

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Béjaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie physico-chimique



Réf :.....

Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Pharmacologie Moléculaire

Thème

Etude de la Toxicité Aiguë et Subaiguë des Alcaloïdes de *Fumaria officinalis* sur des Souris *albinos Wistar*.

Présenté par : M^r OTMANI Amar & M^{elle} YAHIAOUI Sonia

Soutenu le 16/06/2016

Composition du jury

M ^r Y. BOUGUEZZA	Maître de conférence .B, A-Mira, Béjaia	Président
M ^{me} S. ABDERRAHIM	Maître assistante. A. A-Mira, Béjaia	Promotrice
M ^r N. BRIBI	Maître de conférence .B, A-Mira, Béjaia	Examineur

Année Universitaire : 2015/2016

Remerciement

Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant, pour nous avoir donnée la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail. Car l'homme propose mais Dieu dispose. Seigneur, veuille toujours diriger nos pas.

Nous remercions nos chers parents qui nous ont aidés à être ce que nous sommes et Qui nous ont entourés avec tant d'amour et d'affection. On remercie leur dévouement, leur consacre de temps et leur présence constante au cours de toutes ces années d' « études ». On remercie tendrement notre famille et nos frères pour leur soutien et leur encouragements, et un merci du fond du nos cœur à nos sœur qui ont été toujours à notre cotés, qui nous ont soutenues et sur tout nous ont supportées au moment difficiles.

Nous avons la reconnaissance et la gratitude à remercier madame ABDEERRAHIM. S, notre encadreur, qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance pour nous avoir guidées dans notre travail, et pour sa confiance, son soutien, et surtout Pour ces grandes qualités humaines.

Nos sincères remerciements s'adressent à Mr BOUGUEZZA.Y, d'avoir accepté de présider le jury, Veuillez trouver ici l'expression de notre plus profond respect.

On veut également remercier Mr BRIBLIN, on lui exprime notre reconnaissance de nous avoir fait l'honneur d'être l'examineur. Son dévouement pour la recherche et sa rigueur scientifique sont connus de tous.

Avec tout notre respect on tient à remercier Madame CHEBOUT pour son aide précieuse lors de la réalisation des études histologiques et à tout le personnel du laboratoire d'Anapathologie, ainsi que le personnel du laboratoire de l'Animalerie. Un grand merci particulier à madame Kadji, pour son aide et sa disponibilité.

Finalement, on est profondément reconnaissants à toute personne qui nous a aidés de près ou de loin, directement ou indirectement durant ce passage.

Sonia et Amar

Dedicaces





Prière et bénédiction 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

Je dédie ce modeste travail :

- *A la mémoire de ceux qui n'ont pas pu partager avec moi cet instant de bonheur et de joie que Dieu les bénissent.*
- *A mon très cher père.*
- *A mon cher fiancé pour sa disponibilité son soutien moral et surtout sa patience.*
- *A mes chères frères et sœurs, et a toute ma famille : Ahmed, Hamza, Ikrem, Yacine, Raone, Massi, Hakima, Hassina, Razane, Fatima, Malika, Farah, Malak, Mayssam Saber, Youdass, malgré la distance vos précieux conseils m'ont toujours été d'un grand secours, je vous remercie, que la vie ne puisse jamais nous séparer.*
- *A toute la famille YAHIAOUI et à toute la famille OTMANI.*
- *A tous mes amis(es) sans exception.*

YAHIAOUI Sonia





Je dédie ce Modest mémoire à :

-La mémoire de ma mère et de ma belle-mère « Puisse Dieu tout puissant, vous accorder sa clémence, sa miséricorde, et assurer le repos de vos âmes au sein de son paradis ».

- Ma fiancée Sonia .

- Mon père Ahmed

- Mes chers frères : Mohammed, Ali , Mouloud , Belkacem .

- Mes Sœurs: Hakima , Dihia et Kahina.

-Mes chers oncles et mes chères tantes

- Mes amis : Nordine, Azdine, Anis, Monir, Boubeker, Nadir, Djalal,

Arezki, Boulem, Djamal, Karim, Ramdane, Hadi, Bouki, Massinissa.

-Toute la famille OTMANI et à toute la famille YAHIAOUI.

OTMANI Amar



Liste des figures

N°	Titre	Pages
1	Quelques espèces appartenant à la famille des fumariacées	2
2	Fleurs, fruits et feuilles de <i>Fumaria officinalis</i>	4
3	Biogénèse des alcaloïdes	9
4	Formation du noyau isoquinoléique et tétra hydroisoquinoléique	10
5	Relation entre la dose et l'effet	15
6	Relation entre la dose et la repense	15
7	Conditions d'élevage des souris <i>albinos Wistar</i> au sein de l'animalerie de l'Université de Bejaia (Avril- Mai, 2016).	19
8	Photographie de <i>Fumaria officinalis</i> dans la région de la récolte Beni Zmenzer (Tizi-Ouzou).	20
09	Carte géographique de Tizi-Ouzou avec la région de récolte de <i>Fumaria officinalis</i> .	20
10	Préparation du matériel végétal (laboratoire de biologie végétale et d'Ethnobotanique, FSNV de Bejaia).	21
11	Photographie d'extracteur « Soxhlet » et sa représentation schématique (laboratoire de biologie végétale et d'Ethnobotanique, Bejaia).	23
12	Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux (AT) de <i>Fumaria officinalis</i>	25
13	Protocole d'extraction par fractionnement des alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i> « FN ; FA ; FB »	26
14	Photographie de l'administration des extraits par voie orale.	30
15	Les étapes de prélèvement des différents organes (laboratoire de biologie végétale et d'Ethnobotanique, FSNV de Bejaia).	31
16	Photographie de la préparation des lames au niveau du laboratoire d'anatomie- pathologique de la faculté de médecine de l'Université de Bejaia.	32
17	les effets toxiques des extraits de <i>Fumaria officinalis</i> sur le comportement des souris.	44

18	Changement du poids corporel des souris durant le test de toxicité subaiguë.	44
19	Evaluation de la quantité de la nourriture consommée chez les souris traitées par AT.	45
20	Evaluation de la quantité de la nourriture consommée chez les souris traitées par (FN).	46
21	Evaluation de la quantité de la nourriture consommée chez les souris traitées par (FA).	46
22	Evaluation de la quantité de la nourriture consommée chez les souris traitées par (FB).	46
23	Evaluation de volume d'eau consommée chez les souris traitées par AT.	47
24	Evaluation de volume d'eau consommée chez les souris traitées par FN.	48
25	Evaluation de volume d'eau consommée chez les souris traitées par FA	48
26	Evaluation de volume d'eau consommée chez les souris traitées par FB.	48
27	Photographie d'une souris déshydratée	49
28	Coupe histologique du tissu rénal et du tissu de foie des souris témoins.	50
29	Coupe histologique du tissu rénal et du tissu de foie des souris traités avec AT dans les conditions de la toxicité subaiguë.	51
30	Coupe histologique du tissu rénal et du tissu de foie des souris traités avec AT dans les conditions de la toxicité subaiguë.	51
31	Coupe histologique du tissu de foie de souris traitées avec FN dans les conditions de la toxicité subaiguë.	51
32	Coupe histologique du tissu de foie de souris traitées par FA dans les conditions de la toxicité subaiguë.	52
33	Coupe histologique du tissu de foie de souris traitées par FB dans les conditions de la toxicité subaiguë.	52
34	Coupe histologique du tissu rénal de souris traitées par FB dans les conditions de la toxicité subaiguë.	52
35	Coupe histologique du tissu rénal de souris traitées par AT et FB dans les conditions de la toxicité subaiguë.	53

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Les différents noms vernaculaires de <i>Fumaria officinalis</i> .	3
II	Constituants chimiques principaux de <i>Fumaria officinalis</i>	5
III	La solubilité des alcaloïdes	8
IV	Les formes d'intoxication	17
V	Principaux effets toxiques observés sur le foie	17
VI	Diverses catégories d'effets neurotoxiques	18
VII	La séquence de doses choisie pour l'essai principal	27
VIII	Les résultats de l'analyse de la poudre de <i>Fumaria officinalis</i>	32
IX	Les rendements d'extraction méthanolique et éthanolique des alcaloïdes totaux de <i>Fumaria officinalis</i> selon le protocole de Suau par l'extracteur de Soxhlet et macération.	33
X	Comparaison des rendements d'extraction méthanolique et éthanolique par l'extracteur de Soxhlet et macération des alcaloïdes totaux de <i>Fumaria officinalis</i> selon le protocole de Suau.	33
XI	Les rendements d'extraction méthanolique et éthanolique par le dispositif de Soxhlet et macération des alcaloïdes (FN, FA, FB) de <i>Fumaria officinalis</i> selon le protocole de Farzana.	34
XII	Comparaison des rendements d'extraction méthanolique et éthanolique par l'extracteur de soxhlet et macération des alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i> (FN, FA, FB) selon le protocole de Farzana.	35
XIII	Résultat de l'essai principal	36
XIV	Calcul de la DL50 pour l'essai principal	38
XV	L'effet d'une dose unique de <i>Fumaria officinalis</i> sur les souris <i>albinos wistar</i> .	39
XVI	l'effet toxique des extraits de <i>Fumaria officinalis</i> sur le comportement des souris.	41
XVII	Effet de l'extrait alcaloïdique de <i>Fumaria officinalis</i> sur le poids des organes prélevés chez les souris après 28 jours de traitement par voie orale.	48
XVIII	Effet de l'extrait alcaloïdique de <i>Fumaria officinalis</i> sur les paramètres hématologiques des souris après 28 jours de traitement par voie orale.	49
XIX	Effet de l'extrait alcaloïdique de <i>Fumaria officinalis</i> sur les paramètres biochimiques des souris après 28 jours de traitement par voie orale.	49
XVIII	les rapports relatifs des organes.	50

LISTE DES ABREVIATIONS

- **AMM** : Autorisation de Mise sur le Marché
- **AT** : Alcaloïdes Totaux
- **BTHIQ** : Benzyltetrahydro isoquinoléines
- **BUN** : azote de l'urée sanguine
- **DL 50** : Dose létale à 50%
- **FA** : Fraction Basique
- **FAME** : Monoethyl Ester d'Acide Fumarique
- **FB** : Fraction Basique
- **FN** : Fraction Neutre
- **IC50** : Concentration Inhibitrice 50.
- **OCDE**: Organisation de Coopération et de Développement Economique.
- **pH** : Potentiel hydrogène.
- **SNC** : Système Nerveux Central.
- **SNP** : Système Nerveux Périphérique.

Glossaire médical

- **Aménorrhée** : L'aménorrhée est l'absence des règles ou menstruation. Le plus souvent, la grossesse en est la cause. Dans les autres cas, l'aménorrhée peut être l'unique symptôme d'une pathologie ou au contraire, un parmi de nombreux autres.
- **Antalgique** : Qui calme les douleurs.
- **Antihypertensif** : Les antihypertenseurs sont un groupe de médicaments utilisés pour normaliser une tension artérielle trop élevée.
- **Antioxydant** : Lutte contre le stress oxydatif, protège la cellule d'une oxydation par les radicaux libres et empêche l'altération des composés organiques.
- **Antispasmodique** : Fait baisser la tension et soulage les spasmes musculaires.
- **Antitussif** : Un antitussif ou médicament antitussif est un médicament censé arrêter la toux.
- **Conjonctivite** : Une inflammation de la conjonctive provoquée par un virus.
- **Dépurative** : Qui purifie l'organisme, en favorisant l'élimination des toxines, des déchets organisme.
- **Diurétique** : Un diurétique est une substance qui augmente la production d'urine.
- **Dysménorrhée** : La dysménorrhée désigne des règles ou menstruations douloureuses ou difficiles.
- **Dyspepsie** : La dyspepsie désigne une digestion difficile.
- **Eczéma** : Maladie chronique allergique ou infectieuse de la peau, caractérisée par des lésions consistant en squames couvertes de boutons séreux provoquant des démangeaisons.
- **Eruption cutanées** : Les éruptions cutanées se manifestent généralement par des rougeurs, des démangeaisons ou une sensation de brûlure ainsi que par la formation de petites vésicules, de croûtes ou de spasmes.
- **Nausée** : Envie de vomir
- **Phytothérapie** : Traitement médical par l'emploi des plantes médicinales comme remèdes.
- **Psoriasis** : Maladie de la peau caractérisée par des plaques rouges.

Glossaire botanique

- **Bisannuelles** : Se dit d'une plante dont le cycle végétatif s'effectue sur deux années (germination la première année et floraison la seconde).
- **Cholagogue** : Sont des plantes médicinales agissent au niveau du foie comme les plantes Cholérétique, favorisent aussi l'évaluation de la bile hors de la vésicule biliaire.
- **Eperon** : L'éperon est une extension de la corolle (pétales) ou du calice (sécales) d'une fleur en tube étroit et allongé, contenant généralement du nectar.
- **Grappe** : Inflorescence composée d'un axe principal, généralement pendant, autour duquel sont disposés à des niveaux différents des axes secondaires simples ou ramifiés, porteurs de fleurs; fruit composé qui en résulte.
- **Pennatiséquées** : Se dit d'une feuille dont le limbe est penné en segments séparés par des sinus qui atteignent presque la nervure médiane.
- **Pétale** : Pièce florale, généralement bien colorée ; partie de la corolle.
- **Sépales** : Le sépale est l'un des éléments foliacés généralement verts, observés à la base de la corolle, sous les pétales.
- **Succulentes** : Les plantes succulentes sont des plantes charnues adaptées pour survivre dans des milieux arides du fait des caractéristiques du sol, du climat ou à forte concentration en sel.
- **Tronqués** : Extrémité de fruit.

Sommaire

Liste des figures	I
Liste des tableaux	II
Liste des abréviations	III
INTRODUCTION	01

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1-Présentation de la plante <i>Fumaria officinalis</i>	02
I.1.1-La famille des <i>Fumariacees</i>	02
I.1.2-Nomenclature de <i>Fumaria officinalis</i>	03
I.1.3-Classification de <i>Fumaria officinalis</i>	03
I.1.4-Description botanique de <i>Fumaria officinalis</i>	04
I.1.5-Répartition géographique et habitat	04
I.1.6-Composition Chimique	05
I.1.7-Applications thérapeutiques et traditionnelles de <i>Fumaria officinalis</i>	05
I.1.8-Posologie et formes d'utilisation	06
I.1.9-La toxicité de la fumeterre	06
I.2-Les alcaloïdes	07
I.2.1-Définition	07
I.2.2-Classifications des alcaloïdes	07
I.2.3-Localisation des alcaloïdes chez les plantes	08
I.2.4-Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes	08
I.2.5-La biosynthèse des alcaloïdes	08
I.2.6-Les alcaloïdes isoquinoleiques	10
I.2.6.1-Utilité et usage pharmacologique des alcaloïdes isoquinoleiques	10
I.2.6.2-Toxicité des alcaloïdes isoquinoleiques de <i>Fumaria officinalis</i>	11
I.3-Généralités sur la toxicité	12
I.3.1-Les voies d'exposition aux produits toxiques	12
I.3.2-Le cheminement d'un toxique dans l'organisme	13
I.3.2.1-L'absorption	13

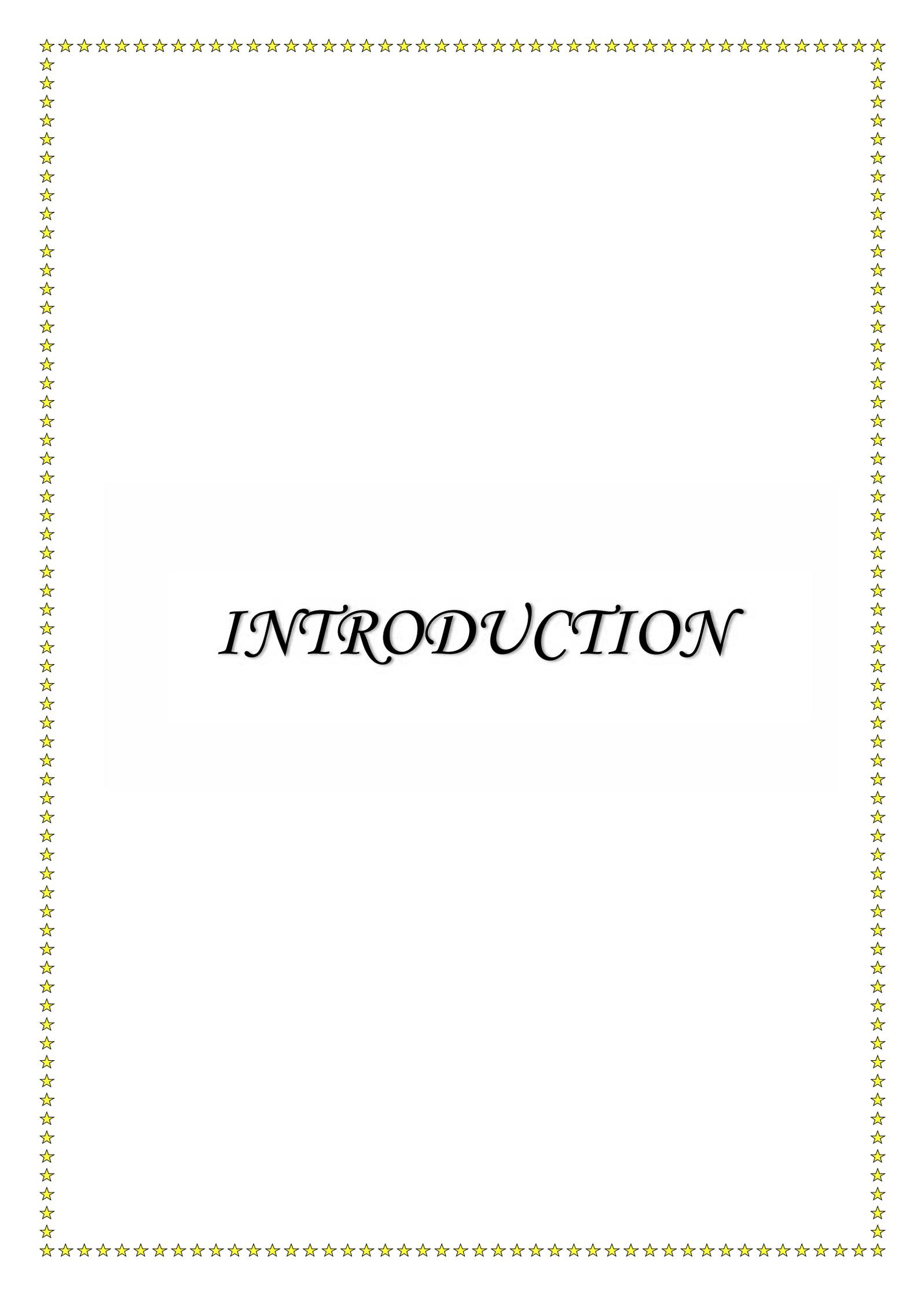
I .3.2.2-La distribution.....	13
I .3.2.3-La biotransformation	13
I .3.2.4-L'excrétion.....	13
I .3.3-Effet toxique	14
I .3.3.1-Notion d'effet toxique	14
I .3.3.2-Relations dose-effet et relation dose-réponse	14
I .3.3.3-Les différentes formes de toxicité	15
I.3.4-Description des manifestations toxiques par systèmes biologiques et quelques organes cibles.....	16
I.3.4.1-L'hépatotoxicité.....	16
I.3.4.2-La néphrotoxicité	17
I.3.4.3-La neurotoxicité	17

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1-Matériel	19
II.1.1-Animaux	19
II.1.2-Matériel végétal.....	19
II.2-Méthodes	20
II.2.1-Préparation du matériel végétal.....	20
II.2.2- Détermination de la teneur en eau.....	22
II.2.3-Choix du solvant pour l'extraction des alcaloïdes de <i>Faumararia officinalis</i>	22
II.2.4-Extraction des alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i>	23
II.2.4.1-Principe du dispositif de Soxhlet.....	23
II.2.4.2-Principe de macération	23
II.2.4.3-Les protocoles d'extraction des alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i>	24
II.3-Evaluation <i>in vivo</i> de la toxicité aiguë et subaiguë des alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i>	27
II.3.1-Evaluation <i>in vivo</i> de la toxicité aiguë	27
II.3.1.1-Description de la méthode d'ajustement des doses.....	27
II.3.1.2-Mode opératoire	28
II.3.2- Evaluation <i>in vivo</i> de la toxicité subaiguë	29
II.3.2.1- Principe de l'essai.....	29
II.3.2.2-Mode opératoire	29

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1-Le taux d'humidité.....	32
III.2-Le choix de solvant et du dispositif d'extraction.....	32
III.3-Evaluation de la toxicité aigue et subaiguë des alcaloïdes de <i>Fumaria officinalis</i>	36
III.3.1- Etude de la toxicité aigue.....	36
III.3.2-Etude de la toxicité subaiguë.....	42
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	55
REFERNCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	57
ANNEXES	



INTRODUCTION

Introduction

Durant des siècles et même des millénaires, nos ancêtres ont utilisé les plantes pour soulager leurs douleurs, guérir leurs maux et panser leurs blessures. Ainsi, même actuellement, malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement. En effet, il existe environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 possèdent des propriétés médicinales (**Benkhniqne et al., 2010**).

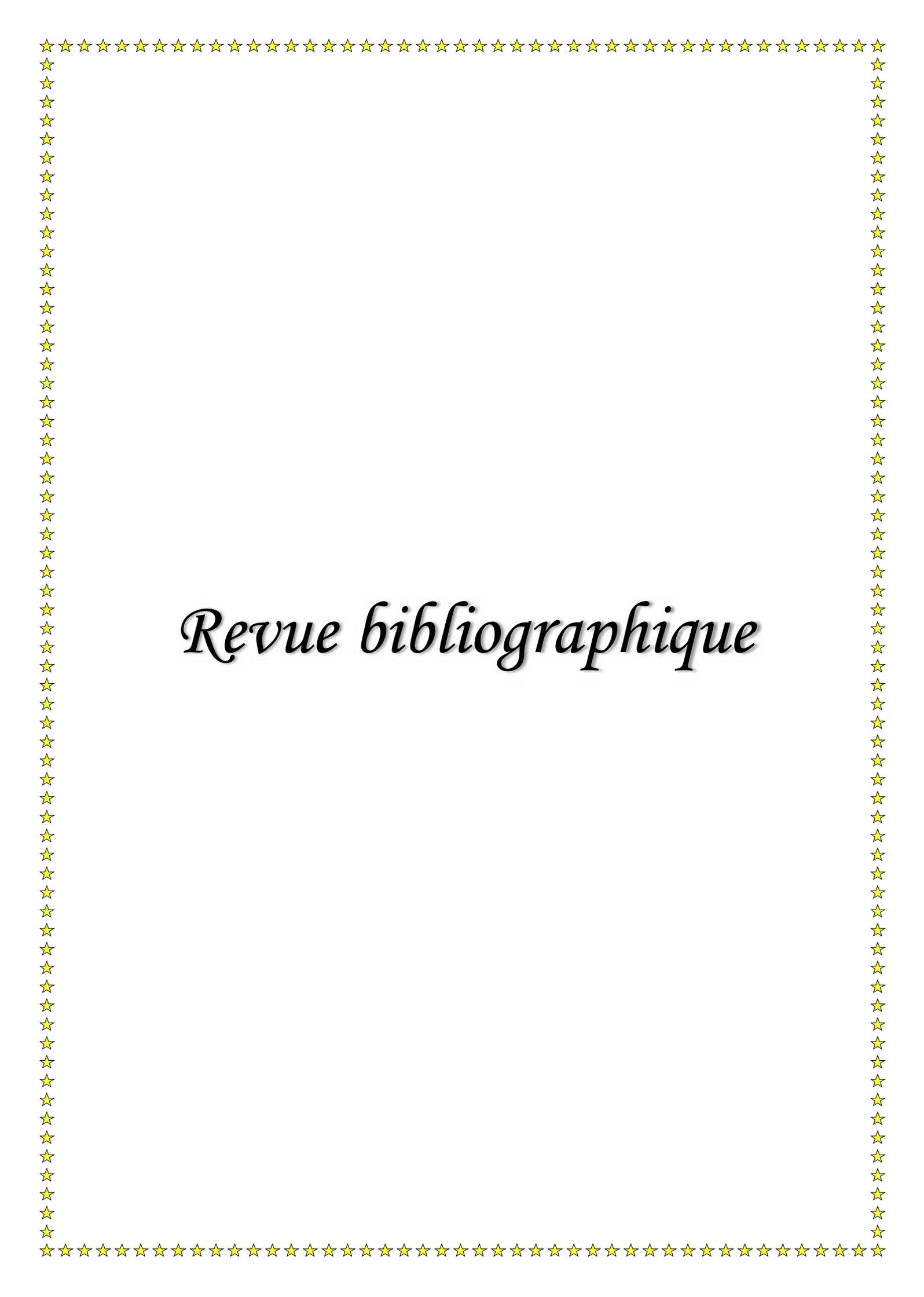
Parmi ces plantes on trouve l'espèce *Fumaria officinalis* qui appartient à la famille des *Fumariaceae*. Cette dernière est connue pour ces multiples activités biologiques : antioxydante, antimicrobienne, diurétiques (**Schnebelen et al., 2008**). Elle est apéritive, antiscorbutique, antiscrofuleux et vermifuge. Selon la Commission Européenne, c'est un antispasmodique léger du tractus digestif supérieur (**Goetz et al., 2009**).

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

Cependant de nombreuses espèces végétales possèdent une toxicité propre, directe ou indirecte, qu'il est nécessaire de connaître avant toute commercialisation. La connaissance parfaite des constituants d'une plante est donc nécessaire. L'objectif essentiel de ce travail consiste à répondre à la problématique suivante :

« Peut-on considérer l'extrait alcaloïdique de *Fumaria officinalis* comme étant un extrait toxique ? Quelle est sa dose létale 50 ? »

Pour cette raison, le présent travail consiste à évaluer la toxicité aiguë et subaiguë de l'extrait alcaloïdique de *Fumaria officinalis* sur des souris *Albinos wistar* en déterminant les paramètres physiques, biochimiques et hématologiques et en réalisant des coupes histologiques sur les différents organes des souris.



Revue bibliographique

I.1-PRESENTATION DE LA PLANTE *FUMARIA OFFICINALIS***I.1.1-LA FAMILLE DES FUMARIACEES**

Les fumariacées appartiennent presque toutes aux régions tempérées. En général, ces végétaux contiennent un suc-propre plus ou moins amer, mais sans propriétés narcotiques. Les fleurs de la plupart des fumariacées se font remarquer tant par leur élégance que par la singularité de leurs formes (Adelon *et al.*, 1824).



Figure 1 : Quelques espèces appartenant à la famille des fumariacées (Janzein, 1995).

I.1.2-NOMENCLATURE DE *FUMARIA OFFICINALIS*

Le mot *fumaria* vient de latin « *fumus* » fumée de terre, la plante semble sortir de la terre comme une fumée, d'où le nom français « *fumeterre* » (Dellile, 2007).

Tableau I : les différents noms vernaculaires de *Fumaria officinalis*.

Langues	Noms vernaculaires
Français	Fumeterre, herbe à la veuve, fiel de terre, herbe à la jaunisse, pied de Céline (Dellile, 2007)
Anglais	Fumatory, common fumitory (Bribi <i>et al.</i> , 2013).
Kabyle	Zalamit ou Tijujar yesghi
Arabe	Chick al kanoune, Lewliya, Ourag el nssa
Espagnol	Fumaria ofical, Sangre de Cristo, fumdeterra, palomilla (Goetz <i>et al.</i> , 2009).
Italien	Fumaria comune, Feccia, Fumosterno (Goetz <i>et al.</i> , 2009).

I.1.3-CLASSIFICATION DE *FUMARIA OFFICINALIS*

La position du genre *Fumaria* dans les systèmes de classifications de Cronquist et Takhtajan est donnée comme suit (Goetz *et al.*, 2009) :

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

I.1.4-DESCRIPTION BOTANIQUE DE *FUMARIA OFFICINALIS*

Fumaria officinalis est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle, dressée ou diffuse, rarement grimpante, elle présente :

- **Tige** : dressée de 30 à 70 cm, fortement rameuse (Goetz *et al.*, 2009) ;
- **Feuilles** : tenues alternes, très découpées de couleur verte pale cendré ou glauque, ayant l'aspect de feuilles de coriandre di ou tri pennatiséquées à segments étroits (Bayer *et al.*, 2005) ;
- **Fruits** : petites capsules ovoïdes, mures plus large que long, tronqués, engrainés au sommet (Couplan, 2007) ;
- **Flours** : purpurines ou rosées, très irrégulières, sont disposées en grappes assez lâches ou denses sur la partie terminale de la tige, le pétale supérieur prolonge en éperon. Les sépales sont ovales-lancéolés irrégulièrement dentes (Goetz *et al.*, 2009).



Figure 2 : Fleurs, fruits et feuilles de *Fumaria officinalis* (Janzein, 1995).

I.1.5- REPARTITION GEOGRAPHIQUE ET HABITAT

Fumaria officinalis est une espèce qui est largement distribuée en Asie, Europe et en Afrique (Srivastava et Choudhary ; 2014). Elle se retrouve sur les bords des chemins, les terres incultes et le long des vieux murs, jusqu'à 1500m d'altitude (Goetz *et al.*, 2009).

I.1.6-COMPOSITION CHIMIQUE

La fumeterre est composée de plusieurs constituants chimiques parmi ces composés on trouve les alcaloïdes, qui confère à la plante ces vertus thérapeutiques (Goetz *et al.*, 2009).. Les principaux constituants chimiques sont résumés dans le tableau II.

Tableau II : constituants chimiques principaux de *Fumaria officinalis* (Goetz *et al.*, 2009).

constituants chimiques	Constituants chimiques
Alcaloïdes	<p>-Dérivés de l'isoquinoléine : (0,3-1%) protopine (fumarine 0,13%), cryptopine.</p> <p>-Protoberberines : aurotensine, stylopine, sinactineet N-methylsinactine</p> <p>-Dérivés de type spirobenzylisoquinoleine : fumaricine, fumaritine, fumariline</p> <p>-Dérivés de type benzophénanthridine : sanguinarine.</p> <p>-Dérivés de type indenobenzazepine : fumaritridine, fumaritrine, etc</p>
Hétérosides flavoniques	Hétérosides de la quercétine : isoquercitrine, rutine (= rutoside) et le quercetrine-3,7-diglucoside-3-arabinoglucoside.
Acides phénols	Acides caféique, chlorogéniqueet fumarique. Esters maliques de l'acide Cinnamique et de l'acide caféique.
Acides organiques	Acides maliques, éritique, succinique, lactique, glycolique.
Autres principes	Principes amers, mucilage, résine, sels de potassium.

I.1.7-APPLICATION THERAPEUTIQUE ET TRADITIONNELLE DE *FUMARIA OFFICINALIS*

Fumaria officinalis est employé dans la médecine traditionnelle comme antihypertensif, diurétique, aussi bien que dans le traitement des raches et du conjunctivitis^{1, 2}. L'activité biologique du *Fumaria* est la plupart du temps associée à la présence des alcaloïdes d'isoquinoléine (Tu çe, 2009).

La fumeterre est un remède populaire employé dans les troubles de type spasmodique liés au tractus digestif, elle soigne avec succès les migraines et les nausées provenant d'un mauvais fonctionnement hépatique, particulièrement chez les femmes enceintes (**Fintelmen et Weiss ; 2002**).

La plante est apéritive, antiscorbutique, vermifuge, et régulateur hépatovésiculaire, (**Goetz et al., 2009**). Elle s'indique utilement dans les états scrofuleux, l'aménorrhée, la dysménorrhée (**Lieutaghi, 2016**) et elle est également utilisée en cas de dyspepsie (**Derbré et al., 2013**).

I.1.8 - POSOLOGIE ET FORMES D'UTILISATION

Actuellement plusieurs laboratoires spécialisés dans la recherche des médicaments à base des plantes sont lancés dans le développement des phytomédicaments à base de la fumeterre soit sous forme solide (gélules, comprimés) (annexe 3) ou sous forme liquide (sachet-dose, flacon) (annexe 3).

Si le phyto-médicament 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 sous forme de tisane, d'extrait aqueux ou de teintures. La monographie établie par la commission Européenne précise que la posologie de *Fumaria officinalis* est de 6g par jour (**Bruneton, 2009**). Cependant cette plante devient très toxique à forte dose.

I.1.9-LA TOXICITE DE LA FUMETERRE

De nombreuses études qui s'inscrivent dans ce cadre ont démontrées la toxicité de la fumeterre à des doses élevées :

■ **Hohenegger** et ses collaborateurs en **1989** ont étudié les actions néphrotoxiques des doses élevées administrées par voie orale de (FAME) : monoethyl ester d'acide fumarique (phyto-médicament à base de fumeterre) chez le rat, 50 mg de cette substance a produit les lésions morphologiques des glomérules sans réduire le taux de filtrage glomérulaire (GFR). Après 100 mg, les lésions étaient plus prononcées et GFR a été diminué aux environs de 40%.

■ **Tu ç e** a démontré en **2009** que l'extrait de n-hexane de *Fumaria officinalis* possède une activité cytotoxique contre la crevette de saumure avec une concentration létale IC50 < 1000mg/kg. L'extrait de l'eau ne montre aucune activité cytotoxique.

■ Dans l'étude de la toxicité aiguë réalisée par **Uday** en **2014**, l'extrait éthanolique des feuilles de *Fumaria officinalis* s'est avéré toxique (2/3 de souris mortes) à une dose de 2000 mg/kg, administré par voie intrapéritonéale. Par conséquent, la valeur de DL50 de cet extrait a été fixée à 2000 mg/kg de poids corporel.

■ **Lambert** en **2001** a rapporté une étude montrant le déclenchement d'une hypovolémie et d'une hypotension et difficulté à contrôler l'hypertension l'or d'utilisation de fumeterre associé à un hypertenseur.

I.2-LES ALCALOÏDES

I.2.1-DEFINITION

Le terme alcaloïdes provient de « Alkaly-like » ; alcaly signifiant : soude, like signifiant apparence (**Bruneton, 1987**). Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique (**Harborne et Herbert ; 1995**).

I.2.2-CLASSIFICATIONS DES ALCALOÏDES

Les alcaloïdes sont généralement classés en trois groupes :

■ **Alcaloïdes vrais**

Sont des substances d'origine naturelle, de distribution restreinte, de structure souvent complexe, azotée (atome d'azote inclus dans un hétérocycle) et de caractère basique. Ils existent dans la plante sous forme de sels, ont pour origine biosynthétique un acide aminé et sont dotées d'une activité pharmacologique significative (**Bruneton, 2009**).

■ **Proto-alcaloïdes**

Sont des alcaloïdes qui ne possèdent pas un atome d'azote intra cyclique, ils ont une structure simple (**Guignard, 2000**).

■ Pseudo- Alcaloïdes

Présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés .Il s'agit dans la majorité des cas, d'alcaloïdes terpéniques (Bruneton, 1999).

I.2.3-LOCALISATION DES ALCALOÏDES CHEZ LES PLANTES

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

I.2.4-PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES ALCALOÏDES

Les alcaloïdes sont des substances azotées ayant des masses moléculaires très variables de 100 à 900g /mol. La connaissance de la solubilité des alcaloïdes et de leurs sels est d'une importance pharmaceutique considérable (Bruneton, 2009). La Solubilité des alcaloïdes est résumée dans le tableau ci-dessous.

Tableau III : La solubilité des alcaloïdes (Vercauteren, 2011)

Milieux \ Solvants	Solvants organiques peu polaires (benzène, éther, dichlorométhane)	Solvants organiques polaires (alcools)	Eau
Milieu basique	+++	+	---
Milieu acide	---	+/-	+++

+++ : Solubles ; - - - : insolubles ; +/- : peu solubles

I.2.5-LA BIOSYNTHESE DES ALCALOÏDES

Les alcaloïdes dérivent d'acides aminés : ornithine, lysine, phénylalanine, tyrosine, tryptophane, histidine, acide anthranilique (Vercauteren, 2011).

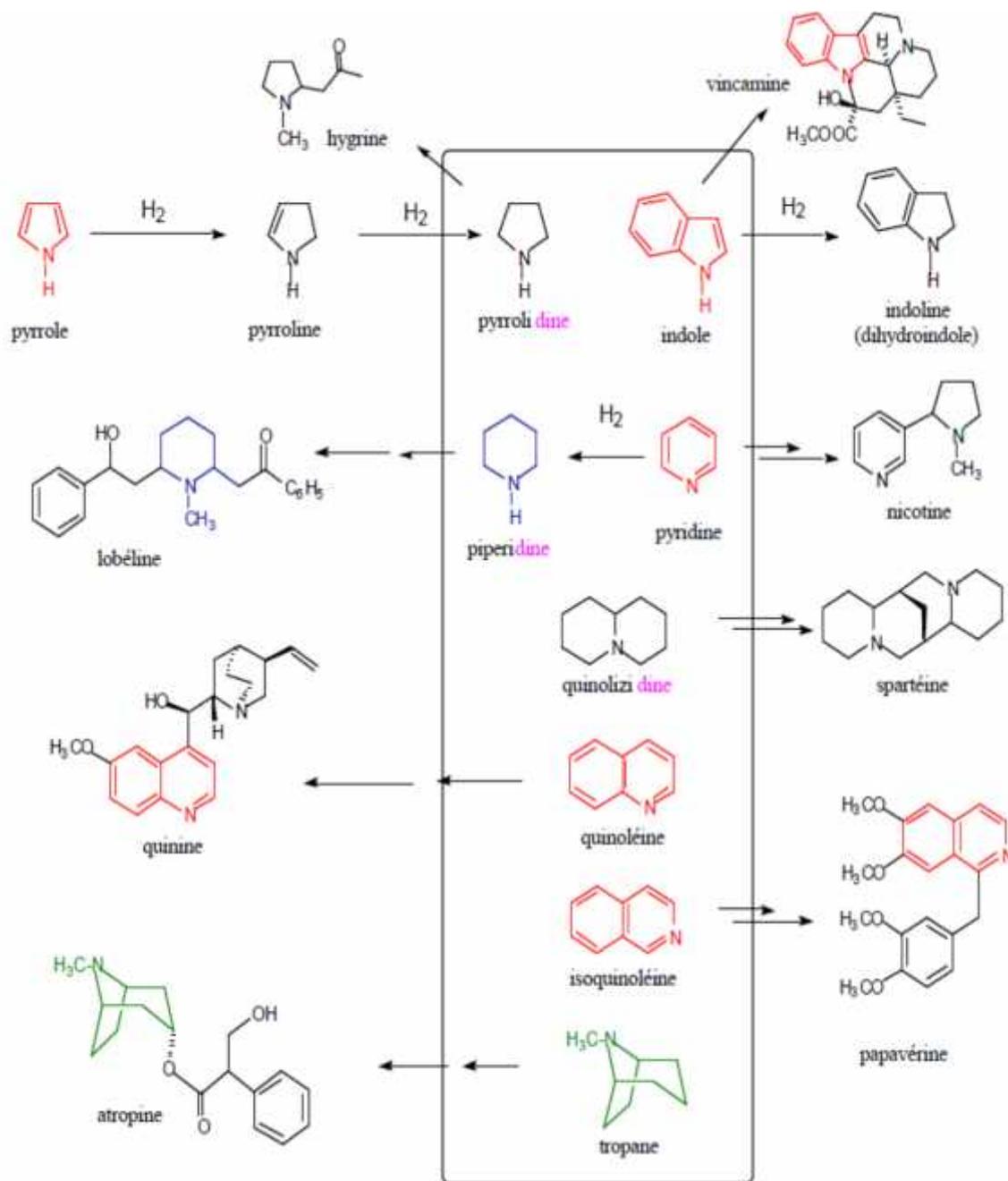


Figure 3 : Biogénèse des alcaloïdes (Vercauteren, 2011).

I.2.6- LES ALCALOÏDES ISOQUINOLEIQUES

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

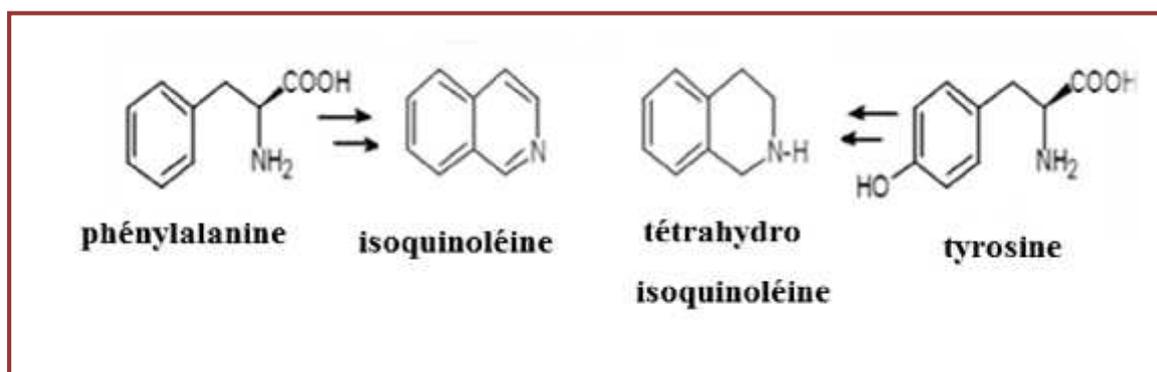


Figure 4 : Formation du noyau isoquinoléique et tétra hydroisoquinoléique (Vercauteren, 2011).

I.2.6.1-UTILITE ET USAGE PHARMACOLOGIQUE DES ALCALOÏDES ISOQUINOLEIQUES

Les alcaloïdes isoquinoléiques possèdent plusieurs propriétés thérapeutiques (Vercauteren, 2011) ;

- La Morphine, codéine et thébaine qui sont utilisés comme des antalgiques, antipyrétiques, antispasmodiques respectivement ;
- La Noscapine qui est un antitussif ;
- L'Apomorphine qui un antiparkinsonien ;
- L'Aporphine qui un cholagogue, cholérétique et stimulant la digestion ;
- La papavérine qui est un antispasmodique ;
- Les benzyltetrahydro isoquinoléines (BTHIQ) qui agissent sur le system nerveux central comme dépresseurs ;
- Les protobérbérines qui sont des antiseptiques.

I.2.6.2-TOXICITE DES ALCALOÏDES ISOQUINOLEIQUES DE *FUMARIA OFFICINALIS*

■ La protopine

La protopine est connue par ses effets cardiotoxiques. Elle provoque chez des souris de la bradycardie, des contractions irrégulières apparaissent aux fortes doses, elle augmente le nombre des pulsations, on constate ainsi un prolongement de la période réfractaire. La protopine sensibilise le cœur aux arythmies ventriculaires provoquées par l'épinéphrine et augmente le flux de l'artère coronaire (**kerharo et adam ; 1974**).

■ La fumarine

A petite dose (23 centigrammes), la fumarine stimule les parois gastriques, l'appétit augmente, le pouls est plus fréquent et plus élevé.

A doses plus élevées (de 15 à 30 centigrammes), les phénomènes deviennent bien plus marqués, 20 centigrammes de sel de fumarine provoquent la soif, l'insomnie et un peu de céphalalgie. Si l'emploi de la fumarine est continue à cette dose, de jour en jour, la circulation finit par se ralentir considérablement, ainsi que le prouve le ralentissement du pouls. La coloration des muqueuses se modifie, elles palissent et s'installe ainsi une assez forte lassitude dans tout le corps (**Hannon, 1852**).

■ La sanguinarine

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

■ Les protobérbérines

Dérivés des tetrahydro-isoquinoléines, sont présents dans la fumeterre et dans plusieurs plantes médicinales tel que l'hydrastis et la chélidoine. Elles sont inhibitrices dopaminergique. Leur toxicité cellulaire a été démontrée récemment chez l'homme (**Caparros-Lefebvre., 2003**).

I.3-GENERALITES SUR LA TOXICITE

La toxicologie étudie les effets nocifs des substances chimiques sur les organismes vivants. Elle fait appel à une multitude de connaissances scientifiques et s'intéresse à plusieurs secteurs de l'activité humaine : l'agriculture, l'alimentation, l'industrie pharmaceutique, l'environnement, etc. (Gilles, 2004).

I.3.1-LES VOIES D'EXPOSITION AUX PRODUITS TOXIQUES

■ La voie respiratoire

L'appareil respiratoire est la porte d'entrée privilégiée des xénobiotiques qui existent sous forme de gaz, de vapeurs ou de fines particules solides ou liquides. L'absorption par le poumon est influencée par l'important volume d'air auquel un adulte est exposé quotidiennement (10000 à 20000L), la très grande surface de la région alvéolaire (80m²) et l'extrême minceur de la paroi alvéolaire (1µm) (Viau et Tardif ; 2003).

■ La voie cutanée

La peau n'offre pas une protection complète, car elle présente des failles, dont la base des poils et les pores. L'absorption cutanée est influencée par de nombreux facteurs tant physico-chimiques (ex : pureté, grosseur de la molécule, solubilité) qu'individuels (ex : hydratation de la peau, présence de lésions cutanées) et anatomiques (ex : endroit du corps mis en contact avec le toxique) (Gilles, 2004).

■ La voie digestive

Au niveau du tube digestif ce sont l'estomac et l'intestin (duodénum, intestin grêle) qui sont les sites d'absorption principaux. Dans l'estomac les acides faibles, à l'inverse des bases faibles, sont facilement diffusibles. Dans l'intestin ce sont les bases faibles qui sont les plus facilement absorbées. D'autre part à ce niveau, des phénomènes de transport actif peuvent intervenir pour certains toxiques (thallium, plomb) (Tron *et al.*, 2002).

■ les autres voies

Il existe d'autres voies d'entrée appelées parentérales, d'une importance généralement moindre : les injections intraveineuses (IV), sous-cutanées (SC), intra-péritonéales (IP) et intramusculaires (IM). (Holmberg *et al.*, 2000).

I.3.2-LE CHEMINEMENT D'UN TOXIQUE DANS L'ORGANISME

I.3.2.1-L'absorption

On appelle absorption le processus de pénétration d'un produit dans l'organisme. Il s'agit d'une étape importante, car, tant qu'il n'a pas pénétré dans la circulation sanguine, un produit ne peut causer d'action toxique systémique. L'absorption peut se dérouler sur 3 sites principaux : le tube digestif, essentiellement au niveau de l'estomac et de l'intestin ; les poumons au niveau des alvéoles pulmonaires ; et la peau au niveau de l'épiderme et du derme (Tron *et al.*, 2002).

I.3.2.2-La distribution

Lors de leur transport sanguin, les toxiques peuvent être liées aux hématies, aux composants plasmatiques, ou se trouver à l'état libre non liées dans le sang (Holmberg *et al.*, 2000 ; Lauwerys, 2003).

I.3.2.3-La biotransformation

La biotransformation désigne l'ensemble des réactions qui rendent la structure chimique d'un toxique (qui est plutôt liposoluble au départ) plus polaire (ionisable) donc plus solubles dans l'eau et ainsi plus facilement excrétables dans l'urine. Le foie est le principal organe impliqué dans la biotransformation des toxiques (Viau et Tardif ; 2003).

I.3.2.4- L'excrétion

Ce processus consiste à rejeter le produit inchangé ou ses métabolites à l'extérieur de l'organisme. L'excrétion peut se faire par voie rénale (l'urine), gastro-intestinale (les selles), pulmonaire (l'air expiré), cutanée (la sueur) ou lactée (le lait) (Gilles, 2004).

I.3.3-EFFET TOXIQUE

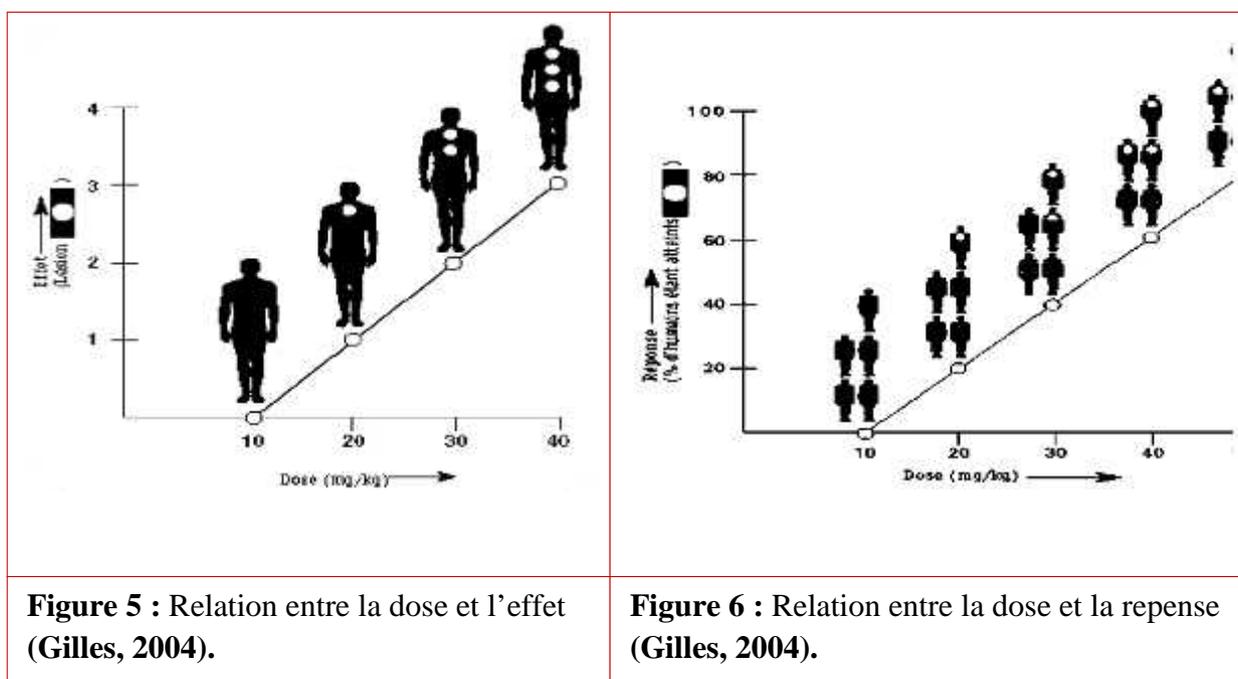
I.3.3.1-Notion d'effet toxique

L'effet toxique est la capacité inhérente à une substance chimique de produire des effets nocifs chez un organisme vivant et qui en font une substance dangereuse .Ainsi l'effet néfaste est lié à la dose, à la voie d'absorption, au type et à la gravité des lésions ainsi qu'au temps nécessaire à l'apparition d'une lésion (Gilles, 2004).

I.3.3.2-Relations dose-effet et relation dose-réponse

La relation « **dose-effet** » est la relation entre la dose et l'effet à l'échelle de l'individu (Figure 5). L'augmentation de la dose peut accroître l'intensité ou la sévérité d'un effet. Une courbe dose-effet peut être tracée pour l'ensemble de l'organisme, la cellule ou la molécule cible. Certains effets toxiques, comme la mort ou le développement d'un cancer, n'ont pas un caractère progressif: ils représentent des effets «tout ou rien» (Holmberg *et al.*, 2000).

La relation « **dose-réponse** » désigne la relation entre la dose et le pourcentage d'individus présentant un effet spécifique (Figure 6). Lorsque la dose augmente, un plus grand nombre d'individus sont affectés dans la population exposée (Holmberg *et al.*, 2000).



I.3.3.3-LES DIFFÉRENTES FORMES DE TOXICITÉ

L'homme est constamment exposé à une toxicité soit aiguë soit subaiguë ou encore chronique (**Bismuth et al., 1987**).

■ la toxicité aiguë

Elle se manifeste rapidement, voire immédiatement, après une prise unique ou à court terme après plusieurs prises rapprochées. C'est l'étude qualitative et quantitative des phénomènes toxiques qu'il est possible de rencontrer après administration unique de la ou des substances actives contenues dans le médicament (**Ruckebusch, 1981**).

Le terme toxicité orale aiguë est plus souvent utilisé en liaison avec les déterminations de la létalité et de la DL₅₀. La DL₅₀ est définie comme la dose déterminée statistiquement qui, lorsqu'elle est administrée dans un test de toxicité aiguë, est susceptible de causer la mort de 50% des animaux traités sur une période donnée (**Oliver, 1986**).

■ Toxicité subaiguë

La toxicité subaiguë concerne les effets nocifs dus à la répétition de doses qui ne produisent pas d'effets toxiques immédiats. Des effets tardifs peuvent survenir à cause de l'accumulation du produit dans les tissus ou à cause d'autres mécanismes (**OCDE, 1979**).

La substance à tester est administrée quotidiennement à différents niveaux de dose à plusieurs groupes d'animaux. De manière générale, au moins trois groupes d'essai et un groupe témoin doivent être utilisés (**OCDE, 2008**).

■ Toxicité chronique

Le but d'une étude de toxicité chronique est de déterminer les effets d'une substance d'essai, chez une espèce de Mammifère donnée, à la suite d'une exposition prolongée et répétée (**OCDE, 1979**).

La substance d'essai est administrée quotidiennement à plusieurs groupes d'animaux d'expérience à des doses progressives, en général pendant une période de 12 mois. Cette durée est assez longue pour permettre aux effets de toxicité cumulée de se manifester, tout en évitant les effets perturbateurs des changements liés au vieillissement (**OCDE, 2009**).

■ Comparaison entre la toxicité aiguë et chronique

Les mots « **aigue** » et « **chronique** » peuvent être accolés à exposition, intoxication, toxicité et effets. Classiquement, on considère qu'il y a intoxication aiguë lorsque des effets biologiques surviennent après une période d'exposition à un contaminant ne dépassant pas 24 heures. L'intoxication chronique concernera une exposition réitérée de l'animal pendant une période de six mois ou plus. L'exposition de durée intermédiaire, généralement 13 semaines, déterminera L'intoxication sub-chronique (**Viau et Tardif ; 2003**).

Il semble approprié d'utiliser les mêmes intervalles de temps pour définir le type d'intoxication subi par une population, même si la durée de vie moyenne des humains est de loin supérieure à celle des animaux de laboratoire. D'emblée, le type d'intoxication déterminera également la facilité ou la difficulté d'établir une relation causale entre une exposition et l'observation d'effets toxiques. Il va de soi que, pour les intoxications aiguës à des doses élevées de toxiques provoquant des effets aisément mesurables, la relation sera beaucoup plus facile à établir que pour une intoxication chronique à de faibles doses (**Viau et Tardif ; 2003**).

Tableau IV : Les formes d'intoxication (**Gilles, 2004**).

Forme d'intoxication	Fréquence d'administration	Durée de l'exposition
aigue	Unique	24 heures
subaigüe	Répétée	1 mois
subchronique	Répétée	De 1 à 3 mois
chronique	Répétée	>3 mois

I.3.4-DESCRIPTION DES MANIFESTATIONS TOXIQUES PAR SYSTEMES BIOLOGIQUES ET QUELQUES ORGANES CIBLES

I.3.4.1-L'hépatotoxicité

C'est une atteinte du foie. Le foie est un organe vital, tout comme le cœur et les poumons. Il remplit de multiples fonctions et son rôle est très important dans le maintien de l'équilibre général. C'est une cible pour de nombreux toxiques à cause de son important débit sanguin et de sa situation par rapport à la circulation sanguine (**Gilles, 2004**). Les atteintes du

foie sont complexes et diverses. Le tableau ci-après résume les principaux effets toxiques observés.

Tableau V : Principaux effets toxiques observés sur le foie (Lu, 1992).

Lésions hépatiques	Caractéristiques
Stéatose	Elle correspond à l'envahissement du tissu par des graisses. Les toxiques agissent en bloquant l'élimination des triglycérides hépatiques dans le sang
Nécrose	Elle suppose la destruction des hépatocytes et correspond généralement aux lésions aiguës.
Cholestase	Diminution ou arrêt de l'écoulement de la bile par modification de l'excrétion biliaire.
Cirrhose	Présence d'infiltrations de collagène dans la masse hépatique.
Hépatite	Manifestations cliniques de l'inflammation du foie.

I.3.4.2-La néphrotoxicité

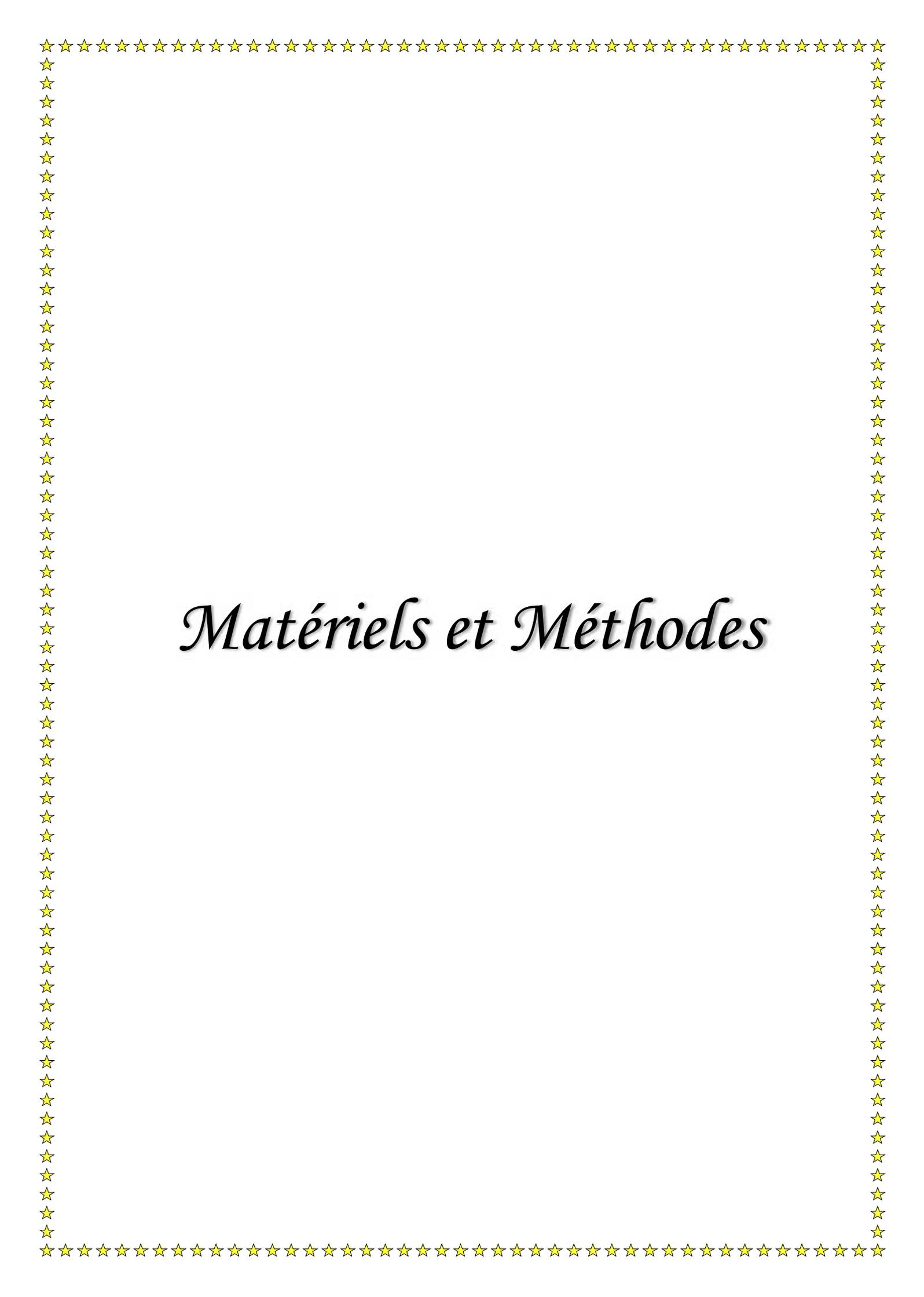
C'est un effet toxique sur le rein. Le rein est l'organe d'élimination responsable de la sécrétion de l'urine. Il joue un rôle dans la régulation de l'équilibre des liquides du corps et contribue à débarrasser le sang de ses impuretés, et notamment de certains toxiques (Gilles, 2004). Les atteintes rénales concernent principalement le glomérule en diminuant la filtration, mais également les tubules proximaux qui concentrent les toxiques du fait de leur forte activité d'absorption et de sécrétion (Lu, 1992).

I.3.4.3-La neurotoxicité

C'est un effet toxique sur le système nerveux, Le système nerveux est un ensemble de cellules spécialisées ou non dont l'unité fondamentale est le neurone. Les neurones assurent le transfert de l'information (influx nerveux) d'une partie du corps à une autre afin d'assurer le fonctionnement interne de l'organisme et ses relations avec le milieu extérieur (Gilles, 2004). Les principaux effets toxiques sur le system nerveux sont résumés dans le tableau ci-après ;

Tableau VI : Diverses catégories d'effets neurotoxiques (Gilles, 2004).

Effets toxiques	Caractéristiques
la dépression du système nerveux central	qui se manifestent à la suite d'une exposition à des solvants tels que le toluène et le xylène.
la neuropathie périphérique	affection du système nerveux périphérique qui peut être produite par des solvants tels que le n-hexane.
le tétanos	qui consiste en des contractures musculaires et qui est causé par une toxine biologique produite par le <i>Clostridium tetani</i> .
la paralysie musculaire	causée par une toxine biologique produite par le <i>Clostridium botulinum</i> .



Matériels et Méthodes

II.1-MATERIELS

Le matériel expérimental et les réactifs utilisés durant le travail pratique sont reportés en (Annexe1)

II.1.1- ANIMAUX

Pour évaluer la toxicité aiguë des extraits de la partie aérienne de *Fumaria officinalis*, on a utilisé des souris femelles de l'espèce *Albinos wistar*. Pour évaluer la toxicité subaiguë on a utilisé des souris mâles et femelles de l'espèce *Albinos wistar*.

Conditions d'hébergement et d'alimentation :

La température du local expérimental est maintenue à 22°C (± 3 °C), dispensé d'un éclairage artificiel faisant alterner des séquences de 12 heures de lumière et de 12 heures d'obscurité. Les animaux sont hébergés dans des cages individuelles. Ils sont nourris avec des préparations classiques pour rongeurs de laboratoire et ont à disposition de l'eau du robinet.



Figure 07 : conditions d'élevage des souris *Albinos wistar* au sein de l'animalerie de l'Université de Bejaia (Avril- Mai, 2016).

II.1.2-MATERIELS VEGETAL

Cette étude a été réalisée sur la partie aérienne fleurie d'une plante d'une espèce de la famille des fumariacées appelée *Fumaria officinalis*.



Figure 08 : photographie de *Fumaria officinalis* dans la région de la récolte Beni Zmenzer (Tizi-Ouzou).

II.2-METHODES

II.2.1-PREPARATION DU MATERIEL VEGETAL

❖ Récolte

Notre échantillon de *Fumaria officinalis* a été récolté au niveau de la région rurale: Beni Zmenzer dans la wilaya de Tizi-ouzou, durant la période de floraison et de fructification (Mars-Avril , 2016).

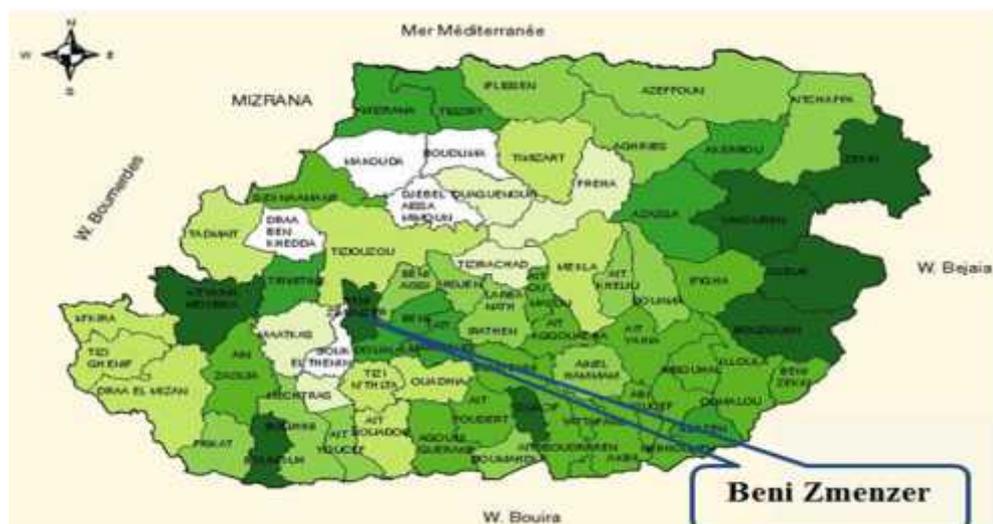


Figure 09 : Carte géographique de Tizi-Ouzou avec la région de récolte de *Fumaria officinalis*.

❖ Identification de la plante

L'identification a été effectuée, au niveau du laboratoire de physiologie végétale et d'écologie, de la faculté des sciences de la nature et de la vie, de l'université de Bejaia, et en utilisant la flore des plantes Algériennes (Quezel et Santa, 1962).

❖ Lavage

Après L'identification de *Fumaria officinalis*, la plante a été bien nettoyée, puis lavée avec du l'eau afin de se débarrasser de toute poussière et d'autres contaminants.

❖ Séchage

L'échantillon a été séché a l'étuve a une température de 40°C pendant une période de 8 jours jusqu'à stabilisation de leur poids afin d'obtenir une meilleure extraction.

❖ Broyage

Le produit obtenu par le séchage est réduit en poudre de couleur verte à l'aide d'un broyeur électrique.

❖ Tamisage

Les particules ainsi obtenues après broyage sont tamisées sur tamis de diamètre de 250 à 45µm pour avoir une poudre homogène.

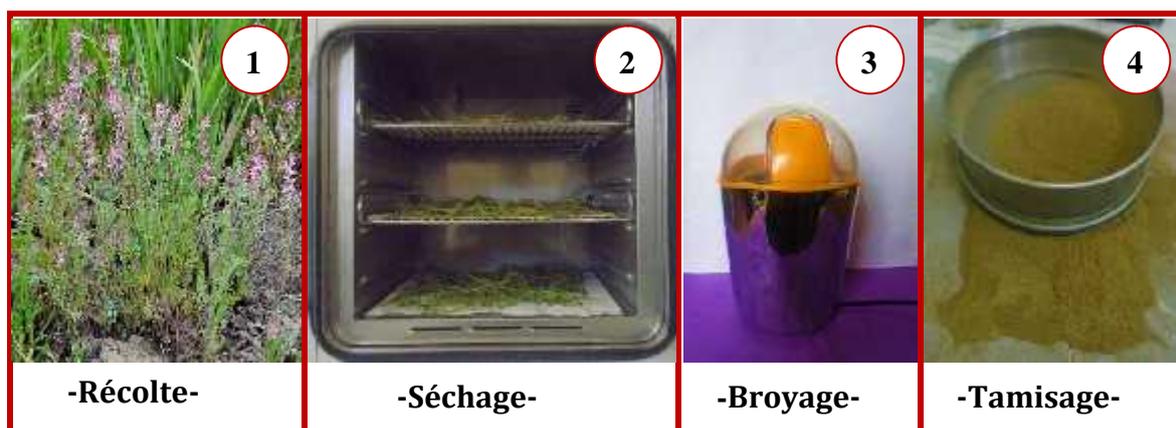


Figure 10 : Préparation du matériel végétal (laboratoire de biologie végétale et d'Ethnobotanique, FSNV de Bejaia).

II.2.2- DETERMINATION DE LA TENEUR EN EAU

On procède à la dessiccation de la poudre végétale à la température de $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ dans une étuve ventilée jusqu'à un poids constant. La teneur en eau est définie comme étant la perte de poids subit lors de la dessiccation (Audigié *et al.* 1978). La teneur en eau est calculée selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100$$

Avec : H% : Teneur en eau ; M1 : Poids de la capsule + échantillon avant dessiccation ; M2 : Poids de la capsule + échantillon après dessiccation. ; PE : La prise d'essai.

La matière sèche (MS) est obtenue comme suit :

$$(M) \% = 100 - H\%$$

II.2.3-CHOIX DU SOLVANT POUR L'EXTRACTION DES ALCALOÏDES DE FAUMARIA OFFICINALIS**-Eau**

On a fait une décoction d'un gramme de poudre (PE) avec 20 ml d'eau distillée pendant 15 mn. Après refroidissement et filtration sur papier filtre, le filtrat a été mis dans une capsule pesée et tarée au préalable (n) et évaporé à sec (n'). La teneur en substances extractibles par l'eau est évaluée selon la formule :

$$S \% = (n - n') \times 100 \div P$$

-Méthanol et éthanol

On a fait une macération de 24 heures à la température ambiante. Après filtration, le filtrat a été mis dans une capsule préalablement pesée et tarée (n) et évaporé à sec. Après refroidissement la capsule a ensuite été pesée (n') et la masse de résidu déduite. Les teneurs en substances extractibles par l'éthanol et par le méthanol sont respectivement:

$$S = (n - n') \times 100 \div P$$

$$Sl = (n - n') \times 100 \div P$$

II.2.4-EXTRACTION DES ALCALOÏDES DE *FUMARIA OFFICINALIS*

Pour l'extraction des alcaloïdes à partir de la poudre de *Fumaria officinalis* on a utilisé deux procédés (Soxhlet et macération).

II.2.4.1-Principe du dispositif de Soxhlet

Le principe de cette extraction est basé sur le fait que le solvant est en contact permanent avec la poudre, puisque le solvant qui se trouve dans le ballon s'évapore et se condense au-dessus de la cartouche, cela permet d'avoir un solvant fraîchement distillé à chaque cycle, ce qui évite le problème de saturation et la solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus à chaque cycle d'extraction. L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient de plus en plus clair (Lagnika, 2005).



II.2.4.2-Princip de macération

L'extrait méthanolique ou éthanolique de la partie aérienne de *Fumaria officinalis* a été préparé à partir de 30 g de poudre, qui ont été mis à macérer dans 300 ml de solvant (méthanol, éthanol) pendant trois jours successifs à la température ambiante et à l'abri de la lumière. Ensuite le mélange est filtré sur papier Wattman (n°3).

II.2.4.3-LES PROTOCOLES D'EXTRACTION DES ALCALOÏDES DE *FUMARIA OFFICINALIS*

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

L'extrait végétal est obtenu avec 30g de la poudre végétale et de solvant (300ml) (de méthanol ou de l'éthanol) dans un extracteur de soxhlet ou par macération. Ensuite cet extrait est évaporé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif jusqu'à l'obtention d'un extrait concentré (sec). L'extrait sec a été délipidé avec de l'éther diéthylique (150 ml) ensuite solubilisé dans de l'eau distillée (150 ml) et acidifiée avec de l' HCL jusqu'à pH=2.5, après décantation , la phase aqueuse a été récupérée pour lui ajouter de l'ammoniac jusqu'à pH=8 et du dichlorométhane (150 ml), après décantation pendant (48h), l'extrait a été récupéré dans des boîtes de pétries puis séché dans l'étuve pour obtenir des extraits d'alcaloïdes totaux (Suau et al., 2002) (figure 12).

❖ **Fractionnement des alcaloïdes de *Fumaria officinalis* (FN, FA et FB) selon le protocole de (Farzana, 1997).**

La poudre végétale (30g) est extraite dans l'éthanol ou le méthanol à l'appareil de soxhlet ou de macération, l'extrait obtenu a été évaporé, en suite délipidé avec l'éther diéthylique puis solubilisé dans l'eau distillée, après décantation la phase aqueuse récupérée est solubilisée dans le chloroforme, après décantation la phase chloroformique constitue la fraction neutre (FN), la phase aqueuse récupérée est acidifiée avec de HCL jusqu'à pH=2.5 ,puis solubilisée dans le chloroforme, après décantation la phase chloroformique constitue la fraction acide (FA). La phase aqueuse subit une alcalinisation avec de l'ammoniac jusqu'à pH=8 puis solubilisée dans le chloroforme pour l'obtention de la fraction basique (FB) (Figure 13).

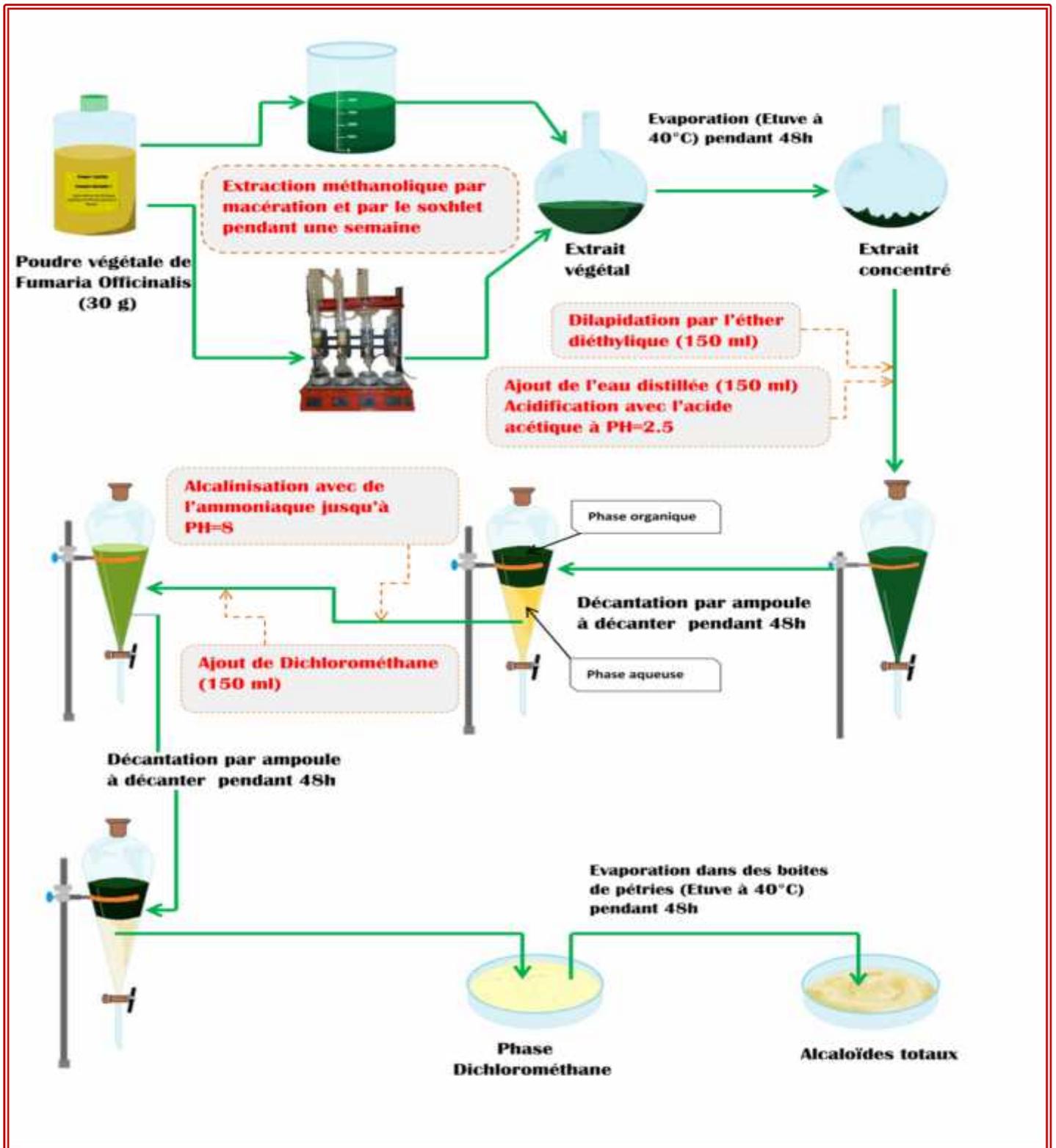


Figure 12 : protocole d'extraction des alcaloïdes totaux (AT) de *Fumaria officinalis* (Suau et al., 2002).

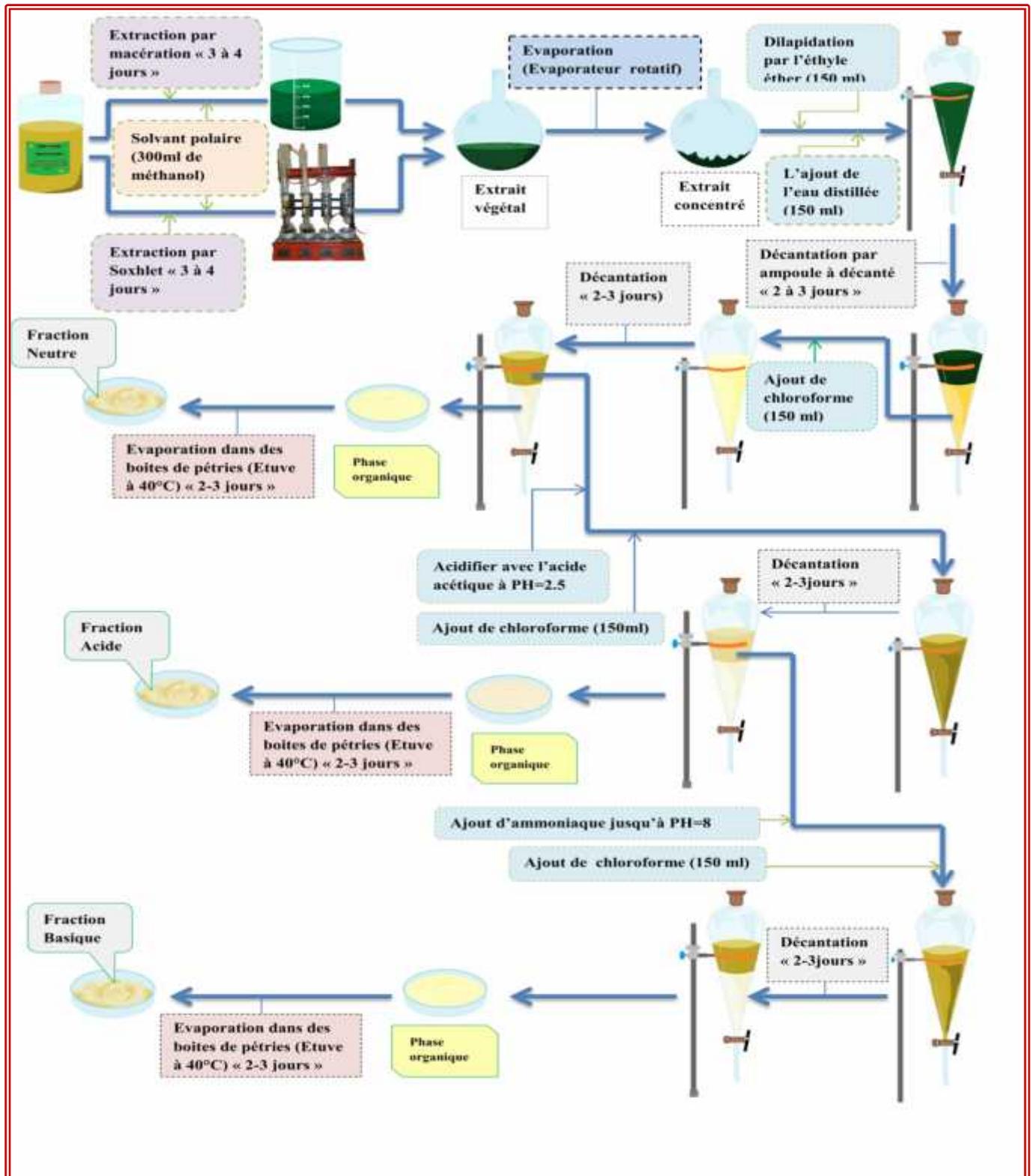


Figure13 : Fractionnement des alcaloïdes de *Fumaria officinalis* « FN, FA et FB » (Farzana, 1997).

II.3-EVALUATION *IN VIVO* DE LA TOXICITE AIGUË ET SUBAIGUË DES ALCALOÏDES DE *FUMARIA OFFICINALIS*

II.3.1-EVALUATION *IN VIVO* DE LA TOXICITE AIGUË

L'étude de la toxicité aiguë par voie orale de l'extrait total d'alcaloïdes de *Fumaria officinalis* a été conduite selon les directives 425 d'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economique). La méthode utilisée dans cette étude est celle de l'ajustement des doses qui permet d'estimer la DL50 avec un intervalle de confiance.

II.3.1.1-Description de la méthode d'ajustement des doses

- L'essai se pratique sur des souris femelles, jeunes adultes et âgées de 8 à 12 semaines et leurs poids corporel varient entre ($\pm 15\%$) du poids initial moyen des animaux.
- Les animaux sont choisis au hasard, marqués individuellement à dessin d'identification et gardés dans leurs cages cinq jours au minimum avant l'administration de la substance, afin qu'ils s'acclimatent aux conditions du laboratoire.
- Essai limite à 2000 mg/kg consiste à administrée une seule dose (2000mg/kg) à une souris. S'elle meurt, on réalise l'essai principal. Si l'animal survit, on traite quatre animaux supplémentaires suivant une séquence, de telle sorte qu'un total de cinq souris soit testé.
- Cependant, si trois souris meurent, l'essai limite s'achève et on entame l'essai principal. La DL50 est supérieure à 2 000 mg/kg si au moins trois animaux survivent.
- Dans l'essai principal Les souris sont traités l'une après l'autre, généralement à des intervalles de 48 heures. La première souris reçoit une dose immédiatement inférieure à la meilleure estimation préliminaire de la DL50.
- Si elle survit, la deuxième souris reçoit une dose plus forte. Si la première souris meurt ou paraît moribond, la deuxième reçoit une dose plus faible. L'essai prend fin dès qu'un des critères d'arrêt suivants est rempli :
 - a) Trois souris en série survivent à la dose la plus forte ;
 - b) Cinq inversions de résultats se produisent dans une série de six souris traités successivement;
 - c) Au moins 4 souris ont suivi la première inversion et les rapports de probabilité spécifiés dépassent la valeur critique.

II.3.1.2-Mode opératoire

❖ Administration des doses

La substance d'essai (AT) est administrée par gavage en une seule dose à l'aide d'une sonde gastrique. Les souris ont été laissées à jeun 3 à 4 heures avant l'administration de la substance. Après cette période de jeûne, les animaux sont pesés, puis la substance leur est administrée. La dose est calculée en fonction du poids corporel à jeun de chaque souris. Après l'administration de la substance, les souris sont privées de nourriture, durant 1 à 2 heures.

La pente de la courbe dose-effet choisie égale à 8 donc les doses sont choisies dans la séquence :

Tableau VII : la séquence de doses choisie pour l'essai principal.

Les doses choisies (en mg/kg) pour l'essai principal
970
1290
1750
2000

❖ Observations

Les animaux sont observés individuellement, au moins une fois au cours des 30 premières minutes suivant l'administration du produit et régulièrement durant les premières 24 heures (avec une attention particulière pendant les 4 premières heures), puis quotidiennement par la suite, la période d'observation totalisant 14 jours.

❖ Poids corporel

Le poids de chaque souris a été déterminé peu de temps avant l'administration de la substance d'essai et ensuite au moins une fois par semaine.

❖ Calcul de DL50 pour l'essai principal

La DL50 est calculée selon la méthode de la probabilité maximale.

❖ Calcul d'intervalle de confiance

L'intervalle de confiance est calculé selon la formule suivante :

$$m \pm \frac{1.9 \times \sigma}{\sqrt{n}}$$

Avec :

n : la taille de l'échantillon, m : la moyenne, σ :l'écart type.

II.3.2- EVALUATION *IN VIVO* DE LA TOXICITE SUBAIGUË

II.3.2.1- Principe de l'essai

Pour la détermination de la toxicité subaiguë, le protocole expérimental utilisé est celui décrit par les **directives 407 d'OCDE**. La substance à tester est administrée quotidiennement par voie orale à différents niveaux de dose à plusieurs groupes de souris, à raison d'un niveau de dose par groupe, pendant une période de 28 jours.

Chaque jour au cours de cette période, les souris sont examinées soigneusement afin de déceler tout signe de toxicité. Les souris qui meurent et même les survivantes sont autopsiées. Une étude de 28 jours fournit des informations sur les effets d'une exposition répétée par voie orale.

II.3.2.2-Mode opératoire

Le protocole consiste à suivre les étapes suivantes :

❖ Répartition des souris en lots

Les souris ont été réparties selon l'homogénéité de leur poids sur 5 Lots de 15 souris chacun. Chaque lot est répartie en 3 groupes est reçoit des différentes doses à raison d'un niveau de dose par groupe :

- **Lot I** (lot témoin) : les souris ont reçu uniquement de l'eau physiologique (0.9% de la solution de NaCl) ;
- **Lot II** (lot traité) : ce groupe de souris ont reçu l'extrait **AT** avec des doses de **200, 500 et 1000mg /kg** ;
- **Lot III** (lot traité) : les souris ont reçu la fraction **FN** avec des doses de **200, 500 et 1000mg /kg** ;

- **Lot IV** (lot traité) : les souris ont reçu la fraction **FA** avec des doses de **250, 500** et **1000mg /kg** ;
- **Lot V** (lot traité) : les souris ont reçu la fraction **FB** avec des doses de **250, 500** et **1000mg /kg**.

❖ Administration de l'extrait

Lors de cette étude, les souris ont été laissées à jeun la veille du teste. L'administration des extraits [AT, FN, FA et FB] de *Fumaria officinalis* ont été effectuée par gavage à l'aide d'une sonde gastrique, quotidiennement sept jours sur sept, sur une période de 28jours (figure 14).



Figure 14 : Photographie de l'administration des extraits par voie orale (l'animalerie de l'Université de Bejaia).

❖ Observations et mesure du volume d'eau et de la quantité de nourriture consommés

Après l'administration des extraits, les souris ont été surveillées quotidiennement pendant une période de 28 jours. Ainsi le volume d'eau et la quantité de nourriture consommés ont été mesurés quotidiennement pendant cette période. En pesant la nourriture restante dans l'auge, et le volume d'eau restant dans les biberons.

❖ Etude de l'évolution pondérale des souris

Le poids corporel des souris utilisées dans cette étude a été mesuré, avant l'administration de l'échantillon, puis chaque 7 jour après l'administration.

❖ Prélèvement des organes

A la fin de l'expérience, les souris sont anesthésiées par inhalation de Diéthyl éther dans une cloche en verre et avant leurs sacrifices, un prélèvement sanguin est effectué à partir de la veine orbitale à l'aide des tubes d'hématocrite. Après dissection, le foie, la rate, les reins et le cœur sont observés macroscopiquement in Situ, puis prélevés et déposés dans l'eau physiologique, dégraissés, séchés par le papier filtre et pesés. Des morceaux du foie et des reins sont conservés dans une solution de formol 10% pour l'étude histo-pathologique.

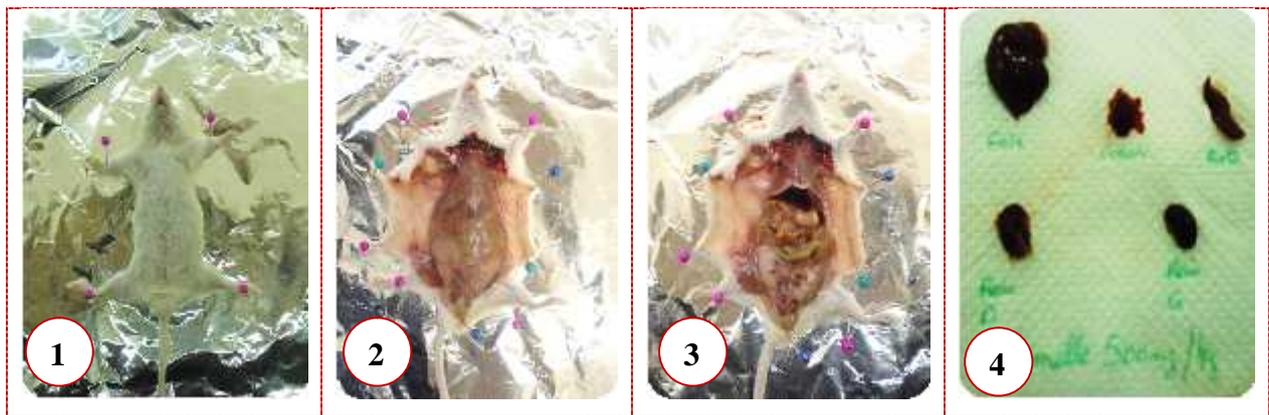


Figure 15 : Les étapes de prélèvement des différents organes (laboratoire de biologie végétale et d'Ethnobotanique, FSNV de Bejaia).

❖ Réalisation des coupes histologiques

La réalisation des coupes histologiques a été effectuée au niveau du laboratoire d'anatomie- pathologique de la faculté de médecine de l'Université de Bejaia .Après avoir fixés le foie et les reins dans du formol (10%) pendant une semaine, on les a coupé en petits morceaux. Ces échantillons sont déshydratés par passage dans trois bains d'éthanol successifs de 30 min (70-75°; 90-95° et 100°). Ensuite ils sont éclaircis dans deux bains de 20 minutes de toluène et inclus dans la paraffine (deux bains de 2 heures chacun). L'opération est automatisée à l'aide d'un automate (TISSUE-TEK® II°). L'inclusion définitive est ensuite réalisée dans des moules métalliques. Les blocs de paraffines obtenus sont ensuite coupés par microtome, les coupes de 5µm d'épaisseur sont étalées sur des lames et séchées pendant une heure à 37°C, réhydratées, colorées à l'hématoxyline-éosine.

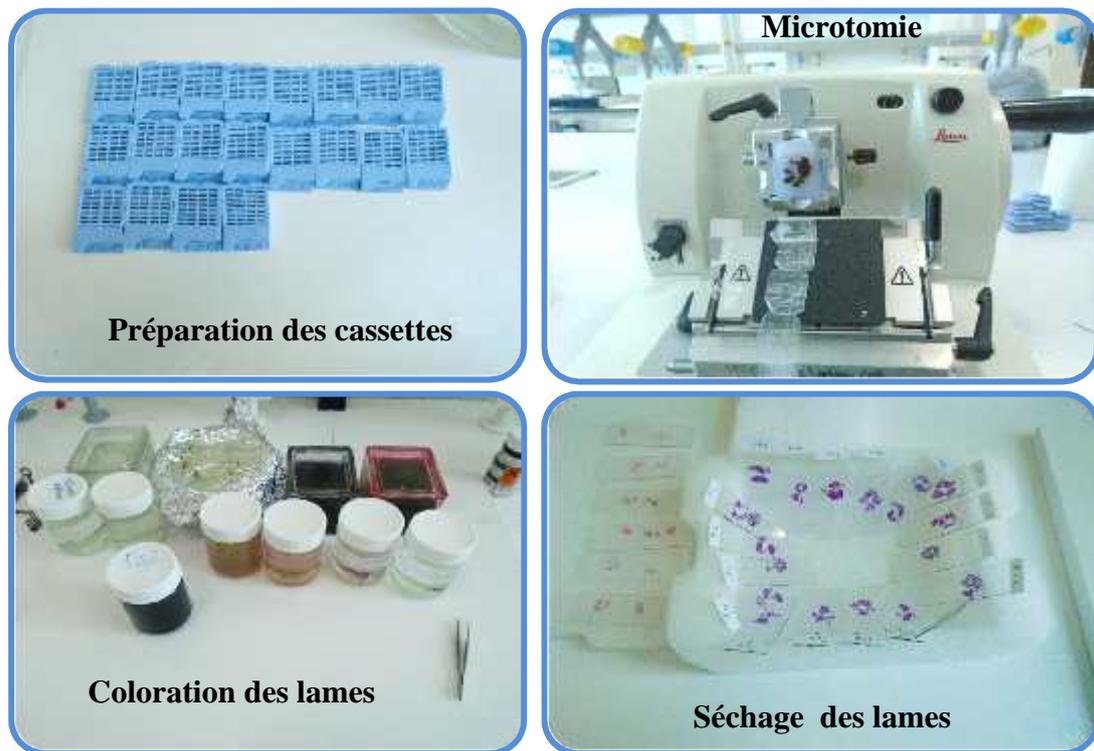


Figure 16 : Photographie de la préparation des lames au niveau du laboratoire d'anatomie- pathologique de la faculté de médecine de l'Université de Bejaia.



Résultats et discussion

III.1-LE TAUX D'HUMIDITE

Les végétaux sont riches en eau, les plantes fraîches renferment 60 à 80 % d'eau. Pour assurer une bonne conservation, la teneur en eau doit être inférieure ou égale à 10 % (**Paris et Moyse, 1965**). La méthode pondérale a permis de déterminer la teneur en eau dans la poudre de la partie aérienne de notre plante. C'est la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve.

Les résultats de cette analyse ont révélé un taux d'humidité inférieure à 10% pour la plante *Fumaria officinalis*, avec une proportion de **09.95%** (± 0.002). La teneur en eau, inférieure à 10% confère à la poudre de *Fumaria officinalis* une meilleure conservation à long terme. La poudre sèche

III.2-LE CHOIX DE SOLVANT ET DU DISPOSITIFS D'EXTRACTION

Tableau VIII : Les résultats de l'analyse de la poudre de *Fumaria officinalis*.

Paramètres	Teneur (%) Moyenne \pm Ecart type
Substances extractibles par l'eau	14.49 \pm 0.015
Substances extractibles par l'éthanol	11.99 \pm 0.01
Substances extractibles par le méthanol	16.99 \pm 0.01

Les teneurs en substances extractibles par l'eau, l'éthanol et le méthanol sont respectivement : **14.49 % (± 0.015)**, **11.99% (± 0.01)** et **16.99 % (± 0.01)**. Les résultats obtenus montrent le taux des substances extractibles par le méthanol est supérieur à celui de l'eau et de l'éthanol.

❖ **Tableau IX** : les rendements d'extraction méthanolique et éthanolique des alcaloïdes totaux de *Fumaria officinalis* selon le protocole de (Suau *et al.*, 2002) par l'extracteur de Soxhlet et macération.

	Extracteur	Solvant utilisé	Poudre végétale (g)	N°	AT (g)	R (%)
Le protocole de Suau	Soxhlet	Méthanol	30	1°	0.160	0.53
				2°	0.171	0.57
				3°	0.138	0.46
	Macération	Méthanol	30	1°	0.092	0.31
				2°	0.138	0.46
				3°	0.110	0.37
	Soxhlet	Ethanol	30	1°	0.148	0.49
				2°	0.154	0.51
				3°	0.151	0.50
	Macération	Ethanol	30	1°	0.111	0.37
				2°	0.082	0.27
				3°	0.106	0.35

*Les rendements sont calculés suivant l'équation : $R(\%) = \frac{P}{P_0} \cdot 100$

R : le rendement

P : le poids des alcaloïdes totaux

P₀ : le poids de la poudre végétale

❖ **Tableau X**: Comparaison des rendements d'extraction méthanolique et éthanolique par l'extracteur de Soxhlet et macération des alcaloïdes totaux de *Fumaria officinalis* selon le protocole de (Suau *et al.*, 2002).

	Méthanol	Ethanol
Soxhlet	0.52 (± 0.0004) %	0.50 (± 0.0000) %
Macération	0.38 (± 0.0006) %	0.33 (± 0.0004) %

Tableau XI: des rendements d'extraction méthanolique et éthanolique par le dispositif de Soxhlet et macération des fractions d'alcaloïdes (FN, FA, FB) de *Fumaria officinalis* selon le protocole de (Farzana ,1997).

Extracteur	N°	Poudre végétale (g)	Solvant	Fraction	Fraction (g)	R (%)	
Le protocole de Farzana	Soxhlet	1°	30	Méthanol	FN	0.039	0.13
					FA	0.070	0.23
					FB	0.060	0.20
		2°	30	Méthanol	FN	0.036	0.12
					FA	0.067	0.22
					FB	0.073	0.24
	3°	30	Méthanol	FN	0.068	0.22	
				FA	0.071	0.23	
				FB	0.040	0.13	
	Macération	1°	30	Méthanol	FN	0.045	0.15
					FA	0.052	0.17
					FB	0.067	0.22
2°		30	Méthanol	FN	0.051	0.17	
				FA	0.067	0.22	
				FB	0.020	0.07	
3°	30	Méthanol	FN	0.035	0.11		
			FA	0.075	0.25		
			FB	0.024	0.08		
Soxhlet	1°	30	Ethanol	FN	0.038	0.12	
				FA	0.063	0.21	
				FB	0.046	0.15	
	2°	30	Ethanol	FN	0.047	0.16	
				FA	0.064	0.21	
				FB	0.039	0.13	
3°	30	Ethanol	FN	0.028	0.09		
			FA	0.070	0.23		
			FB	0.065	0.21		
Macération	1°	30	Ethanol	FN	0.015	0.05	
				FA	0.011	0.03	
				FB	0.02	0.06	
	2°	30	Ethanol	FN	0.054	0.18	
				FA	0.037	0.036	
				FB	0.017	0.05	
3°	30	Ethanol	FN	0.013	0.04		
			FA	0.052	0.17		
			FB	0.032	0.10		

*Les rendements sont calculés suivant l'équation : $R(\%) = \frac{P}{P_0} \cdot 100$

P : le poids des alcaloïdes totaux .P₀ : le poids de la poudre végétale

Tableau XII : Comparaison des rendements d'extraction méthanolique et éthanolique par l'extracteur de soxhlet et macération des alcaloïdes de *Fumaria officinalis* (FN, FA, FB) selon le protocole de (Farzana, 1997).

	FN		FA		FB	
	Méthanol	Ethanol	Méthanol	Ethanol	Méthanol	Ethanol
Soxhlet	0.16± (0.0004)%	0.12± (0.0003)%	0.23± (0.0000)%	0.22± (0.0001)%	0.19± (0.0004)%	0.16± (0.0004)%
Macération	0.14± (0.0002)%	0.09± (0.0007)%	0.21± (0.0004)%	0.08 ± (0.0008)%	0.12± (0.0008)%	0.07± (0.0003)%

Les extraits (AT, FN, FA et FB) ont été obtenus à partir d'une poudre fine de *Fumaria officinalis* et en suivant deux procédés d'extraction différentes (Soxhlet et macération) on utilisant deux solvants différents (méthanol, éthanol).

Les résultats de la présente étude indiquent qu'à partir de 30g de la poudre de *Fumaria officinalis* et 300ml de méthanol nous avons obtenu un extrait méthanolique considéré comme étant l'extrait brut de couleur verte foncée. A partir de 30g de la poudre de *Fumaria officinalis* et 300ml de l'éthanol nous avons obtenu un extrait de couleur brune foncée et cela pour les deux méthodes d'extraction (soxhlet, macération).

Le rendement est calculé par rapport au poids total de la poudre de *Fumaria officinalis* et l'extrait d'alcaloïdes totaux obtenu avec le méthanol par l'extracteur de soxhlet a donné un rendement de **0.52 %**. Ce résultat est proche de celui trouvé par **Suau et al., (2002)** qui ont obtenus pour le même solvant et le même extracteur un rendement de **0.54%**. Alors qu'on remarque que le rendement obtenu avec le méthanol par macération (**0.38%**) est inférieur à celui obtenu avec le méthanol par soxhlet et le rendement obtenu avec l'éthanol par soxhlet (**0.50%**) est supérieur à celui obtenu par macération (**0.33%**).

Ainsi les rendements obtenus par l'extracteur de Soxhlet avec le méthanol ou l'éthanol Selon le protocole de farzana sont supérieurs à ceux obtenu par la méthode de macération. Et suivant le même protocole les rendements obtenus par le méthanol (**0.16% de FN, 0.23% de FA, et 0.19% de FB**) sont supérieur à ceux obtenus par l'éthanol (**0.12% de FN ,0.22% de FA, et 0.16% de FB**).

D'après ces résultats obtenus on peut conclure que le méthanol est le meilleur solvant d'extraction, il permet d'extraire le maximum d'alcaloïdes en comparaison avec l'éthanol. Ainsi l'extraction par Soxhlet est plus rapide et permet de donner un meilleur rendement avec une grande spécificité par rapport à la macération.

III.3-EVALUATION DE LA TOXICITE AIGUE ET SUBAIGUE DES ALCALOÏDES DE *FUMARIA OFFICINALIS*

III.3.1- ETUDE DE LA TOXICITE AIGUE

- **Résultat de l'essai limite à 2000mg/kg**

Le traitement de la souris avec une dose de 2000mg/kg a conduit à sa mort donc on a estimé que la DL50 est inférieure à 2000mg/kg.

- **Résultats de l'essai principal**

Tableau XIII : résultat de l'essai principal

ID	2000mg/kg	1290mg/kg	970mg/kg	730mg/kg	550mg/kg
A1			O	-	-
A2		O		-	-
A3	X			-	-
A4		X		-	-
A5			O	-	-
A6		O		-	-
A7	X			-	-
A8		X		-	-
A9			O	-	-
A10	-	-	-	-	-
A11	-	-	-	-	-
A12	-	-	-	-	-
A13	-	-	-	-	-
A14	-	-	-	-	-
A15	-	-	-	-	-

O : la survie de l'animal, X : la mort de l'animal, ID : l'identifiant de l'animal.

- **Arrêt de l'essai principal**

Le critère d'arrêt (c) des directives 425 d'OCDE pour les essais de produits chimiques (au moins 4 animaux ont suivi la première inversion et les rapports de probabilité spécifiés dépassent la valeur critique) est rempli, donc l'essai principal a pris fin sur la base de ce critère.

- **Calcul de la DL50 et de l'intervalle de confiance**

- ❖ **Calcul de la DL50**

La DL50 est calculée pour la règle d'arrêt fondée sur les rapports de probabilité, Les deux rapports de probabilité (2.43×10^9 , 1.04×10^8) dépassent largement la valeur critique du rapport de probabilité, à savoir **2.5**. Par conséquent, le critère d'arrêt fondé sur les rapports de probabilité est satisfait et l'essai s'achève. Les résultats sont inscrits dans le tableau N° XIV et la DL50 est estimée à **1341.11mg/kg**.

La DL50 est calculée aussi avec le logiciel AOT425StatPgm et on a trouvé une DL50= 1341 mg/kg (annexe 4).

Selon l'échelle de classification de la toxicité de **Hodge et Sterner** (annexe2) chez les souris de laboratoire et dont laquelle une DL50 orale (500mg/kg DL50 5000mg/kg) signifie une substance l'égerment toxique, ce qui confirme que les extraits testé lors de cette étude dont (500mg/kg DL50 =1341.11mg/kg 5000mg/kg) sont l'égerment toxiques.

- ❖ **Calcul de l'intervalle de confiance**

Trois doses différentes (970,1290 et 2000mg/kg) ont été mis à l'essai et que la dose du milieu (1290mg/kg) a laissé survivre deux souris et entraîné la mort de deux souris, donc on a utilisé la méthode de calcul fondé sur le profil de probabilité pour obtenir un intervalle de confiance avec 5% de risque d'erreur ou 95 % de certitude ou de confiance.

$$m \pm \frac{1.9 \times \sigma}{\sqrt{n}}$$

m : moyenne, σ : écart type, n= taille d'échantillon.

Avec $n=10$, $m=1341.11$, $\sigma =359.43$

$$1341.11 \pm \frac{1.9 \times 359.43}{\sqrt{10}}$$

$$1341.11 \pm \frac{704.917}{3.16}$$

$$1341.11 \pm 222.94$$

L'intervalle varie donc de **[1118.17 à 1564.05]**, suivant les résultats de l'essai principal on remarque que l'intervalle de confiance est large ce qui indique que la DL50 estimé comporte une grande incertitude.

Nb: la valeur de coefficients 1,96 provienne de la table de l'écart-réduit p 0.05.

L'intervalle de confiance calculé aussi avec le logiciel AOT425StatPgm varie donc de **[1118.1 à 1564]** (annexe 4).

Tableau XIV : Calcul de la DL50 pour l'essai principal.

CALCULS POUR LA RÈGLE D'ARRÊT FONDÉE SUR LES RAPPORTS DE PROBABILITÉ

Paramètres de critère de convergence	
la LR critique	2.5
Facteur de DL50	2.5

Pente assumée	8
Sigma	0.125

Résultat : les critères de la LR

Etape	(I) inclure (E) exclure	Dose	(x) Réponse (O)Non- réponse.	Inclus dans le nominal	Log10 Dose à DAE	LD50 = 1340.43		LD50 = 536.17		LD50 = 3351.07		
						Prob.de Réponse	Probabilité contribu. (ln Li)	Prob.de Réponse	Probabilité contribu. (ln Li)	Prob.de Réponse	Probabilité contribu. (ln Li)	
1	I	970	O	Non	2.9867	0.0000	0.1314	-0.1408	0.9798	-3.9020	0.0001	-0.0001
2	I	1290	O	Oui	3.1105	3.1105	0.4483	-0.5947	0.9987	-6.6453	0.0005	-0.0005
3	I	2000	X	Oui	3.3010	3.3010	0.9177	-0.0858	0.9999	-0.0001	0.0361	-3.3214
4	I	1290	X	Oui	3.1105	3.1105	0.4483	-0.8022	0.9987	-0.0013	0.0005	-7.6009
5	I	970	O	Oui	2.9867	2.9867	0.1314	-0.1408	0.9798	-3.9020	0.0001	-0.0001
6	I	1290	O	Oui	3.1105	3.1105	0.4483	-0.5947	0.9987	-6.6453	0.0005	-0.0005
7	I	2000	X	Oui	3.3010	3.3010	0.9177	-0.0858	0.9999	-0.0001	0.0361	-3.3214
8	I	1290	X	Oui	3.1105	3.1105	0.4483	-0.8022	0.9987	-0.0013	0.0005	-7.6009
9	I	970	O	Oui	2.9867	2.9867	0.1314	-0.1408	0.9850	-3.9020	0.0001	-0.0001
10	E	-	-	-	-	0.0000	-	-	-	-	-	-
11	E	-	-	-	-	0.0000	-	-	-	-	-	-
12	E	-	-	-	-	0.0000	-	-	-	-	-	-
13	E	-	-	-	-	0.0000	-	-	-	-	-	-
14	E	-	-	-	-	0.0000	-	-	-	-	-	-
15	E	-	-	-	-	0.0000	-	-	-	-	-	-
Dimension de l'échantillon nominale =		8										
Nombre réel examiné =		9										
Dose-établissement d'une moyenne de l'estimateur		1340.43										
Log10 =		3.13										
Dimension de l'échantillon nominale =		8										
Nombre réel examiné =		9										
Dose-établissement d'une moyenne de l'estimateur		1340.43										
Log10 =		3.13										
Sommes de Notation-probabilité : Probabilités :		-3.3878 0.0338										
Rapports de probabilité :		2.5										
Les différents rapports dépassent la valeur critique ?		Critique =										
Les deux rapports dépassent la valeur critique ?		-24.9994 1.39 *10 ⁻¹¹ 2.43*10 ⁸										
Evaluation calculée de maximum de vraisemblance de DL50 =		1341.11										
		-21.8459 3.25*10 ⁻¹⁰ 1.04*10 ⁸										
		VRAI										
		VRAI										

- Observations cliniques

Après l'administration des alcaloïdes totaux de *Fumaria officinalis* par voie orale à des souris femelles, on a remarqué qu'il y a une augmentation régulière des signes d'intoxications et de mortalité en liaison avec la dose injectée. Les signes sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XV : L'effet d'une dose unique de *Fumaria officinalis* sur les souris *albinos wistar*.

ID	Dose (mg/kg)	Signes de toxicité		
		Les 4 premières heures	1 ^{er} au 7 ^{ème} jour	8 ^{ème} au 14 ^{ème} jour
A0	Eau physiologique	Normale	Normale	Normale
A00	Eau physiologique	Normale	Normale	Normale
A000	Eau physiologique	Normale	Normale	Normale
A1	970	Somnolence Isolement Hypoactivité	Normale	Normale
A2	1290	Somnolence Isolement Redressement des poils Anorexie Hypoactivité	Isolement Somnolence Hypoactivité	Normale
A3	2000	Meure après 30 minutes	-	-
A4	1290	Meure après 1 heure	-	-
A5	970	Somnolence Isolement Redressement des poils Hypoactivité	Normale	Normale
A6	1290	Somnolence Isolement Redressement des poils Hypoactivité	Isolement Somnolence Hypoactivité	-

A7	2000	Meure après 30 minutes	-	-
A8	1290	Meure après 1 heure	-	-
A9	970	Somnolence Isolement Redressement des poils hypoactivité	Normale	Normale

Au cours de cette étude, on a remarqué que les souris gavées par l'eau physiologique (Na Cl 0.9%), n'ont montré aucun signe de toxicité. Cependant la prise des différentes doses des alcaloïdes totaux (AT) de *Fumaria officinalis*, par voie orale, a provoqué des changements plus ou moins graves dans l'activité physique et le comportement, voir même la mort des souris.

En effet, les souris (A3, A7) et les souris (A4, A8) qui ont reçu respectivement les doses de **2000** et **1290mg/kg** meurent de 30 minutes à 1 heure après d'administration, suite à des signes graves d'intoxication. Ces souris ont montré une respiration presque coupée, une perte d'équilibre, des contractions musculaires, une paralysie partielle, des vomissements, coma et paralysie totale, Elles meurent après s'être allongées sur le ventre.

Les souris (A1, A2, A5, A6 et A9) ont survécu jusqu'au 14^{ème} jour, on a remarqué qu'après les 4 heures suivant l'administration de (AT), toutes les souris avaient des somnolences, isolement, redressement des poils, hypoactivité. Après une semaine, les souris ont retrouvé un comportement normal comparable à celui des témoins. Les signes observés chez ces souris viennent suite à une atteinte du SNC et SNP. une atteinte qui est due, probablement, à la présence des alcaloïdes isoquinoléiques tels que la protopine et la cryptopine qui sont toxiques pour les cellules PC12, modèles de neurones catécholaminergiques (**verba et al., 2011**).

III.3.2-ETUDE DE LA TOXICITE SUBAIGUË

• Observations cliniques

Tableau XVI : l'effet toxique des extraits de *Fumaria officinalis* sur le comportement des souris.

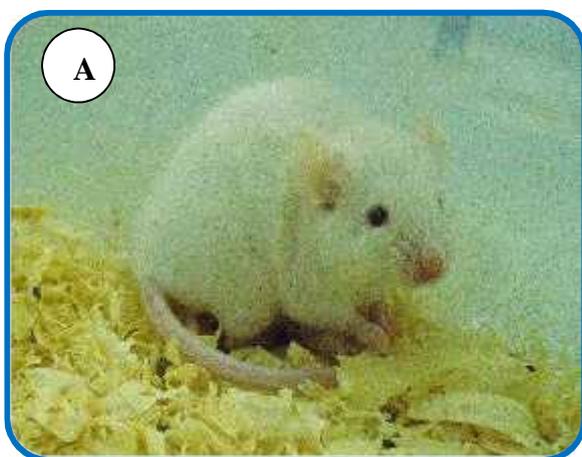
Substance administrée	Doses (mg/k)	Sexe	Signes de toxicité
Eau physiologique	-	Femelles	Normal
		Mâles	Normal
AT	1000	Femelles	Diarrhée, accélération du rythme cardiaque, somnolence, isolement, trouble de mouvement et perte d'équilibre.
		Mâles	Somnolence, redressement des poils, hypoactivité, isolement.
	500	Femelles	Accélération du rythme cardiaque, Diarrhée, hypoactivité.
		Mâles	Somnolence, redressement des poils, hypoactivité.
	250	Femelles	Redressement des poils, faiblesse
		Mâles	Somnolence
FN	1000	Femelles	Normal
		Mâles	Normal
	500	Femelles	Normal
		Mâles	Normal
	250	Femelles	Normal
		Mâles	Normal
FA	1000	Femelles	Diarrhée, accélération du rythme cardiaque, Hypoactivité, somnolence, anorexie, redressement des poils, isolement.
		Mâles	Hypoactivité, somnolence, anorexie, isolement, redressement des poils.
	500	Femelles	Diarrhée, somnolence, anorexie, redressement des poils, isolement.
		Mâles	Anorexie, redressement des poils, isolement.
	250	Femelles	Somnolence, Anorexie, Hypoactivité.
		Mâles	Isolement.
FB	1000	Femelles	Accélération du rythme cardiaque, Somnolence, diarrhée, anorexie, Hypoactivité.
		Mâles	Accélération du rythme cardiaque, Hypoactivité, somnolence, diarrhée, anorexie.
	500	Femelles	Accélération du rythme cardiaque, Somnolence, isolement, anorexie, Hypoactivité.
		Mâles	Somnolence, isolement, redressement des poils, Hypoactivité.
	250	Femelles	Isolement, Hypoactivité.
		Mâles	Isolement.

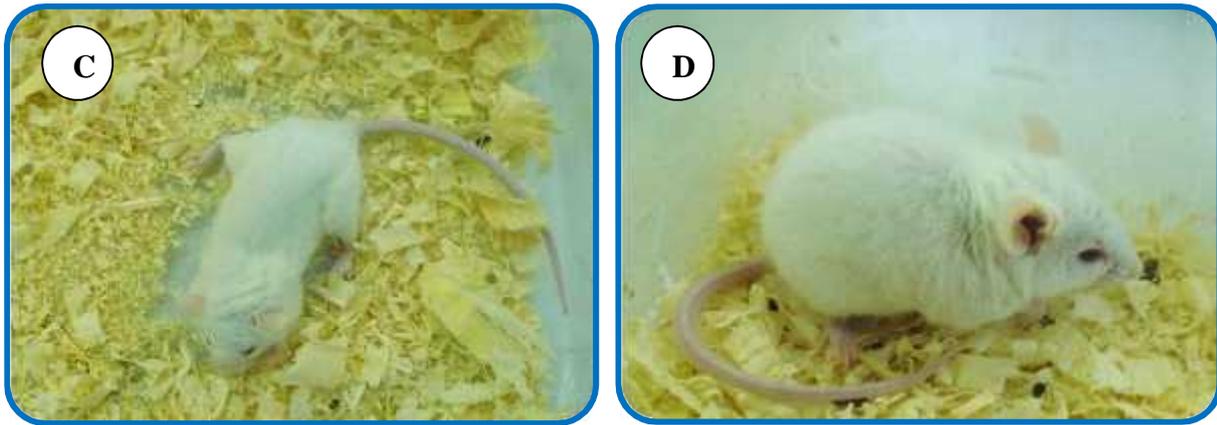
Après 28 jours de l'administration des extraits (**AT, FN, FA et FB**), aucune mortalité n'a été signalée pendant l'expérience, mais au niveau du comportement général les souris ont présenté des signes de toxicité plus ou moins grave.

On constate d'après les résultats obtenus, que le lot témoin contenant les souris gavées par l'eau physiologique (Na Cl, 0.9%), n'a montré aucun signe de toxicité. Même résultat a été obtenu avec le lot traité par (**FN**) ce qui indique que (**FN**) ne possède aucun effet toxique sur les souris. En revanche, des tremblements ont été notés chez les souris des lots traités par les moyennes et fortes concentrations des extraits (**AT, FA, FB**), on a remarqué que les signes ont commencés à augmenter à partir de la dose **500mg/kg**, à cette dose, les souris ont montrés des signes de faiblesse associés à l'isolement individuel (Figure16), somnolence, leurs mouvements diminuent et la respiration devient difficile chez les femelles.

À la dose **1000mg/kg**, les mâles et les femelles ont montrés des signes encore plus forts d'intoxication (diarrhée, accélération du rythme cardiaque, hypoactivité, somnolence, anorexie, redressement des poils, isolement) ; par contre à **250 mg/kg** aucun changement visible n'a été constaté ce qui confirme qu'à cette dose, les alcaloïdes de *Fumaria officinalis* ne sont pas toxiques.

Les signes de toxicité sont les même pour les deux sexes mais ils apparaissent chez la femelle à des doses inférieures que celles qui apparaissent chez les mâles. Ce qui indique que l'effet toxique est dépendant du sexe, plusieurs chercheurs ont démontrés cette dépendance (**Baliga et al., 2004**). Dans cette étude les femelles ont été plus sensibles à l'intoxication subaiguë par l'extrait alcaloïdique de *Fumaria officinalis* que les mâles.





A : isolement, B : somnolence, C : faiblesse, D : redressent des poils

Figure 17 : les effets toxiques des extraits de *Fumaria officinalis* sur le comportement des souris.

- Chronologie de l'évolution pondérale.

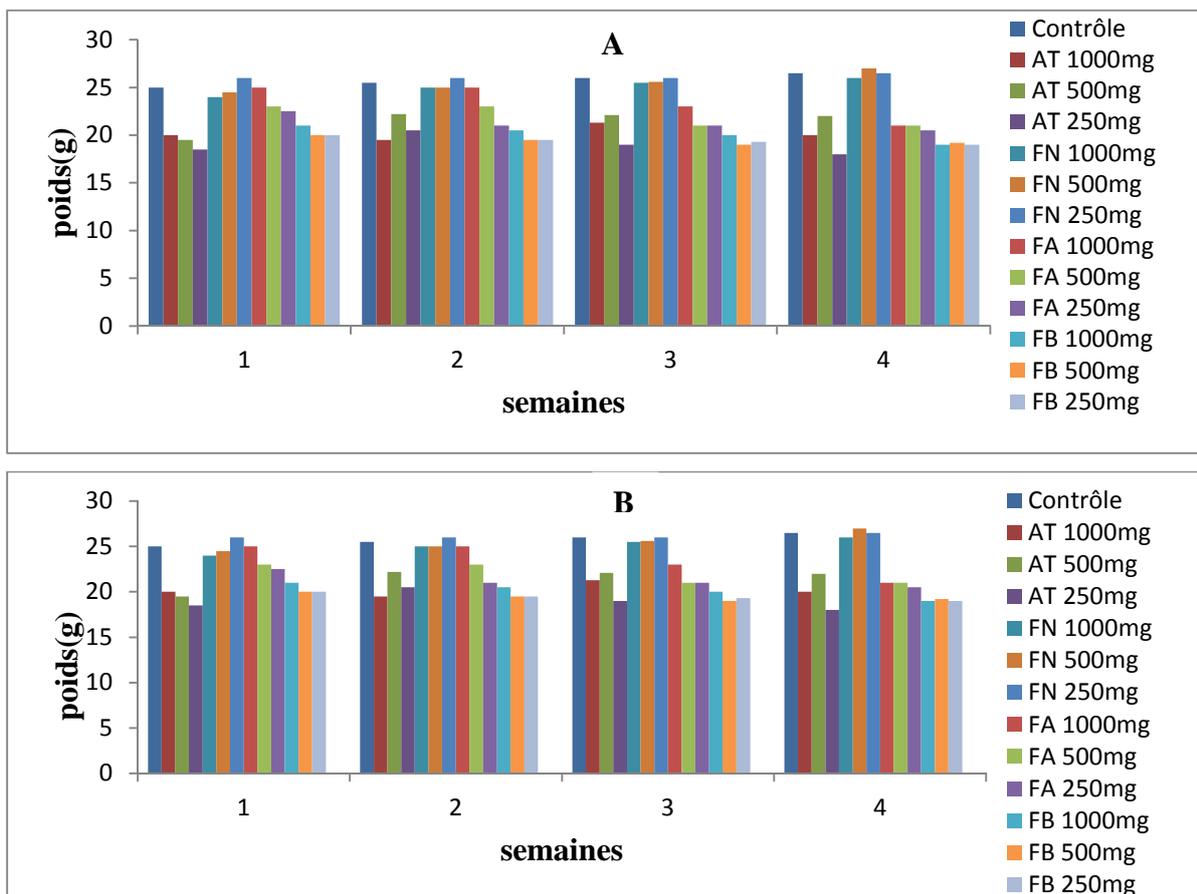


Figure 18 : Changement du poids corporel des souris durant le test de toxicité subaiguë. (A Mâles ; B : Femelles).

Le suivi de la variation de la masse corporelle des animaux au cours de l'expérience de la toxicité subaiguë par les extraits (AT, FN, FA et FB) de *Fumaria officinalis* a démontré qu'il y a une diminution du poids tout au long des 4 semaines pour les deux sexes, comparativement aux témoins (Figure 17), et cela pour les différentes doses (1000, 500 et 250 mg/kg) à la différence du lot traité par FN où la diminution du poids corporel est relativement faible.

Le changement du poids corporel est utilisé comme un indicateur des effets indésirables des composés chimiques. La perte de poids est corrélée à l'état physiologique de l'animal. Cette réduction du poids peut être expliquée par une réduction de la consommation des aliments, mais aussi par les possibilités d'interactions dose/absorption et par la diminution de la quantité de nourriture absorbée. (Hilaly *et al.*, 2004).

La diminution du poids corporel au cours des 28 jours de traitement quotidien suggère que l'administration subaiguë et par voie orale de l'extrait alcaloïdique de *Fumaria officinalis* a des effets sur la croissance des souris *Albinos Wistar*.

- **Evaluation de la quantité de nourriture consommée:**

La quantité de nourriture consommée par les souris traitées par les extraits (AT, FN, FA, FB) est représentée sur les figures suivantes :

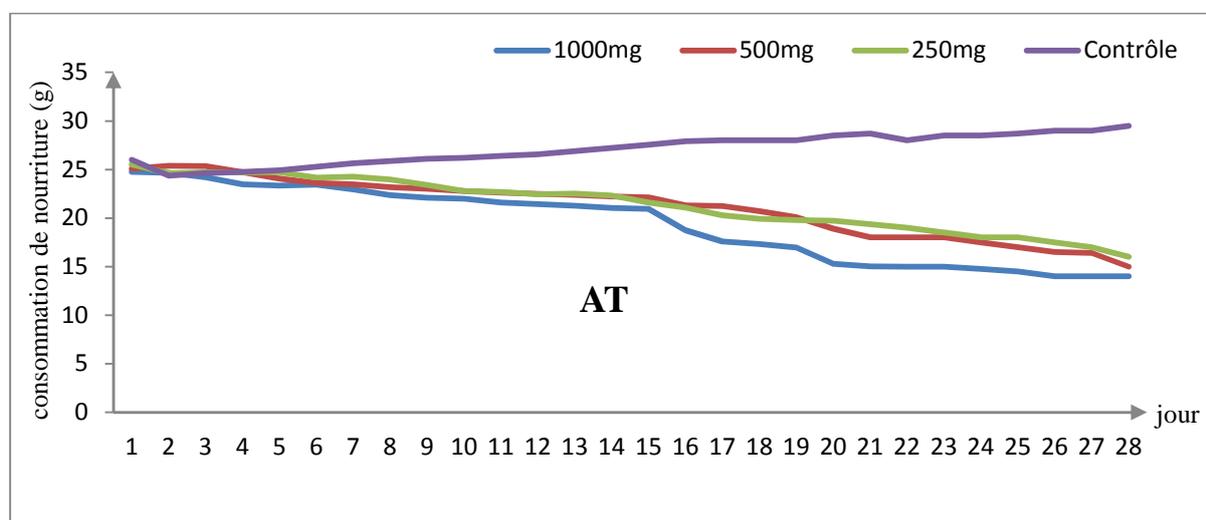


Figure 19 : Evaluation de la quantité de la nourriture consommée chez les souris traitées par AT.

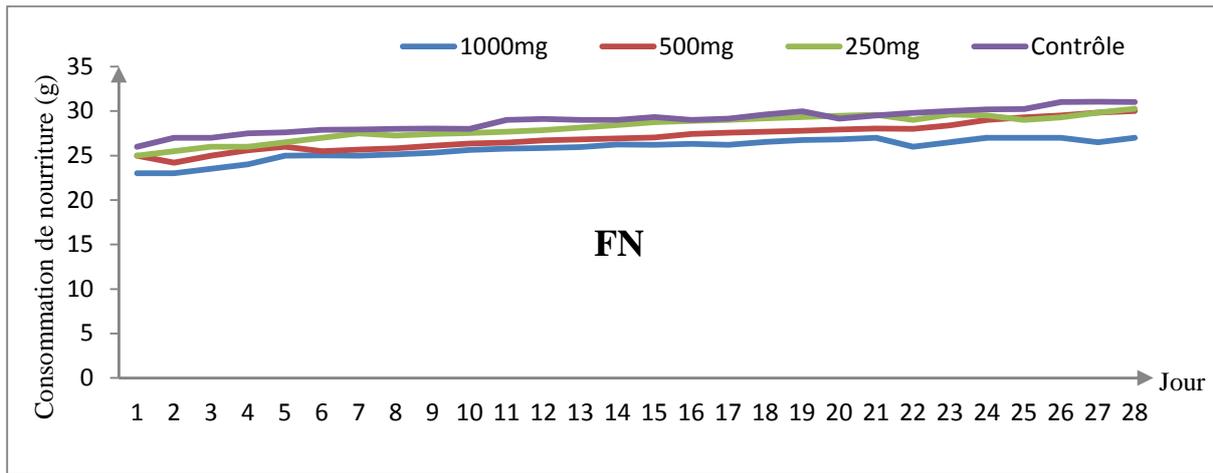


Figure 20 : Evaluation de la quantité de la nourriture consommée chez les souris traitées par (FN).

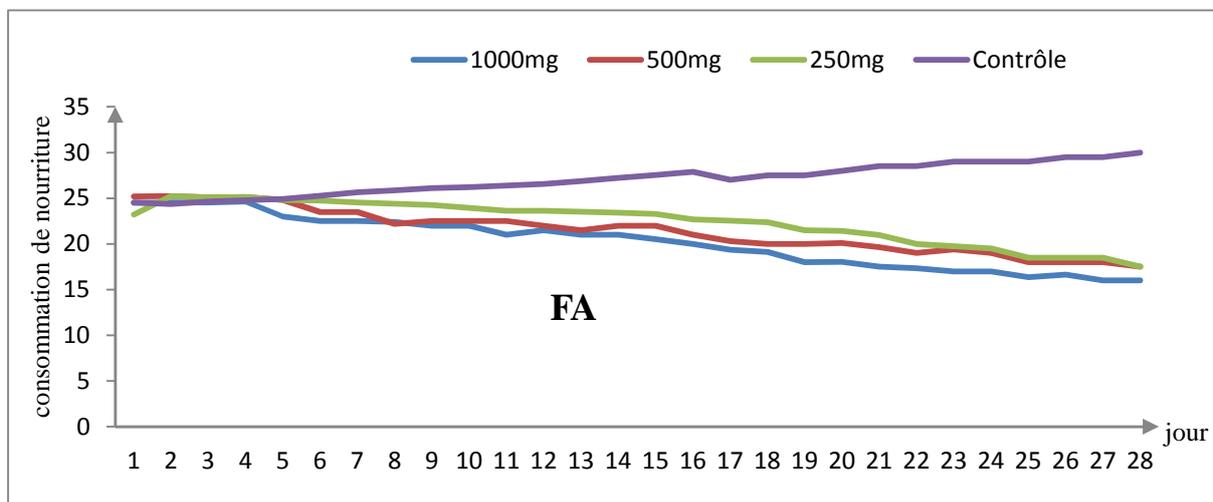


Figure 21 : Evaluation de la quantité de la nourriture consommée chez les souris traitées par (FA).

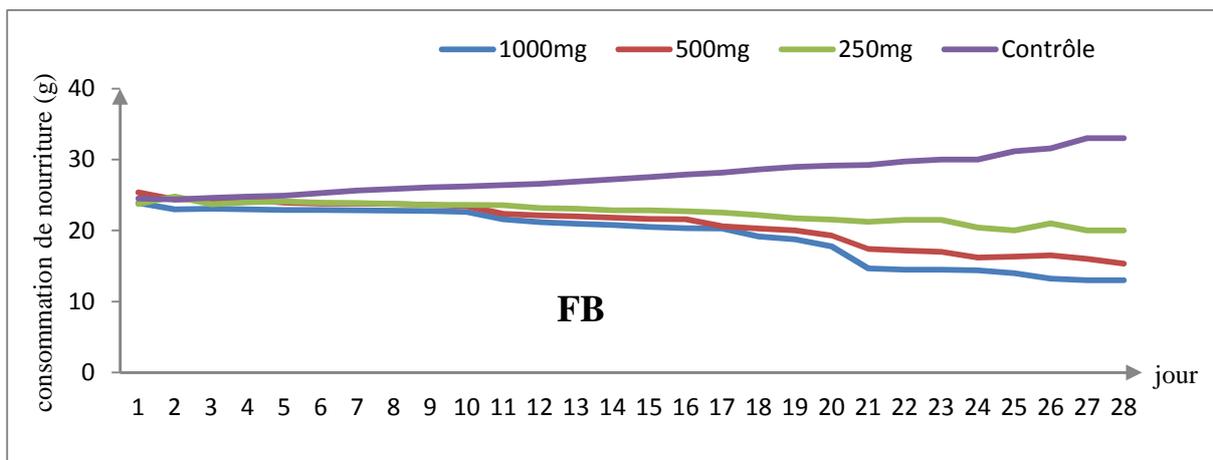


Figure 22 : Evaluation de la quantité de la nourriture consommée chez les souris traitées par (FB).

Les résultats obtenus montrent une différence dans la prise de la nourriture entre les groupes de souris traitées par les extraits (AT, FN, FA et FB) et leur groupe contrôle.

En effet, on a remarqué une diminution de la quantité de nourriture consommée par les souris traitées par tous les types d'extraits, à part les souris traité par l'extrait (FN) qui représentent une consommation comparable à celle des témoins au court de 28 jours. Cette diminution est due à l'effet anorexique probablement exercé par les extraits (AT, FN, FA et FB).

La prise de nourriture est régulée par l'hypothalamus qui dépend de l'interaction entre deux régions : le « **centre de l'appétit** », situé latéralement dans la zone nucléaire du faisceau prosencéphalique médian, à sa jonction avec les fibres pallidohypothalamiques, et un « **centre de la satiété** » médian dans le noyau ventromédian. La stimulation du centre de l'appétit déclenche un comportement de prise alimentaire chez les animaux conscients, et sa destruction chez des animaux par ailleurs sains produit une anorexie sévère et mortelle. La stimulation du noyau ventromédian entraîne l'arrêt de la prise alimentaire (**Ganong, 2005**).

- **Evaluation de volume d'eau consommée**

Les quantités de volume d'eau consommée sont représentées sur les figures suivantes :

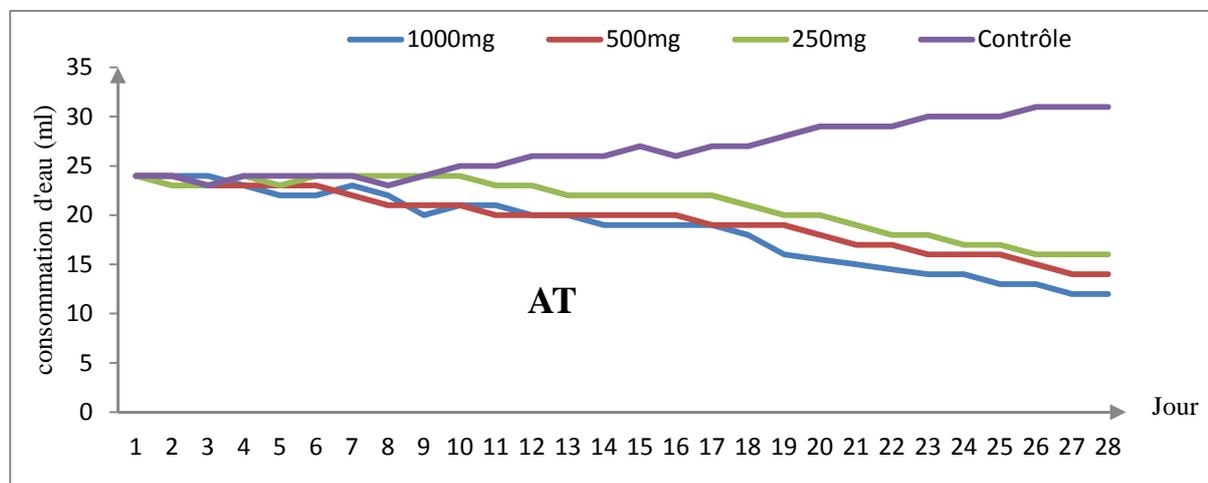


Figure 23 : Evaluation de volume d'eau consommée chez les souris traitées par AT.

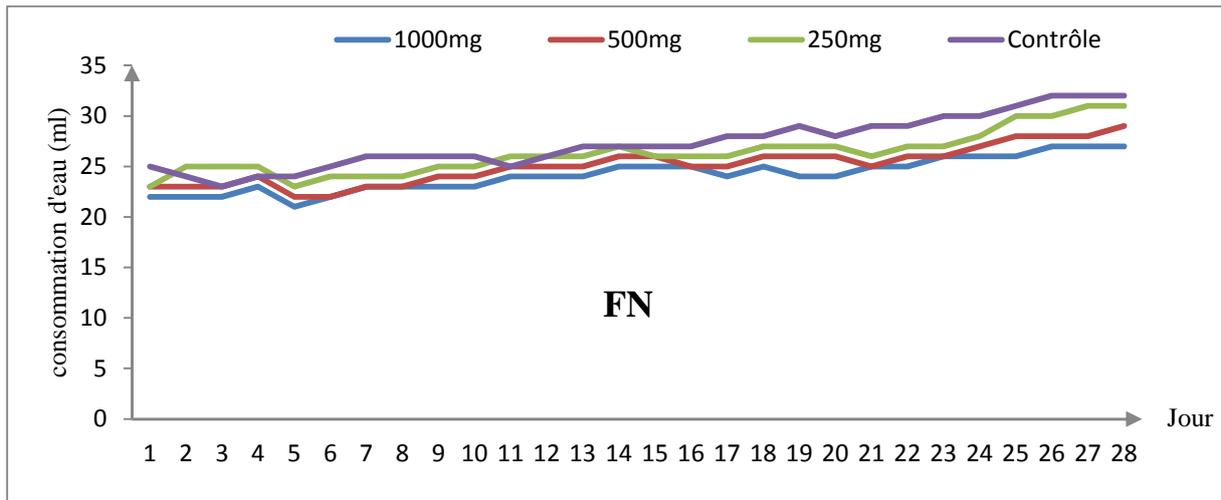


Figure 24 : Evaluation de volume d'eau consommée chez les souris traitées par FN.

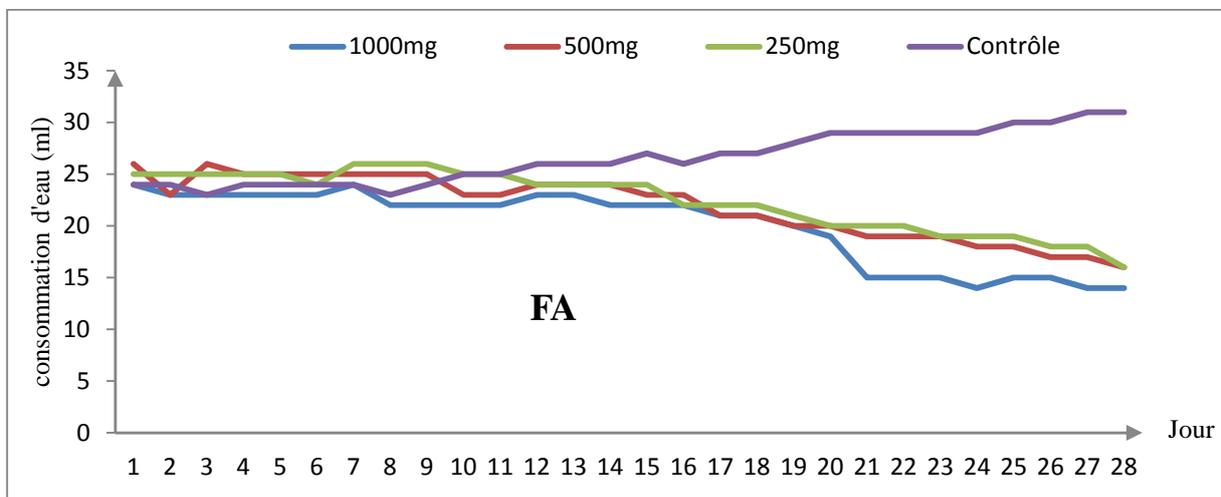


Figure 25 : Evaluation de volume d'eau consommée chez les souris traitées par FA.

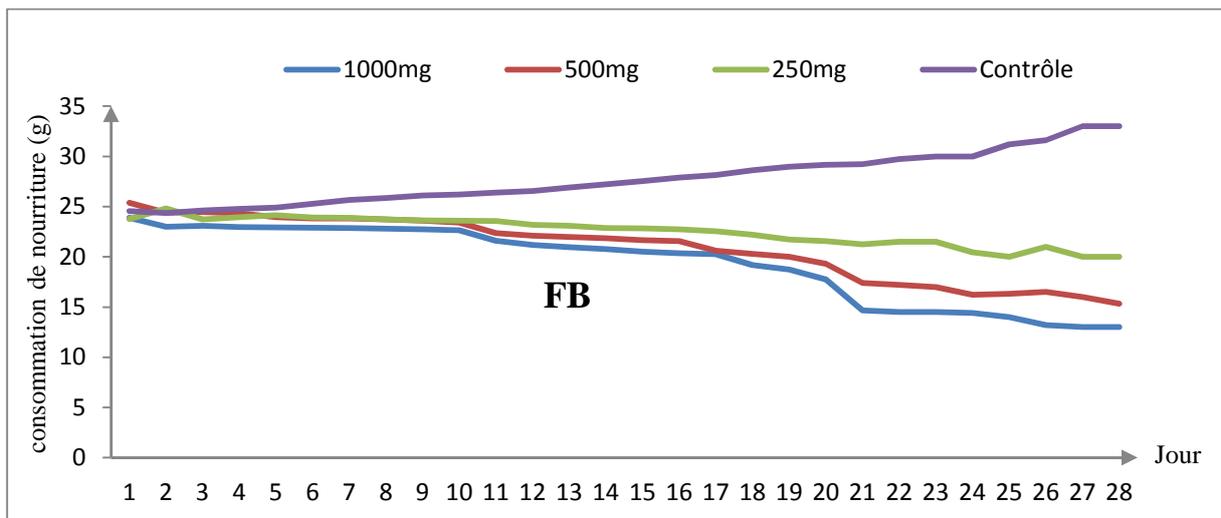


Figure 26 : Evaluation de volume d'eau consommée chez les souris traitées par FB.

D'après les résultats obtenus durant les quatre semaines de l'administration des extraits ; on a constaté une différence significative dans le volume d'eau consommée pour les différents groupes de souris traitée par rapport au contrôle sauf chez les souris traitées par l'extrait (FN) dont la consommation est comparable à celle des témoins. Cette diminution est probablement due aux facteurs du stress et aux conditions d'élevages des souris.

En cas de déshydratation, le corps subit un déficit en eau. Les cellules du corps et leurs tissus se rétrécissent à mesure qu'elles perdent de l'eau. Les animaux déshydratés ont tendance à avoir une apparence particulière liée à la perte d'eau dans ces tissus : les yeux sont enfoncés dans leur orbite, l'abdomen peut sembler se creuser et le contour du visage peut également se creuser, lui donnant l'apparence de se resserrer. Les muqueuses s'assèchent et le poil devient terne. On peut observer ces signes chez les animaux qui ont subi une perte de poids appréciable et chronique lorsque leurs tissus adipeux se métabolisent en calories (Folz et Ullman-Culleré ; 1999).



Figure 27 : photographie d'une souris déshydratée

- La masse relative des organes

Tableau XVII : Effet de l'extrait alcaloïdique de *Fumaria officinalis* sur le poids des organes prélevés chez les souris après 28 jours de traitement par voie orale.

Type d'extrait	Doses mg/kg	Poids de l'organe				
		Rein gauche	Rein droit	Foie	Cœur	rate
CNTL	—	0.14g	0.16g	1.27g	0.12g	0.17g
AT	1000	0.31g	0.33g	2g	0.15g	0.15g
	500	0.30g	0.29g	1.83g	0.13g	0.17g
	250	0.25g	0.26g	1.35g	0.13g	0.16g

FN	1000	0.17g	0.18 g	1.30 g	0.11g	0.17g
	500	0.15 g	0.14g	1.39g	0.16g	0.16g
	250	0.16g	0.15g	1.28g	0.15g	0.16g
FA	1000	0.27g	0.28g	1.90 g	0.17g	0.20g
	500	0.24g	0.22g	1.84g	0.15g	0.15g
	250	0.14g	0.13g	1.84 g	0.15g	0.11g
FB	1000	0.35g	0.34g	1.92g	0.17g	0.18g
	500	0.35g	0.35g	1.92 g	0.16g	0.10g
	250	0.13g	0.13g	0.67 g	0.16g	0.14g

Tableau XVIII : Le rapport relatif des organes

Type d'extrait	Doses mg/kg	Poids de l'organe / Poids corporel (PC)				
		Rein gauche /PC	Rein droit /PC	Foie/PC	Cœur/PC	Rate/PC
CNTL	—	0.0056	0.0064	0.050	0.0048	0.0068
AT	1000	0.0012	0.0013	0.080	0.0060	0.0060
	500	0.0012	0.0011	0.073	0.0050	0.0070
	250	0.0100	0.0104	0.054	0.0052	0.0064
FN	1000	0.0068	0.0072	0.052	0.0044	0.0068
	500	0.0060	0.0056	0.050	0.0064	0.0064
	250	0.0064	0.0060	0.051	0.0060	0.0064
FA	1000	0.0100	0.0100	0.070	0.0060	0.0080
	500	0.0096	0.0088	0.070	0.0060	0.0060
	250	0.0056	0.0052	0.070	0.0060	0.0044
FB	1000	0.0140	0.0140	0.080	0.0068	0.0072
	500	0.0140	0.0140	0.080	0.0064	0.0040
	250	0.0052	0.0052	0.030	0.0064	0.0056

Après l'examen macroscopique des différents organes prélevés, on a observé que leurs tailles et leurs formes sont normales; par contre les valeurs de la masse relative des reins, du foie, de la rate, et du cœur ont montré une augmentation des reins, du foie, chez les souris traités par rapport aux témoins.

Ces résultats suggèrent que l'extrait alcaloïdique de *Fumaria officinalis* a des effets sur les organes mesurés. Généralement, le changement du poids des organes internes est un indice de toxicité après l'exposition à une substance toxique (Raza *et al.*, 2002).

L'augmentation du poids du foie peut être liée à une congestion par réservation du sang dans le foie (Rasekh *et al.*, 2008). Ces résultats nécessitent cependant, des analyses plus approfondies pour connaître l'effet de l'extrait sur ces organes.

- Résultats d'étude histo-pathologique

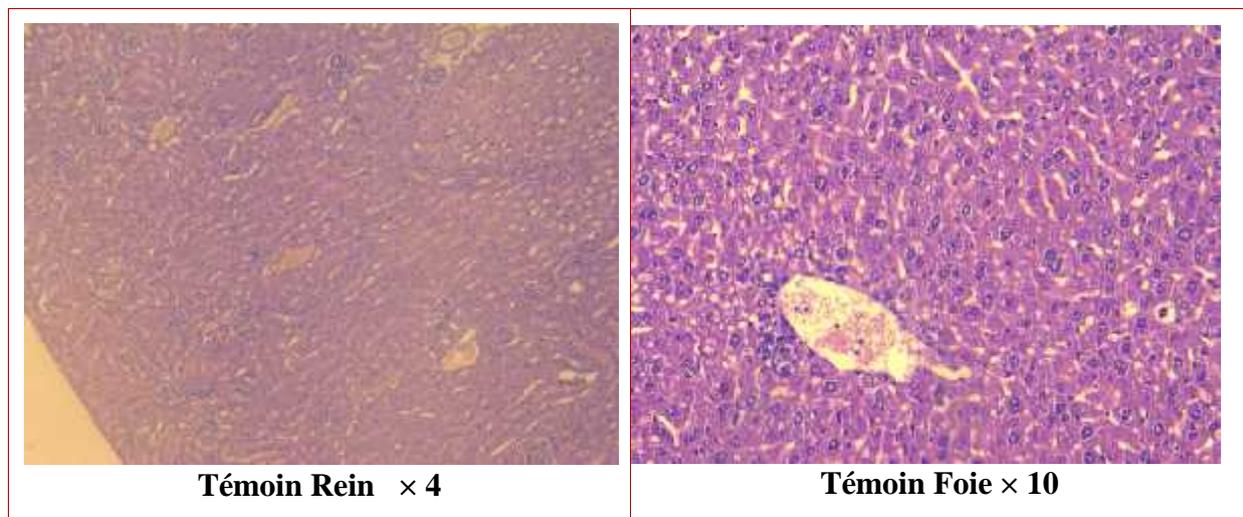


Figure 28 : Coupe histologique du tissu rénal et du tissu de foie des souris témoins.

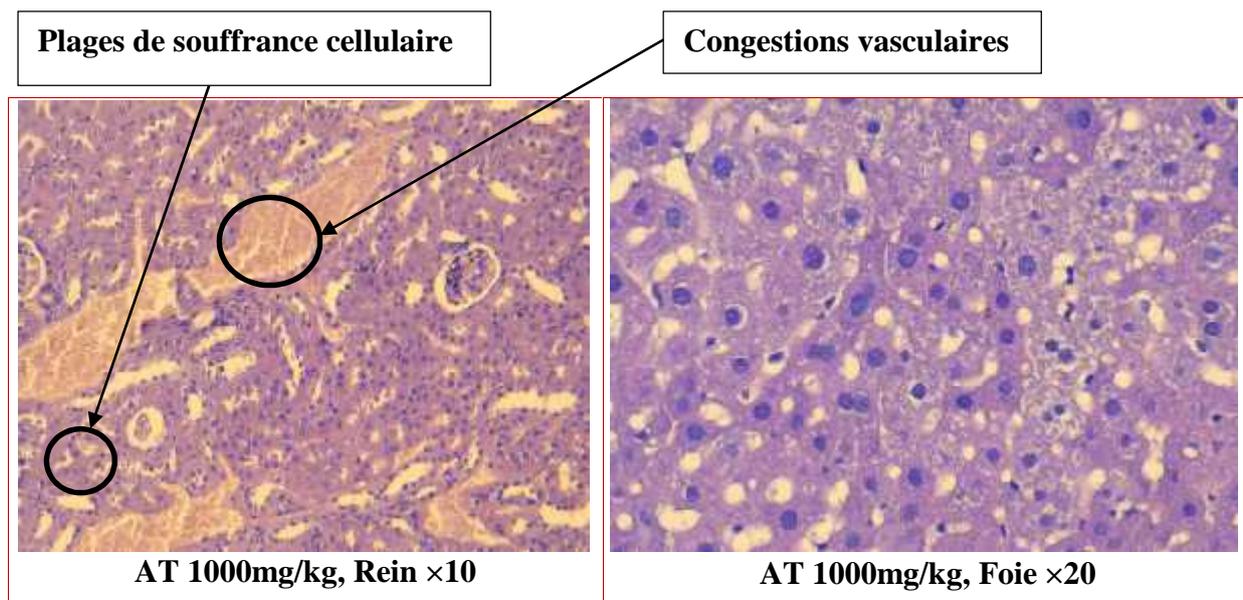


Figure 29 : Coupe histologique du tissu rénal et du tissu de foie des souris traitées avec AT dans les conditions de la toxicité subaiguë.

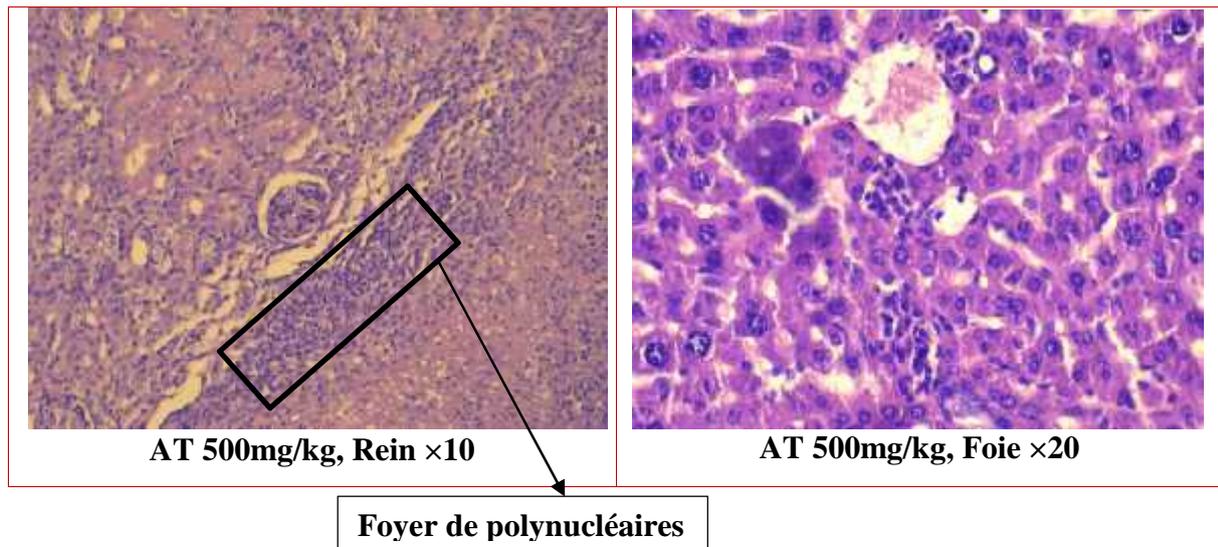


Figure 30 : Coupe histologique du tissu rénal et du tissu de foie des souris traitées avec AT dans les conditions de la toxicité subaiguë.

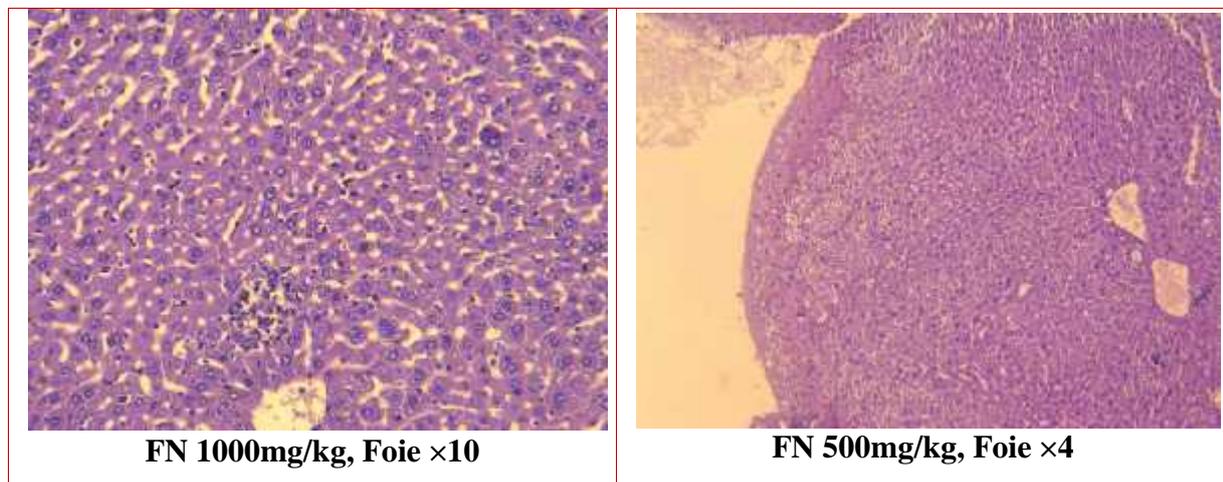


Figure 31 : Coupe histologique du tissu de foie de souris traitées avec FN dans les conditions de la toxicité subaiguë.

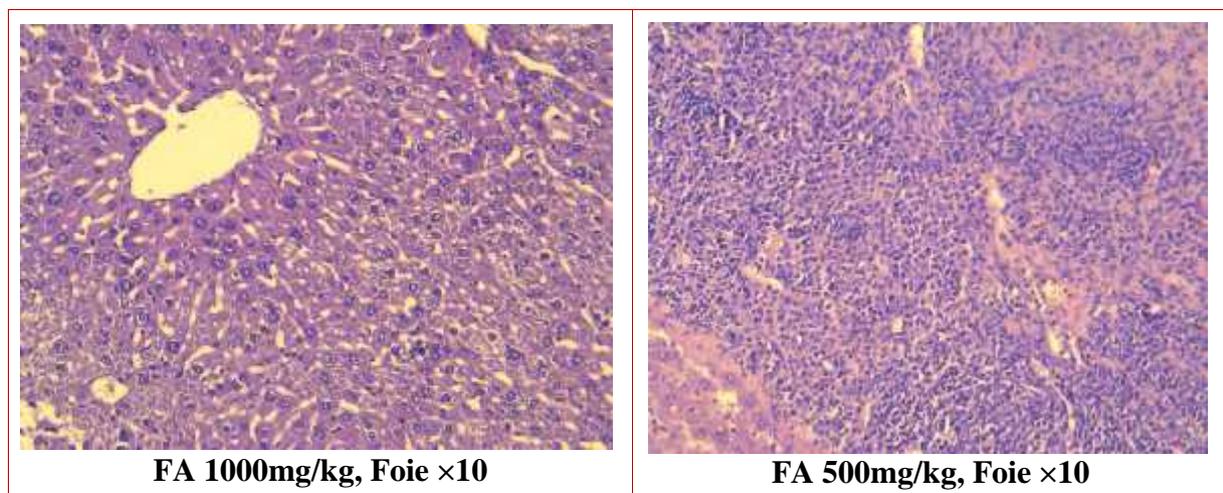
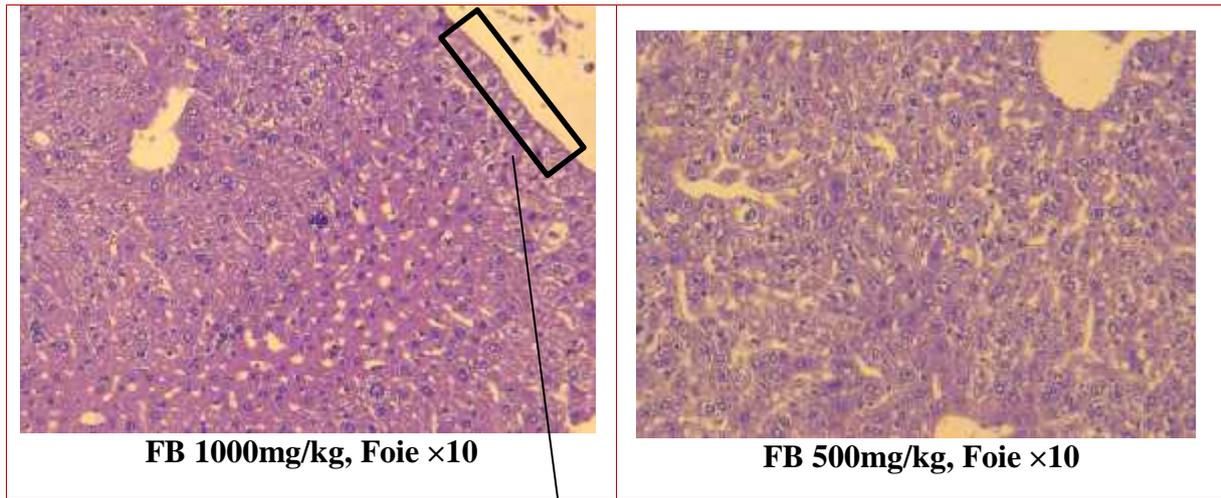


Figure 32 : Coupe histologique du tissu de foie de souris traitées par FA dans les conditions de la toxicité subaiguë.



Nécrose centrolubulaire

Figure 33 : Coupe histologique du tissu de foie de souris traitées par FB dans les conditions de la toxicité subaiguë.

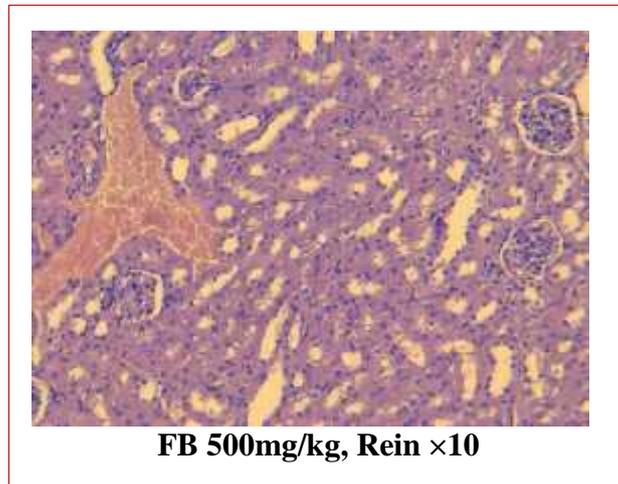


Figure 34 : Coupe histologique du tissu rénal de souris traitées par FB dans les conditions de la toxicité subaiguë.

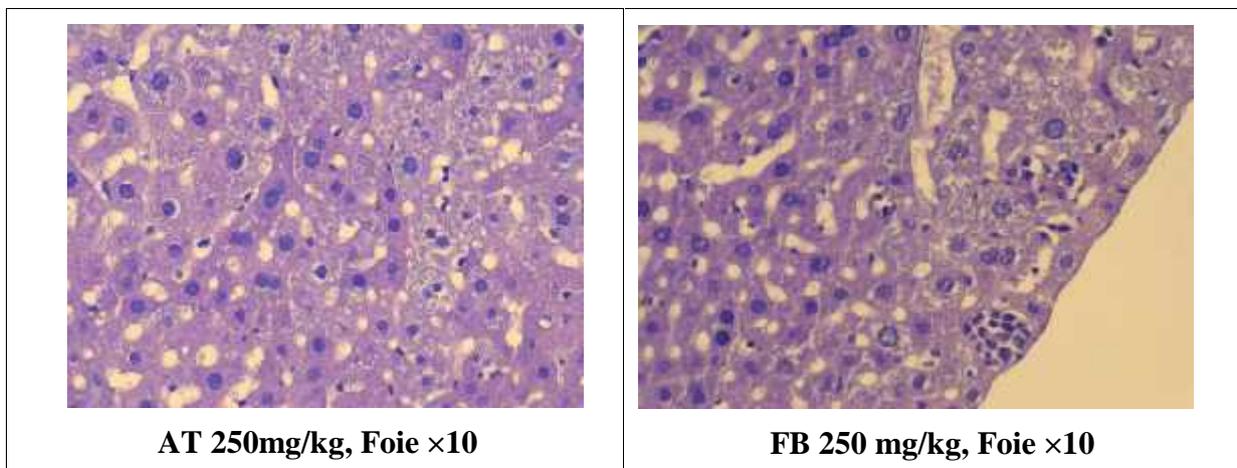


Figure 35 : Coupe histologique du tissu rénal de souris traitées par AT et FB dans les conditions de la toxicité subaiguë.

Les résultats de l'examen histopathologique sont indiqués dans les figures (29, 30, 31, 32, 33, 34, 35). D'après ces résultats, on a remarqué que les foies des souris mâles et femelles témoins sont normaux avec des petits amas de polynucléaires. Même aspect a été obtenu chez les souris traitées par (FN). Par contre les souris traitées par les extraits (AT, FA et FB) présentent des modifications dégénératives.

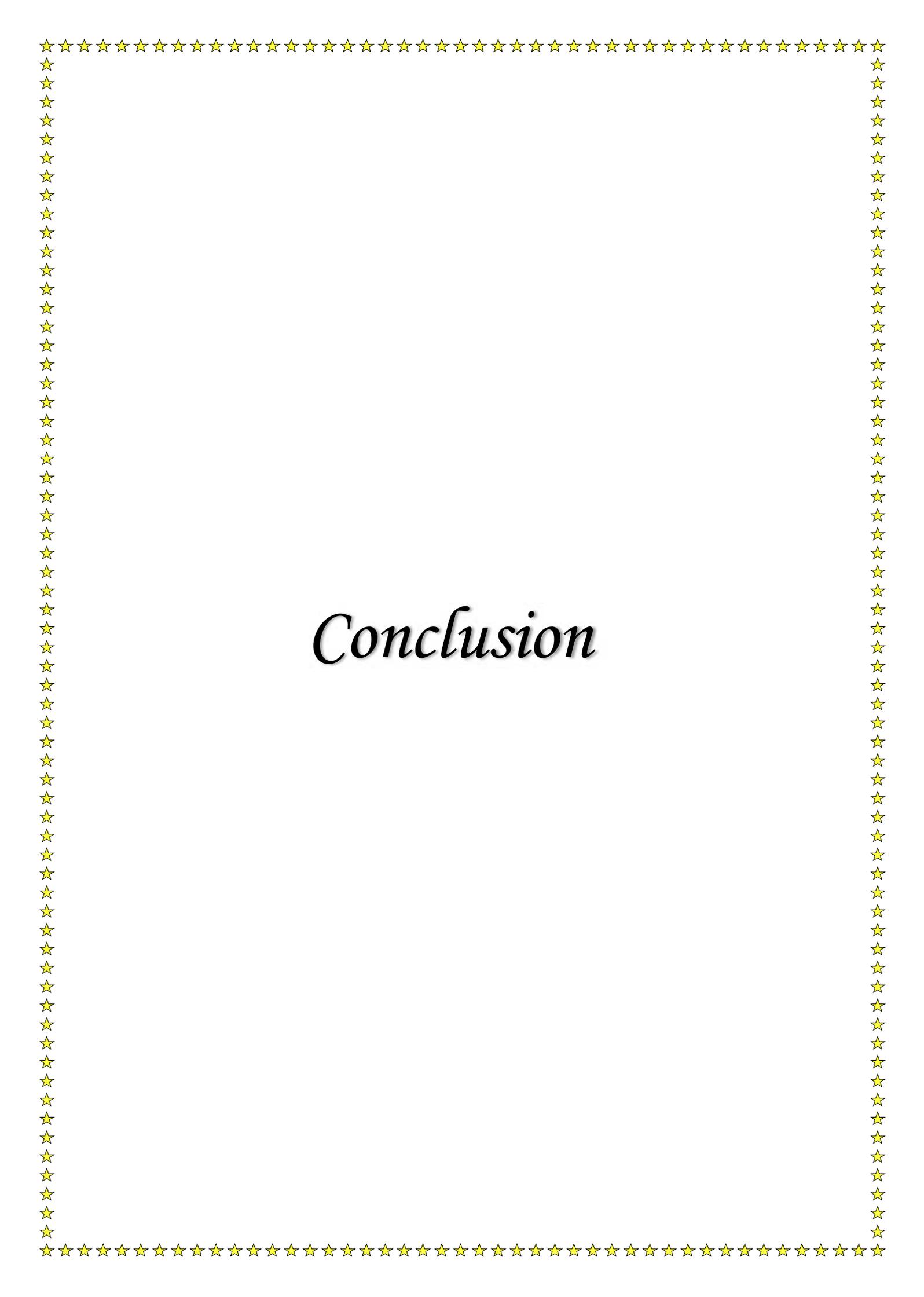
En effet, on a remarqué que les souris traitées par (AT) avec une dose de 1000mg/kg présentent une architecture partiellement effacée du tissu hépatique, une souffrance cellulaire et les veines marquent des congestions vasculaires (Figure 30). Les souris traitées par (AT) avec une dose de 500mg/kg présentent de rares amas de lymphocytes polynucléaires neutrophiles en periveine centrolobulaire (Figure 32). Ces altérations expliquent souvent l'augmentation du volume du foie et l'amaigrissement de l'animal (**Rasheed et al.,2009**). Ces résultats ont démontrés des cas semblables chez les souris *Albinos* après administration de l'extrait alcaloïdique de *Fumaria officinalis*.

Les souris traitées par (FA et FB) avec une dose de 1000 mg/kg ont montré la présence des foyers de polynucléaires neutrophiles et des congestions. A 500mg/kg, les souris ont montré des plages de souffrances cellulaires et de petite congestion.

Toutefois, les résultats indiquent qu'il n'y a pas encore de mort cellulaire mais une nécrose centrolobulaire débutante qui peut mener à long terme à la mort cellulaire.

Les reins des souris témoins des deux sexes montrent des glomérules et des tubules normaux, même aspect a été observé chez les souris traitées par (FN). Cependant, les reins des animaux traités par les extraits (AT, FA et FB) ont démontrés des modifications histopathologies chez les deux sexes caractérisés par des congestions et des nécroses tubulaires et des abcès rénales. A 250mg/kg pour tous les groupe de souris traité sont comparable à ceux des témoins et ceux traité par FN.

Ces anomalies dans le foie et le tissu rénal pourraient être due à la présence des alcaloïdes toxiques de *Fumaria officinalis* qui ont été administrés aux souris.



Conclusion

CONCLUSION

Le rôle des plantes dans la médecine traditionnelle est connu depuis fort longtemps, or, la recherche apporte les preuves scientifiques de leur efficacité, mais aussi de leur toxicité, reposant sur des données résultants de l'expérimentation *in vitro* et *in vivo*. Parmi les plantes médicinales traditionnelles il y en a celles qui peuvent être toxiques à de fortes doses ou après administration prolongée.

Notre étude s'est basée sur l'espèce *Fumaria officinalis*, qui appartient à la famille des *Fumariaceae*, une des familles les plus importantes dans la flore Algérienne et les plus utilisées par les thérapeutes traditionnelles.

Ce travail a permis l'extraction des alcaloïdes et leurs fractionnements, l'étude de la toxicité aiguë et subaiguë sur des souris *albinos Wistar*.

Les résultats obtenus ont montré que *Fumaria officinalis* est une espèce riche en alcaloïdes avec un taux de **0.52%**.

Les renseignements tirés à partir de l'ensemble des résultats obtenus dans ce travail sur les données expérimentales de la toxicité aiguë chez les souris femelles *Albinos Wistar* suggèrent de classer *Fumaria officinalis* dans la catégorie des plantes faiblement toxiques par voie orale, avec une **DL50** de **1341,11 mg/kg**. L'extrait alcaloïdique de *Fumaria officinalis* peut entraîner des symptômes de toxicité qui sont dépendantes de la dose allant d'une simple somnolence, diarrhée, des pertes d'appétit, des problèmes de respiration et faiblesse jusqu'à l'accélération du rythme cardiaque et perte d'équilibre. Ces effets pourraient être dus à la présence des alcaloïdes toxiques tels que la protopine et la cryptopine. Toutefois la toxicité subaiguë montre que l'extrait alcaloïdique de *Fumaria officinalis* défavorise la croissance normale des souris mâles et femelles.

L'observation histologique s'est caractérisée par la présence des altérations structurales du foie et du rein.

CONCLUSION

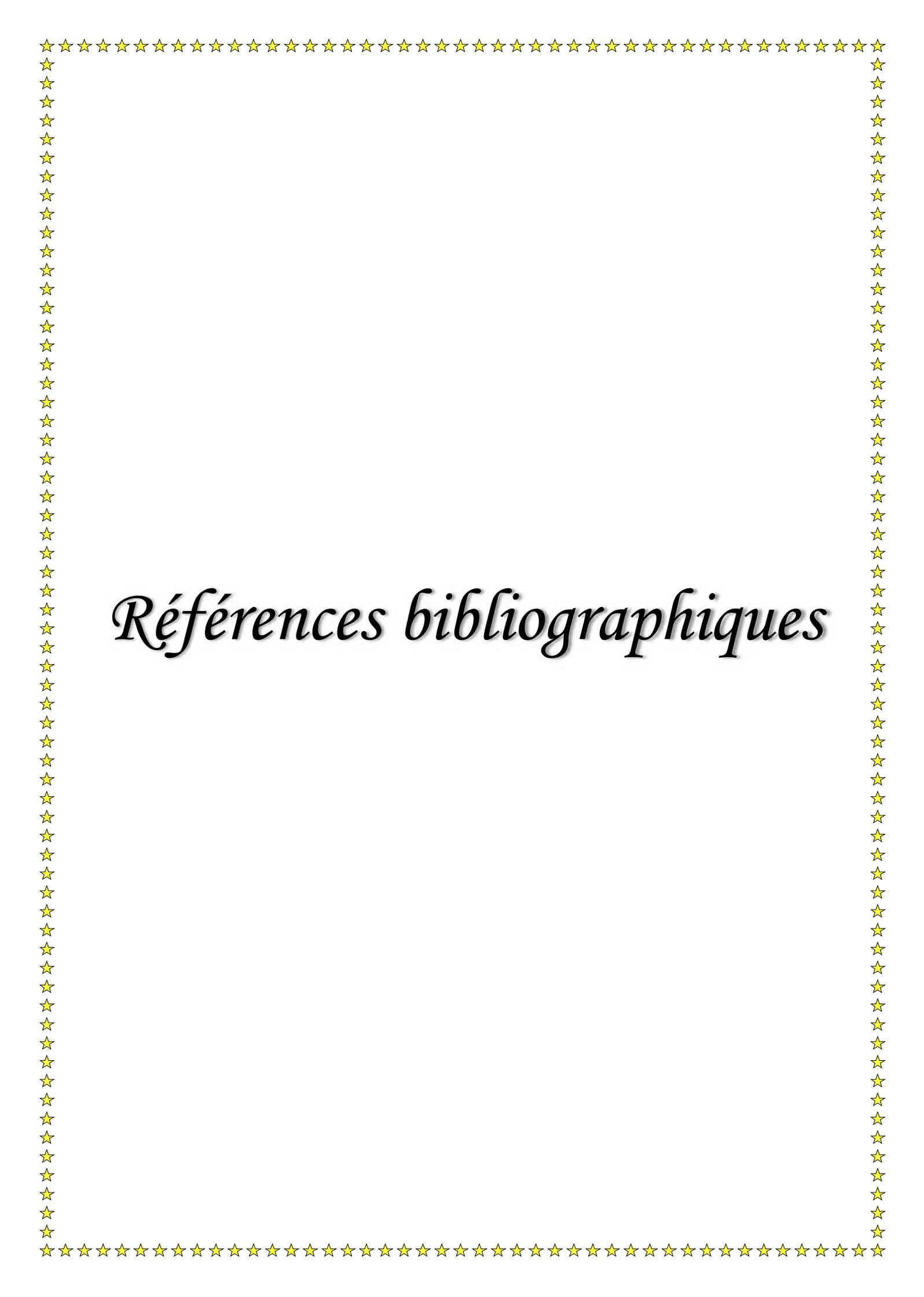
L'ensemble des résultats obtenus *in vivo* nous ont permis d'avoir une idée sur la toxicité de *Fumaria officinalis*, mais d'autres études plus poussées sont souhaitables.

En perspectives,

Ce travail est une étape préliminaire pour des études plus larges, plus approfondies et plus accomplies incluant:

- Des études de toxicité chronique sur *Fumaria officinalis*, afin de déterminer les effets à long terme;
- Des tests complémentaires de toxicité sur *Fumaria officinalis* par d'autres voies que la voie orale;
- Un isolement des alcaloïdes de cette plante et leurs applications dans des essais de toxicité pour une identification plus précise du principe actif toxique de cette espèce.

Des études pharmacologiques et toxicologiques à grande échelle sont nécessaires pour la production des molécules naturelles actives et pour une modération de sécurité dans l'utilisation de cette plante.



Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

« A »

Adelon, M.M., Béclard, B., Breschet, C., Cloquet, H., Cloquet, J., Coutanceau, D., Ferrus, G., Guersent, L., Beauvais, L. et al.(1824), Dictionnaire de médecine, Paris, Libraire de L'Académie Royale de médecine, place de l'Ecole de médecine.

Audigié, C., Figarella, J., Zonszain, F. (1978). *Manipulation d'analyse biochimique*. Paris : Doin. 247p.

« B »

Baliga, M.S., Jagetia, G.C., Ulloor, J.N., Baliga, M.P., Venkatesh, P., Reddy, R., Rao, K.M., Baliga, B.S., Devi, S., Raju, S.K., Veeresh, V., Reddy, T.K., Bairy, K.L.(2004). The evaluation of the acute toxicity and long term safety of hydroalcoholic extract of *Sapthaparna (Alstonia scholaris)* in mice and rats. *Toxicology Letters*, 151: 317–326.

Bayer, E. Buttler, K.P., Finkenzeller, X., Gran, J. (2005). *Guide de la flore méditerranéenne*. Paris : Delachaux et Niestlé. 34 p.

Benkhniq, O., Zidane, L., Fadli, M., Elyacoubi, H., Rochdi, A. and Douira, A . (2010). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). *Acta Botanica Brasilica* , (53): 191-216.

Bismuth, C., Baud, F., Fréjaville, P.P., Garnier, R. (1987). *Toxicologie clinique*. Paris : Flammarion Médecine Sciences. 956p.

Bonnet, D., Mejdoubi, S., Sommet, A. et Alric, L. (2007). Hépatite aigue probablement imputable à la fumeterre et à la vigne rouge, produits de phytothérapie. *Gastroentérologie clinique et biologique*, (31) : 1041-1042.

Bribi, N., Bouguezza, Y., Maiza-benabdesselam, F. (2013). Evaluation of Erythrocytes Toxicity and Antioxidant Activity of Alkaloids of *Fumaria Capreolata*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4 (2): 770 – 776.

Bruneton, J. (1987). *Elément de phytochimie et de pharmacognosie*. Paris : Technique et Documentaire Lavoisier. 345p.

Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales*. Paris : Technique et Documentaire Lavoisier. 784-800p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bruneton, J. (2009). Alcaloïdes. In : *pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales*. Paris : Technique et Documentaire Lavoisier. 1067-1068p.

« C »

Couplan, F. (2007). *Reconnaitre facilement les plantes par l'odorat, le gout, le touché*. Paris : Institut national de la recherche agronomique. 233p.

« D »

Dellile, L. (2007). *Les plantes médicinales d'Algérie*. Alger: Berti.120-121p.

Derbré, S., Leclerc., V.M. (2013). Prise en charge alternative des dyspepsies. *Thérapeutiques alternatives*, 52 (527):52-55.

Dewick, P.M. (2002). *Medicinal Natural products*. England: *International Standard Book Number*. 315-346 p.

Diallo A., 2005. *Etude de la phytochimie et des activités biologiques de Syzygium guineense Willd (Myrataceae)*, Thèse de doctorat, Université de Bamako, 99p.

« F »

Farzana, A. (1997). Isolation and structural studies on the chemical constituent of withania somnifera, Fumaria flabellalta and xray diffraction studies, 106-107p.

Fintelmen, V. and Weiss, R.F. (2002). *Manuel pratique de phytothérapie*. Paris: Masson.417p.

Folz C.J. and Ullman-Culleré M.H. (1999). Body condition scoring: a rapid and accurate method for assessing health status in mice. *Laboratory Animal Science*, 49 (3):319-323.

« G »

Ganong,W. (2005). *Physiologie médicale*. France : Amazon France. 849 p.

Gilles, G. (2004). *Notions de Toxicologie*. Québec : Commission de la Santé et de la Sécurité du Travail du Québec. 67 p.

Goetz, P., Ghedira, K., Le Jeune, R. (2009). Fumaria officinalis L (Fumariaceae). *Matière médicale pratique*, (7) :221-225.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Guignard, J.L. (2000). *Abrégé de biochimie végétale*. Paris : Masson. 201-209p.

« H »

Hannon, M.J. (1852). *La presse médicale*. Bruxelles: Bureau Bruxelles .347p.

Harborne, J.B., Herbert, B. (1995), *Phytochemical Dictionary, A Handbook of bioactive Compounds from plants*, Bristol, Taylor & Francis.

Hilaly, J.E., Israili, Z.H., Lyouss, B., 2004. Acute and chronic toxicological studies of *Ajuva Iva* in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 91: 43–50.

Hodge, H.C.and Sterner, J.H. (1949).Tabulation of Toxicity Class. *Americans Industrial Hygien Association Quarterly*, 10(4):93-96.

Hohenegger, M., Vermes, M., Sadjak, A., Egger, G., Supanz, S., Erhart, U. (1989). Nephrotoxicity of fumaric acid mono ethyl ester (FAME). *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 252: 265-272.

Holmberg, B., Högberg, J., Johanson, G. (2000). La Toxicologie. Définitions et Concepts. In *Encyclopédie de Sécurité et de Santé au Travail*. Organisation Internationale du Travail, Genève.

« J »

Janzein, P. (1995). *Flore des champs cultivés* .Paris : Sopra. 553 p.

« K »

Kerharo, J. et Adam, J.M. (1974). *La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques*. Paris : Vigot frères.623-625p.

« L »

Lauwerys, R.R. (2003). *Toxicologie industrielle et intoxication professionnelles*, Paris : Masson. 12p.

Lagnika, L. (2005). *Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes Béninoises*. Thèse de doctorat, Sciences Pharmaceutiques, Université Louis Pasteur, p280.

Lambert, J.P. (2001). Des interactions médicamenteuses « naturelles ». *La pharmacopée des produits en vente libre*, (36) :57-63p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Lieutaghi, P. (2016). « FUMETERRE », *Encyclopædia Universalis*, France, [http://www.universalis.fr/encyclopedie/fumeterre .htm](http://www.universalis.fr/encyclopedie/fumeterre.htm) (page consulté le 25 janvier 2016).

Lu, F.C. (1992). *Toxicologie : Données générales, procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque*. Paris : Masson. 360 p.

« M »

Mukinda, J.T., Syce, J.A., 2007. Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 112 : 138–144.

« O »

OCDE. (2008). Étude de toxicité orale à dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs. In : *Lignes directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques*. Paris : OCDE. P. 1-14.

OCDE. (2009). Études de toxicité chronique. In : *Lignes directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques*. Paris : OCDE .P.1-16.

OCDE. (1979). Résumé des considérations du rapport des groupes d'experts de l'OCDE sur la toxicologie à court et à long terme. In : *Lignes directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques*. Paris: OCDE.P. 1-15.

Oliver J. A. (1986). Opportunities for using fewer animals in acute toxicity studies. In *Chemicals Testing and Animal Welfare (The National Chemicals Inspectorate)*. Sweden : Solna.P. 119-142.

« P »

Paris, R et Moyses, M. (1965). *Précis de matière médicale*, Paris: Masson. 412 p.

« R »

Rasekh, H.R., Nazari, P., Kamli-Nejad, M., Hosseinzadeh, L. (2008). Acute and subchronic oral toxicity of *Galega officinalis* in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 116: 21-26.

Rasheed,S., Tahir, M, Sami,W., Munir,B. (2009).Histological effects of Eugenia Jambolana extract on liver of adult Albinos rats. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 21(1), 148-151.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Raza, M., Al-Shabanah, O.A., El-Hadiyah, T.M., Al-Majed, A.A. (2002). Effect of prolonged vigabatrin treatment on hematological and biochemical parameters in plasma, liver and kidney of Swiss albino mice. *Scientia Pharmaceutica*, 70 :135–145.

Ruckebusch, Y. (1981). *Physiologie, pharmacologie, thérapeutique animales*. Paris : Maloine .380p.

« S »

Suau, R., Cabezudo, B., Rico, R., Lopez-Romero, J.M. and Najera, F. (2002). Alkaloids from *Fumaria sepium* and *Fumaria agraria*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30: 263-265.

Skalli, S., Zaid, A., Soulaymani, R. (2007). Drug interactions with herbal medicines: *Therapeutics drug monitoring*, 29 (6): 679-687.

Schnebelen, B.A., Goetz, P., Grassart, E., Hunin, M., Iserin, P., Jacquemin, M., Lejeune, R., Leroux, J., Martin, G., Paris, M et al. (2008). *Les plantes médicinales*. Canada : sélection du Reader's Digest (2). 226p.

Spach, E. (1839). *Histoire naturelle des végétaux : phanérogames* [en ligne]. Paris : librairie encyclopédique de Roret. 444p. <https://books.google.dz/encyclopedie/fumeterre .htm> (page consulté le 25.02.2016).

Srivastava, S., Choudhary, G.P. (2014). Pharmacognostic and pharmacological study of *Fumaria vaillantii* Loisel. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3 (1) : 194-197.

« T »

Tuçe, F.E. (2009). Brine Shrimp Lethality Bioassay of *Fumaria densiflora* Dc. and *Fumaria officinalis* L. Extracts. *Journal of the Faculty of Pharmacy*, 28 (2): 125-132.

Tron, I., Piquet, O., Baert, A., Mouton, C. (2002). *Toxon Manuel de Toxicologie*. Guide technique. ADEME: Angers. 128p.

« U »

Uday, R., Surendra, V., Divakar, G. (2014). Evaluation of Analgesic activity of Ethanolic extracts of *Fumaria officinalis* Linn. in experimental animals. *Journal of fundamental pharmaceutical research*; 2 (1): 49-56.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

« V »

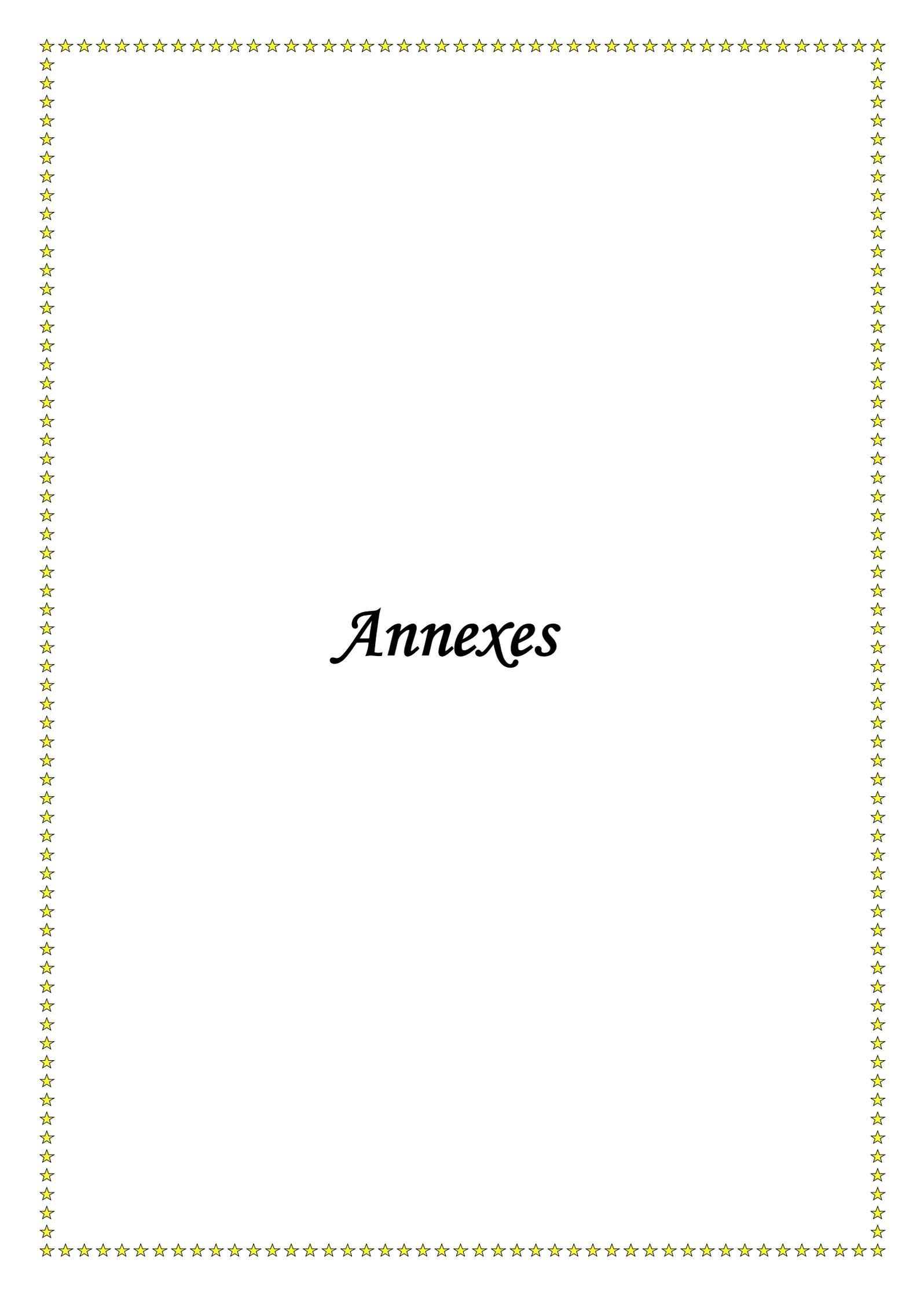
Verba,J.,Vrublova, E., Modriansky,M. and Ulrichova,J. (2011). Protopine and allocryptopine increase Mrna levels of cytochrom P450 1 A in humain hepatocytes and HepG2cells indepently of AhR. *Toxicology Letters*, 203: 135-141.

Viau, C.and Tardif,R.(2003). Toxicologie. *In : Environnement et santé publique –fondements et pratiques*. Paris.119-143.

Vercauteren J. (2011) *Cours de Pharmacognosie Générale*. Université Montpellier I. 318p.

« W »

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



Annexes

Annexe 1 : Le Matériel et les produits utilisés pendant la partie pratique

1-Matériels

- Agitateur ;
- Ampoule à décanter ;
- Balance analytique RADWAG ;
- Balance de précision RADWAG ;
- Ballons ;
- Bêchers ;
- Boîtes de pétries ;
- Cristalliseur ;
- Epanoisseur ;
- Eprouvettes ;
- Etuve WTC binder ;
- Gants chirurgicaux ;
- Micropipette 100-1000 μ l ;
- Papier absorbant ;
- Papier aluminium ;
- Papier filtre Wattman ;
- Paraffine ;
- PH mètre HANNA ;
- Pissette ;
- Soxhlet Gerhardt ;
- Spatule ;
- Seringues ;
- Tamis magnétiques ;
- Tubes à essais ;
- Trousse à dissection contenant, des aiguilles, des pinces hémostatiques, la paire de ciseaux fins, de gros ciseaux, aiguilles de fixation ect.

2-Les produits

- Ammoniac ;
- Acide acétique ;
- Chloroforme ;
- Dichlorométhane ;
- Diéthyl éther ;
- Ethanol « C₂H₆O » ;
- Eau distillé « DH₂O » ;
- Eau physiologique ;
- Méthanol « MeOH » ;
- Xylène.

Annexe 2

Tableau : Échelle de Hodge et Sterner

DL₅₀ orale (rat)	Indice de toxicité
Jusqu'à 1 mg/kg	Extrêmement toxique
De 1 à 50 mg/kg	Hautement toxique
De 50 à 500 mg/kg	Modérément toxique
De 500 à 5 000 mg/kg	Légèrement toxique
De 5 000 à 15 000 mg/kg	Presque pas toxique
Plus de 15 000 mg/kg	Relativement inoffensif

ANNEXES

Annexe3 : Médicaments au statut AMM commercialisés ou valides (formes solides et liquides) (Goetz et al. 2009).

Formes solides	
Laboratoires	Médicaments
Laboratoires Arkopharma (AMM: valide)	<p>Actibil[®] : Composition pour une gélule :160mg titrant 0,5% en protopine de partie aérienne fleurie de fumeterre.</p> <p>Arkogélules fumeterre[®]:flacon PVC brun de 45 gélules. Composition pour une gélule :220mg titrant au minimum 0,5% en protopine de partie aérienne fleurie de fumeterre</p>
Laboratoires Lehning	<p>Depuratum[®]:6 plaquettes thermoformées PVC-aluminium de 10 gélules.</p> <p>Composition pour une gélule: 38,25 mg de partie aérienne fleurie de fumeterre et genièvre, rhapontic, bouleau, romarin, thym, arrête-bœuf.</p>
Laboratoires Pierre Fabre	<p>Elusanesfumeterre[®]:Naturactive flacon polyéthylène haute densité(PEHD) de 30 gélules.</p> <p>Composition pour une gélule :200 g d'extrait sec de partie aérienne fleurie de la fumeterre.</p>
Coopération pharmaceutique française	<p>Oddibil[®]: Plaquette thermoformée PVC-Aluminium de 40 comprimés.</p> <p>Composition pour un comprimé:250 mg d'extrait sec de partie aérienne fleurie de fumeterre.</p>
Laboratoires Pierre Fabre (AMM valide)	<p>Phytelia digestion[®]:Naturactive.</p> <p>Composition pour un comprimé :75 mg d'extrait sec de fumeterre et boldo, artichaut.</p>

ANNEXES

Forme liquide	
Laboratoire	Médicament
Pharmacie et laboratoires de l'Homme de fer	Azema[®] : 20 sachets-doses papier de 2g. Composition pour un sachet-dose de 2g : 100 mg de fumeterre et boldo, menthe poivrée, mélisse, kinkéliba, coriandre, frêne, tilleul.
Laboratoires Gabriel Lesourd	Bolcitol[®] : Flacon en verre brun de 125 ml. Composition pour 100ml: 5,4g d'extrait fluide de partie aérienne de fumeterre et boldo, sauge officinale, fenouil doux.
Laboratoires diététique et santé (AMM valide)	Boribel n° 7 biliaire[®] Composition pour un sachet dose de 2 g: 0,4 g de fumeterre et angélique, boldo, romarin. Composition pour 100 de mélange de plantes pour tisane: 20g de fumeterre et angélique, boldo, romarin.
Laboratoires diététique et santé (AMM valide)	Boribel n° 10 depurative[®] Composition pour un sachet-dose de 2g : 0,4g de partie aérienne fleurie de fumeterre et solidage, maïs, grande bardane, pissenlit. Composition pour 100g de mélange de plantes pour tisane: 20g de partie aérienne fleurie de fumeterre et solidage, maïs, grande bardane, pissenlit.
Société de diffusion de promotion et de communication	Dépuratif parnel[®] : Flacon en verre jaune brun de 150ml. Composition pour 100g de sirop: 2g d'extrait fluide de partie aérienne de fumeterre et grande bardane, pensée sauvage, saponaire.

Annexe 3

Les différentes étapes de calcul de la DL50

A. Introduire les valeurs de dose-effet pour chaque animal

Colonne 1. Les étapes sont numérotées de 1 à 15. Un maximum de 15 animaux peuvent être testés.

Colonne 2. Inscrire un I dans cette colonne pour chaque animal testé.

Colonne 3. Inscrire la dose reçue par l'ième animal.

Colonne 4. Inscrire un X si l'animal a réagi et un O si l'animal n'a pas réagi.

B. Tailles nominale et réelle de l'échantillon

La taille nominale de l'échantillon est constituée par les deux animaux qui forment la première inversion.

Colonne 5. Indique si un animal donné est inclus ou pas dans l'échantillon nominal.

La taille nominale de l'échantillon (n nominal) figure à la 16ème ligne. Le nombre total d'animaux réellement testés est mentionné à la 17ème ligne.

C. Estimation brute de la DL50

Rappelons que la moyenne géométrique de n nombres est le produit de n nombres élevé à la puissance $1/n$.

L'estimation fondée sur la moyenne des doses apparaît à la ligne 18 (par exemple $(970*1290*...*2000)^{1/8} = 1340,43$)

La Ligne 19 donne le logarithme décimal de la valeur mentionnée à la ligne 18 (par exemple, $\log_{10}1340.43 = 3,13$).

D. Probabilité de l'estimation brute de la DL50

Calculer dans la colonne 8 la probabilité de l'estimation brute de la DL50 pratiquée à l'étape C.

La probabilité (ligne 21) est le produit des contributions à la probabilité de chaque animal. La contribution du ième animal à la probabilité est notée L_i .

Reporter dans la colonne 7 l'estimation de la probabilité notée P_i de réaction à la dose d_i . P_i est calculé à partir de la courbe dose-effet. Notons que les paramètres d'une courbe dose-effet probit sont la pente et la DL50 et qu'il faut donc assigner des valeurs à ces

ANNEXES

paramètres. Pour la DL50, on utilise l'estimation fondée sur la moyenne des doses mentionnée à la ligne 18.

En ce qui concerne la pente, on applique dans cet exemple la valeur par défaut, à savoir la probabilité de réaction, P , peut être calculée suivant les étapes ci-dessous.

1. Calculer le logarithme décimal de la dose d_i (colonne 6).
2. Pour chaque animal, calculer le score z , noté Z_i (ne figurant pas dans le tableau), en appliquant les formules :

$$= 1/\text{pente}$$

$$Z_i = (\log_{10}(d_i) - \log_{10}(DL50)) /$$

Par exemple, pour le premier animal (Ligne 1),

$$= 1/8$$

$$Z_1 = (2,986 - 3,127) / 0,125 = -1,128$$

3. Pour la i ème dose, la probabilité estimée de réaction est égale à $P_i = F(Z_i)$ où F représente la fonction de distribution cumulée pour la distribution normale type (c'est-à-dire la distribution normale dans laquelle la moyenne est égale à 0 et la variance à 1). Par exemple (ligne 1),

$$P_1 = F(-1,128) = 0.1314$$

La fonction F (ou quelque chose de très proche) représente généralement la distribution normale dans les tableaux statistiques.

Colonne 8. Calculer le logarithme népérien de la contribution à la probabilité ($\ln(L_i)$). L_i est simplement la probabilité de réaction qui a réellement été observée sur le i ème animal :

$$\text{Animaux ayant réagi : } \ln(L_i) = \ln(P_i)$$

$$\text{Animaux n'ayant pas réagi : } \ln(L_i) = \ln(1 - P_i)$$

Notons que le logarithme utilisé ici est le logarithme népérien, contrairement aux autres étapes qui font appel au logarithme décimal. Ces choix sont dictés par ce que l'on attend généralement dans un contexte donné.

Les étapes décrites ci-dessus sont répétées pour chaque animal. Finalement :

Ligne 20 : additionner les logarithmes des contributions à la probabilité de la colonne 8.

Ligne 21 : calculer la probabilité en appliquant la fonction exponentielle à la valeur logarithmique obtenue à la ligne 20.

$$\text{Ainsi, par exemple, } \exp(-3.3878) = e^{-3.3878} = 0,0338.$$

E. Calculer les probabilités pour deux valeurs de doses, l'une supérieure et l'autre inférieure à l'estimation brute

Comparer la probabilité de l'estimation basée sur la moyenne des doses (1340,43, ligne 18) aux valeurs différentes d'un facteur 2,5 de cette valeur (à savoir, $1340,43 \times 2,5$ et $1340,43/2,5$). Les calculs exposés dans les colonnes 9 à 12 sont effectués de la même manière que ceux décrits plus haut, si ce n'est que les valeurs 536,17 ($= 1340,43/2,5$) et 3351,07 ($= 1340,43 \times 2,5$) ont été utilisées pour la DL50, à la place de la valeur 1340,43. Les probabilités et leurs logarithmes sont mentionnés aux lignes 20 et 21.

F. Calculer les rapports de probabilité

Deux rapports de probabilité (ligne 22) sont calculés à partir des trois valeurs de probabilité

(Ligne 21). Le rapport de probabilité sert à comparer le soutien statistique à l'estimation s'élevant à 1340,43 au soutien statistique à chacune des deux autres valeurs, à savoir 536,17 et 3251,07. Les deux rapports de probabilité sont donc :

$LR1 = [\text{probabilité attribuée à la valeur } 1340,43] / [\text{probabilité attribuée à } 536,17] = 0,0338/1,39 \times 10^{-11} = 2,43 \times 10^9$ et $LR2 = [\text{probabilité attribuée à la valeur } 1340,43] / [\text{probabilité attribuée à } 3251,07] = 0,0338/3,25 \times 10^{-10} = 1,04 \times 10^8$.

G. Vérifier si les rapports de probabilité dépassent la valeur critique

Des rapports de probabilité élevés traduisent un soutien relativement élevé à l'estimation ponctuelle de la DL50. Les deux rapports de probabilité calculés à l'étape F ($2,43 \times 10^9$ et $1,04 \times 10^8$) dépassent la valeur critique du rapport de probabilité, à savoir 2,5. Par conséquent, le critère d'arrêt fondé sur les rapports de probabilité est satisfait et l'essai s'achève là. C'est signalé par la mention "VRAI" dans la Ligne 24 et par une petite note en haut du tableau (exemple) indiquant que le critère fondé sur les rapports de probabilité a été rempli.

ANNEXES

Annexe 4 : la feuille de calcul du logiciel de l'OCDE pour la ligne directrice 425.

The screenshot displays the AOT425StatPgm software window. The title bar reads "AOT425StatPgm". The menu bar includes "New Test", "Load Data", "Save Data", "Get Report", "Options", "About AOT425", and "Exit".

Test parameters are set as follows:

- Test / Substance: Détermination de la DL50 des alcaloïdes de *Fumaria officinalis*
- Test Type: Main
- Limit Dose: 2000
- Assumed values at start of the main test: LD50: Default, Sigma: 0.125

Test Seq.	Animal ID	Dose mg/kg	Short-term Outcome	Long-term Outcome	Program's Data Entry Messages
1		1 970	O	O	
2		2 1290	O	O	
3		3 2000	X	X	
4		4 1290	X	X	
5		5 970	O	O	
6		6 1290	O	O	
7		7 2000	X	X	
8		8 1290	X	X	
9		9 970	O	O	
10		Stop Dosing			
11					
12					
13					
14					
15					

The main test is complete.
Stopping criteria met: LR criterion.
Estimated LD50 = 1341 (The one dose with partial response), 95% PL Confidence interval is 1118.1 to 1864.

Résumé

Fumaria officinalis appelée communément « Zalamit » est une plante de la famille des *Fumariaceae*, très répandue en Algérie. Dans la présente étude le rendement de l'extraction de cette plante par le méthanol et l'éthanol en matière sèche est respectivement de **0.52%** et **0.50 %** en utilisant l'extracteur de Soxhlet. Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par macération.

L'étude de la toxicité aiguë chez les souris femelles *Albinos wistar* traitées par des doses croissantes (970, 1290, 1750 et 1000mg/kg) des alcaloïdes de *Fumaria officinalis* par voie orale a montré des symptômes graves de toxicité présentés par des problèmes respiratoires, des tremblements, comas, et des paralysies entraînant la mort. La DL_{50} est de **1341.11mg/kg** obtenue par la méthode d'ajustement des doses. Selon les résultats obtenus, *Fumaria officinalis* pourrait être classée dans la catégorie des plantes faiblement toxiques, toutefois l'étude de la toxicité subaiguë a révélé des perturbations dans la croissance normale des animaux ainsi que des altérations hépatiques et rénales.

Mots clés : *Fumaria officinalis* (L.), alcaloïdes, toxicité aiguë, toxicité subaiguë.

Abstract

Fumaria officinalis, commonly called "Zalamit" is a plant of the family *Fumariaceae* very answered in Algeria. In this study the yield of the extraction of this plant by methanol and ethanol in dry matter content is 0.52% and 0.50% respectively using Soxhlet extractor. These results were higher than that obtained by maceration.

The study of acute toxicity in mice female *Albino wistar* treated with increasing doses (970, 1290.1750 and 1000 mg / kg) alkaloids *Fumaria officinalis* orally showed serious symptoms of toxicity presented by respiratory problems, tremors, coma, and paralysis leading to death. The LD50 was: 1341.11mg / kg doses by the adjustment method. According to the results, *Fumaria officinalis* could be classified as low-toxic plants, however, the study of subacute toxicity revealed disturbances in the normal growth of animals as well as liver and kidney damage.

Keywords: *Fumaria officinalis*, alkaloids, acute toxicity, subacute toxicity.

بقلة الملك، ويطلق عليه "Zalamit" هو نبات من العائلة *Fumariaceae* جدا في الجزائر. في هذه الدراسة العائد من استخراج هذا النبات الميثانول والايثانول في محتوى المادة الجافة هو 0.52 0.50 .soxhlet وكانت هذه النتائج أعلى من تلك التي حصلت عليها .

دراسة السمية الحادة في إناث الفئران البيضاء *wistar* تعامل مع زيادة جرعة (970 1290 1750 1000 ملغ / كلغ) قلويدات بقلة الملك أظهر أعراض خطيرة مشاكل في الجهاز التنفسي، والهزات، والغيبوبة، وال كغ جرعة من طريقة التعديل. ووفقا للنتائج، يمكن تصنيف *Fumaria* في النمو الطبيعي للحيوانات وكذلك الكبد والكليتين.

: قلويدات السمية الحادة، سمية تحت الحاد.