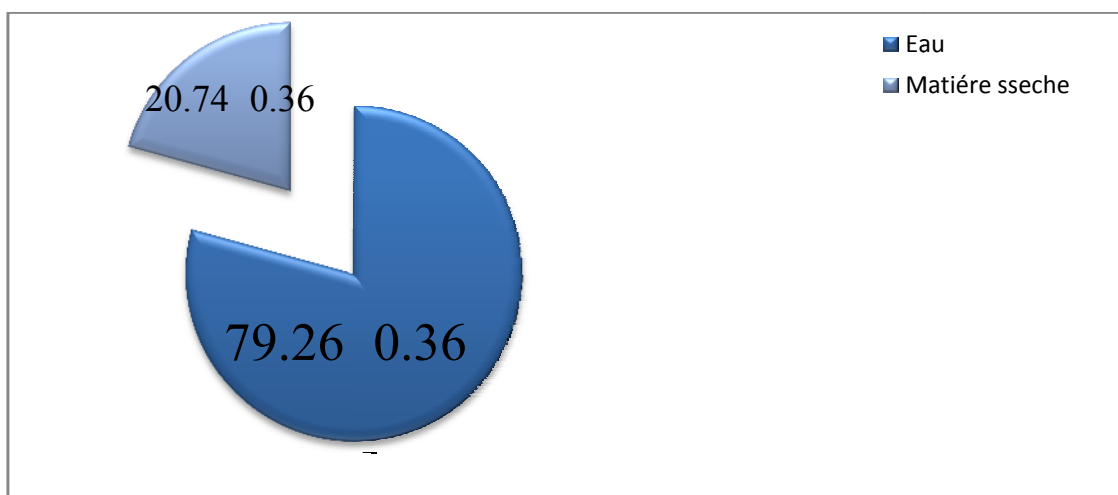


Figure 10 : Représentation graphique de la teneur en eau de la partie aérienne de *Fumaria officinalis*.

II.2 Rendement d'extraction des alcaloïdes de *Fumaria officinalis*

Dans la littérature, il existe différentes méthodes d'extraction des alcaloïdes. Durant notre étude nous avons suivi le protocole d'extraction à chaud par soxhlet de **Suau et collaborateurs, 2002**.

$$\text{Le rendement} = \left[\frac{P_0}{P_1} \right] * 100$$

P1: le poids de la poudre végétale.

P0: le poids d'extrait d'alcaloïdes totaux.

Le taux d'extraction d'alcaloïdes de *Fumaria officinalis* a été calculé par rapport à la masse de la poudre initiale et qui est de **0.93 %**.

L'utilisation de l'éthanol comme solvant d'extraction, permet d'extraire le maximum de principes actifs, en plus il a l'avantage d'être moins toxique et plus facile à éliminé grâce à sa volatilité (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

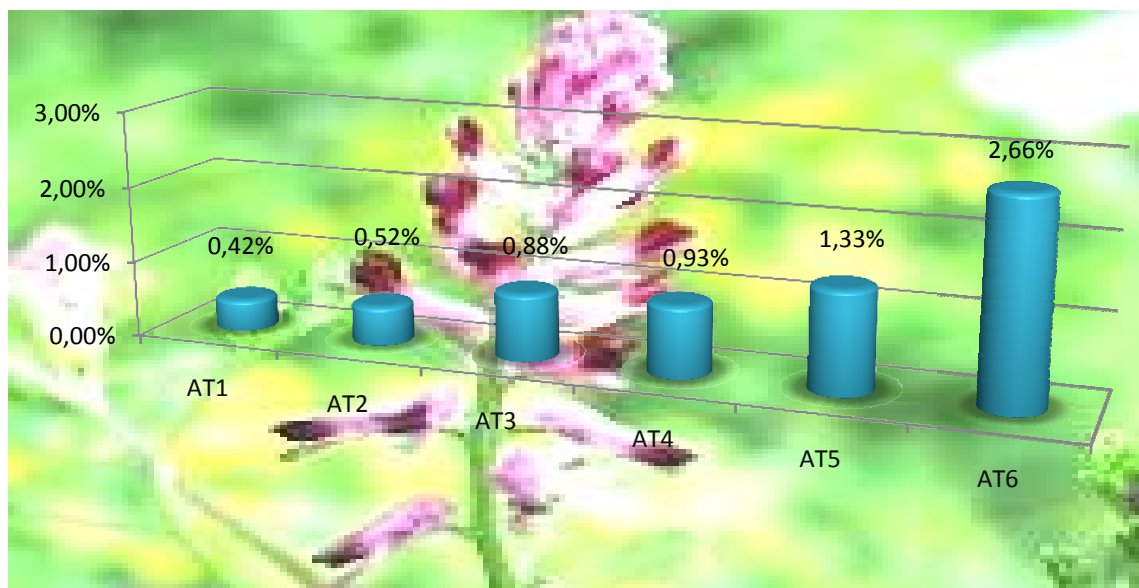


Figure 11 : Comparaison de la teneur en alcaloïdes totaux entre des espèces du genre *Fumaria* AT1 :*F. capreolata*, AT2 :*F. bastardii* (Maiza- benabdesselam et al., 2007), AT3 :*F. sepium* Espagnole ,AT4 :*F.offinalis* ,AT5 :*F.capreolata* AT6 : *F. bastardii* (Bougoffa, 2007).

Les *Fumariaceae* connues par leur richesse en alcaloïdes, les résultats obtenus par Suau et al., 2002 sur *Fumaria sepium* récoltée en Espagne 0.88%, sont légèrement inférieures à notre résultat. Par contre les deux espèces algériennes *Fumaria capreolata* et *Fumaria bastardii* étudiées par Bougoffa, (2007) présentent un rendement largement supérieur qui est 1.33% et 2.66% respectivement, alors que les mêmes espèces étudiés par Maiza-benabdesselam(2007) renferment 0.42% et 0.52% respectivement (Figure 11).

Cela peut être due à la différence de la méthode d'extraction, la région et la période de la récolte et l'espèce en question.

II.3 Tests biologiques

II.3.1 Evaluation, *in vitro*, de l'activité antioxydante :

La capacité antioxydante des extraits de plante sont largement dépendant 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 deux méthodes différentes.

❖ Test au DPPH :

L'activité antioxydante des alcaloïdes de *Fumaria officinalis* vis-à-vis de radicale DPPH été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm (Figure 12).

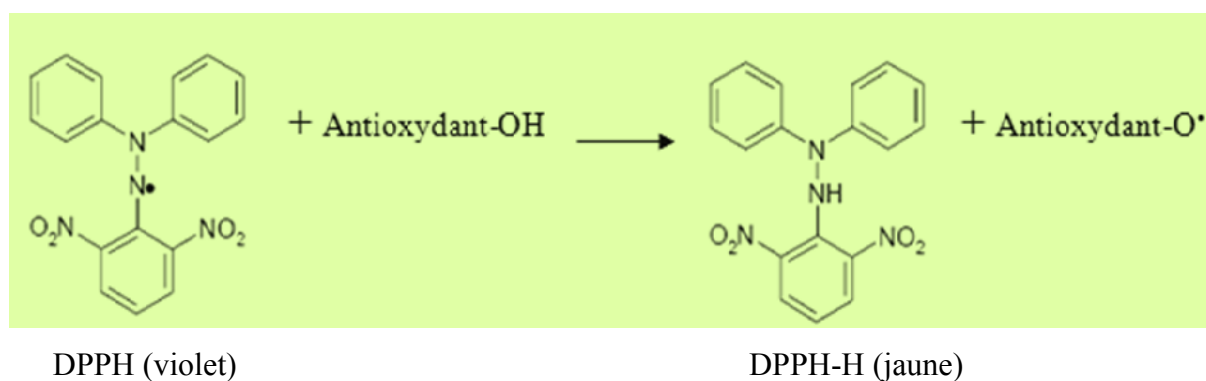


Figure 12 : La réduction du DPPH oxydé par un antioxydant.

La recherche d'une éventuelle efficacité anti radicalaire des alcaloïdes de *F. officinalis*, nous a amené à obtenir les résultats illustrés dans la (Figure 13).

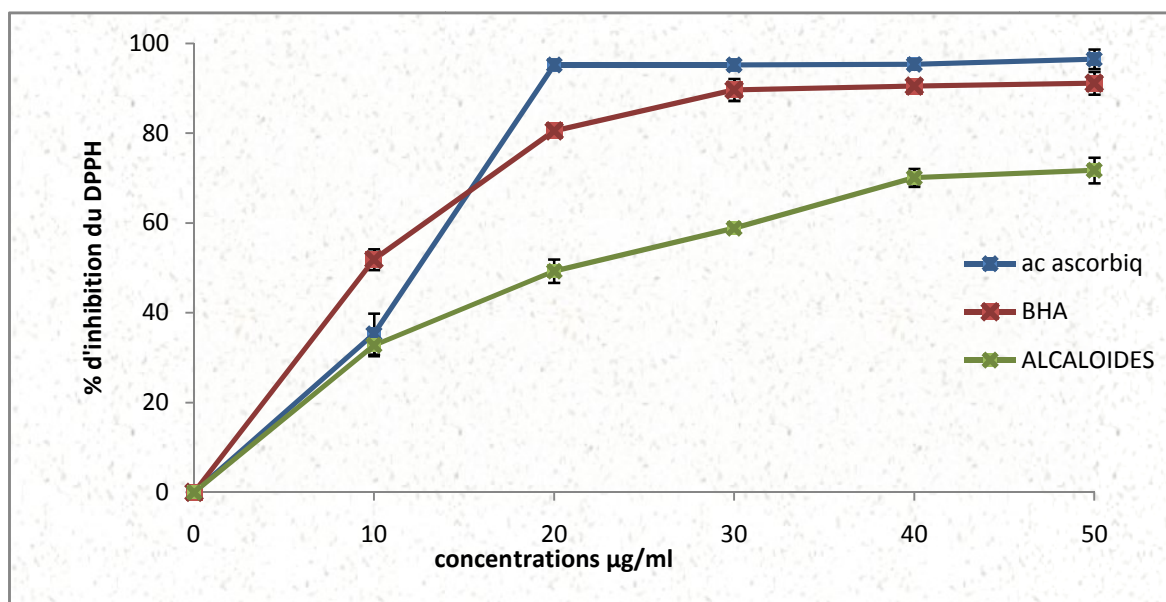


Figure 13 : Activité scavenging du DPPH des alcaloïdes et des antioxydants de synthèse.

La première remarque que nous pouvons émettre, est que l'activité anti radicalaire est concentration-dépendante, et que la plus grande activité est attribuée aux antioxydants standards utilisés.

Les alcaloïdes de *Fumaria officinalis* montrent une faible activité anti-radicalaire par rapport aux témoins positifs, dans la même gamme de concentration. Par exemple, pour une concentration de **30µg/ml**, l'acide ascorbique a montré un effet scavenger de **95.2%**, par contre les alcaloïdes qui pour la même concentration n'ont montré que **58.87%** d'activité, soit environ de moitié moins efficaces.

Ghout, (2011), a montré que les alcaloïdes totaux de *Fumaria agraria* inhibent environ 45% du radical DPPH à une concentration de **50µg/ml**, ce qui est largement inférieur aux résultats que nous avons obtenu avec *Fumaria officinalis*, à la même concentration (**71.72%**).

Les résultats obtenus par **Bougoffa, (2007)** montrent que *Fumaria bastardii* possède une meilleure activité avec 86.02% à 50µg/ml, et que *Fumaria capreolata*, est moins efficace avec une activité de 45.59% pour la même concentration.

➤ Détermination des IC50 (concentration inhibitrice à 50%)

L'IC50, est un paramètre récemment introduit pour l'interprétation des résultats obtenues par la méthode du DPPH.

Elle est définie comme étant la concentration du substrat nécessaire pour la réduction de 50% du radical DPPH (**Molyneux, 2004**).

Le traitement des données obtenus précédemment ont révélés les IC50 représentés dans le **Tableau VIII**.

Tableau VIII : Les IC50 des standards et des alcaloïdes de *F. officinalis*.

substances	IC ₅₀ (µg/ml)
BHA	9.60± 0,46
l'acide ascorbique	11.05 ± 0,56
Alcaloïdes	19,63 ± 1,27

On remarque que les valeurs des IC50, sont homogènes aux pourcentages scavenging du radical DPPH.

La BHA présente l'IC50 la plus faible. Selon **Shirwaikar *et al.*, (2006)**, l'IC50 de la berbérine (alcaloïde isoquinoléique) est de l'ordre de **42.7µg/ml**. Cette valeur fait environ deux fois l'IC50 des alcaloïdes totaux de *Fumaria officinalis*.

La BHA présente l'IC50 la plus basse (**9.60± 0,46µg/ml**), elle est donc la plus puissante.

Les alcaloïdes montrent l'IC50 la plus élevée (**19,63 ± 1,27µg/ml**) et donc 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, à la disponibilité de l'hydrogène et à la possibilité de la stabilisation du radical formé résultant d'un donneur d'hydrogène (**Dawidowicz *et al.*, 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 nos alcaloïdes (**Liu *et al.*, 2006**).

❖ Le pouvoir réducteur

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**).

Dans cet essai, nous mesurons le potentiel réducteur à travers la réduction du complexe Fe^{3+} (du ferricyanure de potassium) en forme ferreuse Fe^{2+} qui se traduit par une coloration bleue. De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme indicateur significatif de son potentiel antioxydant (**Kranl *et al.*, 2005**).

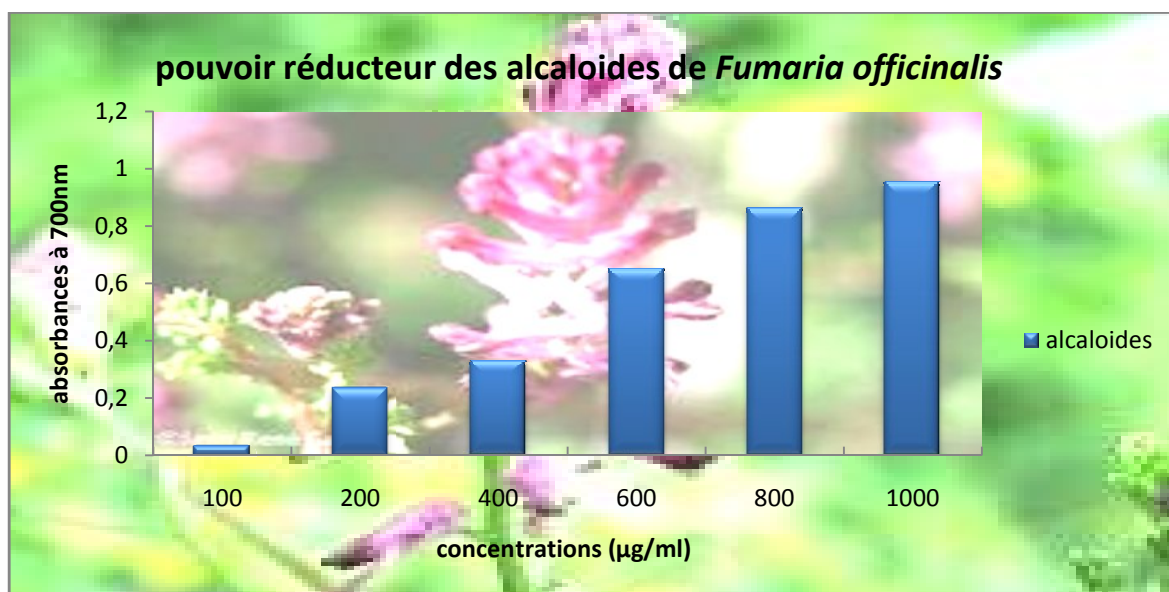


Figure 14 : Pouvoir réducteur des alcaloïdes de *Fumaria officinalis*.

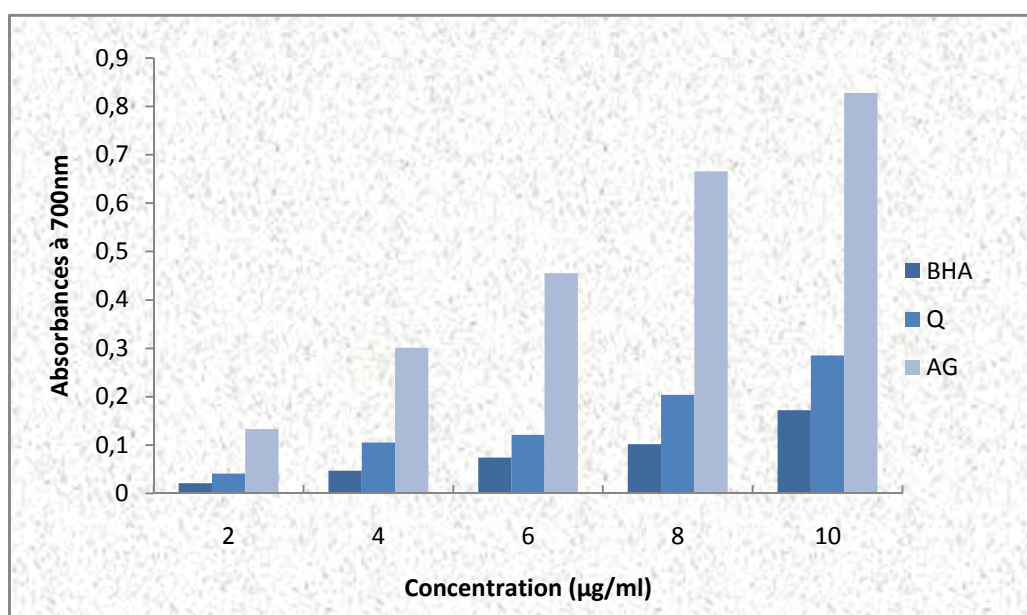


Figure 15 : Pouvoir réducteurs des antioxydants de synthèse (BHA, Q, AG)

D'après nos résultats, pour l'extrait testé une augmentation de la réduction du fer est proportionnelle aux concentrations utilisées et présente des activités antioxydantes nettement inférieures que celle des standards.

Les alcaloïdes totaux de *F. officinalis*, exerce l'activité réductrice entre **0.035**, **0.956** à des concentrations de **100 à 1000µg/ml** respectivement, par contre pour les standards

à des concentrations faibles un bon pouvoir réducteur est atteint. A une concentration de **10µg/ml** les substances de références présentent les valeurs maximales suivantes :

ac.galique (0.828), quercitine (0.285), BHA (0.172).

Les potentiels réducteurs observés se classent dans l'ordre décroissant suivant :
ac.galique > quercitine(Q) > BHA > alcaloïdes de *Fumaria officinalis*.

D'après les résultats obtenus par **Ghout (2011)**, l'extrait des alcaloïdes totaux de *Fumaria agraria* exerce une activité réductrice avec une absorbance de 0.611 à une concentration de 400µg/ml. Par contre notre extrait possède la moitié de ce pouvoir à la même concentration.

Selon une étude réalisée sur *Fumaria bastardii* et *Fumaria capreolata* par **Maiza- Benabdesselam et ses collaborateurs, (2007)**, montre que les alcaloïdes de *Fumaria officinalis* possèdent un meilleur pouvoir réducteur à des concentrations largement inférieures comparé aux deux espèces étudiées.

La nature et la concentration des antioxydants modulent l'intensité du pouvoir réducteur ainsi intervient la position et le nombre de groupements hydroxyles.

❖ **Activité scavenging du radical ABTS⁺ :**

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS⁺ de coloration bleu-verte en le transformant en ABTS⁺ incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant.

Une comparaison 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. Le résultat est donné en mM d'équivalent Trolox par g de produit.

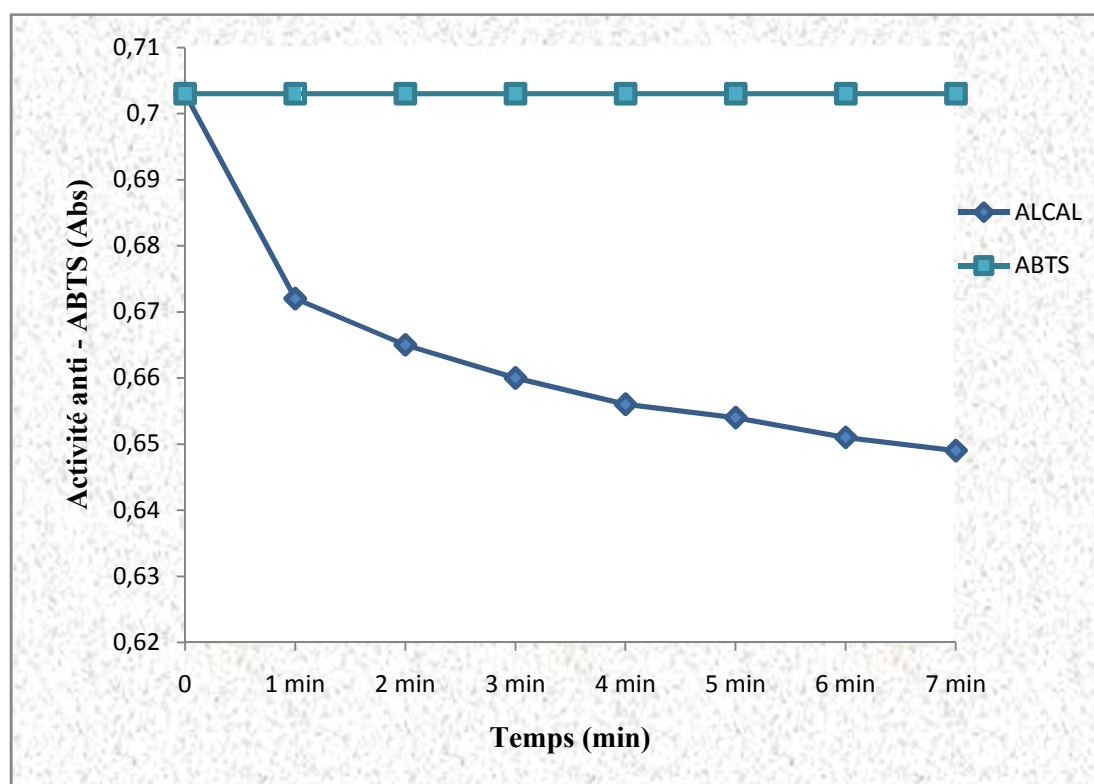


Figure 16 : Activité scavenging du radical $ABTS^+$ des alcaloïdes de *Fumaria officinalis*

Ainsi, plus la valeur TEAC est élevée, plus l'antioxydant est efficace (**Schlesier et al., 2002**).

Les résultats enregistrés sur l'activité scavenging du radical $ABTS^+$ des alcaloïdes totaux de *Fumaria officinalis* (**Figure 16**) indiquent un pourcentage d'inhibition de 7,68% qui correspond à 0,09 mM équivalent trolox à une concentration de 100 $\mu\text{g/ml}$.

Selon les résultats obtenus (**Figure 16**), en comparant les absorbances mesurées en fonction du temps avec le témoin (ABTS seul) et celles obtenues en présence des alcaloïdes totaux une légère diminution de l'absorbance de (0,703 – 0,649) est causée par notre extrait reflétant ainsi leur faible capacité à piéger le radical ABTS.

Cette faible activité à piéger le radical d'ABTS est due soit à la faible concentration de l'extrait, soit à sa structure chimique.

○ Remarque

L'étude de l'activité scavenging du radical ABTS⁺ des alcaloïdes totaux de *Fumaria officinalis* est réalisée sur une seule concentration de l'extrait 100µg/ml à cause de l'absence de la quantité d'alcaloïdes suffisante.

II.3.2 Etude préliminaire de la toxicité aigue

II.3.2.1 Recherche de toxicité

Afin d'éviter tout éventuel risque de toxicité lors des tests biologiques, il est nécessaire de réaliser des essais de toxicité, pour cela on a administré aux lapins à différentes concentrations de l'extrait d'alcaloïdes totaux de *Fumaria officinalis* solubilisé dans le DMSO à 1%, et bien sûr il est impératif d'ajouter un lot témoin auquel on administre la solution DMSO 1%.

II.3.2.1.1 Choix de la voie d'administration :

- La voie intramusculaire permet d'obtenir un effet rapide avec une biodisponibilité à 100% (Bounias, 1999).
- La non disponibilité d'une sonde œsophagienne pour gavage.
- On a évité la voie intraveineuse car nos alcaloïdes sont peut solubles et forment une solution non homogène avec de sédiment.

II.3.2.1.2 Choix des doses utilisées

A cause de l'absence des études de toxicité des alcaloïdes isoquinoleiques, la détermination des doses utilisées (20,60 et 100 mg/kg) est basée sur quelques expériences faites sur des alcaloïdes pures.

La plupart des effets thérapeutiques s'exercent généralement aux doses de 10-20mg/kg. A titre d'exemple :

La protopine à une dose de 20mg/kg possède un effet antidépresseur (Xu *et al.*, 2006) et connu aussi pour son activité hépatoprotectrice qui s'exerce entre 10-20 mg/kg (Rathi *et al.*, 2007). 50-100 mg/kg, la protopine possède un effet anti-thrombotique et anti-inflammatoire (Saeed *et al.*, 1997).

Au delà d'une dose de 20 mg/kg par voie orale, la berberine provoque des œdèmes et l'intensité de l'effet est dose dépendant (Kupeli *et al.*, 2002).

Sa dose létale minimale pour le lapin par voie sous cutanée est de 100mg/kg, par voie intraveineuse est de 25 mg/kg.

Les effets toxiques de l'allocryptopine se manifestent à une dose de 10-20mg/kg.

La sanguinarine est la plus toxique, DL50 est de 1,8mg/kg, 2mg/100g provoque 78,5% de mortalité (**Kerharo et Adam, 1974**). .

Lors de choix des doses, on a prit en considération la synergie qui peut exister entre les alcaloïdes de l'extrait, la voie d'administration (IM), l'espèce étudiée et son poids corporel.

II.3.2.1.3 Observation du comportement et tableau clinique des animaux

Dés le début de traitement et ceci pour les différentes doses, on a constaté chez les lapins une carte clinique caractérisée par les symptômes suivant :

- On a observé une agitation chez tous les lapins y compris le lapin témoin cela peut être due aux conditions stressantes de l'animalerie.
- Le lapin témoin n'a présenté aucun signe de toxicité cela signifie que le DMSO à 1 % n'est pas toxique.
- Pour les lapins 1 et 2 traité par la dose de 20 mg/kg, aucun effet toxique visible à l'œil nu.
- Le lapin 3 reçu une dose de 60 mg/kg, on a constaté après 72h de l'administration, une déshydratation, diarrhée, vomissement, tremblement, convulsion et une arrhythmie suivi d'une létalité quelques heures après.
- L'exposition à une dose de 100mg/kg a provoqué la mort du lapin après 48 de l'injection.

Tableau IX: Classe de toxicité selon l'échelle de toxicité de **Hodge et Sterner (1980)**.

Classe de toxicité	DL50 mg/kg
Extrêmement toxique	<1
Très toxique	1 à 50
Moyennement toxique	50 à 500
Faiblement toxique	500 à 5000
Pratiquement toxique	5000 à 15000
Relativement sans danger	□ 15000

Notre expérience ne permet pas de déterminer la DL 50 par voie intramusculaire.

II.3.2.2 Etude macroscopique des organes

Tableau X : Etudes macroscopique des organes de lapin témoin

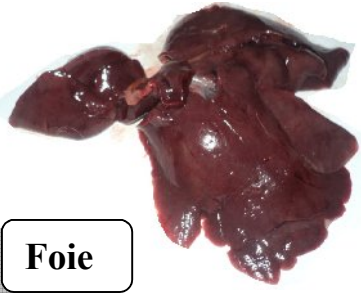



Les organes	description
 <p data-bbox="204 683 331 750">Foie</p>	<p data-bbox="619 414 1404 548">Le foie est considéré comme étant un organe noble dans l'organisme, et représente le principal siège de biotransformations.</p> <p data-bbox="619 571 1404 728">Le foie du lapin est composé de 4 lobes, et des hépatocytes irriguée par le système circulatoire et nerveux, pesant approximativement 80 à 120g, de couleur rouge brin .</p>
 <p data-bbox="204 1108 363 1176">Poumon</p>	<p data-bbox="619 862 1404 1064">Les poumons, organe respiratoire situe dans la cage thoracique, présente une couleur rose et une taille normale pesant entre 90 à 100 g composée d'alvéoles qui constituent le siège des échanges gazeux, irriguées par le sang .</p>
 <p data-bbox="204 1500 316 1568">Cœur</p>	<p data-bbox="619 1254 1404 1512">Principale organe circulatoire, le cœur est de couleur blanche qui tand vers le rose, son poids varie de 7 a 15g, composé de deux ventricules et de deux auricules, dont le rôle principale est de pompée le sang vers tout l'organisme. ce rôle est assuré par les cellules musculaires lisses.</p>
 <p data-bbox="204 1881 379 1948">Les reins</p>	<p data-bbox="619 1646 1404 1803">Les reins sont des organes de couleur rougeâtre en forme d'haricot, pairs, situés de part et d'autre de la colonne vertébrale dans le tissu rétropéritonial .</p>

Tableau XI: Etudes macroscopique des organes du lapin ayant reçu la dose de 60 mg/kg.

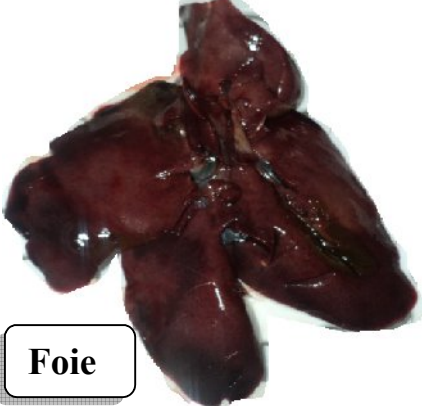
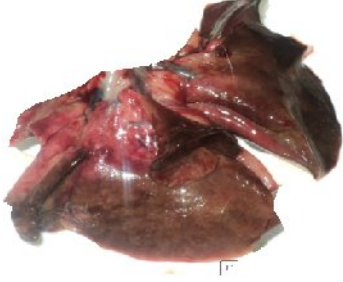
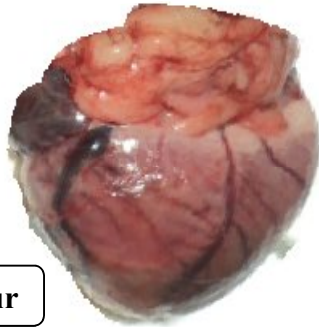

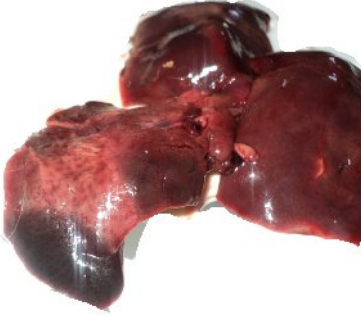
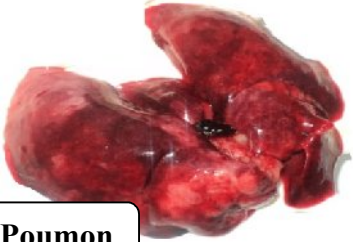


Les organes	Description
 <p data-bbox="193 651 328 719">Foie</p>	<p data-bbox="647 371 1366 573">L'augmentation du volume de l'organe est très remarquable (environ 25%), un changement de couleur non homogène, avec des endroits noirâtres et d'autre rouge brin.</p>
 <p data-bbox="193 1055 328 1122">Poumon</p>	<p data-bbox="647 808 1398 898">Changement de couleur vers le marron, et réduction de la taille de l'organe sont notés.</p>
 <p data-bbox="193 1424 328 1491">Cœur</p>	<p data-bbox="647 1200 1414 1346">Une augmentation de la taille d'environ 10% par rapport à la taille normale, la coagulation du sang dans les veines est nettement visible.</p>
 <p data-bbox="193 1794 360 1861">Les reins</p>	<p data-bbox="647 1559 1270 1603">Aucun changement pour les reins n'est observé.</p>

Tableau XII : Etudes macroscopique des organes du lapin ayan reçu une dose de 100 mg/kg.

Les organes	Description
 <p data-bbox="177 651 304 719">Foie</p>	<p data-bbox="576 427 1401 517">Couleur non homogène : apparition d'endroits noirâtre et de zone de pigmentation rouge sous forme de pétéchie.</p> <p data-bbox="576 539 1401 629">Un aspect friable, et une augmentation du volume d'environ 10%.</p>
 <p data-bbox="177 943 336 1010">Poumon</p>	<p data-bbox="576 786 767 819">Volume élevé.</p> <p data-bbox="576 842 1401 931">distinction de couleur normale et de zones plus foncées (rouge brique).</p>
 <p data-bbox="177 1335 304 1402">Cœur</p>	<p data-bbox="687 1155 1289 1245">Gonflement de la taille trop visible. couleur bleuâtre, sang coagulé dans les veines.</p>
 <p data-bbox="177 1715 368 1783">Les reins</p>	<p data-bbox="727 1514 1254 1547">Aucun changement visible n'est observé</p>

- **Interprétation des résultats**

L'étude macroscopique des organes de lapin témoin (**Tableau X**), auquel on a administré le DMSO dilué à 1% dans l'eau physiologique, montre qu'ils sont sains et ne présentent aucun changement morphologique, donc on peut conclure que le DMSO à 1% par voie IM na aucun effet néfaste sur les lapins.

D'après les résultats figurés dans les **Tableaux XI et XII**, on constate une atteinte des organes vitaux (foie, poumon et cœur).

Les doses de 60 mg/kg et de 100mg/kg des alcaloïdes totaux de *Fumaria officinalis* ont provoquées :

- ✓ **Une atteinte hépatique sévère** : l'augmentation de la taille s'explique par une hépatomégalie et le changement de couleur indique la présence des lésions vasculaires ou cellulaires.

- ✓ **Une atteinte pulmonaire** : le changement de couleur est un indicateur de l'accumulation du sang qui a conduit à une asphyxie et la réduction du volume des poumons est expliquée par la présence des traces d'éclatements.

- ✓ **Une atteinte cardiaque** : le sang accumulé dans les veines et l'apparition d'une hypertrophie implique la mort du lapin par un arrêt cardiaque.

- ✓ **Les reins** n'ont subis aucune modification morphologique, cela s'explique par la nécessité d'administration répétée des doses à long terme.

Le foie est l'organe le plus exposé aux xénobiotiques, c'est le siège principale du métabolisme des différentes substances (**El gamal et al., 1996**). C'est pour cela son atteinte est vraiment significative. En plus de sa, une expérience faite sur la protopine et allocryptopine par **Vrba et ces collaborateurs, (2011)** apporte la forte affinité de ces deux alcaloïdes vers les hépatocytes et qui augmentent le niveau d'expression des cytochromes CYP450, cet effet est dose dépendant.

Selon **Kerharo et Adam, (1974)** la berberine (alcaloïde isoquinoléique) a une action dépressive de l'activité respiratoire qui se manifeste une dose de 2 mg /kg. Une autre étude réalisée sur la protopine, alcaloïde principale dans notre extrait, montre que cet

alcaloïde possède une activité stimulante sur la respiration (**Kerharo et Adam, 1974**). Ce qui peut être à l'origine du choc respiratoire lors de l'administration de nos alcaloïdes.

La protopine connu pour ces effets cardiotoxiques ; elle provoque un ralentissement des battements du cœur chez les lapins aux doses de 10-20 mg/kg. La berberine exerce une action déprimante et vasodilatatrice sur le cœur, à la dose de 2mg/kg. La sanguinarine est un stimulateur de l'activité cardiaque (**Kerharo et Adam, 1974**).

○ **Remarque :**

- Prédominance de l'atteinte cardiaque et pulmonaire du lapin qui a reçue la dose de 100mg/kg.
- Prédominance de l'atteinte hépatique du lapin qui a reçue la dose de 60mg/kg.

Ce qui veut dire que la mort du lapin qui a reçu 100mg/kg est provoquée par un choc respiratoire et arrêt cardiaque par contre ce lui qui a reçu 60mg/kg sa mort est due beaucoup plus aux lésions hépatiques sévères.

La létalité à 100 mg/kg a masqué l'apparition des effets tardifs, observé chez le lapin reçu 60mg/kg.

II.3.2.3 Etudes des paramètres hématologiques

Ces examens ont été réalisés à partir de sang veineux ou capillaire. Les prélèvements doivent être réalisés en respectant les règles d'hygiène et d'asepsie et ils sont effectués à jeun. Les bilans qu'on a réalisés sont enzymatiques, lipidiques et hydro – électrolytiques.

- ✓ **Bilan enzymatique** : TGO, TGP, CPK et LDH.
- ✓ **Bilan lipidique** : Cholestérol et triglycérides.
- ✓ **Bilan hydroélectrolytique** : surveillance K⁺, Na⁺ et Cl⁻ (**Bourdaire, 2005**).

Tableau XIII: paramètres hématologique des lapins sains (**Fontaine, 1992**).

Constituants plasmatique	Les normes	unités
Créatinine sanguine	44-230	μmol/l
Cholestérol	0.3-2	mmol/l
Triglycéride	0.2-06	mmol/l
TGO(ASAT)	16-98	UI/L
TGP (ALAT)	33-80	UI/L
Uricémie	58-250	μmol/l
CPK	0.2-2.5	UI/L
LDH	33-130	UI/L
Kaliémie (K)	3.7-6.8	mmol/l
Natrémie (Na ⁺)	138-155	mmol/l
Chlore plasmatique (Cl ⁻)	92-112	mmol/l

II.3.2.3.1 Les tests de la fonction hépatique

❖ Les transaminases :

Les transaminases ou amino-transférases sont des enzymes hépatocytaires. Leur dosage est utilisé lors de l'évaluation de la fonction hépatique, représentées par l'alanine et l'aspartate amino transférase (**ALAT** et **ASAT** respectivement).

La mesure de leur activité permet de mettre en évidence une cytololyse et de déterminer l'étendue de la nécrose (**Hechetsweiler et Hechetsweiler, (2006)**).

❖ Triglycérides

Le dosage des triglycérides permet un dépistage d'hyperlipidémie.

❖ Le cholestérol et Lactico Déshydrogénase (LDH)

Le dosage du cholestérol permet l'étude du métabolisme des graisses. C'est un bilan qui permet d'évaluer le risque d'athérosclérose et de maladies coronariennes.

LDH est une enzyme présente dans la majorité des cellules, elle se trouve augmentée lors de certaines lésions cellulaires.

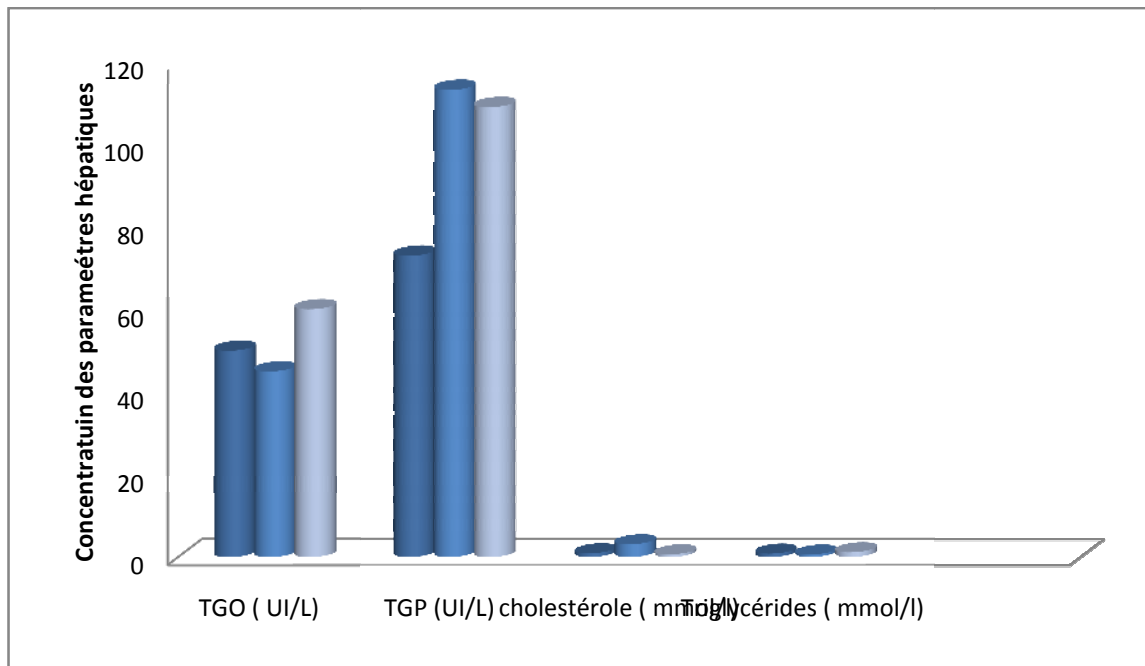


Figure 17 : dosage des paramètres hépatiques

Nous pouvons constater à partir de graphique précédent (**Figure 17**), qu'il n'existe pas de différence significative du taux des enzymes hépatiques (TGO, TGP) et celles de triglycérides et cholestérol entre les lapins testés et le lapin témoin, on conclut alors qu'une dose de 20mg/kg d'alcaloïdes de *Fumaria officinalis*, ne provoque pas un changement de l'activité hépatique. Cela coïncide avec la littérature qui apporte que la protopine à une dose de 20mg/kg possède un effet hépatoprotecteur (**Rathi et al., 2007**).

II.3.2.3.2 Les tests de la fonction rénale

❖ Créatinine sanguine

La créatinine est une molécule azotée produite par l'organisme par l'intermédiaire du catabolisme de la créatine qui est un composé protéique contenu dans le tissu musculaire.

La créatinine est une molécule inerte physiologiquement. Cela signifie qu'elle n'est ni métabolisée, ni utilisée d'une quelconque manière par l'organisme.

La créatinine est strictement éliminée par les reins. Une faible partie de la créatinine produite par l'organisme est éliminée grâce au phénomène de sécrétion au niveau des

tubules proximaux des reins. Son dosage est employé dans l'évaluation de la fonction rénale et plus particulièrement dans l'estimation du débit de filtration glomérulaire. Cette estimation s'obtient, en pratique, par le calcul de la clearance de la créatinine. Une élévation de sa concentration dans le sang est une indication de dysfonctionnement rénal ; des données sur sa concentration sanguine peuvent être utilisées pour estimer le taux de filtration glomérulaire (Frank, 1992).

❖ L'acide urique

L'urée est une molécule de 60 Da, Elle représente la forme principale d'élimination de l'azote, synthétisée lors du catabolisme des protéines par le foie, c'est un des premiers marqueurs qui a été utilisé pour mesurer le débit de filtration glomérulaire.

L'urée passe dans les néphrons quelle que soit sa concentration dans le sang : c'est une substance sans seuil (Chanton et Paniel, 1966). Cette molécule est filtrée librement dans le glomérule mais est réabsorbée au niveau des tubes proximaux et distaux.

Un taux élevé indique généralement une atteinte glomérulaire, mais la concentration peut être aussi modifiée par une alimentation inadéquate ou une hépatotoxicité, fréquente avec de nombreux toxiques (Frank, 1992).

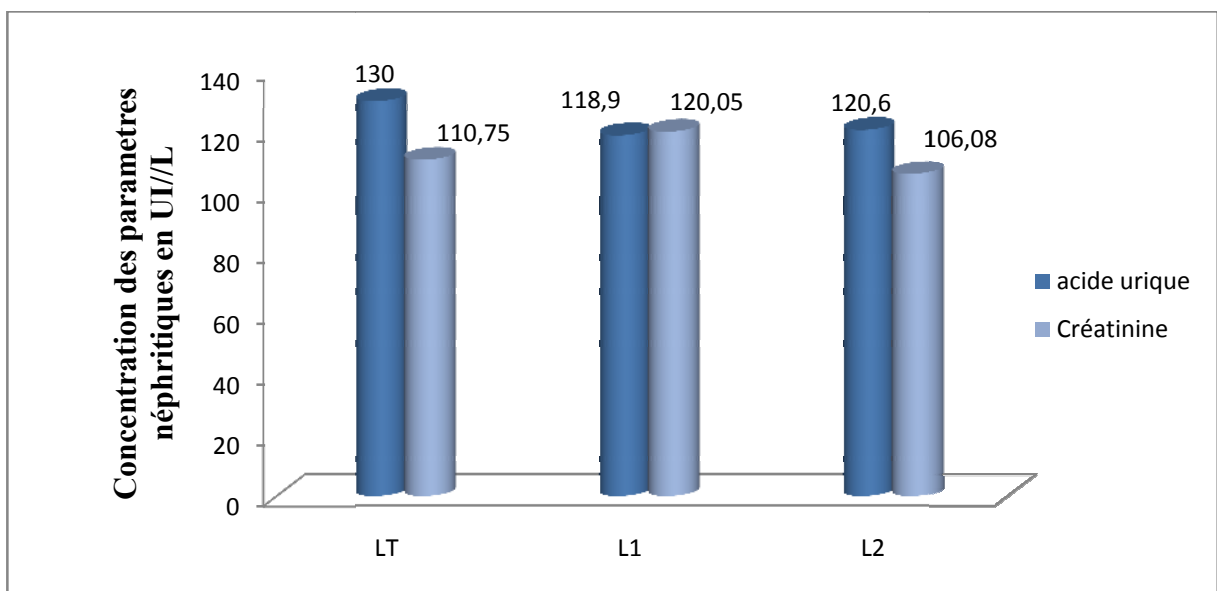


Figure 18 : Dosage de la créatinine sanguine et de l'acide urique.

❖ Na^+ , K^+ , Cl^-

Ce bilan permet le dosage des principaux constituants ioniques du sang et de dépister un déséquilibre hydroélectrolytique qui peut entraîner de très graves conséquences sur les troubles du métabolisme. Il permet aussi de surveiller une perfusion d'électrolytes.

Le ionogramme contient :

- Sodium, Na^+ , (ou natrémie), reflète l'état d'hydratation intracellulaire.
- Potassium, K^+ , (ou kaliémie), c'est la concentration plasmatique en ions potassium.
- Chlore, Cl^- , (ou chlorémie), sert à interpréter les natrémies .

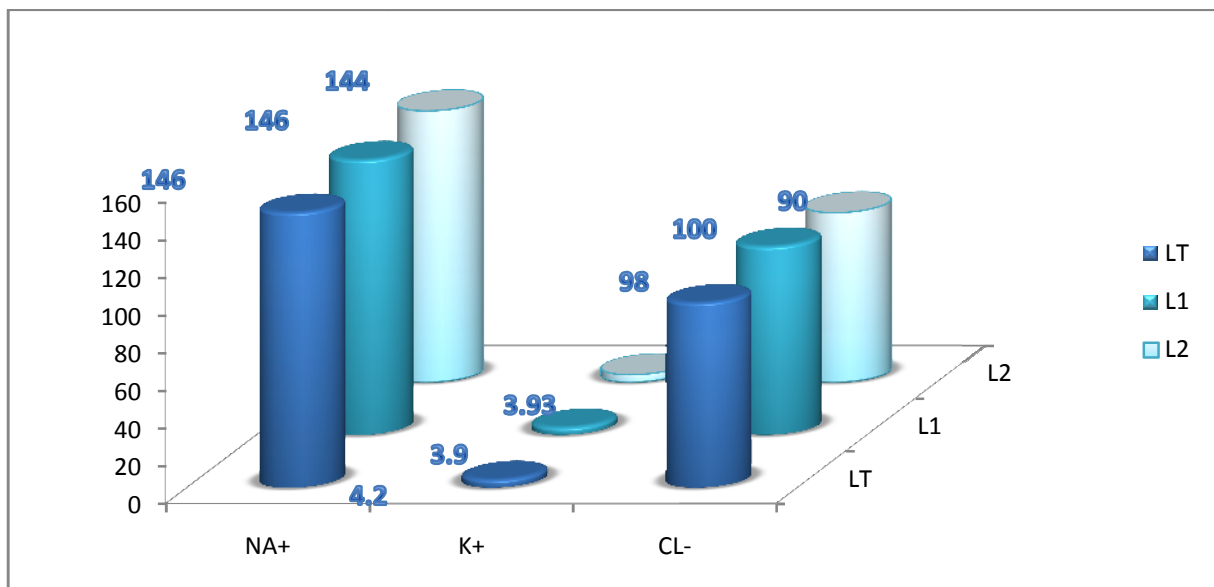


Figure 19 : Dosage des électrolytes.

Les résultats obtenus illustrés dans les **Figures 18 et 19** montrent qu'il n'y a de différences significatives entre le témoin et les lapins expérimentaux. Cela indique qu'il n'y a pas une altération de la fonction rénale à une dose de 20mg/kg.

II.3.2.3.3. Dosage des paramètres cardiaques

❖ Créatinine Phosphokinase (CPK)

Dosage de la créatinine phosphokinase contenue dans les différents organes. Le taux d'enzyme augmente quand il y a une lésion.

C'est un paramètre significatif du myocarde. Ce taux nous renseigne sur la taille de la nécros, plus les taux sont élevés, plus la masse nécrosée est étendue (**Bourdaire, 2005**).

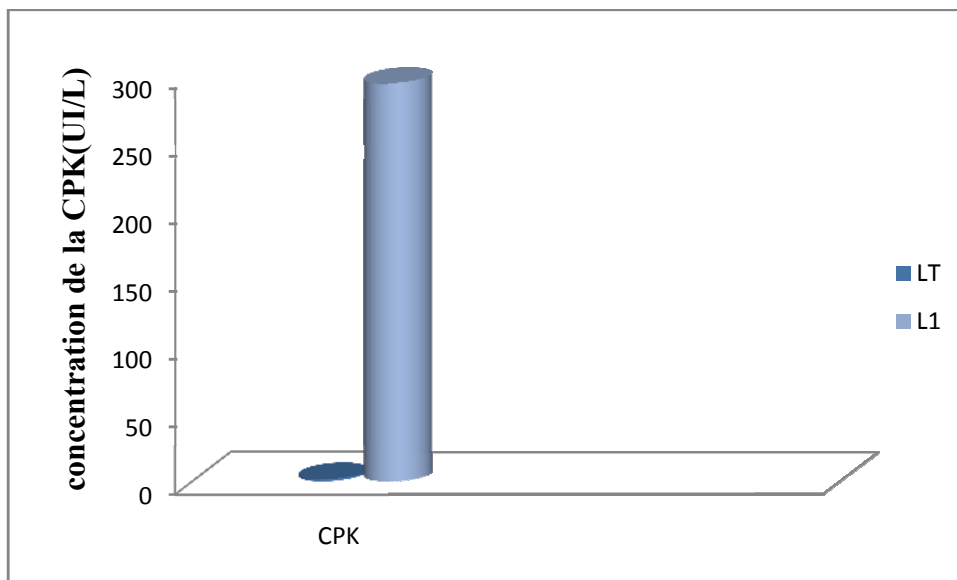


Figure 19 : Le dosage de la CPK.

L'analyse des résultats obtenu dans la **figure 19**, montre une différence hautement significative entre le taux de CPK du témoin et celui auquel on a administré 20 mg/kg.

Cela indique que le cœur a subi des lésions sévères qui a probablement pour origines la présence des alcaloïdes ques selon **Kerharo et Adam, (1974)** cité précédemment.

A decorative graphic of a scroll with a black outline and a light gray shadow. The scroll is unrolled in the middle, with the top and bottom edges curving upwards at the ends. The text is centered within the unrolled portion.

Conclusion et perspectives

Notre travail est porté sur l'étude de l'activité antioxydante et la toxicité de *Fumaria officinalis* vue son adaptation en médecine traditionnelle pour traiter diverses pathologies.

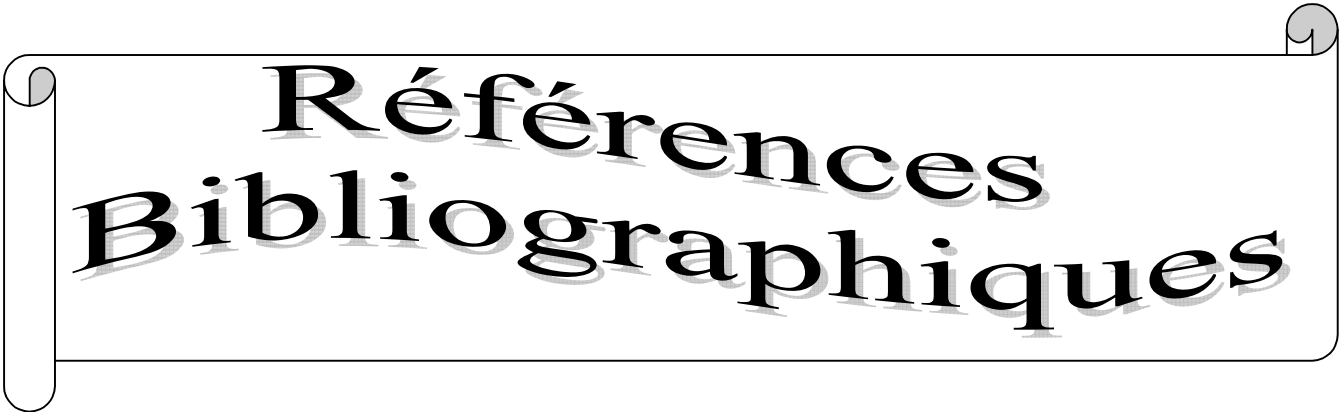
A la lumière des résultats figurés dans ce mémoire, on peut conclure que :

- ✓ *Fumaria officinalis* est une plante riche en eau, elle renferme 79.26 ± 0.36 %.
- ✓ Le rendement de la plante en alcaloïdes est de 0.93 %, donc on peut déduire que notre plante possède un taux élevé de ce métabolite secondaire par rapport à d'autres espèces.
- ✓ Les données expérimentales de l'activité antioxydante par les tests, pouvoir réducteur, effet « scavenger » du radical DPPH, piégeage du radical ABTS⁺, montrent la capacité de notre extrait à se comporter comme une substance antioxydante. En ce qui concerne l'activité scavenging du radical DPPH, la concentration inhibitrice (IC50) est de 19.63 ± 1.27 (µg/ml) ce qui signifie une bonne activité inhibitrice de nos alcaloïdes. Tandis que, leur capacité à réduire le fer est moins importante. Le piégeage du radical ABTS⁺ nécessite des concentrations plus élevées pour obtenir une activité appréciable.
- ✓ Vu les résultats de la toxicité aiguë par les alcaloïdes totaux de la partie aérienne de *Fumaria officinalis*, par une étude macroscopique des viscères, on constate :
Après administration des alcaloïdes totaux de *Fumaria officinalis*, par voie intramusculaire aux différents lapins, et avec les doses de 20 mg/kg, 60 mg/kg, 100 mg/kg, pendant quatorze jours, l'analyse des résultats a révélé :
 - Aux doses de 60 mg/kg et 100mg/kg, une atteinte hépatique, pulmonaire et surtout cardiaque suivi d'une létalité quelques heures après l'apparition des symptômes.
 - A une dose de 20 mg/kg, en dosant les paramètres hématologiques, une altération de l'activité cardiaque est observée sans aucune perturbation des autres paramètres.

Notre étude reste toujours préliminaire et peu indicative.

En perspectives ; on propose l'étude de l'activité antioxydante sur les alcaloïdes purs de notre plante ainsi que la réalisation d'autres tests tel que le H₂O₂ et les tests enzymatiques tel que l'antiperoxydase. Nos expériences sur la toxicité n'ont pas permis de

déterminer la DL50 donc c'est intéressant de révéler cette valeur ainsi une étude de la toxicocinétique fournira des informations sur la voie empruntée par notre extrait.

A decorative graphic of a scroll with a black outline and a light gray shadow. The scroll is partially unrolled, with the top and bottom edges curving upwards. The text is centered within the scroll.

Références Bibliographiques

- **Amarowicz, R ; Pegg, R.B ; Rahimi-Moghaddam, P ; Barl B et Weile, J.A. (2004).** Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, **84**:551–562.
- **Aniszewski, T. (2007).** **Alkaloids-Secrets of life.** Alkaloid chemistry, Biological significance, applications and ecological role. *1^{ère} Edition Elsevier B.V. All rights reserved*, P: 387-392.
- **Ba, K; Tine, E ; Destain, J ; Cissé, N et Thonart, P. (2010).** Etude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **14** : 131-139.
- **Barouki, R. (2006).** Stress oxydant et vieillissement. *Médecine Sciences*, **22** : 266-272.
- **Bartosz, G. (2003).** Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on toxicology*, **9**: 5-21.
- **Baudin, B. (2006).** Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *mt cardio.*, **2 (1)** : 43-52.
- **Bin, L; Qin, W.U; Jing-Shan, S; An-Sheng, S et Xie-Nan, H. (2005).** Effects of protopine on intracellular calcium and the PKC activity of rat aorta smooth muscle, *Acta Physiologica Sinica*, **57 (2)**: 240-246.
- Bock, B. (2002). *Fumaria officinalis L. Tela Botanica*, **4**: 1-2.
- **Bonnet, D ; Mejdoubi, S ; Sommet, A et Alric, L. (2007).** Hépatite aiguë probablement imputable au fumeterre et à la vigne rouge, produits de phytothérapie. *Gastroenterol Clin Biol*, 31:1041-1042.
- **Bougoffa Kh. (2007).** Identification par HPLC des polyphénols et alcaloïdes de deux espèces de « *Fumaria* » et leurs activités antioxydants et anti-péroxydase. Thèse de Magister, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université A /Mira de Bejaia, P : 74-76

- **Bounias, M. (1999).** Traité de toxicologie générale. *Edition Springer- Verlag*, France. P: 5- 13.
 - **Bourdaire, (2005).** Les examens biologiques en cardiologie. *Soins Infirmiers aux personnes atteintes d'affections cardio-vasculaires*.
 - **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} Edition, *TEC et DOC Lavoisier*. Paris. P : 784-799.
 - **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} Edition, *TEC et DOC Lavoisier*, Paris. P : 784- 800.
 - **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales, 4^{ème} Edition, *Lavoisier Technique et Documentation*, Paris. P : 955-1074.
 - **Chanton. R ; Paniel. J. (1966).** Biologie animale; Anatomie et physiologie animals II
 - **Cronquist, A. (1981).** An integrated system of classification of flowing plants. *Columbia University press*, New York.
 - **Da-Cunha, E.V. L; Fechine, I. M; Guedes, D.N; Barbosa-Filho, J. M et Silva, M.S. (2005).** Protoberberinbe alkaloids. *The Alkaloids*, **62**: 1-266.
 - **Dou, Z; Li, K; Wang, P et Cao, L. (2012).** Effect of Wine and Vinegar Processing of *Rhizoma Corydalis* on the Tissue Distribution of Tetrahydropalmatine, Protopine and Dehydrocorydaline in Rats. *Molecules*, **17**: 951-970.
 - **Dawidowicz,A; Wianwoska, D et Baraniak, B. (2006).** The antioxidant properties of alcoholic extracts from *Sambucus nigra L.* (antioxidant properties of atracts). *LWT.*, **39**: 308-315.
 - **Dubray,M. (2010).** Guide des contres- indications des principales plantes médicales. *Edition Lucien*, Paris. P : 135-136.
- El gamal A. A., Mohamed O. S. A. et Khalid S. A. (1996)** Toxicity of *argemone MEXICANA* seed, seed oil and their extracts on Albinos rats .
- Endothelial dysfunction: Involvement of reactive oxygen species. *Réanimation*, **17**:
- **Evans. (2007).** **Alkaloids.** *Pharmacopoeial and related drugs of biological origin*, P: 353-415.
 - **Fantaine, M. (1992).** Formulaire vétérinaire de pharmacologie de thérapeutique et d'hygiène. 15^{ème} édition *office des publications Universitaire*, Algérie. P : 841.

- **Farrow, S.C; Hagel, J.M et Facchini, P.J. (2012).** Transcript and metabolite profiling in cell cultures of 18 plant species that produce benzyloquinoline alkaloids. *Phytochemistry*, P: 1-10.
- **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, P : 108-115.
- **Frank, C.LU. (1992).** Toxicologie, Données générales procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. Paris. P : 73- 202.
- **Ghout, A. (2011).** Caractérisation, séparation des substances actives de *Fumaria agraria* par chromatographie sur colonne et étude de leur effet antioxydant. Université de Bejaia. P : 48.
- **Gilani A.H; Bachir S; Janbaz K.H and Khan A. (2005).** Pharmacological basis for the use of *Fumaria indica* in constipation and diarrhea. *Journal of ETHNO-PHARMACOLOGY*. (96), p: 585-589.
- **Gilgun-Sherki, Y; Melamed, E; Offen, D. (2001).** Oxidative stress induced-neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. *Neuropharmacology*, **40** : 959–975.
- **Goetz, P ; Ghedira, K et Le Jeune, R. (2009).** Matière médicale pratique. *Phytothérapie*, 7: 221–225.
- **Goetz, P. (2005).** La théorie. Dictionnaire des plantes médicinales.
- **Grycova, L; Dostál, J et Marek, R. (2006).** Quaternary protoberberine alkaloids. *Phytochemistry*, **68** : 150–175.
- **Guignard, J.L. (1979).** Biochimie Végétale. 2^{ème} Edition Masson, Paris. P : 214-230.
- **Guignard, J.L. (2000).** Abrégé de Biochimie végétale, 2^{ème} Edition Masson, Paris. P : 116- 124.
- **Hechetsweiler, B et Hechetsweiler, P. (2006).** Voyage en biochimie. Ed. ELSEVIER. ISBN, P : 42-50.
- **Hodge, A.C. et Sterner, J.H : (1980).** In Etudes de toxicité: quelques données fondamentales (A.K. DONE). Edition. TEMPO MEDICAL, Afrique.
- **Huet, O et Duranteau, J. (2008).** Dysfonction endothéliale : rôle des radicaux libres

- **Humbert, T. (2006).** ISOQUINOLINE ALKALOIDS. *Herbal Medicine*, **319**: 1-9.
- **Iwasa K ; Moriyasu, M ; Tachibana, Y ; Kim, H.S ; Wataya, Y ; Weigrebe, W ; Kenneth, B.F ; Cosentino, L.M ; Kozukab, M et 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.
- **Jadot, G. (1994).** Antioxydants et Vieillessement ; *Edition : John Libbey Eurotext*, Paris. P : 33- 36.
- **Jiang, B; Caoa, K et Wang, R. (2004).** Inhibitory effect of protopine on KATP channel subunits expressed in HEK-293 cells. *European Journal of Pharmacology*, **506** : 93– 100.
- **Kerharo, J et Adam, J.G. (1974).** La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques. *Editions Vigot frères*, Paris. P : 623-625.
- **Khamtache S. (2006).** Identification et caractérisation des alcaloïdes de deux espèces endémiques de la région de Béjaïa : *Fumaria bastardii* et *Fumaria capreolata* ; dosage des polyphénols et des tannins. Thèse de Magister, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université A /Mira de Béjaïa. P : 51.
- **Kranl, K; Schlesier, K; Bitsch, R; Hermann, H; Rohe, M et Bohm, V. (2005).** Comparing antioxidative food additives and secondary plant products – use of different assays. *Food Chemistry*, **93**: 171-175.
- **Kupeli E; Kosar M; Yesilada E; Husnu K; and Baser C. (2002).** A comparative study on the anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic effects of isoquinoline alkaloids from the roots of Turkish Berberis species. *Life Sciences*. (**72**), p: 645-657.
- **Larousse. (2007).** *Encyclopédie des plantes médicinales* : identification, préparation, soins. P : 21.
- **Lauwerys, R; Haufroid, V; Hoet, P et Lison, D. (2007).** Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. 5^{ème} Edition Masson, P: 1-11.
- **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.

- **Liu, H; Jensen, K.G; Linh My Tran, L. M; Chen, M; Zhai, L; Olsen, C. E; Sohoel, H; Denmeade, S. R; Isaacs, J.T et Christensen, S.B. (2006).** Cytotoxic phenylpropanoids and an additional thapsigargin analogue isolated from *Thapsia garganica*. *Phytochemistry*, **67**: 2651–2658.
- **Maiza-Benabdesselam, F ; Khentache1, S ; Bougoffa1, K ; Chibane, M; Adach, S; Chapeleur, Y ; Max, H et Laurain-Mattar, D. (2007).** Antioxidant activities of alkaloid extracts of two Algerian species of *Fumaria*: *Fumaria capreolata* and *Fumaria bastardii*. *Rec. Nat. Prod.*, **1**:(2-3) P : 28-35.
- **Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, **26** : 211-219.
- **Mortureux, M. (2010).** L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa). *Maisons-Alfort*, P : 1-7.
- **Paris, M et Hurabielle, M. (1980).** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie). *Edition Masson*, Paris. P : 257-261.
Pharmacokinet. Phar., **6**(4): 343 – 349.
- **Popovici, C ; Saykova, I et Tylkowski, B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, **4** : 25-39.
- **Rakotondramasy-Rabesiaka, L ; Havet, J.L ; Porte, C et 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.
- **Rakotondramasy-Rabesiaka, L ; Havet, J.L ; Porte, C et Fauduet, H. (2008).** Solid–liquid extraction of protopine from *Fumaria officinalis* L.—Kinetic modelling of influential parameters. *Industrial crops and products*, P: 1-8.
- **Rathi, A; Srivastava, A.K; Shirwaikar, A; Rawat, A.K.S et Mehrotra, S. (2008).** Hepatoprotective potential of *Fumaria indica* Pugsley whole plant extracts, fractions and an isolated alkaloid protopine. *Phytomedicine*, **15**: 470–477.
reseraches of curcumin in solid dispersion with the polymersPVP. *Asia J.*

- **Re, R ; Pellegrini, N ; Proteggente, A ; Pannala, A ; Yang, M et Rice-Evans, C.** (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Elsevier Science*, **26**:1231-1236.
- **Ribéreau-Gayon.** (1968). Les composés phénoliques des végétaux. *Ed Dunod, Paris*, p : 5-7 ,10-13, 55-86.
- **Saeed, S.A; Gilani, A.H; Majoo, R.U; et Shah, B.H.(1997).** Anti-thrombotic and anti-inflammatory activities of protopine. *Pharmacological Research, Vol. 36, No. 1*,
- **Salminen, K.A; Meyer, A; Jerabkova, L; Korhonen, L.E; Rahnasto, M; Juvonen, R.O; Imming, P et Raunio, H. (2011).** Inhibition of human drug metabolizing cytochrome P450 enzymes by plant isoquinoline alkaloids. *Phytomedicine*, **18**: 533-538.
- **Sato, F; Inai, K et Hashimoto, T. (2007).** Metabolic engineering in Alkaloid Biosynthesis: Case Studies in Tyrosine and Putrescine- Derived Alkaloids. *Applications of Plant Metabolic Engineering*, P: 145- 173.
- **Satrani, B; Ghnmi, M; Farah, A; Aafi, A; Fougrach, H; Bourkhiss, B; Bousta, D; et Talbi, M. (2007).** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*. *Bull. Soc. Pharm.*, **146** : 85-96.
- **Shakil, A. (1998).** Isolation and structural elucidation of chemical constituents from *Fumaria indica, Ferula ooda and Withania somnifera*. Thèse de doctorat. Université de Karachi. P : 10-40.
- **Shirwakar, A; Shirwakar, A.R; Rajendran, Ket Punitha, I.R.S. (2006).** *In vitro* antioxidant studies on the benzyltetraisoquinoline alkaloid berberine. *Biol. Pharm. Bull.*, **29 (9)**: 1906-1910.
- **Springob, K et Kutchan, T.M. (2009).** Introduction to the different classes of the natural products. *Plant-derived Natural Products*. P: 1-48.
- **Sturm, S ; Strasser E.M et Stuppner H. (2006).** Quantification of *F. officinalis* isoquinoline alkaloids by nonaqueous capillary electrophoresis-electrospray ion trap mass spectrometry. *Journal of chromatography A. (11) 2*, p: 331-338.
- **Suau R; Cabezudo B; Rico R; Najera F; Lopez-Romero J.M and Cuevas A. (2002).** Phytochemical variations within populations of *Platycapnos saxicola* Willk. *Biochemical systematics and ecology. (32)*, p: 565-572.

- **Suau, R; Cabezudo, B; Valpuesta, M; Posadas, N; Diaz, A and Torres, G. (2005).** Identification and Quantification of Isoquinoline Alkaloids in the Genus *Sarcocapnos* by GC-MS. *Phytochemical Analysis*. **16**: 22–327.
- **Suau, R; Posadas, N.M; Silva, V and Valpuesta, M. (1998).** Heterocarpine, A hydroxymethylated isoquinoline alkaloid from *ceratocapnos heterocarpa*. *Phytochemistry*, **49**: 2551-2555.
- **Sung Bae, D; Kim, Y.H; Pan, C.H; Nho, C.W; Samdan, J; Yansan, J et Lee, J.K. (2011).** Protopine reduces the inflammatory activity of lipopolysaccharide-stimulated murine macrophages. *BMB reports*, P : 108-113.
- **Takhtajan, A. (1969).** Flowering plants. Origin and dispersal. *Oliver and Boyd, Edinburgh*.
- **Timbo, B. (2003).** Etude phytochimique et des activités biologiques de *Trichilia emetica* VAHL (*MELIACEAE*). Thèse de Doctorat, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d’Odonto-Stomatologie de l’université de BAMAKO-MALI. P : 1-112.
- **Torres, R. et al; (2006).** Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudates of *Haplopappus multifolius*; *Phytochemistry*, **67**: Ed: *ELSEVIER*; P: 984-987.
- **Valko, M ; Rhodes, C.J ; Moncol, J ; Izakovic , M et Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, **160**: 1–40.
- **Vercauterne, P.J. (2007).** Drogues à alcaloïdes isoquinoléiques issus de tyrosine ou de phénylalanine, p : 205-240.
- **Vrba, J; Vrublova, E; Modriansky, M and Ulrichova,J. (2011).** Protopine and allocryptopine increase mRNA levels of cytochromes P450 1A in human hepatocytes and HepG2 cells independently of AhR. *Toxicology Letters*, **203**: 135–141.
- **Wasu, S.J et Muley, B.P. (2009).** Antioxidant Activity of *Fumaria Officinalis* Linn. And Its Study on Ethanol Induced –Immunosuppression. *Research J. Pharm. and Tech.*, **2(2)**: 405-408.

- **Wu, W. N et Huang, C. H. (2006).** Structural Elucidation of Isoquinoline, Isoquinolone, Benzyloisoquinoline, Aporphine, and Phenanthrene Alkaloids Using API-ionspray Tandem Mass Spectrometry. *The Chinese Pharmaceutical Journal*, **58**: 41-55.
- **Wynne, P.M; Vine, J.H and Amiet, R.G. (2004).** Protopine alkaloids in horse urine, *Journal of Chromatography B*, **811**: 85–91.
- **Xiao, X; Liu, J; Hu, J; Zhu, X; Yang, H ; Wang, C et Zhang , Y. (2008).** Protective effects of protopine on hydrogen peroxide-induced oxidative injury of PC12 cells via Ca²⁺ antagonism and antioxidant mechanisms. *European Journal of Pharmacology*, **591**: 21–27.
- **Xu, D.H; Wangs, S; Jin, J; Mei, X.T; Xu, S.B. (2006).** Dissolution and absorption reseraches of curcumin in solid dispersion with the polymersPVP. *Asian J. Pharmacokinet. Phar.*, 2006; **6(4)**: 343 – 349.
- **(www.google .Fr).**



Annexes

➤ *Matériel*

- Agitateur ;
- Ampoule à décanter en verre ;
- Balance de précision ;
- Balance analytique ;
- Barreau magnétique ;
- Broyeur électrique ;
- Bain- marie ;
- Centrifugeuse ;
- Etuve ;
- Epicrâniennes ;
- Fioles ;
- Gants chirurgicaux ;
- Micropipette 5-20 μ l Accumax ;
- Micropipette 100-1000 μ l Accumax ;
- Paraffine ;
- pH mètre ;
- Rotavapeur ;
- Soxhlet ;
- Spatule ;
- Spectrophotomètre UV-visible SHIMADZU 1240;
- Seringues ;
- Tubes héparinés de 4 ml ;
- Trousse à dissection contenant, des aiguilles, des pinces hémostatiques, la paire de ciseaux fins, de gros ciseaux, aiguilles de fixation ect.
- Verrerie de laboratoire (bêcher, éprouvette, pipette à graduations,...)
- Vortex.

➤ *Produits*

- Ammoniac ;
- Ethanol (C₂H₆O) ;
- Ether de pétrole ;
- Eau distillé (H₂O_D) ;
- Acide chloridrique (HCl);
- Chlorure de sodium (NaCl) ;
- Eau physiologique ;
- Dichlorométhane ;
- Le Diphényle picryl-hydrazyle (DPPH) ;
- Méthanol (CH₃OH) ;
- Tampon phosphate ;
- Acide trichloracétique (TCA) ;
- Ferricyanure de potassium (K₃Fe(CN)₆) ;
- Poudre d'ABTS ;
- Solution de persulfate de potassium 7 mM ;
- Diméthyle Sulfoxide (DMSO).

➤ *Préparation des solutions pour les tests de l'activité antioxydante*

Préparation de tampon phosphate à pH = 6,6

- HK₂PO₄: 4,565g / 100ml d' H₂O_D.
- KH₂PO₄: 2,72g / 100ml H₂O_D.

Préparation de ferricyanure de potassium :

- Ferricyanure de potassium (K₃Fe(CN)₆) à 1% : 1g / 100ml H₂O_D.

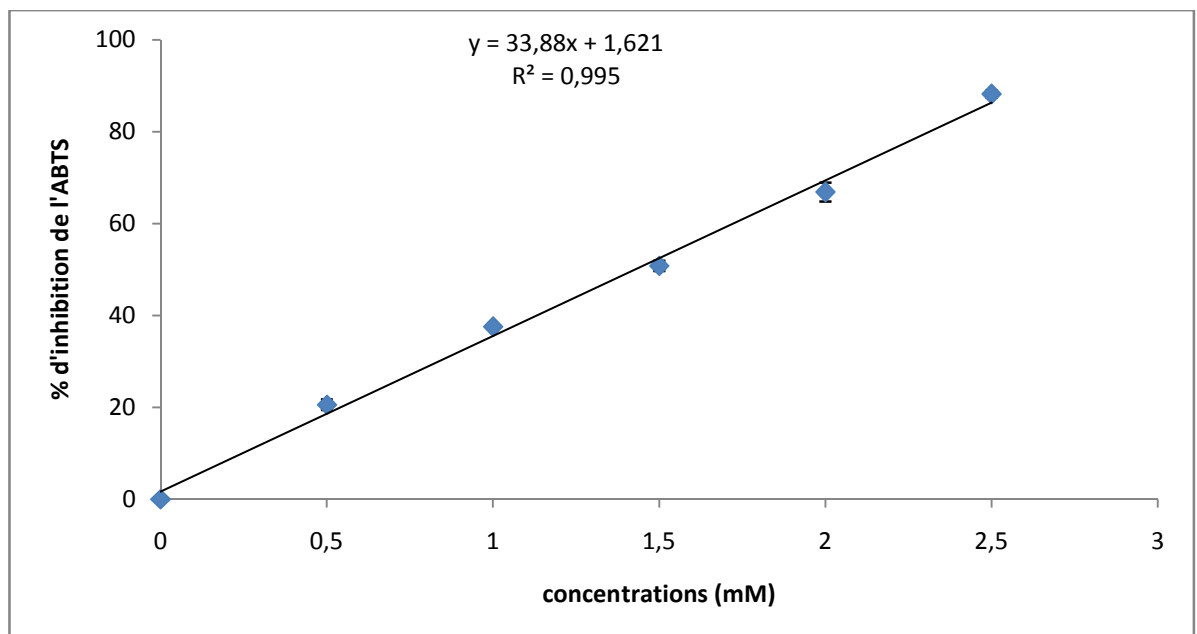
Préparation de l'acide trichloracétique :

- Acide trichloracétique (TCA) à 10% : 10g / 100ml H₂O_D.

Antioxydants standards

- BHA
- Acide ascorbique
- Quercitine
- Acide galique

La courbe d'étalonnage de Trolox



Résumé

Fumaria officinalis appelée communément « Zalmit » est une plante de la famille des Fumariaceae, très répandue en Algérie. Dans ce travail on a recherché d'éventuelles activités antioxydantes et les effets toxiques des alcaloïdes totaux de la partie aérienne de *Fumaria officinalis*. La présente étude est divisée en deux parties essentielles. La première est consacrée à l'étude du pouvoir antioxydant réalisée par trois méthodes différentes qui sont : test au DPPH, pouvoir réducteur et test de réduction du radical ABTS⁺. En revanche, la deuxième partie consiste en une étude préliminaire de la toxicité aiguë en suivant l'évolution des effets toxiques. Notre étude a révélé un taux d'humidité de 79.26 % ± 0.36. L'extraction solide-liquide des alcaloïdes totaux de la partie aérienne a permis d'obtenir un rendement d'extraction de 0.93 %. L'extrait alcaloïdique a montré, in vitro, une bonne activité scavenging DPPH avec un IC50 de 19.63 ± 1.27 et un pouvoir moyen de réduction de Fer. Tandis que, le piégeage de radicaux ABTS est faible. L'étude préliminaire de la toxicité aiguë chez les lapins albinos traité par des doses croissantes (20mg/kg, 60mg/kg, 100mg/kg) des alcaloïdes isoquinoléiques de *Fumaria officinalis* par voie intra musculaire a montré, par une étude macroscopique des organes vitaux, une hépatotoxicité, une atteinte pulmonaire et une cardiotoxicité pour les deux doses élevées. Les analyses hématologiques réalisées à une dose de 20mg/kg n'ont connue aucun changement significatif pendant les 14 jours qui suivent l'administration, à l'exception des paramètres cardiaques qui ont présenté une augmentation très remarquable.

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

Abstract

Fumaria officinalis, commonly called "Zalmit" is a plant of the family Fumariaceae, most founded in Algeria. In this work, we looked for possible antioxidant activity and toxic effects of total alkaloids of the aerial parts of *Fumaria officinalis*. This study is divided into two essential parts. The first is devoted to the study of antioxidant activity produced by three distinguished methods: the DPPH essay reducing power and ABTS⁺ essay. On the other hand, the second part consists on preliminary study of acute toxicity following the evolution of toxic effects. Our study revealed moisture content of 79.26±0.36%. The solid-liquid extraction of total alkaloids of the aerial parts has allowed obtaining an extraction yield of 0.93%. The alkaloid extract showed, in vitro, a good activity of scavenging DPPH with an IC50 of 19.63±1.27 and an average power reduction of iron. Whereas, scavenging of ABTS⁺ radical is weak. The preliminary study of acute toxicity in albino rabbits treated with increasing doses (20mg/kg, 60mg/kg, 100mg/kg) of isoquinoline alkaloids from *Fumaria officinalis* by intramuscular way was shown, by a macroscopic study of vital organs, hepatotoxicity, pulmonary and cardiac toxicity for both doses. Hematological analyzes performed at a dose of 20mg/kg have shown no significant change during the 14 days following the administration, with the exception of cardiac parameters which showed a highly significant increase.

Keywords: *Fumaria officinalis*, alkaloids, antioxidant activity, toxicity.