

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie Physico-Chimique**  
**Filière : Biologie**  
**Option : Génétique appliquée**



**Réf :.....**

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

## **MASTER**

### *Thème*

**Etude de l'activité anti-  
inflammatoire intestinale d'une  
plante médicinale locale**

Présenté par :

**AFENAI Safia & MAJOR Fatma Zohra**

Soutenu le : **21 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

M<sup>me</sup> KHETTAL B.

M<sup>r</sup> BRIBI N.

M<sup>me</sup> SAADAOUI-BOUGOFFA K.

MCA

MCB

MCB

Présidente

Encadreur

Examinatrice

**Année universitaire : 2016 / 2017**

# Remerciements

Nous remercions tout d'abord ALLah - notre créateur - pour nous avoir guidé et apporté de l'aide tout au long de notre vie

Nous tenons à remercier nos parents, qui nous ont aidé dans tous les domaines, qui ont supporté nos caprices. Sans vous, jamais nous n'avions abouti à quoi que se soit

Nos remerciements s'adressent à Mr BRIBI aussi; à messieurs et mesdames le jury pour avoir accepté de juger notre mémoire, Dr KHETTAL et Dr BOUGOFFA, nous sommes sûres que leurs remarque et leurs interventions éclaireront nos chemins durant nos carrières.

Enfin mais pas en dernier, nous remercions nos amis et tous ceux qui nous ont apporté leur aide, de près ou de loin, afin de réaliser notre projet de fin d'études.

# Dédicaces

À nos parents, les êtres les  
plus chers à nos yeux .

À nos frères et sœurs, nos  
alliés avec qui nous  
partageons nos vies ..

À nos amis, les personnes  
qui nous tiennent à cœur ..

Merci d'être là, nous vous  
dédions notre humble travail.

*Sofie, mima*

# *Sommaire*

<i>Liste des abréviations</i>		<i>I</i>
<i>Liste des figures</i>		<i>II</i>
<i>Liste des tableaux</i>		<i>III</i>
Introduction .....		1
<b><i>Chapitre I: Synthèse bibliographique</i></b>		
I-1.	Généralités sur les Fumariacées .....	2
I-2.	Les alcaloïdes .....	3
I-2.1.	Fonction des alcaloïdes .....	3
I-2.2.	Propriétés physico-chimiques .....	3
I-2.3.	Propriétés pharmacologiques et activités biologiques .....	4
I-2.4.	Biosynthèse des alcaloïdes.....	5
I-2.5.	Classification .....	5
I-2.6.	Les alcaloïdes isoquinoléines.....	7
I-3.	La réaction inflammatoire .....	8
I-4.	Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin .....	9
I-4.1.	La maladie de Crohn .....	10
I-4.2.	La recto-colite-hémorragique .....	10
I-4.3.	Facteurs impliqués dans les maladie inflammatoires intestinales .....	11
I-4.4.	La barrière épithéliale .....	12
<b><i>Chapitre II: Matériel et méthodes</i></b>		
II-1.	Matériel .....	14
II-1.1.	Matériel végétal .....	14
II-1.2.	Matériel biologique .....	14
II-1.3.	Matériel et réactifs .....	15

II-2.	Méthodes .....	15
II-2.1.	Séchage et broyage .....	15
II-2.2.	Extraction des alcaloïdes de la plante médicinale locale du genre <i>Fumaria</i> .....	16
II-2.3.	Évaluation de la toxicité aiguë .....	18
II-2.4.	Étude de l'activité anti-inflammatoire intestinale .....	19
II-2.4.1.	Induction de l'inflammation colique par l'acide acétique .....	19
II-2.4.2.	Évaluation des dommages causés par la colite .....	20
II-4.2.1	Étude histologique	20
II-2.5.	Étude statistique .....	23
<b><i>Chapitre III: Résultats et discussion</i></b>		
III-1.	Collecte, séchage et extraction .....	24
III-2.	Taux d'extraction des alcaloïdes de <i>Fumaria</i> .....	24
III-3.	Étude de la toxicité aiguë .....	24
III-4.	Étude de l'activité anti inflammatoire intestinale .....	27
Conclusion .....		37
<i>Référence bibliographique</i>		
<i>Annexe</i>		
<i>Glossaire</i>		

## Liste des abréviations

<b>AA :</b>	Acide Acétique.
<b>ADN:</b>	Acide désoxyribonucléique.
<b>AF:</b>	Alcaloïde de <i>Fumaria</i> .
<b>ARNm:</b>	Acide ribonucléique messager.
<b>CARD15:</b>	Caspase Recruitment domain-Containing protein 15.
<b>CAT:</b>	Catalase.
<b>COX-2:</b>	Cyclo-oxygénase-2.
<b>DAI:</b>	Disease Activity Index.
<b>DEX:</b>	Dexametasone.
<b>DL50:</b>	Dose létale médiane.
<b>ICAM-1:</b>	InterCellular Adhesion Molecule-1.
<b>IkB:</b>	Inhibitor kappa cellules B.
<b>IL:</b>	Interleukine.
<b>iNOS:</b>	Inducible Nitric Oxide Synthase.
<b>MC:</b>	Maladie de Crohn.
<b>MDA:</b>	Malondialdehyde.
<b>MICI:</b>	Maladies Inflammatoires Chroniques Intestinales.
<b>MUC-2:</b>	Mucine 2.
<b>NF-κB:</b>	Nuclear Factor kappa B.
<b>NO:</b>	Oxyde Nitrique.
<b>OCDE:</b>	Organisation de Coopération et de Développement Economique.
<b>ONAB:</b>	Office National des Aliments de Bétail.
<b>PAMPs</b>	Pathogen-associated molecular pattern.
<b>PGD2:</b>	Prostaglandine D2.
<b>PGE2:</b>	Prostaglandine E2.

<b>PPAR-<math>\gamma</math>:</b>	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma.
<b>PRR:</b>	Pattern Recognition Receptors.
<b>RCH:</b>	Rectocolite Hémorragique.
<b>ROS:</b>	Reactive Oxygene Species.
<b>Th:</b>	lymphocytes T auxiliaires.
<b>TX:</b>	Thromboxane.
<b>TLRs:</b>	Toll Like Receptors.
<b>TNF-<math>\alpha</math>:</b>	Timor Necrosis Factor alpha.
<b>SOD:</b>	Superoxyde dismutases.
<b>ZO-1:</b>	Zonula Occludens-1.

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b>	Représentation d'un noyau isoquinoléique .....	7
<b>Figure 2</b>	Différents segments du tube digestif peuvent être atteints en cas de RCH et MC, allant du rectum à l'ensemble du côlon .....	9
<b>Figure 3</b>	Localisation des atteintes intestinales dans la maladie de Crohn et la RCUH	11
<b>Figure 4:</b>	L'impact des facteurs environnementaux sur la pathogénèse des MICI .....	12
<b>Figure 5</b>	Etat des lieux de la physiopathologie des MICI .....	13
<b>Figure 6</b>	Photographie d'une plante du genre <i>Fumaria</i> .....	14
<b>Figure 7</b>	Photographie de souris albinos de souche NMRI .....	15
<b>Figure 8</b>	Appareil de Soxhlet .....	16
<b>Figure 9</b>	Protocole d'extraction des alcaloïdes de <i>Fumaria</i> .....	17
<b>Figure 10</b>	Présentation des lots et la méthode du gavage .....	18
<b>Figure 11</b>	Administration de l'acide acétique par voie rectale .....	19
<b>Figure 12</b>	Les différentes étapes de préparation des lames histologiques .....	22
<b>Figure 13</b>	Effet de AF (50;250;500 et 4000mg/kg) sur la variation du poids des souris pendant 7jours .....	25
<b>Figure 14</b>	Effet de AF ( 12.5 et 25 mg/kg) sur la variation du poids des souris. ....	27
<b>Figure 15</b>	Longueur des différents colons des lots (A). Différents aspects de l'inflammation intestinale des colons chez des souris expérimentales colitiques (B) .....	28
<b>Figure 16</b>	Effets de la fraction d'alcaloïdes totale (AF) (12,5 ; 25 mg/kg) sur l'évolution du rapport poids/longueur en mg/cm dans un modèle de souris colitique induite par l'acide acétique .....	39
<b>Figure 17</b>	Effets de la fraction d'alcaloïde totale de <i>Fumaria</i> (AF) dans la colite chez un modèle de souris induite par l'acide acétique. Sections histologiques de la muqueuse colique colorées avec de l'hématoxyline et de l'éosine (Zoom x10) .....	30
<b>Figure 18</b>	Effets de la fraction d'alcaloïde totale de <i>Fumaria</i> (AF) dans la colite chez un modèle de souris induite par l'acide acétique. Sections histologiques de la muqueuse colique colorées avec de l'hématoxyline et de l'éosine (Zoom x20) .....	31





## *Liste des tableaux*

<b>Tableau I:</b>	Solubilité des alcaloïdes dans différents solvants .....	6
<b>Tableau II:</b>	Présentation de quelques types d'alcaloïdes et leur précurseur acide aminé	6
<b>Tableau III:</b>	Taux de létalité chez des souris NMRI traitées par la fraction des alcaloïdes totaux de <i>Fumaria</i> .....	26
<b>Tableau IV:</b>	Évaluation des comportements et symptômes des souris lors de l'étude de la toxicité aigüe .....	26

## Introduction

À l'heure actuelle, la thérapie des maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) repose principalement sur l'administration de médicaments anti-inflammatoires ou immunosuppresseurs. Bien qu'ils ont montré leurs efficacités dans la plupart des cas, ces médicaments sont souvent associés à des effets secondaires néfastes qui limitent leurs utilisation à long terme (Siegel, 2011). La réponse thérapeutique à un médicament est extrêmement variable selon les individus, tant au niveau de son efficacité qu'au niveau de sa toxicité. Ces différences de réponse représentent un problème médical et de santé publique important. Les plantes médicinales peuvent être considérées comme une thérapie naturelle prometteuse pour les MICI car elles peuvent combiner l'efficacité et la sécurité (Huret *al.*, 2012). Ces dernières peuvent représenter un trésor pour la découverte de nouveaux composés actifs et pour le développement de nouveaux médicaments et des agents thérapeutiques potentiellement utiles (Romano *et al.*, 2015), *Fumaria* est l'une des plantes les plus utilisées en médecine traditionnelle Algérienne, connue pour ses propriétés antioxydantes; vasculoprotectrices; anti inflammatoire; et aussi comme dépuratif du foie, de la vésicule biliaire et du sang. En règle générale, les activités biologiques associées à ces plantes sont liées à la présence des alcaloïdes isoquinoléiniques dans leur composition, tel que stylopine et la protropine (Suau *et al.*, 2002a; Grycova *et al.*, 2007; Maiza, *et al.*, 2007). Ces alcaloïdes constituent la majorité des principes actifs des papavéracées. Ceci fait d'eux l'un des groupes les plus importants de substances naturelles d'intérêt thérapeutique. Les fonctions anti-inflammatoires de ces extraits naturels ont été le rôle clé du suivi des études phytochimiques et pharmacologiques qui ont mené à l'identification et à la caractérisation d'une variété de composés actifs naturels (Maione, 2016). Il faut pourtant être vigilant quant aux effets secondaires potentiels engendrés par ces principes actifs. Les préparations de plantes médicinales peuvent contenir des niveaux élevés de constituants chimiques toxiques causant des dommages graves aux animaux et /ou aux humains. Ainsi, les études de toxicité donc sont importantes pour évaluer les effets toxiques des produits dérivés des plantes, Permettant de connaître les effets indésirables éventuels de ces derniers.

Le but de la présente étude est d'évaluer *in vivo* la toxicité aigüe d'une fraction totale en alcaloïdes de *Fumaria* (AF) pour mieux élucider l'efficacité et les risques de son utilisation, en association avec des tests mettant en évidence l'activité anti inflammatoire de ces alcaloïdes totaux dans le modèle d'acide acétique de colite expérimentale chez les souris.

## I- Généralités sur les Fumariacées

Les Fumariacées sont des plantes qui comporte environ 40 espèces (Suau *et al.*, 2002b; Ait youcef, 2006). C'est une plante annuelle, qui peut aller jusqu'à 1m de hauteur (Bardat *et al.*, 2004) la plante fleurit en avril-juin (Suau *et al.*, 2005). Concernent le nom vernaculaire, Le nom *Fumaria* signifie fumeterre; en anglais elle est appelé fumitory ou earthsmoke; en arabe c'est hashishet as sabyen et en kabyle zalamit (Ait youcef, 2006; Orhan, 2012). Cette dernière est d'une large distribution dans la région méditerranéenne en Europe centrale et méridionale ; Asie occidentale et l' Afrique septentrionale. En Algérie elle est commune dans tout le pays; elle pousse surtout dans les forêts et les broussailles (Suau *et al.*, 2002b; Ait youcef, 2006).

Les propriétés médicinales de la fumeterre sont connues depuis longtemps comme étant antithrombotique (Saeed *et al.*, 1997) antiarythmique (Song *et al.*, 2000) et analgésique (Bribi, 2016). Les espèces de plantes *Fumaria* sont utilisées en médecine traditionnelle algérienne, en cas de dysfonctionnement hépatobiliaire et dans le traitement des troubles gastro-intestinaux vue son activité anti-inflammatoire (Bribi *et al.*, 2016) et hépatoprotective (Rathi *et al.*, 2008). En utilisation externe, la fumeterre permet de soigner les dartres et l'eczéma (Suau *et al.*, 1991). Il a été rapporté que la plante exerce une activité anti choline-esterase impliquée dans la maladie d'Alzheimer (Orhan *et al.*, 2004); aussi que cette plante est également considéré comme utile pour le traitement des crampes abdominales, la fièvre, et les diarrhées (Gilani *et al.*, 2005). Cette plante est utilisée sous différentes formes (Infusions, poudre extraits secs , sirops, teintures mères, extraits fluides, décoctions et lotions (Julve, 2015).

D'après l'étude de Sousek (1999) et ses collaborateurs, les Fumariacées comportent essentiellement des alcaloïdes isoquinoléiques, des acides organique, des phénols et des flavonoïdes. Elle comporte aussi des sels minéraux et de l'eau. En règle générale, les activités biologiques associées à cette plante ont été liées à la présence d'alcaloïdes isoquinoléiniques dans leurs composition, tels que l'aporphine, la protoberberine, la protopine et les benzophénanthridine (Suau *et al.*, 2002b; Grycova *et al.*, 2007). En 2016 Bribi et ses collaborateurs ont confirmé la richesse de cette plante en alcaloïdes isoquinoléiniques.

## II- les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques d'origine naturelle, le plus souvent végétale, localisés dans toutes les parties de la plante, combinés aux acides organiques, sous forme de combinaisons solubles à l'état de sels et aux tanins, teneur variables de 0,1 à 4,5 % et parfois plus. sont des substances azotées à réactions alcalines de distribution restreinte et dotés à faible dose de propriétés pharmacologiques marquées. ils constituent la majorité des principes actifs des plantes médicinales. Leurs noms se terminent souvent par "ine". Les alcaloïdes renferment toujours du carbone, de l'hydrogène et de l'azote, en plus de l'oxygène (exceptionnellement quelques alcaloïdes contiennent du soufre) (Bruneton, 2009).

### II-1. Fonction des alcaloïdes

Le rôle des alcaloïdes dans les plantes est souvent inconnu, et leur importance dans le métabolisme de la plante n'est pas très bien définie. Une plante peut contenir plus de cent alcaloïdes différents, mais en général leur concentration ne représente pas plus de 10% du poids sec. Plusieurs alcaloïdes sont très toxiques et offrent, par conséquent, un arsenal chimique de défense des plantes contre l'attaque des herbivores et des micro-organismes. En outre, Les alcaloïdes protègent les plantes contre les dommages provoqués par la lumière UV. Ils constituent aussi une réserve de substances capables de fournir l'azote ou d'autres fragments nécessaires au développement de la plante (Dewick *et al.*, 2001; Bhat *et al.*, 2005).

### II-2. Propriétés physico-chimiques

Les alcaloïdes présentent en commun certaines propriétés dans le cas général sont des molécules d'une masse moléculaire variée entre 100 et 900 g/mol, incolores, sans odeurs spécifique, caractérisés par un point d'ébullition propre, donnent des réactions de précipitation et de coloration avec certains réactifs appelés "réactifs généraux des alcaloïdes", principalement des composés iodés et avec les sels de métaux lourds (argent, plomb) Les alcaloïdes montrent des colorations particulières en présence de divers réactifs, Ces propriétés ont reçu d'immédiates applications dans la recherche, la localisation, la préparation, la séparation et la caractérisation des alcaloïdes (Moreau, 1964). A l'état de sel, ils sont solubles dans l'eau et dans les solvants polaires (alcool) et insolubles dans les solvants organiques

(benzène, acétone) à l'état de base, ils sont insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques (Tableau I) (Couplan, 2011).

**Tableau I:** Solubilité des alcaloïdes dans différents solvants (Couplan, 2011).

	Solubilité	Exemple
Bases	Insolubles ou très peu solubles	- Eau
	Solubles	- Solvants organiques apolaire ou peu polaires
	Solubles	- Alcool
sels	Solubles	- Eau
	Solubles	- Solvants organiques polaire
	Insolubles	- Solvants organiques apolaires
	Solubles	- Alcool de titre élevé

### II-3. Propriétés pharmacologiques et activités biologiques

Les alcaloïdes exercent généralement leurs activités pharmacologiques sur les mammifères comme l'Homme. Leurs propriétés biologiques, aussi variées que leurs structures, continuent à être bénéfiques dans les traitements de différentes maladies ou des dysfonctionnements de l'organisme humain (Hartmann et Witte, 1995). Jusqu'à aujourd'hui, plusieurs médicaments sont des alcaloïdes naturels, Ce sont également des anesthésiques locaux; des antiparasitaires et anticancéreux. Certains alcaloïdes comme la nicotine sont des insecticides végétaux naturels. Toutefois, une toxicité souvent notable, parfois très élevée est notée. Ils sont utilisés dans le traitement des maladies cardiovasculaires, gastro-intestinale et nerveuses (Bruneton, 2009). Ils affectent chez l'être humain le système nerveux, particulièrement les transmetteurs chimiques tels l'acetylcholine, epinephrine, norepinephrine, acide.-aminobutyrique (GABA), dopamine et la serotonine. Les alcaloïdes jouent plusieurs activités pharmacologiques: Analgésique (cocaine), anticholinergique (atropine, scopolamine, galanthamine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (reserpine), antitussive (codeine), dépressant cardiaque, stimulant centrale (caffeine), diurétique, anesthésiant local (cocaine; morphine), anti-tumeur, sympathomimétique (ephedrine), plusieurs alcaloïdes servent de model pour la synthèse d'analogues avec des propriétés pharmacologique et therapeutique meilleures (Bhat *et al.*, 2005).

## II-4. Biosynthèse des alcaloïdes

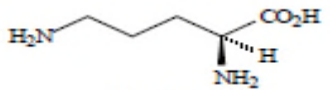
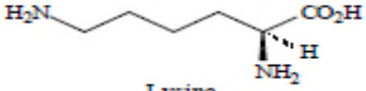
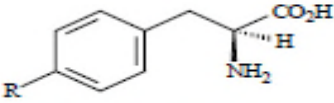
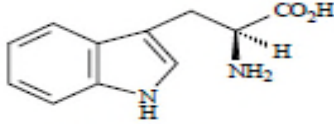
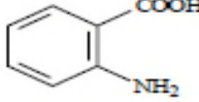
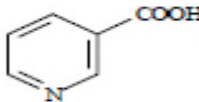
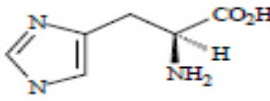
les alcaloïdes sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques, la plupart du temps à partir des acides aminés tels que la lysine, l'ornithine, la tyrosine et le tryptophane. Quelques structures sont relativement simples, tandis que d'autres sont tout à fait complexes (Dewick, 2001; Harborne *et al.*, 1995). La synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique, ils se concentrent ensuite dans les vacuoles. De façon générale, la production s'observe dans les tissus en voie de croissance. La pénétration, à travers le tonoplaste, se fait sous forme de molécules neutres lipophiles. Le pH, acide, des vacuoles ionise les alcaloïdes dont la capacité de diffusion transmembranaire se trouve réduite, il en résulte une accumulation intra-vacuolaire des alcaloïdes. Chez de nombreuses plantes, à la floraison et à la fructification, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, dans les fruits ou les graines. Les principales étapes de la biosynthèse des alcaloïdes sont connues, notamment grâce à l'emploi d'éléments marqués et de techniques de dégradation spécifique. Dans tous les cas une des premières étapes est la décarboxylation des aminoacides par des décarboxylases spécifiques. C'est à leur niveau que se fait la séparation avec le métabolisme primaire (Guignard, 2004).

## II-5. Classification

On estime qu'il y a plus de 12 000 alcaloïdes différents déjà isolés (ou détectés) à partir de sources végétales, animales ou de micro-organismes. Afin de pouvoir mieux maîtriser cette grande liste, trois types de classification des alcaloïdes ont été proposés suivant leurs activités biologiques et écologiques, leurs structures chimiques, ou par rapport à leurs voies de biosynthèse. Ils ont longtemps été catégorisés et nommés en fonction du végétal ou de l'animal dont ils étaient isolés (Aniszewski, 2007).

Les alcaloïdes peuvent être classés en fonction de leur précurseur biosynthétique. On distingue alors trois grandes classes selon qu'ils possèdent ou non un acide aminé comme précurseur direct, et qu'ils comportent ou non un atome d'azote dans un hétérocycle. Il existe cependant un grand nombre d'alcaloïdes qui n'ont pas forcément un acide aminé comme précurseur. Dans ces cas-là, l'atome d'azote est incorporé à un stade avancé de la biosynthèse par réactions d'amination sur des intermédiaires aldéhydes ou cétones (Muniz, 2006). À partir du XXI<sup>e</sup> siècle, ils sont catégorisés en fonction de leur structure chimique. (Tableau II).

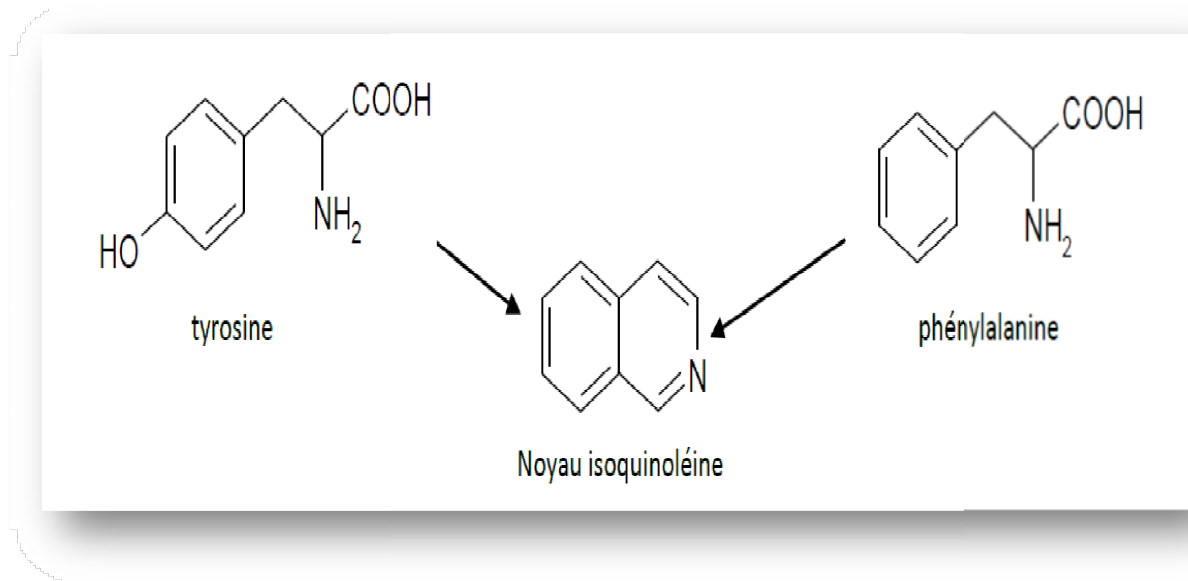
**Tableau II:** Présentation de quelques types d'alcaloïdes et leur précurseur acide aminé (Muniz, 2006).

Acide aminé	Type d'alcaloïde
 <p>Ornithine</p>	Pyrrolidines, pyrrolizidines, tropanes
 <p>Lysine</p>	Pipéridines, quinolizidines, indolizidines
 <p>R = H, Phénylalanine R = OH, Tyrosine</p>	Alcaloïdes du type éphédrine, isoquinoléines
 <p>Tryptophane</p>	Indoles
 <p>Acide anthranilique</p>	Quinoléines, quinazolines, acridines
 <p>Acide nicotinique</p>	Pyridines
 <p>Histidine</p>	Imidazoles
Via aminations	Alcaloïdes terpéniques et stéroïdiens

## II-6. Les alcaloïdes isoquinoléines

Les alcaloïdes isoquinoléiniques sont des dérivés de la phénylalanine et de la tyrosine, dont le motif structural de base est le noyau isoquinoléique (Figure 1).





**Figure 1:** Représentation d'un noyau isoquinoléique (Rabbani, 1987).

La papavérine, isolée de *Papaver somniferum*, a une activité vasodilatatrice et des propriétés hypnotiques et analgésiques. La berbérine, isolée de *Berberis vulgaris*, a des propriétés anti-inflammatoires et antimicrobienne et la protopine isolée de fumariacées (Dewick, 2001). Les alcaloïdes à noyau isoquinoléique se rencontrent principalement dans les familles suivantes: Renunculaceae (hydrastis), Monimiaceae (boldo), Menispermaceae (curare, colombo), Papavéraceae (pavot, chélidone), Fumariaceae (fumeterre), Rubiaceae (ipéca) (Rabbani,1987; Kupeli, 2002).

### III- Réaction inflammatoire

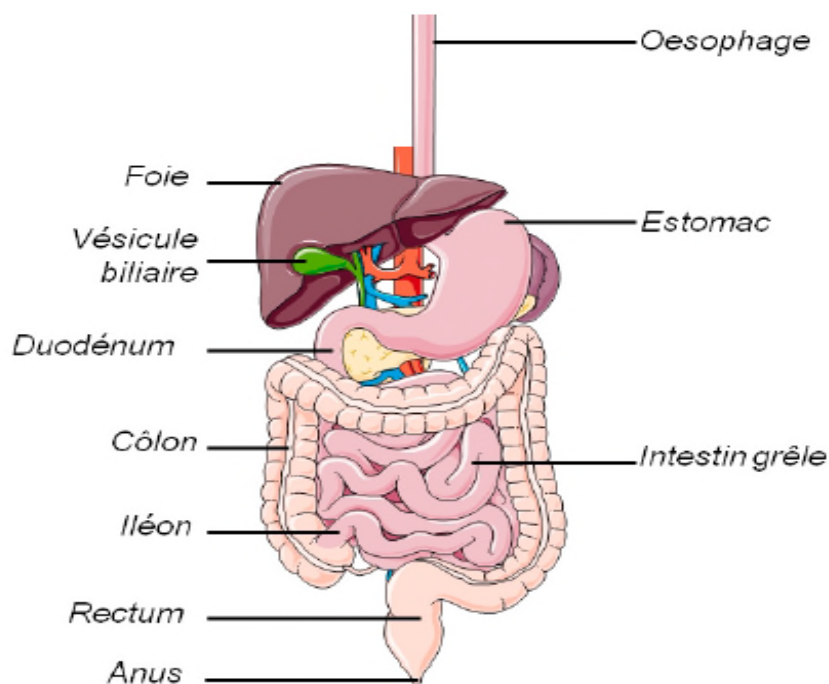
Dès la naissance, nous sommes exposés à une multitude de micro-organismes et d'éléments exogènes. Sans protection efficace, notre organisme serait sujet à diverses pathologies. Ainsi, il existe un système complexe de mesures permettant une protection, appelé système immunitaire. La réaction inflammatoire est un des modes de réponse les plus fréquents de l'organisme face à une agression. Elle peut être provoquée par des causes infectieuses (bactérienne, virale, parasitaire), immunologiques, tumorales, physiques (intervention chirurgicale, brûlure) ou encore chimiques (microcristaux). L'inflammation se caractérise par 4 paramètres: Douleur, chaleur, gonflement et rougeur (Couturier-Maillard, 2012).

Les cellules du système immunitaire inné possèdent des récepteurs (PRR pour Pattern Recognition Receptors) et des voies de signalisation hautement conservés pour détecter et réagir face à une infection ou à une blessure. La détection de ces signaux exogènes d'origine microbienne, les PAMPs (Pathogen-associatedmolecular pattern), ou endogènes, les alarmines (Bianchi, 2007), va conduire à l'initiation de la cascade inflammatoire et à l'activation d'une réponse immunitaire acquise ou adaptative (Barton, 2008; Medzhitov, 2008). La réponse inflammatoire est décrite selon quatre étapes : la reconnaissance des signaux de danger, le recrutement de cellules sur le site d'infection, l'élimination du pathogène et la résolution de l'inflammation conduisant à un retour à l'homéostasie et à la cicatrisation du tissu lésé. En absence de résolution, s'installe une inflammation chronique. l'inflammation peut s'étendre au reste de l'organisme *via* la circulation sanguine. Elle peut alors conduire à des dommages tissulaires irréversibles locaux ou généralisés. L'agression d'un tissu doit donc induire une réponse rapide et organisée afin de réparer les dommages, tout en assurant l'intégrité du reste de l'organisme. Une réponse insuffisante conduit à une immunodéficience pouvant entraîner une infection secondaire ou un cancer. Exacerbée, au contraire, elle augmente la morbidité et la mortalité dans des pathologies comme l'arthrite rhumatoïde, le diabète ou encore la maladie de Crohn (Bianchi, 2007; Barton, 2008).

## IV- Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

Les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) remontent très probablement à des siècles. Certaines descriptions anatomo-cliniques remontant à l'antiquité sont compatibles avec le diagnostic de MICI .

les maladies inflammatoires chroniques intestinales sont un trouble inflammatoire chronique multifactorielle du tractus gastro-intestinal (Figure 2) qui se présente sous deux formes principales: La maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH). Une troisième entité peut être ajoutée, la « colite indéterminée », présentant les caractéristiques d'une colite idiopathique pour laquelle l'ensemble des examens réalisés ne permet pas de trancher entre maladie de Crohn et recto-colite (Braus et Elliott, 2009). En 1932 la maladie de Crohn a été décrite dans « Journal of the American Medical Association » par les Docteurs Burrill B. Crohn L. et Ginsberg G.D. Quant à la recto-colite-hémorragique, le premier cas décrit fut reporté par Sir Samuel. Wilks dans « London Medical Times and Gazette » en 1859.



**Figure 2 :** Différents segments du tube digestif peuvent être atteints en cas de RCH et MC , allant du rectum à l'ensemble du côlon. Illustration réalisée grâce à Servier Medical Art ([www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/RectoColiteHemorragique-FRfrPub34v01.pdf](http://www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/RectoColiteHemorragique-FRfrPub34v01.pdf))

## IV-1. La maladie de Crohn

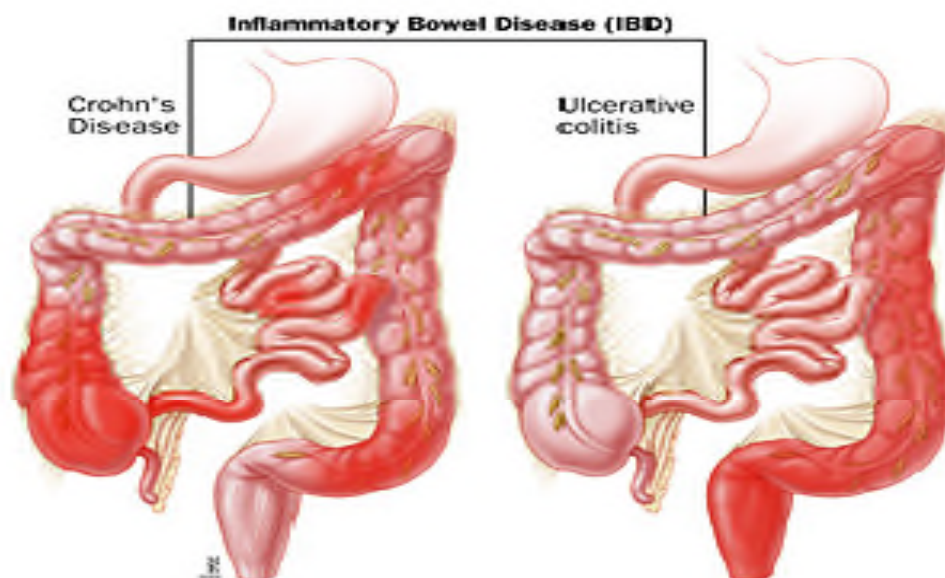
La maladie de Crohn est la forme la plus fréquente de maladies inflammatoires intestinales dans le monde entier, elle se caractérise par la formation de sténoses, de fistules, d'ulcères et de granulomes dans la muqueuse. Bien que la manifestation gastro-intestinale du MC influe principalement sur la région de l'Ille terminal, elle peut également compromettre toute région de la bouche au rectum du patient affecté. Les manifestations cliniques de MC peuvent inclure la diarrhée ou la diarrhée sanglante, la malnutrition, douleurs abdominales et perte de poids, l'arthropathie ou les troubles de la peau, se produisent rarement (Rufo et Bousvaros, 2006; Freeman, 2014).

La maladie de Crohn est caractérisée par une inflammation chronique de la muqueuse intestinale. Cette inflammation résulte de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les cellules du système immunitaire en réponse à une agression vraisemblablement infectieuse. Il s'ensuit une amplification de la cascade inflammatoire entraînant la sécrétion de médiateurs inflammatoires, d'enzymes et de radicaux libres aboutissant à une destruction tissulaire responsable des symptômes de la maladie de Crohn. L'augmentation du taux de TNF- $\alpha$  induit la production d'autres médiateurs inflammatoires entraînant une fragilisation de la barrière épithéliale intestinale, permettant la pénétration d'antigènes et l'activation d'un processus inflammatoire chronique. Après traitement par ces anti-TNF- $\alpha$  tels que l'infliximab et l'adalimumab, une réduction importante de l'inflammation intestinale est observée ainsi que la restauration d'une barrière épithéliale fonctionnelle entraînant une nette amélioration clinique (Plevy, 2002).

## IV-2. La recto-colite-hémorragique

La recto-colite-hémorragique (RCH) est une maladie intestinale inflammatoire chronique (MICI), caractérisée par une inflammation superficielle de la muqueuse, des saignements rectaux, des diarrhées, une douleur abdominale, fièvre, anorexie, perte de poids, fatigue et sudations nocturnes. Contrairement à la maladie de Crohn; la RCH touche généralement le côlon et l'inflammation est limitée à la muqueuse (Figure 3) (Conrad *et al.*, 2014). Dans la RCH, il existe une augmentation substantielle de la sécrétion d'IL-13, l'interleukine principale responsable de l'inflammation et de la chronicité de cette affection

(Silverberget *al.*, 2005) . Les patients atteints de la RCH présentent également une réponse Th2 avec une sécrétion accrue d'IL-4, IL-5 et IL-9 (Cortot *et al.*, 2009) .



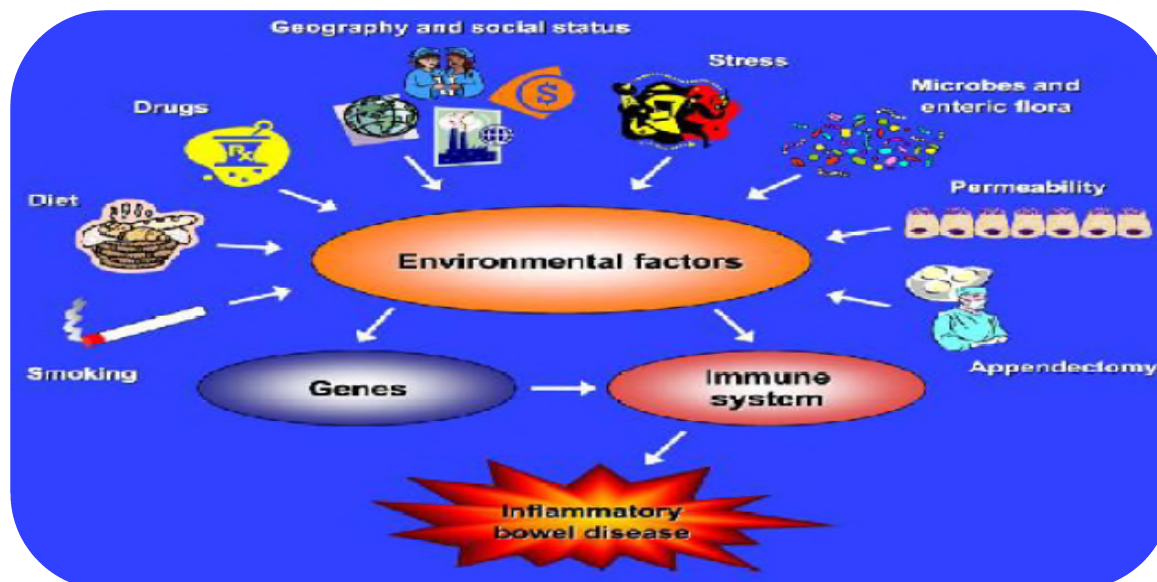
**Figure 3:** Localisation des atteintes intestinales dans la maladie de Crohn et la RCUH.

(<http://lesseniorsdeboulogneavecbuguet.hautetfort.com/archive/2012/08/30/des-parasites-contre-la-maladie-de-crohn.html>)

### IV-3. Facteurs impliqués dans les maladie inflammatoires intestinales

L'hypothèse actuelle est celle d'une maladie multifactorielle survenant chez des sujets génétiquement prédisposés, au cours de laquelle une réponse immunitaire anormale survient dans la muqueuse en réaction à des composants de la microflore intestinale, déclenchée ou aggravée par des facteurs environnementaux. Le principal gène de susceptibilité est le CARD15 (caspase recruitmentdomain-containingprotein 15) (Figure 4), situé sur le chromosome 16q (Lamoril *et al.*, 2007; Cortot *et al.*, 2009). Les Trois mutations (R702W, G908R, et 1007fs) sont prépondérantes au niveau de ce gène. Elle sont présentes chez environ 50% des patients atteints de la maladie de Crohn qui ont une réponse cellulaire épithéliale déficiente aboutissant à une perte de la fonction de la barrière épithéliale et une augmentation de l'exposition à la flore bactérienne (Lesage *et al.*, 2002). Une variété de facteurs environnementaux tels que le tabac ; les UV; le stress et le régime alimentaire modifient l'expression des gènes et modulent la fonction du système

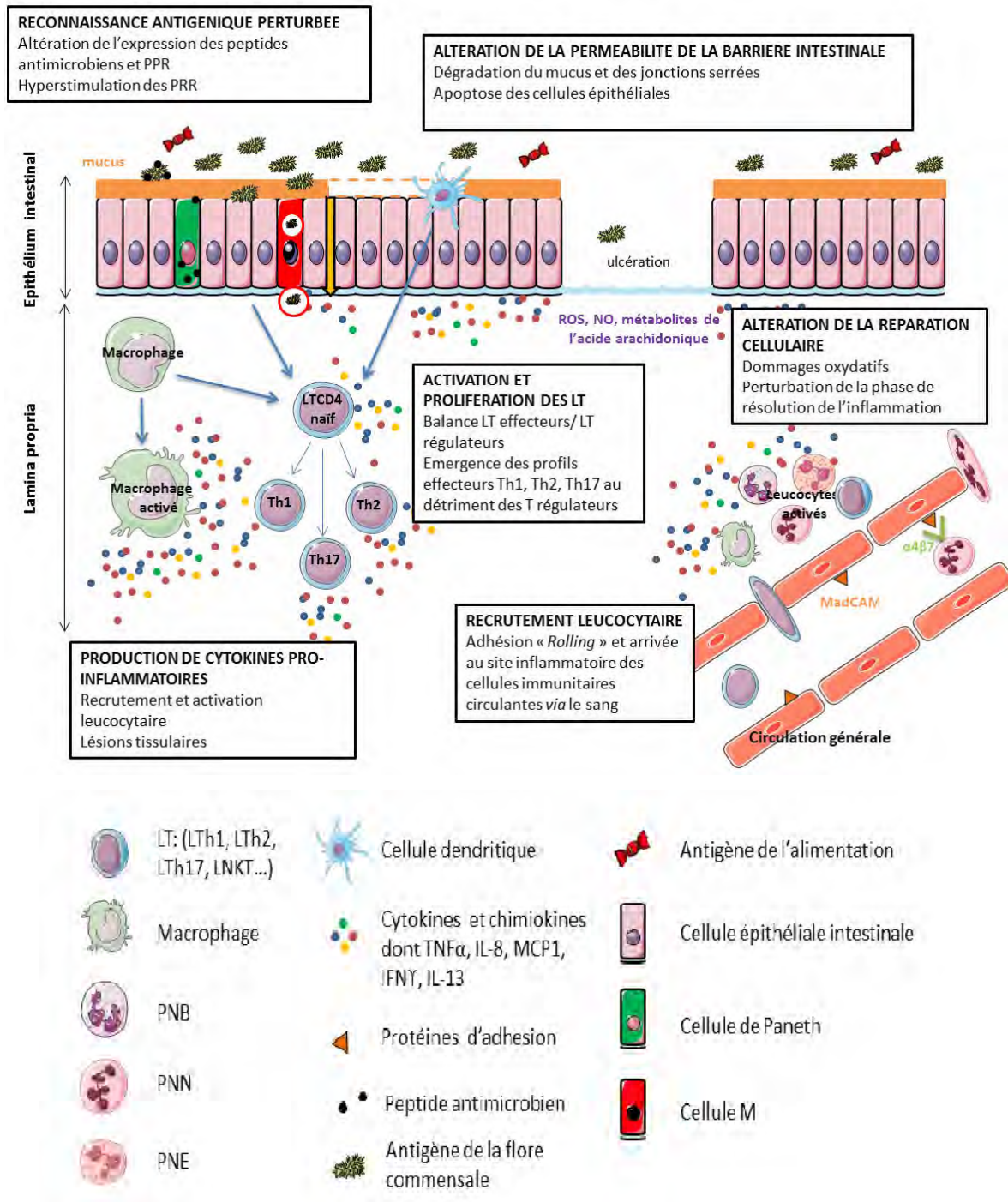
immunitaire intestinal, entraînant une réponse inflammatoire persistante inappropriée au niveau intestinal (Figure 4) (Elazzaoui, 2012).



**Figure 4:** L'impact des facteurs environnementaux sur la pathogénèse des MICI (Elazzaoui, 2012).

#### IV-4. La barrière épithéliale

La première ligne de défense du système immunitaire de l'intestin est la muqueuse épithéliale, un défaut de production de mucus a été signalé chez les personnes atteintes de la maladie de Crohn et de la RCH (Baumgart *et al.*, 2007). L'épithélium forme une barrière avec des jonction serrées entre les entérocytes qui peuvent exclure l'entrée de la plupart des substances. La couche externe de mucus est composée de mucine, et de certaines bactéries. Une variante du gène *muc2* confère une susceptibilité chez les humains aux MICI. L'augmentation de la perméabilité de la barrière serait donc la résultante de nombreux phénomènes: apoptose des cellules épithéliales intestinales, altération des jonctions serrées, ulcérations. La barrière épithéliale intestinale, lésée devient alors une véritable « porte d'entrée » à de nombreux micro-organismes, ions, et autres molécules participant ainsi à la génération et à l'entretien de l'état inflammatoire et des diarrhées caractéristiques des MICI (Figure 5) (wallace *et al.*, 2014).



**Figure 5:** Etat des lieux de la physiopathologie des MICI (Nahon, 2001).

## I-Matériel

### I-1. Matériel végétal

Sur la base de son utilisation en médecine traditionnelle, notre étude a été réalisée sur *Fumaria*. Des parties aériennes (fleurs, feuilles et tiges) de *Fumaria* ont été collectées, au stade de la floraison et de fructification (Avril 2016) (Figure 6), dans la région rurale ; Imakhlef d' El-kseure (wilaya de Bejaia), loin de la pollution et ce pour écarter toute modification dans la composition chimique de la plante . Pr Benabdesselam a identifié et authentifié la plante au niveau du laboratoire de biotechnologie végétale et ethnobotanique, de la FSNV, de l'Université A. Mira de Bejaia .

- **Regne:** Plante.
- **Classe:** Dicotyledone.
- **Famille:** Fumariaceae.
- **Genre:** *Fumaria*.



**Figure 6:** Photographie d'une plante du genre *Fumaria*.

### I-2. Matériel biologique

Des souris femelles albinos (26-32 g) de souche NMRI (Figure 7) venues de la faculté de pharmacie de Constantine ont été utilisées pour l'évaluation de la toxicité aiguë et l'étude des activités anti-inflammatoire de *Fumaria*. Ces animaux ont été logés à une température constante de  $25 \pm 2$  ° C avec un cycle lumière /obscurité de 12 h. avec un accès libre à l'eau du robinet et la nourriture (granules ONAB). Les souris ont été acclimatées pendant 10 jours avant de les utiliser pour les expériences.





**Figure 7:** Photographie de souris albinos de souche NMRI (Animalerie, Univ. Bejaia).

### **I-3. Matériel et réactifs**

Pour la mise au point d'une méthode de recherche en vue de tester la toxicité aigüe et l'activité anti-inflammatoire de AF, le matériel et les réactifs utilisés sont représentés dans l'annexe .

## **II- Méthodes**

### **II-1. Séchage et broyage**

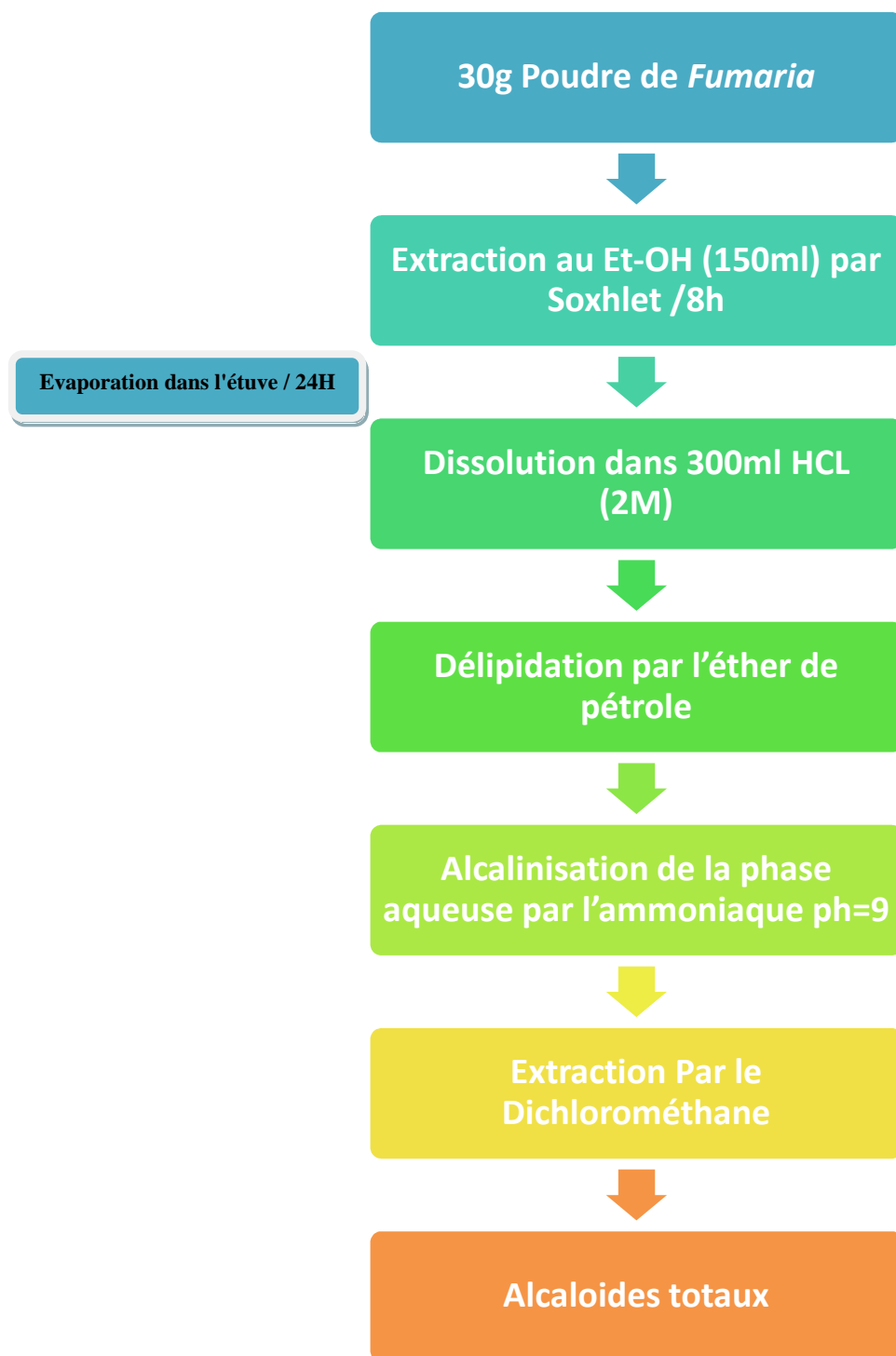
La partie aérienne de la plante est lavée et débarrassée de la poussière, du sable et autres particules (à l'eau courante), découpé en petits morceaux, puis séchées à l'étuve à 40°C pendant dix jours, pour obtenir une meilleure extraction. Les échantillons séchés sont réduits en poudre grâce à un broyeur électrique.

## II-2. Extraction des alcaloïdes totaux de *Fumaria*

L'extraction des alcaloïdes a été effectuée selon le protocole de (Soušek *et al.*, 1999) en utilisant l'appareil de Soxhlet (Figure 8), il s'agit d'une extraction solide-liquide (Figure 9).



Figure 8 : Appareil de Soxhlet.



**Figure 9:** Protocole d'extraction des alcaloïdes de *Fumaria* (Soušek *et al.*, 1999).

### II-3. Évaluation de la toxicité aiguë

La toxicité aiguë des alcaloïdes totaux de *Fumaria* a été évaluée chez des souris femelles albinos de (26-32g). Les souris ont été réparties de manière homogène en 5 groupes de 10. Les alcaloïdes ont été administrés par voie orale à différentes doses (50, 250, 500 et 4000 mg/kg), en fonction des poids moyens des différents lots, alors que le lot témoin a reçu de l'eau physiologique (Figure 10), les souris ainsi traitées ont été observées aussitôt durant les premières 4 heures qui suivent le gavage en vue de relever le moindre changement comportemental ou physiologique, puis une observation continue une fois par jour pendant les 7 jours suivants. Les troubles symptomatiques surveillés étaient: mortalité, hyperactivité, Ataxie, tremblements, manque d'appétit, difficultés motrices, convulsions, salivation, diarrhée, léthargie, sommeil et le coma, en plus d'une surveillance de changement du poids corporel de chaque souris pendant 7 jours .



**Figure 10 :** Présentation des lots et la méthode du gavage.

## II-4. Etude de l'activité anti-inflammatoire intestinale

La présente étude a pour but d'évaluer l'activité anti-inflammatoire intestinale chez des souris colitiques causées par l'acide acétique .

### II-4.1 Induction de l'inflammation colique par l'acide acétique

La colite a été induite par l'acide acétique suivant le Protocole de Wang *et al.*, (2008). les 30 souris de (26-32g) privées de nourriture pendant 12h avec un accès libre à l'eau, ont été subdivisées en 5 lots de 6, un lot témoin et 4 lots colitiques (acide acétique; lot médicament DEX (2.5mg/kg) et AF( 12.5 et 25mg/kg). Les souris anesthésiées ont reçu 100 $\mu$ L de l'acide acétique à 5% par voie rectale (Figure 11). Les animaux ont été ensuite maintenus dans une position de tête vers le bas pendant 20s pour limiter l'expulsion de la solution d'acide acétique. Après 2h de l'injection de ce dernier, deux doses d'alcaloïdes de *Fumaria* (12.5 et 25mg/kg) ont été administrées quotidiennement pendant 7 jours chez les 2 groupes colitiques, en vue de tester l'effet anti inflammatoire de cette fraction alcaloïdique.



**Figure 11:** Administration de l'acide acétique par voie rectale.

## II-4.2 Évaluation des dommages causés par la colite

L'indice d'activité de la maladie (DAI) a été enregistré quotidiennement en observant le changement du poids corporel, la consistance des selles et les saignements. Chaque score a été déterminé selon la méthode de Cooper *et al.*, (1993).

Après 7 jours de traitement les souris ont été sacrifiées par décapitation après les avoir anesthésier. Les côlons ont été récupérés, rincés doucement avec de l'eau physiologique, Pesés, mesurés et utilisés pour une observation macroscopique et estimation histologique. La longueur du côlon a été mesuré en cm entre la jonction iléo-caecale et le rectum proximal et son poids a été mesuré en mg.

### II-4.2.1 Etude histologique

Des sections de 1 Cm ont été prises des colons (partie distal), la portion du colons a été nettoyée et coupée longitudinalement et conservée dans une solution de formol (10%), les différentes étapes de préparation des lames histologiques sont les suivantes :

➤ **Etape macroscopique**

- Mettre l'échantillon dans des histocassettes.
- Les histocassettes sont remise dans le formol à 10%.

➤ **Etape de déshydratation**

on procède a la déshydratation par un automate qui contient 12 bains de :

- Huit bains d'alcool de concentration croissante (70 à100% ) pendant 45mins.
- Deux bains de xylène et d'hématoxyline pendant pendant 30 mins.
- Deux bains de paraffine fondue pendant 1h30 mins.

➤ **Etape d'enrobage**

Enrober les tissus avec de la paraffine grâce a un appareil appelé station d'enrobage.

➤ **Etape de coupure par le microtome**

- Dégrossissement (20 $\mu$ m).
- Réalisation des coupes fines (3 $\mu$ m).
- Etape de l'étalement sur une lame.
- Déparaffinage dans l'étuve à 70° pendant une nuit.

➤ **Etape de coloration**

- Mettre dans le xylene pendant 30 mins.
- Mettre dans le l'éthanol pendant 10mins.
- Mettre dans l'eau pendant 10 mins.
- Tremper les lames dans l'hématoxyline pendant 3 mins afin de colorer les noyous.
- Tremper dans l'éosine pendant 1mins afin de colorer le cytoplasme.
- Les échantillons ensuite sont lavés par l'alcool puis mises dans le xylene.

➤ **Etape de montage des lames**

Les échantillons sont fixés avec un eukitte et protégés avec des lamelles pour une meilleure observation et les tissus colorés ont été observés sous microscope optique à un grossissement de x10 et x20 (Figure 12).



**Etape macroscopique**



**Etape de déshydratation**



**Etape de coupure histologique**



**Etape d'enrobage**



**Etape de coloration et montage de lames**



**Etape d'observation des lames sous microscope optique**

**Figure 12:** Les différentes étapes de préparation des lames histologiques.



## **II-5 Etude statistique**

Les données sont présentées par graph pad comme moyenne  $\pm$  SEM. Les analyses ont été faites grâce au test ANOVA, suivant le teste de Dunnett's, utilisé afin de comparer les valeurs des groupes traité aux valeurs du groupes contrôle, avec des signification statistique de \*  $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , ns (non significatif), utilisant un effectif de  $n=6$ .

## I- Résultats

### I-1. Collecte, séchage et extraction

La collecte et le séchage du matériel végétal ont été réalisés de façon à pouvoir récupérer le maximum d'alcaloïdes. Le temps choisi pour la collecte du matériel végétal influence les actions biologiques des extraits des plantes, car la teneur en métabolites secondaires chez les végétaux n'est pas stable dans le temps. Nous avons collecté la partie à étudier en printemps, saison durant laquelle le pic en alcaloïdes est atteint (Suau *et al.*, 2002b).

### I-2. Taux d'extraction des alcaloïdes de *Fumaria*

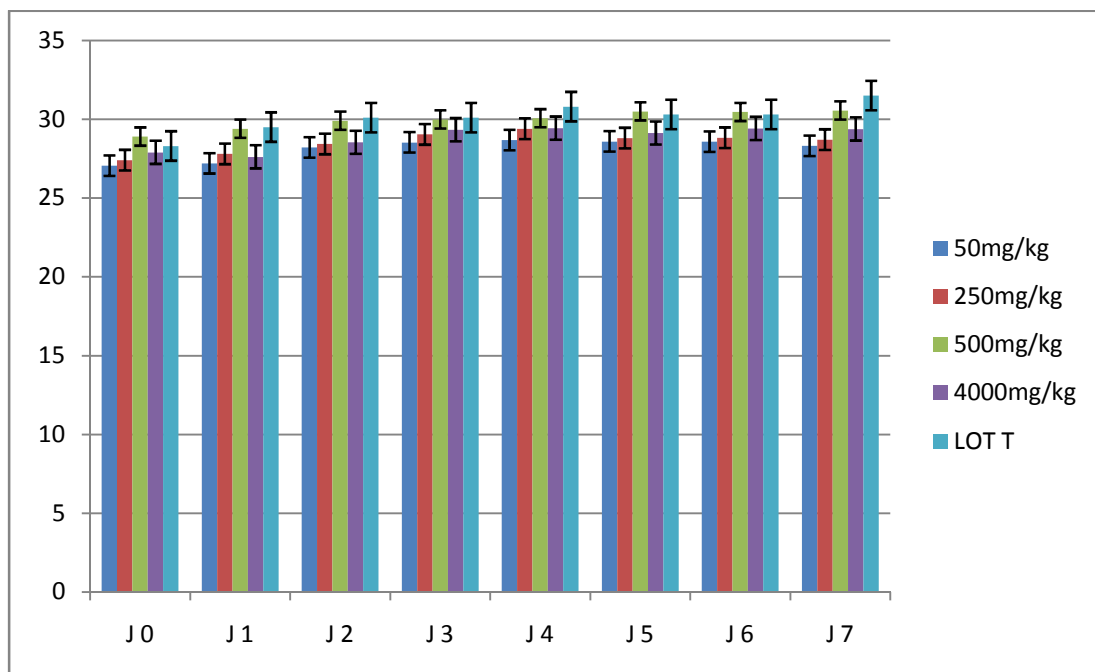
L'extraction des alcaloïdes a été réalisée dans un milieu acide. Le taux d'extraction des alcaloïdes que renferme la plante (4%) a été calculé en fonction de la matière végétale sèche (poudre initiale) de la partie aérienne de la plante. Cette espèce semble être plus riches en alcaloïdes en comparaison à d'autres espèces du même genre, la teneur en métabolites secondaires dépend de plusieurs facteurs tels que l'espèce, l'origine, le stade de croissance, les influences environnementales et le patrimoine génétique (Bruneton, 2009)

### I-3. Etude de la toxicité aigue

Il existe un intérêt mondial croissant pour les substances bioactives issues des plantes médicinales qui présentent diverses structures et propriétés chimiques qui protège et prévient les maladies. Cependant, l'étude des propriétés pharmacologiques et toxicologiques des plantes médicinales semble être une étape importante pour mieux élucider l'efficacité et les risques de leur utilisation.

Nous avons évalué la toxicité aigue des alcaloïdes totaux de *Fumaria* sur des souris NMRI reparties en 5 groupes, il n'y avait pas de mortalité ou de comportement anormal observé dans l'étude de toxicité aiguë chez la souris à tous les trois niveaux de dose (50, 250 et 500mg/kg ) et une seule mortalité dans le lot de souris qui ont reçu la dose de 4000mg/kg (Tableau III) . Les différentes doses des alcaloïdes de la plante n'ont pas produit de changement significatif dans l'évolution du poids corporel et l'apport journalier d'aliments et d'eau chez des souris par rapport au groupe témoin et aussi, aucun changement n'a été observé

dans l'apparence physique telles que les yeux, la fourrure et la peau qui se sont avérées normales (Tableau IV), Alors qu'il y avait une augmentation normale du poids corporel et cela signifie que, l'administration de AF n'a pas d'effets néfastes sur la croissance des animaux. Ainsi, nous pouvons en déduire que l'extrait n'a pas provoqué la suppression de l'appétit, ce qui est une indication du métabolisme normal des glucides, des protéines ou des graisses. Ce qui indique que la DL50 de la fraction alcaloïde de *Fumaria* est supérieur à 4000mg/kg. Cependant, l'OCDE suggère que l' extrait testé n'a aucune toxicité aiguë une fois administré oralement, il est considéré comme non toxique. Les résultats de l'évolution du poids corporel obtenus sont représentés dans la (figures 13).



**Figure 13 :** Effet de AF ( 50, 250, 500 et 4000mg/kg) sur la variation du poids des souris pendant 7jours.

**Tableau III:** Taux de létalité chez des souris NMRI traitées par la fraction des alcaloïdes totaux de *Fumaria*.

Dose (mg/Kg)	Mortalité	Latence de mortalité
0 mg/Kg	0/10	0
50 mg/Kg	0/10	0
250 mg/Kg	0/10	0
500 mg/Kg	0/10	0
4000 mg/Kg	1/10	0

**Tableau IV :** Évaluation des comportements et symptômes des souris lors de l'étude de la toxicité aigüe.

	Lot Témoin		50mg/Kg		250mg/Kg		500mg/Kg		4000mg/Kg	
	Première 4 H	Durant les 7 jours	Première 4H	Durant les 7 jours	Première 4 H	Durant les 7 jours	Première 4 H	Durant les 7 jours	Première 4 H	Durant les 7 jours
Désorientation	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Tremblements	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Convulsions	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Salivation	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Peau et fourrure	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Léthargie	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Diarrhée	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rythme respiratoire	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Saignement	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

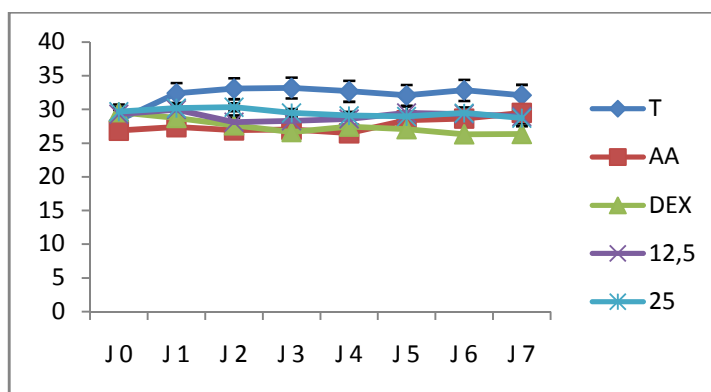
#### I-4. Etude de l'activité anti inflammatoire intestinale

La présente étude est conçue pour évaluer l'effet anti-inflammatoire intestinale des alcaloïdes d'une plante du genre *Fumaria* contre la colite induite par l'acide acétique chez les souris de souche NMRI. Les résultats ont révélé que l'acide acétique a provoqué une augmentation importante du DAI, Avec des signes cliniques typiques, notamment: la diarrhée sanglante, diminution de la consommation de l'eau et de la nourriture et la perte du poids corporel, une augmentation significative du rapport P/L, aussi des dégâts macroscopiques ont été observés, par rapport a lot témoin mais aucune mortalité n'a été reportée ( figure 14).

Le traitement avec les 2 doses de AF (12.5 et 25mg/kg) a montré une réduction significative de DAI; le poids du côlon et dans l'amélioration de la longueur de ce dernier, tout simplement une amélioration générale de l'état clinique des souris traitées (figure 15).

Aussi le traitement avec le dexamétasone (DEX 2.5mg/kg) (médicament de référence) a montré une réduction significative de DAI; le poids du côlon et dans l'amélioration de la longueur de ce dernier par rapport a lot acide acétique car il permet une synthèse accélérée d'I $\kappa$ B et donc une rétention de NF-kB dans le cytoplasme.

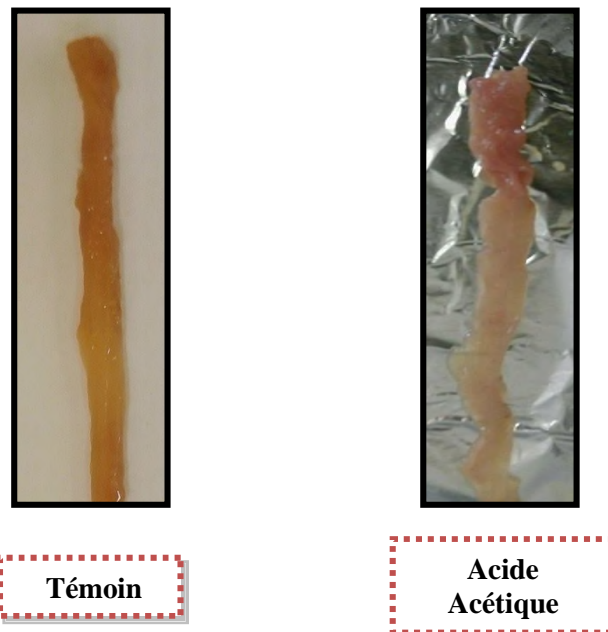
Le rapport P/L du colon est considéré comme un indicateur direct de la gravité et l'étendue de l'inflammation intestinale (Sotnikova *et al.*, 2013). Comme le montre la (Figure 16), l'administration d'AF a réduit d'une manière très significative  $p < 0,01$  les valeurs de ce dernier, à des niveaux plus ou moins similaires à ceux des souris dans les groupe normal et le groupe traité avec le DEX. Une réduction de 28,8 % et 31,37 % pour les 2 lots (25 et 12,5 mg/kg) AF respectivement. L'administration de dexaméthasone a également eu un impact positif sur l'inflammation colique, car une réduction significative du rapport poids / longueur (37,67%) a été observée par rapport aux souris non traitées ( $P < 0,001$ ) par rapport au groupe acide acétique. Ce la révèle les propriétés anti-inflammatoires intestinales de l'AF.



**figure 14:** Effet de AF ( 12.5 et 25 mg/kg) sur la variation du poids des souris.

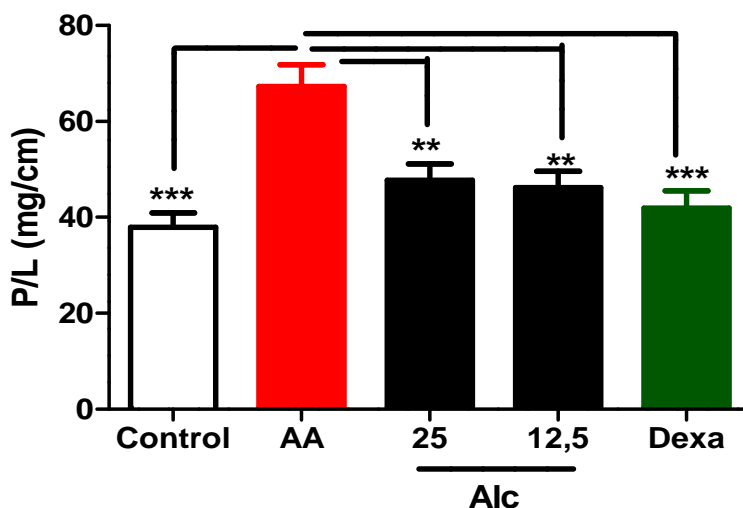


(A)



(B)

**Figure 15 :** Longueur des différents colons des lots (A). Différents aspect de l'inflammation intestinale des colons chez des souris expérimentales colitiques (B) .

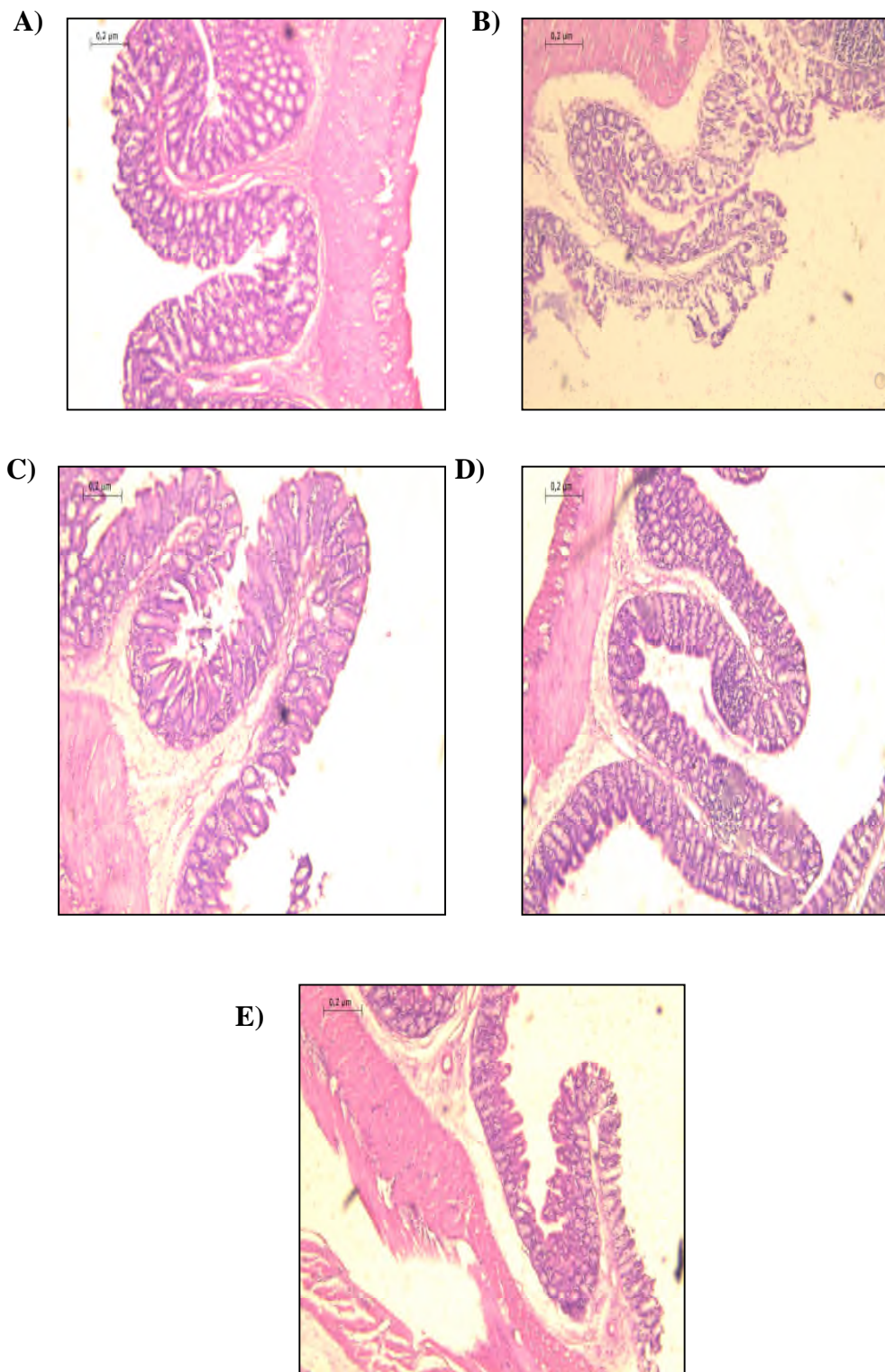


**Figure 16:** Effets de la fraction des alcaloïdes totaux (AF) (12.5 et 25mg/kg) sur l'évolution du rapport poids / longueur en mg/cm dans un model de souris colitique induite par l'acide acétique. Les données sont exprimées en moyen  $\pm$  SEM (n = 6). Les groupes avec différentes lettres AA (groupe acide acétique); DEX (groupe médicament) et ALC (groupes traites avec les 2 dose AF), statistiquement (\*P <0,05.\*\* P<0.01;\*\*\* p<0.001).

L'effet anti-inflammatoire intestinal de l'AF a été confirmé après l'évaluation histologique des échantillons de la partie distale du colon, car le traitement favorise la régénération des tissus de l'épithélium intestinale. Ceci a été mis en évidence par une réduction significative des scores microscopiques par rapport au groupe acide acétique non traité avec les 2 doses d'alcaloïdes.

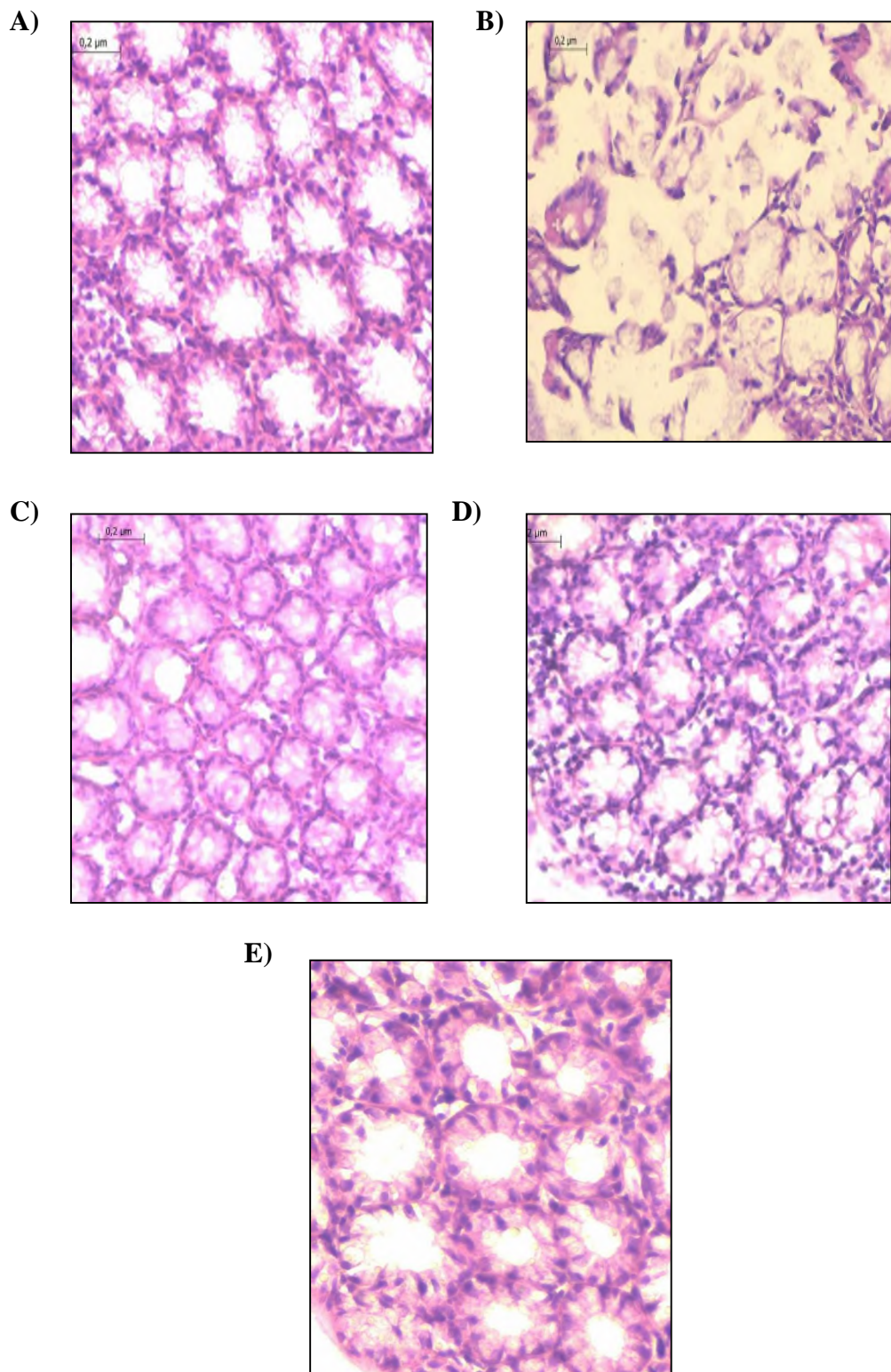
On remarque une destruction des cellules épithéliales chez les souris colitiques ce qui entraîne la dégénérescence des cryptes intestinales et l'anarchie du tissu épithélial (Figure 17).

L'administration de AF a fait que le tissu s'est régénéré en restaurant l'architecture normale des cellules et en préservant l'intégrité de l'épithélium intestinal (Figure 18).



**Figure 17 :** Effets de la fraction des alcaloïdes totaux de *Fumaria* (AF) dans un modèle de souris colitique induite par l'acide acétique. Sections histologiques de la muqueuse colique colorées avec de l'hématoxyline et de l'éosine: A) Non colique, (B) groupe traité avec le AA, (C) AF 12.5mg /kg, (D) AF 25 Mg /kg, (E) groupe traité avec le dexametasone (DEX 2.5mg/kg), (Grossissement x10).





**Figure 18:** Effets de la fraction des alcaloïdes totaux de *Fumaria* (AF) dans un modèle de souris colitique induite par l'acide acétique. Sections histologiques de la muqueuse colique colorées avec de l'hématoxyline et de l'éosine: A) Non colique, (B) groupe traité avec le AA,(C) AF 12.5mg /kg, (D) AF 25 Mg /kg, (E) groupe traité avec le dexametasone (DEX 2.5mg/kg), (Grossissement x20).

## II- Discussion

Des résultats intéressants ont été trouvés dans cet étude. L'AF a eu un très bon effet sur la colite expérimentale induite par l'acide acétique jugé par l'inversion significative de l'augmentation du rapport P/L et l'atténuation des lésions histologiques observées chez les souris traitées.

L'induction de la colite chez la souris par des substances chimiques est l'une des méthodes les plus utilisées pour produire un modèle expérimental de maladie intestinale inflammatoire. L'acide acétique induit des dommages graves aux muqueuses, après une seule administration. Ce dernier libère des protons dans l'espace intracellulaire, provoquant une acidification intracellulaire massive entraînant un dommage épithélial immense, ce qui en résulte d'une inflammation aiguë suite à des lésions de l'épithélium, accompagnées d'une hémorragie généralisée, et la libération des médiateurs pro-inflammatoires et des métalloprotéines participant à l'augmentation de la perméabilité de barrière épithéliale intestinale au cours des MICI (Otari *et al.*, 2012).

L'altération de l'architecture et de la composition des jonctions serrées et la production excessive d'espèces oxydatives a plusieurs conséquences au cours de l'inflammation intestinale chronique car elle induit en particulier une augmentation de la sécrétion d'électrolytes et d'eau au niveau intestinal et contribue au passage d'eau et d'ions à travers la barrière épithéliale responsable des diarrhées. L'apoptose des cellules épithéliales favorise l'entrée de petites molécules non immunogènes. Et enfin, à des stades avancés de l'inflammation de la muqueuse, l'apparition d'ulcérations de la barrière concourt à l'entrée d'antigènes et de bactéries (Bojarski *et al.*, 2001).

La couche de mucus est la première barrière protectrice de l'intestin. Elle matérialise l'interface entre l'hôte et le microbiote. C'est un gel protecteur généré par l'enchaînement de mucine 2, son composant majoritaire qui est une protéine produite et stockée sous forme de grains au sein des cellules caliciformes de l'épithélium intestinal. L'atteinte du mucus se traduit par une réduction de l'épaisseur de la couche, une déplétion du réseau de mucine 2 et une augmentation du nombre de bactéries qui le compose. En effet, il a été constaté que l'augmentation de la présence bactérienne à la surface de l'épithélium intestinal évoluait parallèlement à une augmentation des phénomènes inflammatoires observés lors de la RCH (apparition de micro-abcès, ulcération, infiltration de la sous-muqueuse). La perméabilité para-cellulaire de la barrière épithéliale intestinale est anormalement élevée au cours des

MICI. Elle concerne le passage de molécule depuis le pôle apical jusqu'au pôle basolatéral entre deux cellules épithéliales intestinales, grâce à la dilatation des jonctions serrées.

Les jonctions serrées sont constituées d'un ensemble de protéines: Claudines, Occludines et *Zonula-occludens* directement reliées au cytosquelette d'actine et de myosine à l'origine de cette dilatation. L'augmentation de la perméabilité para-cellulaire résulte donc de l'altération des jonctions serrées via l'élimination des cellules épithéliales par apoptose. Les foyers apoptotiques sont associés à des stades précoces de l'inflammation tandis que l'érosion et les ulcérations résultent d'une inflammation chronique et avancée (Bueno, 2010). La dégradation de la barrière de mucus, l'altération des jonctions serrées et l'augmentation de l'apoptose des cellules épithéliales exposent la barrière intestinale épithéliale aux antigènes de la flore commensale.

Les défenses innées se mettent en place avec la contribution des peptides antimicrobiens puis celle des *Pattern recognition receptors* (PRR). Ce qui explique alors l'anarchie cellulaire et la destruction tissulaire observés chez les souris du groupe acide acétique sous microscope (Figure 17) (Bojarski et al., 2001).

L'inflammation est caractérisée par 4 paramètres : Douleur, chaleur, gonflement et rougeur. Ces paramètres reflètent les événements principaux de la réponse inflammatoire observés chez les souris traitées avec l'acide acétique. La formation du foyer inflammatoire implique une succession d'événements qui sont: la vasodilatation permettant l'afflux massif de sang vers le foyer inflammatoire, l'adhésion des leucocytes à l'endothélium vasculaire, une augmentation de la perméabilité des capillaires permettant aux macromolécules de s'extravaser, migration des leucocytes à travers l'endothélium vasculaire (diapédèse) vers le foyer inflammatoire et l'activation des leucocyte, ainsi la production de médiateurs pro-inflammatoires permettant le recrutement cellulaire (Couturier-Maillard, 2012). Ce qui explique la rougeur; la douleur; la chaleur et le gonflement entraînant le changement morphologique du colon et l'augmentation du rapport P/L suite à la formation des nécroses et des fissures. Cela est associée à une libération accrue des métabolites de réactif d'oxygène (ROS) et des taux élevés d'oxyde nitrique (NO) (Satish-Kumar *et al.*, 2015).

La surproduction de médiateurs inflammatoires (TNF- $\alpha$ , IL-6, COX-2) dans les MICI peut produire des anions toxiques, des protéases et des radicaux oxygénés /azote évoquant ainsi une inflammation chronique due à l'activation de différentes cellules impliquées dans la réponse immunitaire innée de l'intestin, y compris les cellules épithéliales, les macrophages ou les cellules dendritiques (Bosani *et al.*, 2009).

Le NO est censé jouer de nombreux rôles de régulation à chaque étape du développement de l'inflammation car le NO a des effets apoptotiques et peut induire des altérations de l'ADN tout en inhibant les systèmes de réparation (Esposito et Cuzzocrea, 2007). Le niveau d'activation de l'iNOS et d'expression de NO peuvent refléter l'état inflammatoire; Donc le NO reste une cible potentielle pour le développement de la thérapie pour les maladies inflammatoires (Scadding *et al.*, 2009; Kobayashi, 2010).

La COX-2 et iNOS, sont des enzymes nettement augmentées dans les tissus enflammés chez les patients atteints de la MICI.

Lors de la reconnaissance des produits bactériens dans la lumière intestinale par les récepteurs Toll-like (TLR), en particulier la COX-2 catalyse à partir de l'acide arachidonique, la production des prostanoïdes: prostaglandine D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>), E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) et le thromboxane (TX), les médiateurs centraux de l'inflammation. Donc COX-2 joue un rôle clé dans la régulation de la réponse inflammatoire. Les enzymes antioxydantes tel que la SOD et CAT semblent jouer un rôle essentiel dans l'élimination de ces radicaux libres générés (Rogler et Andus, 1998; Krishnan, 2014).

En 2013, Karbinder et ses collaborateurs ont montré que les changements dans l'état d'oxydation se manifestent par une augmentation de la capacité de peroxydation des lipides, conduisant à une érosion des muqueuses et une distorsion et perte des cryptes; en plus d'une diminution de la capacité de défense antioxydante du système immunitaire. Le Malondialdéhyde (MDA) est un marqueur de peroxydation lipidique qui joue un rôle clé dans l'évaluation des dommages tissulaires car l'augmentation du contenu en MDA peut contribuer à l'augmentation de la génération des radicaux libres et à la diminution de l'activité des systèmes de défense antioxydants. L'étude de Wang en 2008 a montré qu'une augmentation significative de la MDA a eu lieu dans les tissus coliques enflammés des souris contestées avec de l'acide acétique.

L'activation de l'inflammation via la voie transductionnelle du signal NF- $\kappa$ B conduit à un dimère NF- $\kappa$ B (p65 et p50) qui se transloque vers le noyau pour favoriser la transcription des médiateurs pro-inflammatoires TNF- $\alpha$ , IL-6, COX-2, ce qui entraîne alors une série de cascades de réponses inflammatoires (Takedatsu *et al.*, 2009). PPAR- $\gamma$ , exprimé à des niveaux élevés dans l'épithélium intestinale, joue un rôle important dans la régulation de l'inflammation intestinale. L'activation de ce dernier pourrait potentiellement réduire la gravité des MICI en inhibant les réponses inflammatoires immunitaires excessives car il joue un rôle de répresseur du facteur de transcription des médiateurs pro-inflammatoires NF- $\kappa$ B (Dubuquoy *et al.*, 2006; Desreumaux *et al.*, 2009). Des études ont montré que la

surproduction de médiateurs inflammatoires libérés par des leucocytes déterminent élicitations et le maintien de l'inflammation (Sanchez *et al.*, 2008). Dans le réseau coordonné de la réponse inflammatoire, le TNF- $\alpha$  joue un rôle de signalisation important dans la cascade inflammatoire. Après sa sécrétion induisant l'activation des monocytes et des macrophages, le TNF- $\alpha$  active des cellules immunitaires intestinales pour élaborer des prostaglandines et des protéases, ainsi que d'autres médiateurs pro-inflammatoires et cytokines chimiotactiques. Une surexpression évidente du TNF- $\alpha$  a été trouvée dans les maladies intestinales et le rôle important du TNF- $\alpha$  dans la genèse de ces maladies a également été confirmé (Bosani *et al.*, 2009). D'autre part l'IL-6 est une cytokine pleiotropique avec un rôle central dans la régulation immunitaire et l'inflammation. La surproduction d'IL-6 a été trouvée dans de nombreux types de colite, dans laquelle elle exerce ses effets pro-inflammatoires en grande partie grâce à l'activation des transducteurs de signaux et en tant qu'activateur de la transcription. Les macrophages activés par IL-6 et les cellules épithéliales du côlon sécrètent des cytokines inflammatoires y compris le TNF- $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$ , qui contribuent au développement de la colite (Suzuki *et al.*, 2001; Sanchez *et al.*, 2008).

Selon l'étude de Bribi *et al.*, (2016), l'administration orale d'AFC à des souris de souche CD1 a produit une inhibition significative de la libération de l'IL-6 et du TNF- $\alpha$  dans le tissu colique. La fraction alcaloïdique a également supprimé la transcription d'autres médiateurs pro-inflammatoires tels que IL-1  $\beta$ , iNOS, IL-12 et IL-17, car il était capable d'inhiber l'expression de l'ARNm de IL-6, TNF- $\alpha$ .

D'autre part il est bien rapporté que la molécule d'adhésion ICAM-1 exprimée sur les leucocytes, les cellules dendritiques, les fibroblastes, les cellules épithéliales et les cellules endothéliales peut jouer un rôle prépondérant dans le processus inflammatoire intestinal, ce qui peut être considéré comme une cible intéressante dans la thérapie des MICI (Lobaton *et al.*, 2014). Les travaux de Bribi et ses collaborateurs ont démontré une réduction significative de l'expression de cette dernière chez les souris traitées avec l'AFC. En outre, l'effet anti inflammatoire de l'AFC chez les souris coliques pourrait également être associé à la normalisation de l'expression de MUC-2 et ZO-1, qui sont importantes pour l'intégrité de l'épithélium intestinale selon le même auteur .

La caractérisation de la composition chimique de *Fumaria* a démontré la présence d'un mélange d'alcaloïdes d'isoquinoléine, (Suau *et al.*, 2002a; Maiza - Benabdesselam *et al.*, 2007; Bribi, 2016). Deux composants ont été identifiés, la stylopine et la protopine, qui ont été identifiés pour exercer des propriétés immunomodulatrices qui pourraient justifier les propriétés anti-inflammatoires intestinales mises en évidence par cette fraction d'alcaloïde. du

faite que la stylopine était capable de supprimer *in vitro* la sécrétion des médiateurs pro-inflammatoires TNF- $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$  et IL6 et interférer l'activité de COX-2 et iNOS (Jang *et al.*, 2004). des études ont montrés que la protopine réduit la production de NO et inhibe l'activité de COX-2 et la production prostaglandine E2 (PGE2) en bloquant la voie MAPK et de NF-kB (Park *et al.*, 2011).

Ces résultats suggèrent que *Fumaria* connue pour sa richesse en alcaloïdes isoquinoléniques exerce un effet anti-inflammatoire marqués dans la colite expérimentale en régulant l'expression des marqueurs pro-inflammatoires et en préservant l'intégrité de l'épithélium intestinale .

## Conclusion

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme une source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments. A cet effet, les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, ceci est notamment le cas des alcaloïdes végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme analgésique; antiparasitaires; anticancéreux et anti-inflammatoires.

Dans l'objectif de la valorisation de l'effet thérapeutique de *Fumaria*, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire intestinale d'une fraction des alcaloïdes totaux extraits à partir de cette dernière.

La fraction d'alcaloïde totaux de *Fumaria* pourrait avoir une utilisation potentielle dans la gestion et le traitement des MICI en raison de son activité anti-inflammatoire. La présente étude suggère que la FA exerce un effet anti-inflammatoire intestinal sur un modèle de colite expérimentale induite par l'acide acétique chez des souris NMRI, qui ressemble à une colite humaine (RCH).

L'effet anti-inflammatoire intestinal de l'AF a été confirmé après l'évaluation histologique des échantillons de la partie distale du côlon, car le traitement favorise la régénération des tissus de l'épithélium intestinale et la réduction du rapport P/L du colon. Bien que notre étude sur la toxicité aiguë de *Fumaria* ait montré qu'elle demeure non toxique même à une dose de 4000mg/kg, d'autres études approfondies sont nécessaires pour établir son niveau toxicologique sans effet et son indice de sécurité. Toutefois, il semble raisonnable de supposer que l'extrait est extrêmement bien toléré par les souris couramment utilisées pour les études pharmacologiques précliniques.

De plus, ces résultats restent préliminaires, il serait donc intéressant de poursuivre les études sur l'échelle moléculaire pour mieux comprendre le mécanisme d'action de ces molécules et les utiliser en médecine moderne par la détermination des mécanismes d'interaction entre les molécules et les cellules cibles et l'évaluation de la toxicité sub-chronique et chronique de ces dernières.

## Références bibliographiques

**Ait youcef, M. (2006).** Plantes médicinales de kabylie. *Edition: lbis press*. Paris, 149-150.

**Aniszewski, T. (2007).** Alkaloids - Secrets of Life, Alkaloid Chemistry, Biological significance, Applications and Ecological Role, *Elsevier Science*. Amsterdam-oxford, 334.

**Bardat, J., Bioret, F., Botineau, M., Boulet, V., Delpech, R., Géhu, J.M., Royer, J.M. (2004).** *Prodrome des végétations de France*: Muséum national d'histoire naturelle. Paris, 61, 171.

**Barton, G. M. (2008).** A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *J Clin Invest*, 118(2), 413-420.

**Baumgart, D. C., & Sandborn, W. J. (2007).** Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *The Lancet*, 369(9573), 1641-1657.

**Bhat , S. V., Nagasampagi, B. A & Sivakumar, M. (2005).** Chemistry of Natural Products. *Narosa..* New Delhi, India, 4, 237.

**Bianchi, M. E. (2007).** DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol*, 81(1), 1-5.

**Bojarski, C., Gitter, A., Bendfeldt, K., Mankertz, J., Schmitz, H., Wagner, S., . . . Schulzke, J. (2001).** Permeability of human HT-29/B6 colonic epithelium as a function of apoptosis. *The Journal of physiology*, 535(2), 541-552.

**Bosani, M., Ardizzone, S., & Porro, G. B. (2009).** Biologic targeting in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Biologics*, 3, 77-97.



**Braus, N. A., & Elliott, D. E. (2009).** Advances in the pathogenesis and treatment of IBD. *Clin Immunol*, 132(1), 1-9.

**Bribi, N., Algieri, F., Rodriguez-Nogales, A., Vezza, T., Garrido-Mesa, J., Utrilla, M. P., . . . Rodriguez-Cabezas, M. E. (2016).** Intestinal anti-inflammatory effects of total alkaloid extract from *Fumaria capreolata* in the DNBS model of mice colitis and intestinal epithelial CMT93 cells. *Phytomedicine*, 23(9), 901-913.

**Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie Phytochimie, plantes médicinales. *Edition: Tec and Doc Lavoisier. 4eme édition.* Paris, 952.

**Bueno, L. (2010).** Mécanismes régulateurs de la perméabilité des jonctions serrées épithéliales du tube digestif. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 45(2), 72-77.

**Conrad, K., Roggenbuck, D., & Laass, M. W. (2014).** Diagnosis and classification of ulcerative colitis. *Autoimmun Rev*, 13(4-5), 463-466.

**Cooper, H. S., Murthy, S. N., Shah, R. S., & Sedergran, D. J. (1993).** Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Lab Invest*, 69(2), 238-249.

**Cortot, A., Pineton, d. C. G., Vernier-Massouille, G., Vigneron, B., & Gower, R. C. (2008).** Inflammatory bowel disease: genetic or environmental diseases? *Gastroenterologie clinique et biologique*, 33(8-9), 681-691.

**Couplan, F. (2011).** Guide nutritionnel des plantes sauvages et cultivées. *Edition: graficas estella.* Espagne, 94.

**Couturier-Maillard, A. (2012).** Etude des interactions du microbiote intestinal avec le récepteur de l'immunité innée NOD2 dans la maladie de Crohn et le cancer colorectal. Thèse de doctorat en immunologie. Université du Droit et de la Santé. Lille II, 167.

**Desreumaux, P., & Dubuquoy, L. (2009).** PPAR $\gamma$  agonists as a new class of effective treatment for ulcerative colitis. *Inflammatory bowel diseases*, 15(6), 959-960.

**Dewick, P. M. (2002).** Medicinal natural products: a biosynthetic approach. *John Wiley & Sons 2nd Edition*, 6, 291.

**Dubuquoy, L., Rousseaux, C., Thuru, X., Peyrin-Biroulet, L., Romano, O., Chavatte, P., . . . Desreumaux, P. (2006).** PPAR $\gamma$  as a new therapeutic target in inflammatory bowel diseases. *Gut*, 55(9), 1341-1349.

**Elazzaoui, Z. (2012).** Les aspects épidémiologiques des MICI dans une population marocaine (A propos de 300 cas) expérience d'un service d'Hépatogastro-Enterologie du CHU Ibn-Sina. Rabat.

**Esposito, E., & Cuzzocrea, S. (2007).** The role of nitric oxide synthases in lung inflammation. *Current opinion in investigational drugs (London, England: 2000)*, 8(11), 899-909.

**Freeman, H. J. (2004).** Natural history and long-term clinical course of Crohn's disease. *World Journal of Gastroenterology*, 20(1), 31-36.

**Gilani, A. H., Bashir, S., Janbaz, K. H., & Khan, A. (2005).** Pharmacological basis for the use of *Fumaria indica* in constipation and diarrhea. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(3), 585-589.

**Grycová, L., Dostál, J., & Marek, R. (2007).** Quaternary protoberberine alkaloids. *Phytochemistry*, 68(2), 150-175.

**Guignard, J. L. (2004).** Biochimie végétale. *Edition: DUNOD. 2eme édition*. Paris, 203-204.

**Harborne, J. B., Baxter, H., & Moss, G. P. (1999).** Phytochemical dictionary: a handbook of bioactive compounds from plants. Ed Taylor & Francis. London. Philadelphia.

**Hartmann, T., & Witte, L. (1995).** Alkaloids : Chemical and biological perspectives, Ed. S. W Pelletier. *Edition: médicales Elsevier SAS* . Georgia .USA, 9, 155.

**Hur, S. J., Kang, S. H., Jung, H. S., Kim, S. C., Jeon, H. S., Kim, I. H., & Lee, J. D. (2012).** Review of natural products actions on cytokines in inflammatory bowel disease. *Nutrition research*, 32(11), 801-816.

**Jang, S., Kim, B. H., Lee, W. Y., An, S. J., Choi, H. G., Jeon, B. H., . . . Chai, K. Y. (2004).** Stylopine from *Chelidonium majus* inhibits LPS-Induced inflammatory mediators in RAW 264.7 cells. *Archives of pharmacal research*, 27(9), 923-929.

**Karbiner, M. S., Sierra, L., Minahk, C., Fonio, M. C., de Bruno, M. P., & Jerez, S. (2013).** The role of oxidative stress in alterations of hematological parameters and inflammatory markers induced by early hypercholesterolemia. *Life sciences*, 93(15), 503-508.

**Krishnan, M., Jayaraj, R. L., Megala, J., & Elangovan, N. (2014).** Antioxidant mediated antiulcer effect of *Eupatorium triplinerve* Vahl against acetic acid induced ulcerative colitis in mice. *Biomedicine & Aging Pathology*, 4(2), 153-160.

**Kobayashi, Y. (2010).** The regulatory role of nitric oxide in proinflammatory cytokine expression during the induction and resolution of inflammation. *J Leukoc Biol*, 88(6), 1157-1162.

**Lamoril, J., Deybach, J. C., & Bouizegarène, P. (2007).** Maladie de Crohn et génétique: connaissances actuelles. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 22(3), 137-150.

**Lesage, S., Zouali, H., Cézard, J.-P., Colombel, J.-F., Belaiche, J., Almer, S., . . . Binder, V. (2002).** CARD15/NOD2 mutational analysis and genotype-phenotype correlation in 612 patients with inflammatory bowel disease. *The American Journal of Human Genetics*, 70(4), 845-857.

**Lobaton, T., Vermeire, S., Assche, G., & Rutgeerts, P. (2014).** Review article: anti-adhesion therapies for inflammatory bowel disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 39(6), 579-594.

**Maione, F., Russo, R., Khan, H., & Mascolo, N. (2016).** Medicinal plants with anti-inflammatory activities. *Natural product research*, 30(12), 1343-1352.

**Maiza-Benabdesselam, F., Khentache, S., Bougoffa, K., Chibane, M., Adach, S., Chapeleur, Y., Max, H., & Laurain-Mattar, D. (2007).** Antioxidant activities of alkaloid extracts of two Algerian species of *Fumaria*: *Fumaria capreolata* and *Fumaria bastardii*. *Rec. Nat. Prod*, 1(2-3), 28-35.

**Moreau, F. (1964).** Alcaloïdes et plantes alcaloïfères. *Edition: presses Universitaires de France*. Paris, 11-12.

**Muniz, M. N. (2006).** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs: la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine. Thèse de doctorat en chimie. Université Joseph-Fourier-Grenoble I, 186.

**Nahon, S., Seksik, P., Lahmek, P. (2001).** Thérapeutiques de la maladie de Crohn. *Editions: scientifiques et médicales Elsevier SAS*, 9, 57.

**Orhan, I., Şener, B., Choudhary, M., & Khalid, A. (2004).** Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of some Turkish medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 91(1), 57-60.

**Orhan, I. E., Şener, B., & Musharraf, S. G. (2012).** Antioxidant and hepatoprotective activity appraisal of four selected *Fumaria* species and their total phenol and flavonoid quantities. *Experimental and toxicologic pathology*, 64(3), 205-209.

**Otari, K. V., Gaikwad, P. S., Shete, R. V., & Upasani, C. D. (2012).** Protective effect of

aqueous extract of *Spinacia oleracea* leaves in experimental paradigms of inflammatory bowel disease. *Inflammopharmacology*, 20(5), 277-287.

**Park, J. E., Cuong, T. D., Hung, T. M., Lee, I., Na, M., Kim, J. C., . . . Woo, M. H. (2011).** Alkaloids from *Chelidonium majus* and their inhibitory effects on LPS-induced NO production in RAW264. 7 cells. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 21(23), 6960-6963.

**Plevy, S. (2002).** The immunology of inflammatory bowel disease. [Review]. *Gastroenterol Clin North Am*, 31(1), 77-92.

**Rabbani, G., Butler, T., Knight, J., Sanyal, S., & Alam, K. (1987).** Randomized controlled trial of berberine sulfate therapy for diarrhea due to enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*. *Journal of infectious diseases*, 155(5), 979-984.

**Rathi, A., Srivastava, A. K., Shirwaikar, A., Rawat, A. K. S., & Mehrotra, S. (2008).** Hepatoprotective potential of *Fumaria indica* Pugsley whole plant extracts, fractions and an isolated alkaloid protopine. *Phytomedicine*, 15(6), 470-477.

**Rogler, G., & Andus, T. (1998).** Cytokines in inflammatory bowel disease. *World journal of surgery*, 22(4), 382-389.

**Romano, B., Iqbal, A. J., & Maione, F. (2015).** Natural anti-inflammatory products/compounds: Hopes and reality. *Mediators of inflammation*, 2015.

**Rufo, P. A., & Bousvaros, A. (2006).** Current therapy of inflammatory bowel disease in children. *Paediatr Drugs*, 8(5), 279-302.

**Saeed, S., Gilani, A., Majoo, R., & Shah, B. (1997).** Anti-thrombotic and anti-inflammatory activities of protopine. *Pharmacological research*, 36(1), 1-7.

**Sanchez-Munoz, F., Dominguez-Lopez, A., & Yamamoto-Furusho, J. K. (2008).** Role of

cytokines in inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol*, 14(14), 4280-4288.

**Satish Kumar, C. S., Kondal Reddy, K., Reddy, A. G., Vinoth, A., Ch, S. R., Boobalan, G., & Rao, G. S. (2015).** Protective effect of *Lactobacillus plantarum* 21, a probiotic on trinitrobenzenesulfonic acid-induced ulcerative colitis in rats. *Int Immunopharmacol*, 25(2), 504-510.

**Scadding, G., & Scadding, G. K. (2009).** Update on the use of nitric oxide as a noninvasive measure of airways inflammation. *Rhinology*, 47(2), 115-120.

**Siegel, C. (2011).** Review article: explaining risks of inflammatory bowel disease therapy to patients. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 33(1), 23-32.

**Silverberg, M. S., Satsangi, J., Ahmad, T., Arnott, I. D., Bernstein, C. N., Brant, S. R., . . . Geboes, K. (2005).** Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 19(Suppl A), 5A-36A.

**Song, L. S., Ren, G. J., Chen, Z. L., Chen, Z. H., Zhou, Z. N., & Cheng, H. (2000).** Electrophysiological effects of protopine in cardiac myocytes: inhibition of multiple cation channel currents. *British journal of pharmacology*, 129(5), 893-900.

**Sotnikova, R., Nosalova, V., & Navarova, J. (2013).** Efficacy of quercetin derivatives in prevention of ulcerative colitis in rats. *Interdisciplinary toxicology*, 6(1), 9-12.

**Soušek, J., Guedon, D., Adam, T., Bochořáková, H., Taborska, E., Valka, I., & Šimánek, V. (1999).** Alkaloids and organic acids content of eight *Fumaria* species. *Phytochemical Analysis*, 10(1), 6-11.

- Suau, R., Cuevas, A., Garcia, A. I., Rico, R., & Cabezudo, B. (1991).** Isoquinoline alkaloids from *Platycapnos*. *Phytochemistry*, 30(10), 3315-3317.
- Suau, R., Cabezudo, B., Rico, R., Najera, F., & López-Romero, J. (2002a).** Alkaloids from *Fumaria sepium* and *Fumaria agrarian*. *Biochem. Syst. Ecol*, 30, 263-265.
- Suau, R., Cabezudo, B., Rico, R., Najera, F., & López-Romero, J. (2002b).** Direct determination of alkaloid contents in *Fumaria* species by GC-MS. *Phytochemical Analysis*, 13(6), 363-367
- Suau, R., Cabezudo, B., Valpuesta, M., Posadas, N., Diaz, A., & Torres, G. (2005).** Identification and quantification of isoquinoline alkaloids in the genus *Sarcocapnos* by GC-MS. *Phytochemical Analysis*, 16(5), 322-327.
- Suzuki, A., Hanada, T., Mitsuyama, K., Yoshida, T., Kamizono, S., Hoshino, T., . . . Takeda, K. (2001).** CIS3/SOCS3/SSI3 plays a negative regulatory role in STAT3 activation and intestinal inflammation. *Journal of Experimental Medicine*, 193(4), 471-482.
- Takedatsu, H., Taylor, K. D., Mei, L., McGovern, D. P., Landers, C. J., Gonsky, R., . . . Elson, C. O. (2009).** Linkage of Crohn's disease-related serological phenotypes: NFKB1 haplotypes are associated with anti-CBir1 and ASCA, and show reduced NF-κB activation. *Gut*, 58(1), 60-67.
- Wallace, K. L., Zbeng, L. B., & Kanazawa, Y. (2014).** Immunopathology of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterology*, 20(1), 6-21.
- Wang, X., Zhao, L., Han, T., Chen, S., & Wang, J. (2008).** Protective effects of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O-beta-d-glucoside, an active component of *Polygonum multiflorum* Thunb, on experimental colitis in mice. *European journal of pharmacology*, 578(2), 339-348.

[www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/RectoColiteHemorragique-FRfrPub34v01.pdf](http://www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/RectoColiteHemorragique-FRfrPub34v01.pdf)

<http://lesseniorsdeboulogneavecbuguet.hautetfort.com/archive/2012/08/30/des-parasites-contre-la-maladie-de-crohn.html>



## Réactifs

A partir des solutions mères existantes, des solutions diluées ont été préparées pour une meilleure réalisation des protocoles suivis

√ Acide acétique ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) à 100%.

√ Chloroforme  $\text{CHCl}_3$ .

√ Eau distillée .

√ Eau physiologique à (9%).

√ Acide hydrochlorique HCL à 37%.

√ Ethanol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ) à 96%.

## Equipement de préparation

√ Appareil Soxhlet.

√ Micropipettes 1000 $\mu\text{L}$ .

√ Agitateur magnétique.

√ Barreau magnétique pour agitation et son extracteur.

√ Bal √ Ether de pétrole.

√ Ammoniaque  $\text{NH}_4\text{OH}$ .

√ Formol.

√ Hotte.

√ Eprouvette, et Becher, cristalliseur.

√ Pince et ciseau.

√ Mortier.

√ Spatule.

√ Seringues et sonde de gavage.

√ Etuve.

√ Ampoule à décanter.

√ Entonnoirs en verre.

√ Des cages.

## *Glossaire*

**Analgésique:** C'est un produit qui a la propriété de diminuer la douleur.

**Antithrombotique:** Un antithrombotique est un médicament empêchant la formation d'un caillot de sang (thrombose). Anticoagulant délivré sur prescription et ordonnance médicale.

**Antiarythmique:** Les antiarythmiques sont l'une des classes de médicaments utilisés en cardiologie pour rétablir un rythme cardiaque régulier, l'objectif étant de parvenir à un rythme normal, dit « sinusal »

**Arthropathie:** Signifie « atteinte des articulations ». Il désigne l'ensemble des maladies rhumatismales.

**Cellules caliciformes:** Les cellules caliciformes se trouvent dans la plupart des muqueuses . Ces cellules ont pour rôle de sécréter le mucus,

**Chimiotactiques:** Le chimiotactisme se définit par l'effet d'attraction ou de répulsion qu'exerce une substance chimique sur une cellule vivante. Selon l'effet produit, on parle de chimiotactisme positif (attraction) ou négatif (répulsion).

**Cryptes intestinales:** Sont des glandes exocrines tubuleuses droites de l'épithélium de l'intestin grêle et du côlon.

**Diapédèse:** C'est la migration des éléments sanguins en particulier les globules blancs hors des capillaires.

**DL 50:** C'est la dose minimale de mortalité. Elle est la dose unique déduite statistiquement censé provoquer la mort de 50% des animaux en test.

**Pleiotropique:** La faculté pour un gène de déterminer plusieurs caractères

**Immunomodulatrices:** Qualifie un traitement qui stimule ou freine les réactions du système immunitaire du corps.

**Métalloprotéines:** Protéine associée à un élément métallique, permettant le transport de celui-ci de son lieu d'absorption vers son lieu de stockage dans l'organisme.

## Résumé

Une plante médicinale du genre *Fumaria* riche en alcaloïdes isoquinoléiques R(4%), a été choisie afin d'évaluer sa toxicité aiguë et son pouvoir anti-inflammatoire *in vivo*. La présente étude a montré que l'extrait des alcaloïdes totaux de *Fumaria* est avéré non toxique (DL50>4000mg/kg). L'activité anti-inflammatoire évaluée avec l'acide acétique (5%) a déterminé une réduction significative du rapport P/L du colon pour l'extrait alcaloïdique en comparaison avec un médicament de référence (Dexaméthasone). Ainsi qu'une préservation remarquable de l'intégrité de l'épithélium intestinale chez les souris traitées avec cette fraction des alcaloïdes totaux de *Fumaria*.

## Mots clés

*Fumaria*, alcaloïdes totaux, toxicité aiguë, anti-inflammatoire.

## Abstract

A medicinal plant of the genus *Fumaria* rich on isoquinoleic alkaloids R(4%) was chosen to evaluate its acute toxicity and anti-inflammatory activity *in vivo*. The present study determined that the 3 doses of the total alkaloids of *Fumaria* was found to be non-toxic (LD50> 4000 mg / kg). The intestinal anti-inflammatory activity evaluated in mice with 5% acetic acid determined a significant reduction in the P/L ratio of the colon for the total alkaloid extract from *Fumaria* when compared to the (Dexamethasone). As well as a remarkable preservation of the integrity of the intestinal epithelium in mice treated with this fraction of the total alkaloids extract from *Fumaria*.

## Key words

*Fumaria*, total alkaloids, acute toxicity, anti-inflammatory.

## الملخص

تم اختيار نبتة طبية من نوع فوماريا غنية بالقلويدات R (4%) لتقييم السمية الحادة والنشاط المضاد للالتهابات في الجسم الحي. وقد توصلت الدراسة التي أجريت إلى أن مستخلص مجموع القلويدات الموجودة في فوماريا أنه غير سام. (LD50> 4000mg/kg) وقد حدد النشاط المضاد للالتهابات الذي تم تقييمه بحمض الخليك 5٪ انخفاضا كبيرا في نسبة P / L من القولون بالنسبة لمجموع المستخلص القلوي من فوماريا بالمقارنة مع (ديكساميثازون). فضلا عن الحفاظ الملحوظ لسلامة ظهارة أمعاء الفئران التي تمت معاملتها بهذا الجزء من مجموع قلويدات المستخرجة من فوماريا.

## الكلمات الدالة

فوماريا، قلويدات، السمية الحادة، المضادة للالتهابات.