

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Spécialité : Pharmacologie et toxicologie



جامعة بجاية
Tasdawit n Bgayet
Université de Béjaïa

Réf :.....

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

THÈME

**Effet des différents extraits de *Clematis flammula*
(Ranunculaceae) sur la rectocolite hémorragique induite
chez les souris**

Présenté par :

- ✓ MOKRAOUI Sabrina
- ✓ GOUGAM Warda

Soutenue le : 21 Juin 2018

Devant le jury composé de :

- | | |
|-------------------------------|------------------|
| • M ^{elle} REMILA. S | MCB Promotrice |
| • M ^{me} ATMANI.D | MCA Présidente |
| • M ^{me} ZEMOURI. S | MAA Examinatrice |

Année universitaire : 2017/2018

Remerciements

Louange à Dieu le Tout Puissant de nous avoir donné le courage et la patience de réaliser ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice, M^{lle} REMILA. S pour son encadrement de qualité, son orientation, sa disponibilité à toute épreuve, et pour la confiance qu'elle nous a accordée.

Nous lui sommes très reconnaissants d'avoir mis toute sa compétence à notre disposition, pour ses conseils judicieux, sa patience et son suivi régulier

À l'élaboration de ce travail.

Nos sincères considérations et remerciements sont aussi exprimés aux membres du jury :

Mme

Atmani. D qui nous fait l'honneur par sa présence en qualité de présidente de jury et Mme Zemouri. S qui nous fait l'honneur par sa présence et

Qui a accepté d'examiner ce travail

On tient à remercier sincèrement M^{lle} BENLOUKIL M, pour son aide précieuse, ses

Conseils et sa gentillesse.

Qu'elle trouve dans le présent l'expression de notre profonde

Reconnaissance pour nous avoir guidées pour le bon déroulement de notre travail.

Nous tenons aussi à remercier vivement Mme. ATMANI D. pour nous avoir accueillies dans

Son laboratoire de génétique.

Notre plus vive considération va également à M^{lle} Ait Ali Dj. Chef du Département de

Biologie Physico-chimique

Et à tous nos enseignants qui nous en former tout au long de

Notre parcours universitaire.

Un grand merci à tous

Sabrina & Warda

Dédicaces

A mes chers parents ;

Mon symbole de la bonté, ma source de tendresse qui n'a jamais

Cessé de m'encourager et de prier pour nous.

*Je vous remercie pour tout l'amour que j'ai ressentie, pour tout les
Sacrifices que vous avez consentiez pour mes études et mon bien être.*

Merci d'être des parents juste parfait.

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour,

Puisse dieu le tout puissant vous préserver et vous accorder santé,

Langue vie et bonheur.

A mes chers frères halim et baby et ma sœur kahina ;

Les mots ne suffisent pas pour exprimer mon amour et mon

Affection que je porte pour vous. Je vous souhaite un avenir plein

De joie, de bonheur, réussite et de santé.

A mon fiancé zak, mes deux familles et mes proches.

A mon amie et binôme Warda pour ton soutien, ta compréhension et ta patience.

A mes amis et collègue de promotion.

A tous ceux que je n'ai pas cités mais qui existe au fond de mon

Cœur et de ma pensée.

Sabrina

Dédicaces

A celle qui m'a attendu avec patience pour les fruits de sa bonne

Éducation,

A ma Mère

A celui qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la volonté

Fait toujours les grands Hommes et femmes.

A mon père

A mes frères et ma sœur, et toute la famille

A mes amis en particulier ma binôme Mokraoui Sabrina

A toute la promotion de master 2018

A tous ceux qu'ont crus en mes succès

Warda

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....1

CHAPITRE I : REVUE BIBLIORAPHIQUE

I. Définition des plantes médicinales.....3

I. Définition des principes actifs.....3

I.2.1 Les différents groupes des principes actifs.....3

I.2.1.1 Les métabolites primaires.....3

I.2.1.2 Les métabolites secondaires.....3

I.3 *Clematis flammula*.....8

I.3.1 Description.....8

I.3.2 Systématique.....9

I.3.3 Principaux principes actifs.....9

I. Les différentes activités biologiques des plantes médicinales.....10

I.4. Activité antioxydante.....10

I.4. Activité antibactérienne.....10

I.4.3 Activité anti-cancéreuse.....10

I.4.4 Activité anti-inflammatoire.....11

I.4.4. Définition de l'inflammation.....11

I.4.4. Facteurs étiologiques.....11

I.4.4.3 Les différentes formes d'une inflammation.....11

I.4.4.4 Les anti-inflammatoires.....	13
I.4.4.5 Les maladies inflammatoire de l'intestin.....	14
I.5 La rectocolite hémorragique.....	15
I.5.1 Anatomie du colon.....	15
I.5.2 Diagnostique et symptômes.....	16
I.5.3 Traitement et entretien de la rectocolite hémorragique.....	16
I.6 Les différents modèles d'induction d'une inflammation intestinale.....	18
I.6.1 Les modèles toxiques.....	18
I.6.2 Les modèles immunologiques.....	18
I.6.3 Les modèles de transfert à des souris immunodéprimées.....	18

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

II.1 Matériels.....	19
II.1.1 Matériels végétal.....	19
II.1.2 Les animaux et les conditions d'élevage.....	19
II.1.3 Appareillages et produits chimiques.....	20
II.2 Méthodes.....	20
II.2.1 Préparation des extraits.....	20
II.2.2 Evaluation de l'effet préventif de <i>Clematis flammula</i> sur RCUH.....	22
II.2.2.1 Préparation des solutions.....	23
II.2.3 Induction d'ulcère par l'acide acétique.....	23
II.2.4 Sacrifice des animaux.....	24

II.2.5 Evaluation de la colite.....	25
II.2.6 Détermination de taux de la MPO.....	25
II.2.6.1 Préparation des solutions.....	26
II.2.6.2 Principe du dosage du MPO.....	26
II.2.7 Analyses statistiques.....	27

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 Extraction des composés phénoliques de <i>Clematis flammula</i>	28
III.2 Effets de l'induction de la RCUH par l'acide acétique.....	28
III.3 Evaluation macroscopique de l'effet des extraits de <i>Clematis flammula</i> sur la RCUH induite par l'acide acétique.....	30
III.4 Effets des extraits de <i>Clematis flammula</i> sur le poids et la longueur des colons.....	33
III.5 Effets des extraits de <i>Clematis flammula</i> sur l'activité de la MPO.....	35
Conclusion et perspectives.....	39
Références bibliographiques.....	41

Liste des tableaux

Tableau I : la structure chimique des principaux flavonoïdes

Tableau II : Classification taxonomique de *Clematis flammula*

Tableau III : Différentes formes de rectocolite ulcéreuse

Tableau VI : Liste des appareillages et les produits chimiques utilisés.

Tableau V : La nature des traitements reçus par les différents lots.

Tableau IV : Modèle d'évaluation du score macroscopique

Liste des Figures

Figure N°1 : Actions cellulaires, moléculaires et biochimiques d'un métabolite secondaire (polyphénols).....	4
Figure N°2 : Structure de base des composées phénoliques.....	5
Figure N°3 : Structure des deux acides phénoliques.....	5
Figure N°4 : Structure de base des flavonoïdes.....	6
Figure N°5 : Structure chimique des tanins.....	7
Figure N°6 : structures des différents types d'alcaloïdes.....	7
Figure N°7 : structures des terpènes.....	8
Figure N°8 : Les feuilles et les fleurs de <i>ClematisFlammula</i>	9
Figure N°9 : Les étapes de la réaction inflammatoire aiguë.....	12
Figure N°10 : Anatomie du côlon.....	16
Figure N°11 : La prise en charge thérapeutique de la RCH légère à modérée.....	17
Figure N°12 : Algorithme de prise en charge d'une poussée sévère.....	17
Figure N°13 : Elevage des souris au sein de l'animalerie.....	19
Figure N°14 : Protocole d'extraction des composés phénoliques de <i>Clematis flammula</i>	21
Figure N°15: Administration des différents traitements.....	22
Figure N°16: Induction de RCUH par voie rectale.....	24
Figure N°17: Sacrifice des animaux.....	24
Figure N°18: Morphologie des côlons après traitement.....	31
Figure N°19: Score macroscopique des différents lots.....	31
Figure N°20 : Effet de l'administration de l'acide acétique sur le poids du côlon.....	34
Figure N°21 : Effet de l'administration de l'acide acétique sur la longueur du côlon.....	35
Figure N°22 : Effets de différents traitements sur l'activité de la myéloperoxydase.....	36

Liste des abréviations

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens.

AIS : Anti-inflammatoires stéroïdiens.

5-ASA : Acide 5-aminosalicylique.

CD : maladie de Crohn

CMC : Carboxy méthyl Cellulose.

COX : Cyclo-oxygénase.

CPA : Cellule présentatrice d'anti-corps.

CRP : C Réactive Protéine ou Protéine C Réactive

DSS : Dextrane Sulfate de Sodium

DNBS : Acide Dinitrobenzène Sulfonique

ERO : Espèces réactives oxygénées

EtOH : Ethanol

KH₂PO₄ : Potassium Phosphate Dibasique.

HTBA : HexadecylTrimethyl Ammonium Bromide

H₂O : Eau.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

IκB : Inhibiteur kappa B

IL : Interleukine.

GSH : glutathion

K₂HPO₄ : Potassium Phosphate Monobasique.

LB : Lymphocyte B.

LT : Lymphocyte T

5-LO : 5-Lipoxygénase

MPO : Myéloperoxydase.

NF- κ B : Nuclear factor-Kappa B.

NK : Natural Killer

NO : Oxyde nitrique

OH : hydroxyde

O₂^{•-} : superoxyde

PBS : Tampon Phosphate Salin.

PGES : Prostaglandine E synthase

PGDH : hydroxy prostaglandine déshydrogénase

PN : polynucléaires.

PPAR γ : Peroxisome Proliferator Activated Receptor ou Récepteur Activé par les

RCUH : Rectocolite Ulcéro-Hémorragique.

TNBS : Acide Trinitrobenzène Sulfonique

TNF α : Facteur de nécrose tumorale alpha.

V : Volume

INTRODUCTION

Depuis les temps les plus anciens, les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, romaine, etc.) ont eu recours aux plantes médicinales pour leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques, agro-alimentaires industrielles et pharmaceutiques.

Plus de 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir des plantes qui renferment de nombreux principes actifs ou certains sont issus du métabolisme secondaire (**Carillon, A. 2009**) tels que les polyphénols qui possèdent la capacité d'agir sur l'expression des gènes ainsi que sur de nombreuses voies de signalisation impliquées dans différents processus pathologiques (**Larrosa et al., 2009**).

Vu la position géographique privilégiée et l'étendu entre la méditerranée et l'Afrique subsaharienne, l'Algérie est considéré parmi les pays connus pour leur diversité floristique (**bouar R et al., 2013**).

Ainsi, l'intérêt majeur de ce travail est de mettre en évidence les activités biologiques de *Clematis flammula*, une plante médicinale largement employée par les populations rurales en Algérie pour traiter les différentes pathologies à caractère inflammatoire (**Atmani D et al., 2011**), y compris les troubles de l'appareil digestive, les brûlures, les douleurs articulaires...etc.

Les rectocolites hémorragiques, sont des pathologies multi factorielles d'étiologie inconnu dont différents facteurs génétiques, immunologiques et environnementaux, semblent contribuer à leur développement.

Dans cette présente étude, nous nous sommes intéressées à l'évaluation de l'effet préventif des extraits de *Clematis flammula* sur la colite ulcéreuse induite par l'acide acétique chez des souris albinos males afin de déterminer l'effet protecteur des substances bioactives de ces

extraits sur divers symptômes et marqueurs de l'inflammation suivant différents paramètres incluant les scores et l'activité myéloperoxydase.

Pour cela notre étude est divisée en deux parties, la première partie de ce manuscrit constitue une étude bibliographique portant sur les métabolites secondaires et leurs activités biologiques, ainsi que l'inflammation plus particulièrement l'inflammation intestinale "la rectocolite hémorragique ". La seconde partie expose les procédés expérimentaux, suivie de la discussion des différents résultats obtenus.

CHAPITRE II
MATERIELS ET
METHODES

Matériel
Et
Méthodes

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel végétal

Dans ce présent travail, on s'est intéressé à l'évaluation de l'activité ulcéro-protectrice des différents extraits (N-butanol, Ether de pétrole, Ethyle acétate a 100-50 et 25mg/kg) de *Clematis flammula* sur un modèle animal.

II.1.2 Les animaux et les conditions d'élevage

Des souris albinos mâles de souche BALB/c, provenant du centre d'élevage de l'institut Pasteur d'Alger, ayant un poids compris entre 30 et 40g ont été utilisées. L'expérimentation a été réalisée au niveau du l'animalerie de l'université Abderrahmane MIRA de Bejaïa.

Pour respecter leur cycle biologique, les souris ont été mises sous des conditions de température ambiante avec un cycle 12h lumière et 12h obscurité, répartis en lots de 7. Elles ont été nourries avec du granulé avec un accès libre à l'eau du robinet (**Figure N°13**).



Figure N°13 : Elevage des souris au sein de l'animalerie (Originale).

II.1.3 Appareillages et produits chimiques

Tableau VI : Liste des appareillages et les produits chimiques utilisé.

Etape	Produits	Matériel et appareillage
Broyage et tamisage	Les feuilles de <i>Clematis flammula</i>	Broyeur (KIKA), tamis à différentes granulométries
Extraction	Ethanol, Eau, N-butanol, éther de pétrole, éthyle acétate, poudre de <i>Clematis flammula</i>	Ampoule à décanter, éprouvette, rotavapor
Gavage	Eau physiologique, Carboxyméthylcellulose (CMC 0,8 %), Sulfasalazine 500 mg (PFIZER), Extraits de <i>Clematis flammula</i>	Plaque chauffante (LEICA), balance (RADWAG), vortex (VELP), sonicateur (RAYPA),
Induction d'ulcère	Acide acétique (1 %), Vaseline, Eau physiologique	Tube de polypropylène
Sacrifice	Chloroforme	Dessiccateur, épingles, ciseaux, pinces, glace, épundorff,
Dosage de la MPO	PBS, K ₂ HPO ₄ , H ₂ KO ₄ P, HTAB (0, 5%) H ₂ O ₂ (1%), O-dianisidine, ddH ₂ O.	Vortex, micropipettes, lecteur de microplaque (BioTeK), centrifugeuse, homogénéisateur (SIGMA), microplaque, épundorff

II.2 Méthodes

II.2.1 Préparation des extraits

A) Récolte

Les feuilles de *Clematis flammula* ont été récoltées en Juin 2016, dans un endroit naturel loin de tout impact de pollution dans la forêt d'Azru n'Bechar dans la commune d'Amizour, wilaya de Béjaia.

B) Séchage, broyage et tamisage

Les feuilles ont été séchées à l'air libre et à température ambiante. A l'aide d'un broyeur électrique, ces feuilles ont été broyées jusqu'à l'obtention d'une poudre fine de 64µm en utilisant une tamiseuse électrique, menée de divers tamis à différentes granulométries.

C) Extraction

L'extraction des composés phénoliques à partir de la poudre fine des feuilles de *Clematis flammula* a été réalisée par macération dans l'éthanol (70 %) avec un rapport masse/volume de (1/4) à température ambiante, sous agitation pendant 24 h. Le mélange obtenu a été transféré dans une éprouvette et laissé décanter pendant 24h et le surnageant hydro-alcoolique a été récupéré. L'extrait aqueux a été obtenu après évaporation totale du solvant à l'aide d'un rota-vapeur fixé à une température de 40°C (Maamria et al ; 2015).

Cette extraction solide/liquide a été suivie par une deuxième extraction liquide/liquide, avec plusieurs solvants (V/V) (Figure N°14).

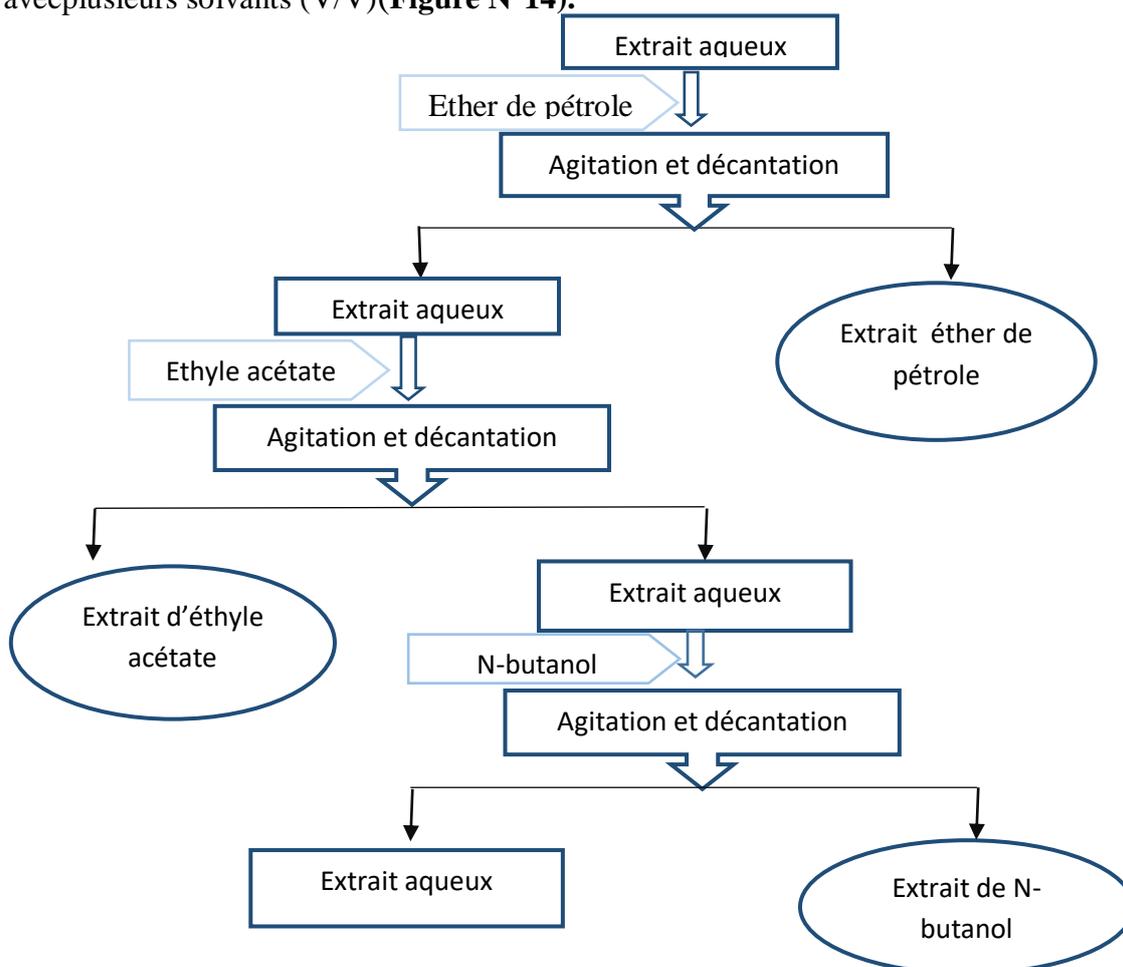


Figure N°14 : Protocole d'extraction des composés phénoliques des feuilles de *Clematis flammula*

II.2.2 Evaluation de l'effet préventif de *Clematis flammula* sur la RCUH

Un effectif de 84 souris a été utilisé au cours de ce protocole. Elles ont été réparties en 12 lots de 7 souris chacun.

Les différents traitements (extraits de *Clematis flammula*, médicament de référence et la solution véhicule) ont été administrés par voie intra-gastrique à l'aide d'une sonde à gavage (**Figure N°15**) comme le résume le tableau et les figures ci-dessous :

N° du lot	Traitement
1, 2, 3	N-butanol (100, 50 et 25mg/kg) respectivement + RCUH
4, 5, 6	Ether de pétrole (100, 50 et 25mg/kg) respectivement + RCUH
7, 8, 9	Ethyle acétate (100, 50 et 25mg/kg) respectivement + RCUH
10	Sulfasalazine (100mg/kg) (Médicament) + RCUH
11	Control ; CMC à 0,8%. (véhicule) + RCUH
12	Témoin ; CMC à 0,8%. (véhicule)

Tableau V : La nature des traitements reçus par les différents lots.



Figure N°15: Administration des différents traitements. A/Gavage intra-gastrique ; B/Souris albinos (Originale)

II.2.2.1 Préparation des solutions

- ▶ **Solution de CMC (0,8%)** : Cette solution a été préparée dans de l'eau physiologique (0,8g de CMC dans 100ml H₂O)
- ▶ **Médicament de référence (Sulfasalazine)** : Une solution de Sulfasalazine (100mg/kg) a été préparée en dissolvant 100 mg de la poudre de Sulfasalazine dans 10 ml de CMC.
- ▶ **Les extraits de la plante** : La solution mère a été préparée en mélangeant 320 mg de l'extrait éthanolique avec 32 ml de CMC. Une série de dilution a été réalisée afin d'obtenir les différentes doses (25, 50, 100 mg/kg).
- ▶ **L'acide acétique** : Une solution d'acide acétique à 1% a été préparée (en diluant 1ml d'acide acétique dans 99ml d'eau physiologique).

II.2.3 Induction d'ulcère par l'acide acétique

Afin de mettre en évidence l'activité anti-RCUH des extraits de *Clematis flammula*, le protocole décrit par (**Badami Shrishailappa et al ; 2011**).a été adopté avec certaines modifications.

Chaque traitement, précédemment évoqué, a été administré aux souris quotidiennement pendant cinq jours par voie intra-gastrique à l'aide d'une sonde à raison de 10 ml/kg.

Au 4ème jour du traitement, les animaux ont été jeûnés durant la nuit avec accès à l'eau. Le 5ème jour après 1 heure du traitements susmentionnés, la RCUH a été induite chez tous les lots sauf le lot témoin par administration de 0,5 ml de solution d'acide acétique a (1%) par voie intra-rectale a l'aide d'un tube en polypropylène de 2 mm de diamètre(**Figure N°16**), les souris ont été maintenues en position décubitus dorsal pendant 30 s pour éviter la fuite du l'acide acétique intracolique. La nourriture et l'eau ont été redonnées aux souris à volonté (**Badami Shrishailappa et al ; 2011**).



Figure N°16 :Induction de RCUH par voie rectale (Originale).

II.2.4 Sacrifice des animaux

Après l'induction de l'ulcère, les souris ont été observées pendant les premières heures pour des signes en relation directe avec la maladie. Les côlons ont été récupérés après sacrifice (anesthésie avec du chloroforme suivi d'une dislocation cervicale), lavés avec l'eau physiologique pour éliminer les résidus fécaux(**Figure N°17**).

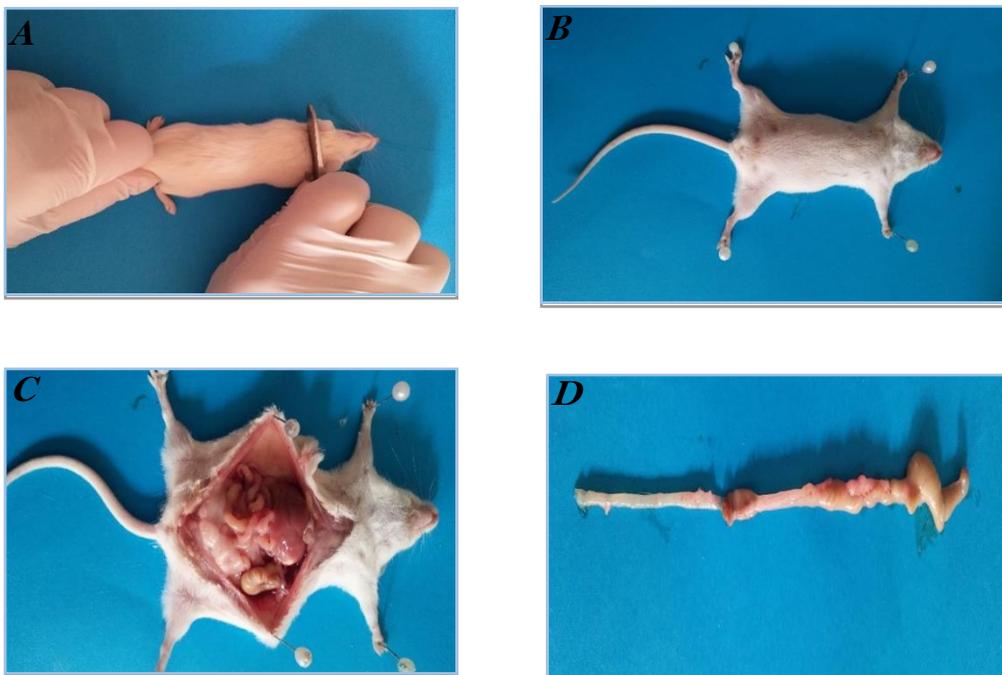


Figure N°17 :Sacrifice des animaux.

A/Dislocation cervicale, B/Préparation de la souris, C/Dissection, D/prélèvement du côlon (Originale).

II.2.5 Évaluation de la colite (Le score macroscopique)

La longueur et le poids des côlons ont été notés, les scores macroscopiques de l'inflammation ont été déterminés pour chaque condition expérimentale.

Les côlons ont été par la suite conservés à -80°C afin de réaliser un dosage de la Myéloperoxydase (MPO).

Un score d'inflammation macroscopique leur a été attribué suivant le tableau ci-dessous (**Pra hu et Guruvayooppa ; 2014**).

TableauIV : Modèle d'évaluation du score macroscopique (**Prabhu et Uruvayooppa ; 2014**).

Le score macroscopique	Observations
1	ulcération
2	ur avec ou sans écoulement d'eau
3	Ulcération avec inflammation à un site
4	Ulcération avec inflammation à deux sites
5	d'ulcère
6	d'ulcère
7	n d'ulcère
8	n d'ulcère
9	1 d'ulcère
10	'ulcère (gonflement et saignement)

II.2.6 Détermination du taux de la MPO

La détermination de l'activité de la myéloperoxydase dans l'intestin est un test biochimique simple qui peut être utilisé pour quantifier l'inflammation.

Le protocole expérimental de la quantification du taux de la MPO décrit par **Rodriguez-palacios et al(2015)** ; a été adopté avec quelques modifications.

II.2.6.1 Préparation des solutions

► **Tampon PBS** Le tampon PBS (0,1M ; pH= 6).

► **Solution HTAB (0,5%)**

Hexadecyl trimethyl ammonium bromide est un tampon qui a pour but la lyse des tissus et la libération de la MPO de l'intérieur des cellules inflammatoires. 100mL de PBS sont chauffés à une température de 50°C puis 0,5 g de HTAB y est rajouté.

► **Solution du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (1%)**

Fraichement préparée à température basse et à l'obscurité. 20 μ l du H_2O_2 (30%) dans 580 μ L de dd H_2O .

► **Solution d'O-Dianisidine dihydrochloride**

La solution d'O-Dianisidine dihydrochloride est fraîchement préparée en laissant dissoudre 5 mg d'O-diasinidine dans 22,5ml de dd H_2O et 2,5ml du PBS, le mélange obtenu est vortexé avant l'utilisation.

► **Solution d'O-Dianisidine actif**

La solution d'O-Dianisidine actif a été préparée en rajoutant 10 μ l du peroxyde d'hydrogène (1%) à un volume de 10 μ l d'O-dianisidine.

II.2.6.2 Principe du dosage du MPO

Les côlons conservés à -80°C ont été récupérés et broyés dans un tampon phosphate pH= 6 (PBS) sur un support de glace, puis homogénéisés à l'aide d'un homogénéisateur électrique (50mg du tissu dans 100 μ l du HTAB), ceci dans le but de lyser les membranes cellulaires et libérer ainsi la MPO. L'homogénat a été réparti dans des tubes et centrifugé à 4°C durant 5 min à 12500 rpm.

A la fin de la centrifugation, 10 μ l du surnageant ont été récupérées puis mélangés avec 200 μ l de la solution d'O-Dianisidine actif (substrat colorimétrique).

La cinétique enzymatique de la MPO a été suivie à 450nm pendant 5 minutes à l'aide d'un lecteur de microplaque.

II.2.7 Analyse statistique

Les résultats des tests ont été exprimés en Moyenne \pm SEM. L'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel Graphe Pad Prism 5.0, software, one Way

ANOVA, suivi du test de Dunnett pour la comparaison statistique. Les différences ont été considérées comme significatives à $p < 0,05$, hautement significative à $p < 0,01$ et très hautement significative à $p < 0,001$.

CHAPITRE III
RESULTATS ET
DISCUSSIONS

III.1 Extraction des composés phénolique de *Clematisflammula*

Le séchage des feuilles de *Cflammula*, à une température ambiante, loin de l'humidité a pour but d'éliminer toute trace d'eau afin d'éviter la dégradation et la détérioration des composés phénoliques. Le broyage permet l'obtention d'une poudre fine de degré de granulométrie (63µm) adapté à une dissolution optimale des différents composés (Macheix et al., 2006).

L'extraction des composés phénoliques est une étape cruciale pour la valorisation de principes actifs. Le rendement d'extraction dépend de plusieurs facteurs telle que : la méthode et le solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques, la granulométrie des particules, la température... etc.(Mahmoudi et al., 2013).

L'extraction à partir de feuilles de *C flammula* a été réalisée selon le protocole de Maamria et al (2015), qui est basé sur l'utilisation des solvants de différente polarité à savoir l'éthanol, éther de pétrole, l'N-butanol et l'acétate d'éthyle.

La poudre de la plante a été macérée avec EtOH-H₂O (70:30 V / V) pour une période de 24 heures. Après filtration et évaporation de la solution alcoolique aqueuse, le résidu aqueux a été mélangé successivement avec l'éther de pétrole, qui nous a permis dans un premier temps d'éliminer les carbures, les matières grasses, les lipides, les stérols et les cires (wichtl et al., 2003), et de l'acétate d'éthyle et du n-butanol afin d'obtenir un extrait riche en métabolites secondaire (terpèneoïdes, stéroïdes, phénols, flavonoïdes, saponines tanins ...etc).

Les solvants ont été éliminés sous vide pour obtenir les extraits suivants: éther de pétrole,l'acétate d'éthyleet n-butanol (Maamria et al., 2015 ; wichtl et al., 2003).

III.1- Effet de l'induction de la RCUH par l'acide acétique

Une colite peut être déclenchée par plusieurs techniques, telle que l'utilisation de de l'acide acétique par voie intra rectale(Prabhu&Guruvayoorappan., 2013), la prise orale du Dextrane Sulfate de Sodium (DSS) (Larossa et al., 2009), et l'administration de deux haptènes, l'acide Trinitrobenzène sulfonique (TNBS)et l'acide Dinitrobenzène sulfonique (DNBS) par voie intra-rectale (Nanecy et al., 2008)

Dans notre expérimentation, l'acide acétique a été choisi comme modèle d'induction de la RCUH, car les colites induites par cette substance présentent des similitudes avec celles

observées chez l'homme (**Jurjus et al., 2004**). Ce modèle est caractérisé par une induction d'un mécanisme inflammatoire stable et qui affecte la structure du côlon et la destruction de la muqueuse (**Prabhu & Guruvayoorappan., 2013**).

Lors de l'injection de l'acide acétique 1% à travers le rectum des souris du lot contrôle négatif, divers changements physiologiques ont été notés, par exemple des troubles au niveau de l'appareil digestif (diarrhée aiguë ainsi que des saignements couvrant l'anus). Par la suite, nous avons remarqué également des changements comportementaux (immobilisation des souris dans les coins des cages, accompagnée d'une réduction de leurs activités et d'une diminution de la prise de nourriture). Les souris du lot témoin qui n'ont pas été traitées par l'acide acétique, n'ont pas présenté des changements physiologiques précis, ce qui prouve que les ulcérations retrouvées chez le groupe contrôle ont été bien induites.

Nos résultats sont en accord avec les travaux décrits (**Topcu-Tarladacalisir et al., 2013**) qui, en utilisant le même protocole expérimental, ont rapporté les mêmes manifestations suite à une administration de l'acide acétique.

Les diarrhées aiguës causées par l'induction d'acide acétique, sont dues à une diminution voire même une incapacité du colon à effectuer son pouvoir d'absorption d'eau, des électrolytes et des sels minéraux. Ce trouble fonctionnel est causé par la lésion de la barrière épithéliale résultant de phénomène de l'apoptose, systématiquement relatif avec l'augmentation de taux des TNF- α dans le siège de l'inflammation (**Touboul., 2007**).

Les principes actifs de la Sulfasalazine jouent un rôle capital dans la diminution de l'activité apoptotique des cellules épithéliales intestinales bien évidemment en réduisant partiellement le niveau de TNF- α dans la RCUH induite par l'acide acétique (**Sakhtivel & Guruvayoorappa., 2014**).

Pour les lots traités par les extraits de *C. flammula*, différentes observations ont été notées. La nature du solvant et la dose choisie conditionnent l'efficacité de ces extraits. Les souris qui ont été traitées par (l'acétate d'éthyle 100mg/kg), n'ont pas présenté aucun signe caractérisant l'inflammation du colon.

Alors que pour les autres lots traités par les extraits N-Butanol et l'éther de pétrole (100 mg/kg), de légères diarrhées sans saignement ont été observées.

III.2- Evaluation macroscopique de l'effet des extrais de *C. flammula* sur la RCUH

Dans notre étude on a utilisé le modèle d'évaluation du score de **(Prabhu&Guruvayoorappan., 2014)**, une échelle allant de 0 à 10 qui indique les dommages causés par l'induction de l'acide acétique, la sévérité de la RCUH et le degré de l'inflammation. Les résultats d'évaluation macroscopique de la colite dans le tissu colique des groupes expérimentaux sont présentés dans les figures **(figure 18 et 19)**.

Un score macroscopique de $(0,00 \pm 0,00)$ **(Figure 19)** a été révélé chez les souris du groupe témoin, cela est justifié par un colon sain, dans lequel aucun changement morphologique ni inflammation n'a été montré **(Figure 18.A)**.

En revanche, L'action d'acide acétique induit chez le groupe contrôle négatif, se manifeste par son acidification qui permet la libération des protons dans l'espace intracellulaire à l'origine d'ulcérations hémorragiques **(Somani et al., 2014)**, caractérisée par une réaction inflammatoire œdémateuse intense du gros intestin, un épaissement de la paroi colique et par une hémorragie étendue accompagnée d'une rougeur due à la vasodilatation des vaisseaux sanguins locaux par les médiateurs de la réponse immunitaire, conduisant ainsi à l'augmentation de l'afflux sanguin, responsable de l'apparition d'immenses dommages épithéliaux **(Yougbaré-Ziébro et al., 2015) (Figure 18.B)**.

Des scores de $(7,75 \pm 0,48)$ ont été notés **(Figure 19)**, correspondant à un site d'inflammation de 4cm selon l'échelle allant de 0-10, ($P < 0,001$) par rapport au groupe témoin. Une étude menée par **Prabhu et Guruvayoorappan (2013)**, sur l'induction de la RCUH par administration de 2 ml d'acide acétique 3% chez des souris, a montré une inflammation aiguë avec un score maximal de 9, (sites majeurs d'inflammation > 5 cm le long du colon)

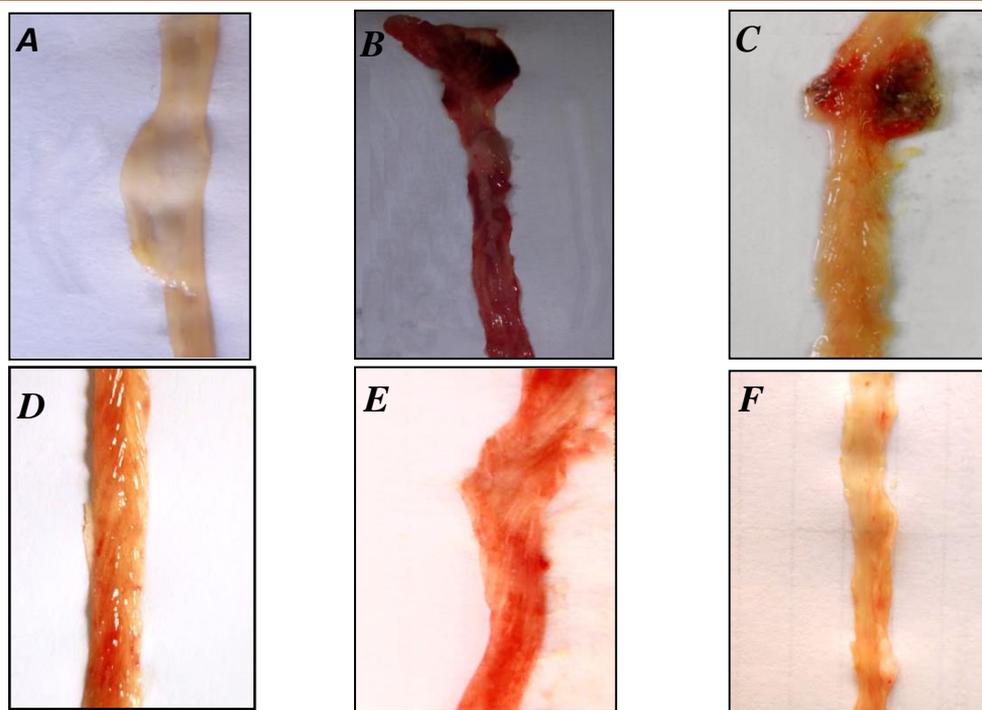


Figure N°18 : Morphologie des côlons après traitement avec les extraits de *C flammula*, la Sulfasalazine et induction de la RCUH. (A) Groupe témoin : côlon normal; (B) Groupe contrôle négatif : côlon avec RCUH non traité ; (C) Groupe contrôle positif : côlon traité avec la Sulfasalazine + RCUH ; (D) (E) (F) Groupes test : colons traités avec les extraits de *C flammula*, N-butanol (100mg/kg), éthère de pétrole (100mg/kg), l'acétate d'éthyle (100mg/kg) respectivement + RCUH (Originale).

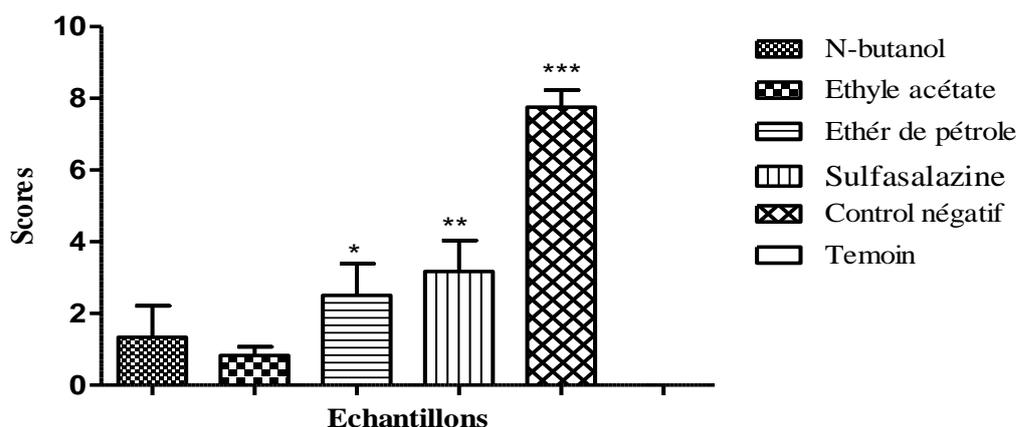


Figure N°19 : Score macroscopique des différents lots, Les valeurs sont exprimées en moyenne (n=7) ± SEM. *p<0,05, **p<0,01 et ***p<0,001 significativement différents du groupe Témoin.

Les souris du contrôle positif, traitées par le médicament de référence à une dose de 100mg/kg, ont révélé un score macroscopique de $(3,16 \pm 0,87)$ ($P > 0,01$) (**Figure 19**) par rapport au groupe témoin ($7,75 \pm 0,48$), dévoilant ainsi une légère amélioration de l'état de la muqueuse colique (**Figure 18 C**). Cette amélioration est traduite par une baisse de l'intensité de l'inflammation y compris la rougeur (**Figure 18.C**).

Ces observations sont interprétées par le pouvoir anti-inflammatoire de la sulfasalazine qui est soumis après administration orale à une dégradation via les bactéries du côlon donnant ainsi une manifestation de deux composés : le sulfapyridine et le 5-ASA (5-aminosalicylate). Ces derniers sont des inhibiteurs puissants et spécifiques de l' NF-kB, un médiateur central de la réponse inflammatoire (**Wahl et al., 1998**).

La Sulfasalazine réduit également l'inflammation en activant les récepteurs nucléaires (PPAR γ) fortement exprimé au niveau de nombreuses cellules de l'immunité non spécifique par l'inhibition de la synthèse des TNF α , IL-1b, IL-6 au moyen de son pouvoir antiprolifératif sur les cellules épithéliales (**Andréeva-Gatéva., 2003**).

Elle s'avère de même avoir une action inhibitrice relativement faible sur la cyclo-oxygénase, par contre puissante vis-à-vis de la principale enzyme du métabolisme des prostaglandines (PGDH), notamment les enzymes de métabolisme de l'acide arachidonique y compris la lipoxygénase. L'ensemble de ces effets entraîne une diminution des produits pro-inflammatoires (**Allgayer&stenson.,1988**).

Les résultats obtenus suite à l'utilisation de la Sulfasalazine (100 mg/kg) concordent avec deux autres études: la première menée par l'équipe de recherche de **Thippeswamy et al (2011)**, qui ont induit une rectocolite ulcère-hémorragique par la même technique que nous avons suivie dans notre étude, où des scores macroscopiques de l'ordre de (0.83 ± 0.16) ont été signalé, par rapport au lot contrôle (4.80 ± 0.58) .

La deuxième réalisée par **Sakthivel&Guruvayoorappan (2013)**, qui ont démontré par leur expérience menée sur des rats, que l'injection intra-péritonéale de la Sulfasalazine (100 mg/kg) a amélioré significativement le score macroscopique jusqu'à 4.

Les traitements des souris avec la dose 100 mg/kg des trois extraits de *C. flammula*, l'acétate d'éthyle, N-butanol et l'éther de pétrole, dévoilent respectivement les scores macroscopique suivants $(0,83 \pm 0,24 ; 1,33 \pm 0,88 ; 2,5 \pm 0,89)$.

L'extrait d'éther de pétrole n'a pas pu supprimer les symptômes et les dommages causés par l'acide acétique dans les muqueuses épithéliales (**Figure 18 D**). Cela peut être excusé par la pauvreté de cet extrait en composés phénoliques.

En analysant les résultats acquis, on constate que les effets exercés par les deux autres extraits sur le poids sont presque semblables à ceux observés par l'éther de pétrole mais différents pour d'autres critères ; des colons moins touchés par les lésions intestinales, réduction de la rougeur et absence totale de saignement. Toutefois, l'acétate d'éthyle a exhibé le plus puissant effet sur l'inflammation. Un résultat qui peut être attribué à la richesse de cet extrait en polyphénols qui agissent en limitant la réponse immunitaire et la migration des lymphocytes, macrophages et PN neutrophiles diminuant ainsi l'activité d'enzymes impliqués dans le métabolisme d'acide arachidonique telles que la COX-2 fréquemment associée à une réduction du taux des prostaglandines et des produits de son activité.

Selon la littérature, la consommation de resvératrol réduit significativement l'activité de la COX-2 mais aussi de la prostaglandine-E synthase (PGES) chez des rats dont l'inflammation a été induite par le DSS (**Larrosa et al., 2009**).

La curcumine a présenté un effet anti-inflammatoire en agissant sur le facteur de transcription NF- κ B ce qui affecte les taux de cytokines pro-inflammatoires (**Villegas et al., 2011**).

III.3 L'effet des extraits de *C. flammula* sur le poids et la longueur des colons

Le poids du tissu colique est considéré comme un indicateur fiable et sensible de la sévérité et de l'étendue de l'inflammation intestinale (**Somaniet al., 2014**).

Les résultats illustrés sur la figure montrent clairement que le traitement des souris avec le CMC a montré une augmentation hautement significative ($P < 0.01$) du poids du côlon, en raison de la formation d'œdème, caractérisé par l'accumulation inhabituelle de liquide séreux riche en granulocytes (libèrent de nombreux médiateurs inflammatoires tels que les enzymes lysosomales), métabolites de l'acide arachidonique, les radicaux anions superoxyde (O_2) et hydroxyles (OH), H_2O_2 produite par des neutrophiles, et d'autres phagocytes qui sont accumulés dans les lésions inflammatoires (**Caroline., 1981**).

En examinant les résultats, on constate que l'administration orale de l'extrait (l'acétate d'éthyle 100mg/kg) a réduit significativement les poids du côlon avec une valeur de $426,70 \pm$

12,74 mg ($p < 0,05$) par rapport au groupe contrôle (545,93 mg \pm 30,80). La sulfasalazine (100 mg /kg) a également montré une baisse significative (486,7 \pm 39,3mg).

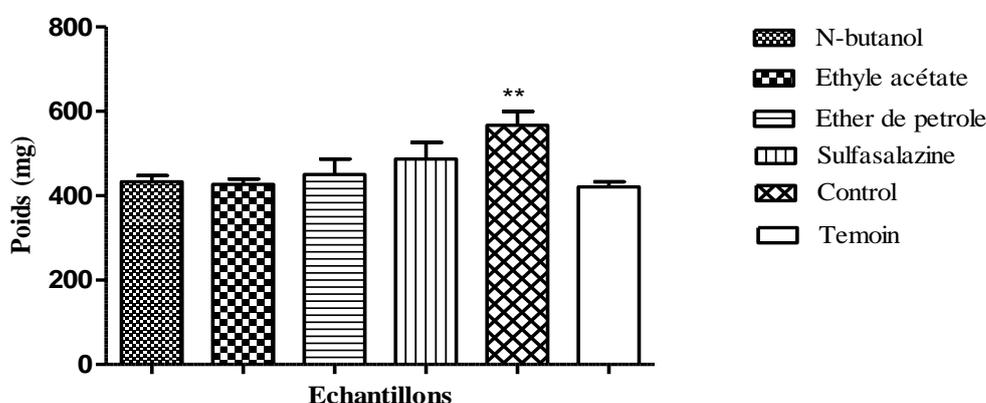


Figure N°20 : Effet de l'administration de l'acide acétique sur le poids du côlon, les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (n=7).

La longueur du côlon peut être affectée par la rectocolite ulcéro-hémorragique. Le passage à la chronicité de la maladie entraîne un rétrécissement du côlon suite à l'apoptose des cellules épithéliales et l'altération de leur fonction proliférative (Topcu-Tarladacalisir *et al.*, 2013). D'après la **figure 21**, l'administration de l'acide acétique a provoqué un rétrécissement non significatif de la longueur du côlon chez le groupe contrôle négatif (13,33 \pm 0,52 cm) en comparaison au lot témoin (14,50 \pm 0,60cm).

L'administration orale des extraits de feuilles de *C flammula* prévient l'évolution de l'inflammation, avec des valeurs de (14,3 \pm 0,85cm ; 14 \pm 0,75cm ; 13,70 \pm 0,44cm) pour l'acétate d'éthyle, N-butanol et éther de pétrole respectivement. Un résultat similaire a été enregistré par la sulfasalazine (14,1 \pm 0,61 cm).

Ces résultats rejoignent ceux trouvés par (Topcu-Tarladacalisir *et al.*, 2013) dans leur étude sur le processus inflammatoire, et qui ont signalé une corrélation positive entre le rétrécissement du côlon à la chronicité de la maladie.

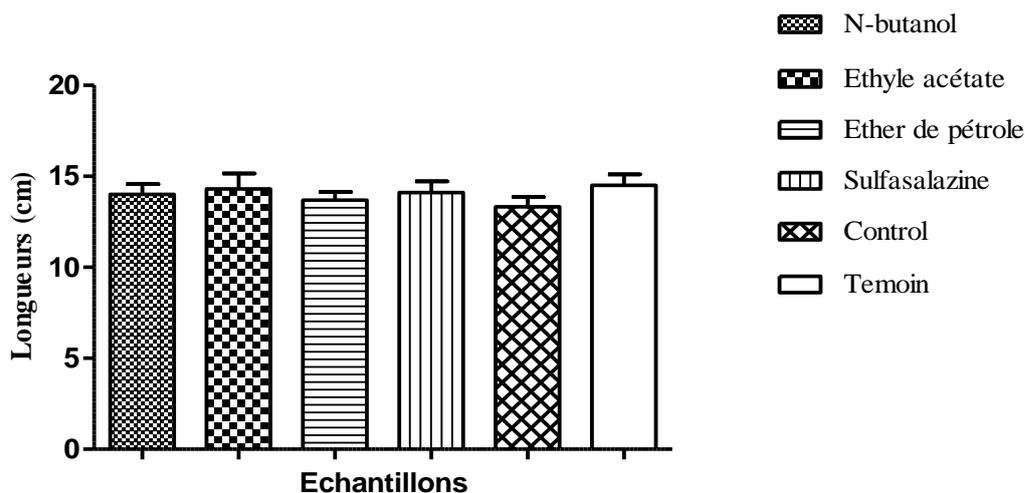


Figure N°21 : Effet de l'administration de l'acide acétique sur la longueur du côlon, les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (n = 7).

III-4 Effets des extraits de *Clematisflammula* sur l'activité de la MPO

Dans le but de mettre en évidence l'infiltration des tissus de la paroi colique par les PNN, on a élaboré une étude sur les colons des souris sacrifiées, calculant ainsi l'activité de marqueur de l'inflammation MPO.

La myéloperoxydase, agent cytotoxique et inflammatoire, est une peroxydase hémique présente principalement dans les granules primaires des PNN et à plus faible concentration dans les monocytes et les macrophages. Ces différentes cellules colonisent en grand nombre les tissus lors des phénomènes inflammatoires intestinaux. Cette enzyme catalyse l'oxydation de l'ion chlorure par le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) pour former l'acide hypochloreux (HOCl) favorisant la peroxydation lipidique qui induit des lésions gastrique et l'amplification de la réaction inflammatoire (Sertejn et al., 2003).

Au cours d'une activation normale, l'activité de la MPO s'exerce dans les vacuoles intracellulaires, des quantités modérées sont libérées dans le milieu extracellulaire afin de détruire les microorganismes étrangers. Cependant, lorsque la réaction inflammatoire devient incontrôlée, la dégranulation massive et la mort des neutrophiles libèrent la MPO et les enzymes protéolytiques dans le milieu extracellulaire conduisant à une production excessive de ROS qui entraînent un stress oxydatif responsable de destruction des cellules au niveau local (Sertejn et al., 2003).

Les résultats statistiques de l'activité de MPO sont présentés dans la figure ci-jointe (**Figure 22**).

Il ressort à travers l'observation des résultats, que le niveau de l'activité enzymatique de la myéloperoxydase est faible dans les tissus coliques du lot témoin ($13,990730 \pm 22039216,004$ U/g de tissu) alors que l'instillation rectale de l'acide acétique a marqué une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) (**Figure 22**) chez le lot contrôle négatif ($73,893810 \pm 8,271434$ U/g de tissu) indiquant ainsi l'infiltration massive des neutrophiles au niveau du côlon enflammé. Une étude ultérieure réalisée par **Prabhuet Guruvayoorappan (2014)** a abouti aux mêmes résultats.

Quant au groupe traité à la Sulfasalazine, une réduction ($< 0,05$) significative ($52,507370 \pm 8,740064$ U/g de tissu) (**Figure 22**) a été noté par rapport au groupe contrôle négatif.

Des résultats similaires ont été rapportés auparavant par l'équipe de recherche de **Prablu et Guruvayoorappan (2014)** qui a indiqué un taux de ($24,47 \pm 2,84$ U/g de tissu) pour le groupe traité à la Sulfasalazine par rapport à ($74,45 \pm 7,8$ U/g de tissu) pour le groupe Contrôle.

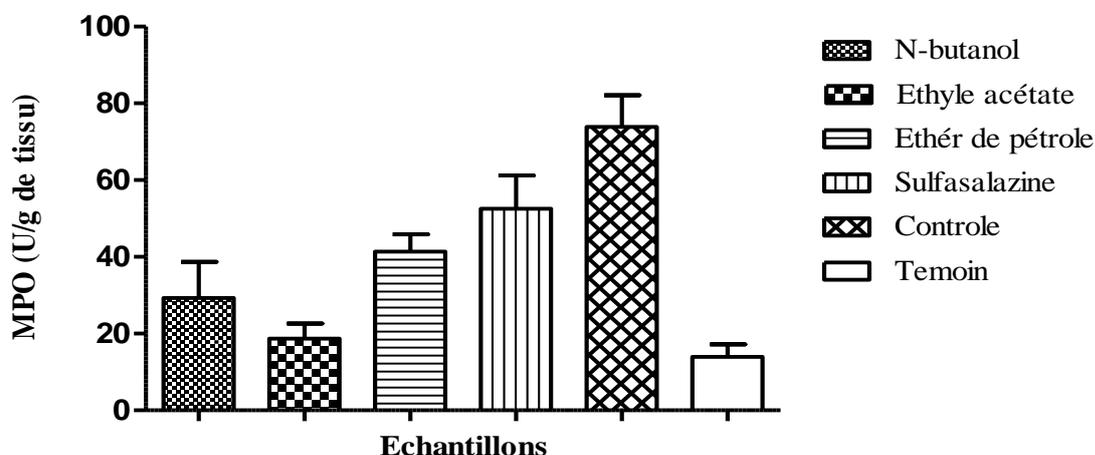


Figure 22 : Effet des extraits de *Clematisflammula* (N-butanol ; éther de pétrole ; l'acétate d'éthyle 100m/k) et la Sulfasalazine sur l'activité de la Myéloperoxydase au cours de la RCUH.

Les résultats exprimés en Moyenne \pm SEM, (n=7) ont été obtenus en comparant, avec le test de Dunnett, les différents groupes par rapport au groupe Témoin, (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

Kettle&Winterbourn(1997) et **Couto et al (2010)** suggèrent que la Sulfasalazine piège les molécules de peroxyde d'hydrogène « H₂O₂ » qui servent de substrat pour la MPO afin de catalyser la formation de l'acide hypochloreux qui est responsable de :

-L'oxydation de la majorité des acides aminés en aldéhydes qui deviennent par la suite des composés actifs au site inflammatoire, favorisant la destruction des anti-protéases.

-L'oxydation de GSH en dérivés qui ne peuvent plus être transformés au stade de GSH par la GSH réductase, entraînant une réduction de sa quantité, une diminution des défenses antioxydantes et une perturbation de l'équilibre oxydo-réducteur.

-Destruction des tissus coliques au site inflammatoire par l'activation des enzymes latentes comme la progélatinase et la procollagénase, une action attribuée à l'activité oxydante d'HOCl(**Sertejn et al., 2003**).

En examinant les résultats obtenus pour les extraits, on remarque que le puissant effet est exhibé par l'extrait d'acétate d'éthyle à une dose de 100mg/kg (18,682400 ± 3, 95373266,86 U/g de tissu) (< 0,001), en comparaison aux résultats obtenus par le n-butanol et éther de pétrole (29,301870 ± 9,379933 ; 41,396260 ± 4,444836 U/g de tissu) respectivement.

L'extrait d'acétate d'éthyle s'est avéré être le meilleur par rapport aux autres extraits et notamment au groupe médicament, suggérant que les composés responsables de cette activité sont présents dans ce dernier et qui jouent un rôle crucial dans la réduction de la colonisation du tissu colique par les cellules inflammatoires à travers la réduction de l'activité myéloperoxidase (**Martin et al., 2004**).

Plusieurs études réalisées sur les propriétés biologiques des extraits de plantes ont rapportées l'implication des composés phénoliques dans la réduction des taux de MPO ; la quercitrine a présenté une réduction de l'activité enzymatique de 57% lorsqu'elle est administrée préventivement et de 60% lorsqu'elle est utilisée une fois la colite établie (**Camuesco et al., 2004**).

L'utilisation préventive d'extraits végétaux comme l'extrait méthanolique de *Zataria multiflora* riche en lutéoline permet également de limiter la réaction inflammatoire par réduction de l'activité MPO (Nakhai et al., 2007).

Il a été démontré que *Clematis flammula* renferme une variété de composés phénoliques, à savoir Catéchine, des extraits d'acide caféique, isoorientines, la quercétines, les tanins, saponines et les lignanes. Il est probable que ces composés exercent le même mécanisme d'action que les médicaments de références, à savoir l'atténuation de l'inflammation.

CHAPITRE I
REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 Définition des plantes médicinales

Une plante est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée, connue pour ses propriétés préventives ou curatives vis-à-vis des différentes maladies (**Carillon., 2009**).

Les plantes médicinales, également appelée «drogue végétale» sont utilisées depuis des siècles en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action est liée à leurs constituants chimiques, métabolites primaires ou secondaires ou encore de la synergie entre les différents composés (**Gazengel., 2013**).

I.2 Définition des principes actifs

Ce sont des molécules bioactives issues de plantes fraîches ou séchées présentant un intérêt thérapeutique pour l'homme ou l'animale, généralement utilisées dans l'industrie de la fabrication des médicaments (**Chabrier., 2010**).

I.2.1 Les différents groupes des principes actifs

I.2.1.1 Les métabolites primaires

Ils interviennent dans le métabolisme ainsi que dans le développement végétal, on les retrouve dans toutes les espèces, tel que les protéines, les glucides et les lipides (**Gazengel., 2013**).

I.2.1.2 Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des substances naturelles de faible masse moléculaire (<1000Da généralement)

Ces composés sont d'une importance capitale non seulement en raison de leur rôle dans la plante mais aussi pour leurs propriétés biologiques et leurs effets thérapeutiques (**Figure N°1**) (anti-inflammatoires, antioxydants, antimicrobiens, anti diabète ...) (**Naik and al-Khayri., 2016**).

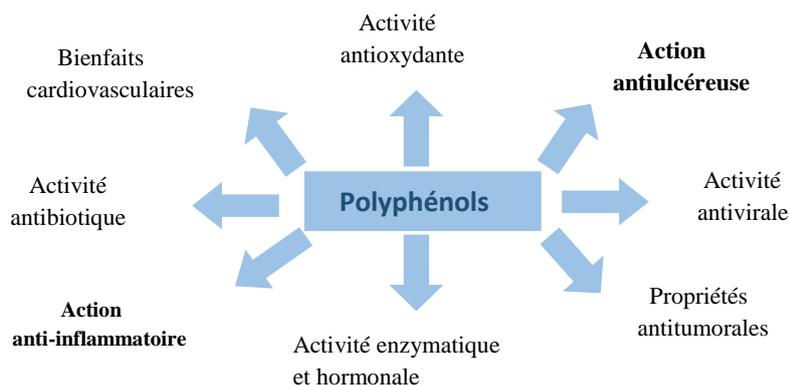


Figure N°1 : Actions cellulaires, moléculaires et biochimiques des polyphénols (**Rahul et al., 2015**).

Ces composés sont différents d'une espèce à une autre, on peut les classer en plusieurs grands groupes : les polyphénols, les alcaloïdes et les terpènes.

- **Les polyphénols**

Les polyphénols constituent un vaste groupe de composés bioactifs synthétisés par l'ensemble des plantes, présents dans toutes les parties (racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits, et graines (**Scalbert et al., 2000**).

La qualité et la quantité de ces substances dans les plantes peuvent varier considérablement en fonction des différents facteurs intrinsèques et extrinsèques tels que le génotype des plantes, la composition du sol, le degré de maturité...etc (**Faller et Fialho., 2010**).

L'élément structural de base qui les caractérise est la présence d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction (**Figure N°2**).

Ces composés sont issus du métabolisme de l'acide shikimique ou/et de celui d'un polyacétate (**Bruneton., 2009**).

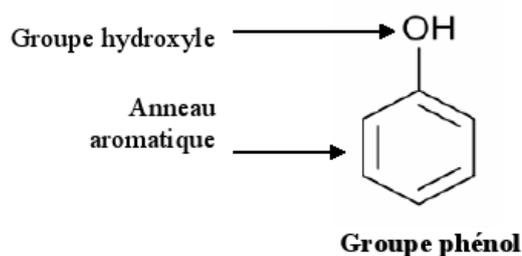


Figure N°2 : Structure de base des composés phénoliques (**Bruneton., 2009**).

En fonction du nombre des cycles phénoliques et les propriétés structurales de liage, les polyphénols peuvent être subdivisés en plusieurs sous classe principalement : les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins (Scalbert *et al.*, 2000).

✓ Les acides phénoliques

Ce sont des petites molécules organiques solubles dans les solvants polaires qui font partie des formes les plus simples des composés phénoliques, constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle .

Les acides phénoliques varient selon le nombre et l'emplacement des groupements hydroxyles sur le cycle aromatique. Ils sont classés en deux groupes : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (Figure N°3). Ces composés possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (Boubekri., 2014).

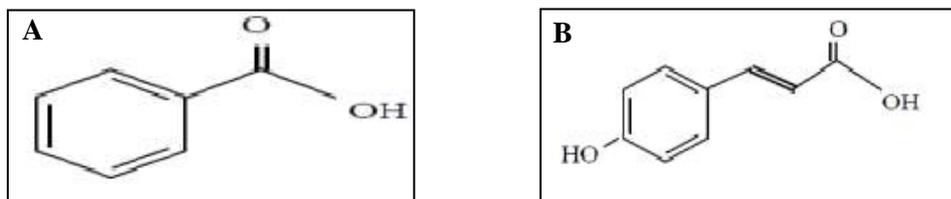


Figure N°3 : Structure des acides phénoliques (Bruneton., 2009).

A) acides hydroxybenzoïques, B) hydroxycinnamiques

✓ Flavonoïdes

Ce sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes, constituant l'un des principaux groupe de polyphénols, comprenant plus de 9000 composés, ils possèdent une structure de base composée de 15 atomes, formée de 2 noyaux aromatiques A et B et un hétérocycle oxygéné C (C6-C3-C6) (Figure N°4) (Hernández *et al.*, 2009).

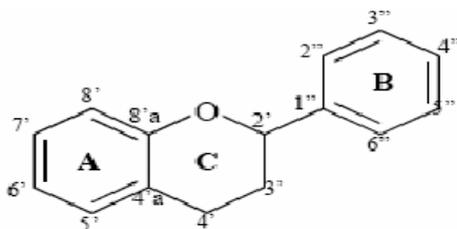
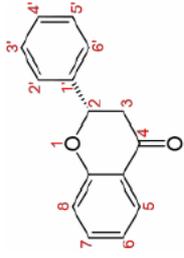
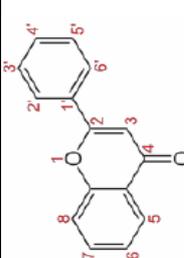
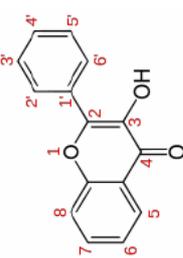
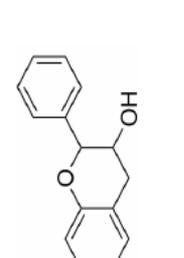
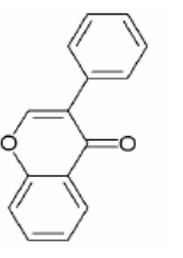
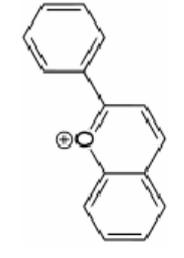


Figure N°4 : Structure de base des flavonoïdes (Bruneton., 2009).

Les flavonoïdes sont répartis en six sous-classes, quelques exemples sont résumés sur le **tableau N°I** :

Tableau I : La structure chimique de quelques flavonoïdes (Scalbert et al., 2000).

Flavanone	Flavone	Flavonol	Flavan-3-ol	Soflavone	Anthocyane
					

- **Tanins**

Ils constituent un groupe de polyphénols de structure variée à haut poids moléculaire allant de 500 à 3000 Dalton. On distingue habituellement deux groupes, différents aussi bien par leur structure que par leur origine biogénique :

-*Tanins hydrolysables* qui sont des esters d'un sucre (généralement polymères à base du glucose) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénolique dont un radical hydroxyle forme une liaison d'ester avec l'acide gallique (**Figure N°5 B**).

-*Tanins condensés* qui sont des polymères formés par la condensation des unités flavan-3-ols et flavan-3-4-diols, reliés par des liaisons fortes, non hydrolysables mais peuvent être oxydés par les acides forts libérant des anthocyanidines et des tanins hydrolysables (**Figure N°5 A**) (Sereme., 2008)

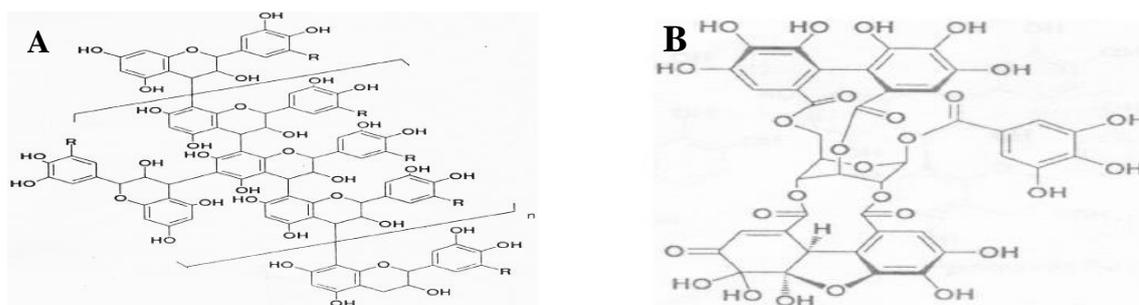


Figure N°5 : Structure chimique des tanins (Sereme., 2008)

A) Tanins condensés, B) Tanins hydrolysables

- **Alcaloïdes**

Ce sont des molécules complexes hétérocycliques, définies comme des substances azotées, à caractère basique solubles dans l'eau et les alcools. Plusieurs études ont prouvé l'implication de ces composés dans plusieurs effets biologiques, antioxydants, antalgiques, antipaludéen, antidépresseurs ou encore anticancéreux (**Figure N°6**). (**Bruneton., 2009**).

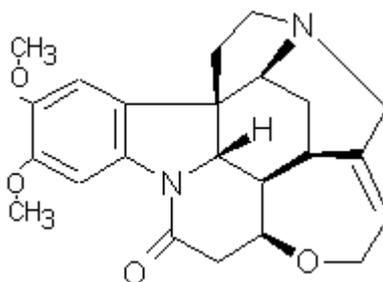


Figure N°6 : la structure d'alcaloïde (Bruneton., 2009).

- **Terpènes et stéroïdes**

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unités isopréniques à cinq atomes de carbone (C₅H₈) (**Figure N°7**) (**Fillatre., 2011**).

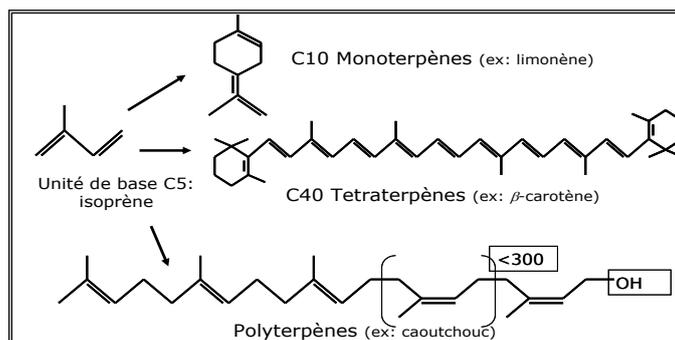


Figure N°7 : La structure des terpènes (Fillatre., 2011).

On distingue ainsi selon le nombre d'entités isoprènes le groupe des hémiterpènes, monoterpènes, sesquiterpènes...etc. En thérapeutique, ils sont connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques, antinéoplasiques et immuno-modulatrice mais aussi, les terpènes sont largement utilisés dans le secteur de la nutrition humaine (saveur, conservateur) et l'industrie du parfum (Fillatre., 2011).

Cependant parmi les plantes riche en substances actives, on cite la clematis flammula qui est connue pour ses vertus thérapeutiques, essentiellement son activité anti-inflammatoire (Kumar et al., 2008).

1.3 *Clematis flammula*

1.3.1 Description

Clematis est l'un des plus grands genres de la famille Ranunculaceae, représente autour de 300 espèces dans le monde telles que : *Clematis viticella*, *Clematis vitalba*, *Clematis fulvicoma*.

Clematis flammula connue sous le nom de tonnelle de la vierge odorante, qui est une plante ligneuse et grimpante, présente des tiges étroites qui peuvent atteindre 3 ± 5 m en longueur, portent des feuilles bipennées caduques et des fleurs blanches parfumées de juillet à septembre. Pousse sur les dunes côtières des régions méditerranéennes (l'Europe du sud et l'Afrique du nord). Cette plante est généralement utilisée pour le traitement des maladies à caractère inflammatoire : l'arthrite rhumatoïde, les plaies superficielles et les brûlures (Kumar et al., 2008 ; Kırmızıbekmez et al., 2018)



Figure N°8 : Photographie de *Clematis flammula*

Clematis flammula est communément appelée la Clématite brûlante ou flammette en français, Azenzu en kabyle et Yasmine berri ou nard barda en arabe.

1.3.2 Systématique

Tableau II : Classification taxonomique de *Clematis flammula* (Areej., 2007)

Règne	Plante
Embranchement	Spermatophyte
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédone
Sous classe	Polypétale
Ordre	Ranale
Famille	Ranunculace
Genre	Clematis
Espèce	<i>Clematis flammula</i>

1.3.3 Principaux principes actifs

Des différentes études phytochimiques ont été effectuées sur le genre *Clematis*, démontrant ainsi ses principaux principes actifs impliqués dans les activités anti-inflammatoire et antioxydantes, qui sont les suivantes : Catéchine, des extraits d'acide caféique, ranunculin et ses dérivés, isoorientine, manghasline, l'acide p-hydrobenzoïque, la quercétine, les tanins, saponins et les lignanes (Atmani., 2011; Kırmızıbekmez et al., 2018).

I.4 Les différentes activités biologiques des plantes médicinales

I.4.1 Activité antioxydante

Le stress oxydatif est une perturbation profonde dans l'équilibre de la balance métabolique cellulaire entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants.

Il est souvent impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines différentes allant de l'athérosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neurodégénératives, le diabète, les rhumatismes et le vieillissement prématuré de la peau (**Roberts et Sindhu., 2009**).

Les flavonoïdes sont considérés comme des agents antioxydants très puissants en raison de leur structure capables d'inhiber la peroxydation lipidique causée par les ERO dans la bicouche phospholipidique (**Larrosa et al., 2009**).

I.4.2 Activité antibactérienne

Les infections bactériennes sont les pathologies les plus courantes, représentent la cause majeure de mortalité dans le monde provoqués généralement par des microorganismes pathogènes telles que les bactéries, les virus et les champignons (**Alwash et al., 2013**).

Les polyphénols sont doués d'activité antimicrobienne importante, le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à leur toxicité relative envers les microorganismes, cependant Les tannins ont reçu plus d'attention du à leur large spectre et forte activité antimicrobienne, à leur capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne telles que l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu'à leur capacité d'agir synergiquement avec certains antibiotiques (**Daglia., 2012**)

I.4.3 Activité anti-cancéreuse

La thérapeutique a développé plusieurs types de médicaments à base des plantes médicinales qui agissent en stoppant la prolifération excessive des cellules cancéreuses à différents stades de développement des cancers et par plusieurs mécanismes : par exemple en bloquant leur division cellulaire, réorientation des cellules cancéreuses vers l'apoptose, inhibition de la création de nouveaux vaisseaux destinés à alimenter la tumeur (néoangiogenèse) (**Huet et al., 2013**)

I.4.4 Activité anti-inflammatoire

I.4.4.1 Définition de l'inflammation

L'inflammation est une série de phénomènes locaux des tissus vivants, vascularisés qui se développent suite à des agressions extérieures tels que les lésions tissulaires primaires, dans le but d'éliminer l'agent pathogène, de réparer et de maintenir l'homéostasie tissulaire. Cette réaction est caractérisée principalement par la présence de cinq phénomènes pathologiques macroscopiques : gonflement du tissu, élévation de la température tissulaire, rougeur du tissu vasculaire, sensation de douleur, et enfin altération et perte de fonction de la partie du corps affectée (Yougbaré-Ziébrou *et al.*, 2016).

I.4.4.2 Facteurs étiologiques :

Les causes de la réaction inflammatoire sont nombreuses et variées et déterminent des lésions cellulaires qui vont déclencher l'inflammation :

➤ **Agents exogènes** : présenter sous trois formes :

- **Agents physiques** : froid (gelures), électricité, chaleur (brûlures), piqûre d'insecte, coupure, contusion, traumatismes (brèche cutanée, corps étranger), radiations.
- **Agents chimiques** : acide, base, gaz, substances minérales diverses.
- **Agents biologiques** : microorganismes pathogènes et d'autres agents comme le vin, le pollen et les toxines (Crouzilles et Siebert., 2012).

- **Agents endogènes** :

les auto-antigènes, antigènes tumoraux et des composés issus de la réaction immunitaire (anticorps cytotoxiques, cytokines), également les cristaux formés dans les liquides biologiques (urates, cholestérol) (Crouzilles et Siebert., 2012).

I.4.4.3 Les différentes formes d'une inflammation

A/ L'inflammation aiguë

C'est la réponse immédiate ou précoce à une blessure, de durée relativement courte, allant de quelques minutes à quelques jours (8 - 10 jours) (Yougbaré-Ziébrou *et al.*, 2016).

- Le mécanisme de l'inflammation

Les cellules inflammatoires résidentes (macrophages tissulaires, mastocytes) sont activées et synthétisent des chimiokines pro-inflammatoires pour le recrutement des cellules circulantes, en premier lieu les polynucléaires (PN) neutrophiles (cellules du système immunitaire inné) d'où l'immunité innée joue un rôle important dans l'élimination directe du pathogène, mais aussi le déclenchement de la réponse adaptative (Serhan *et al.*, 2007 ; Lawrence *et al.*, 2007).

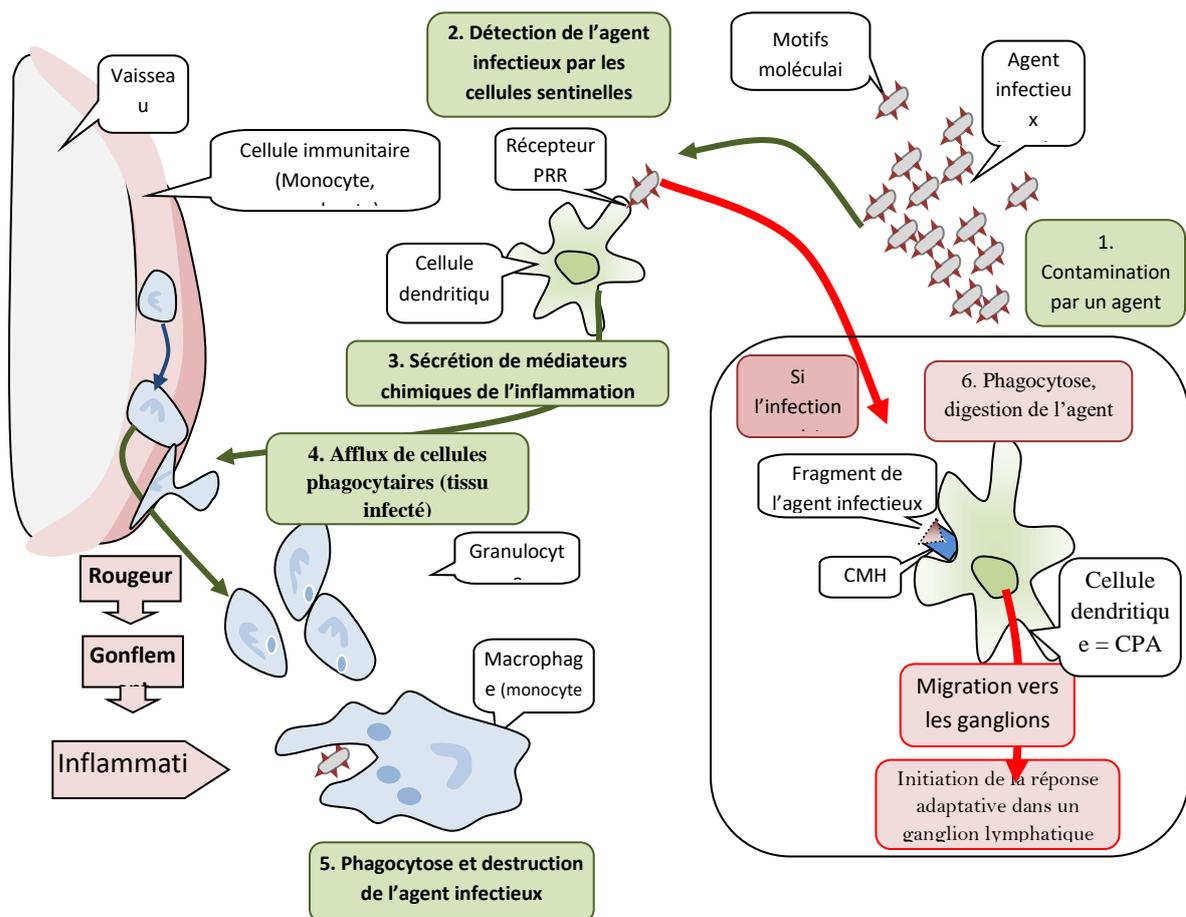


Figure N°9 : Les étapes de la réaction inflammatoire aiguë (Serhan., *et al.*, 2007).

B/ L'inflammation chronique

Une inflammation chronique se produit lorsqu'un agent pathogène initial persiste dans les tissus, ou lorsqu'une inflammation aiguë récidive de façon répétée dans le même organe en entraînant à chaque épisode des destructions tissulaires.

C'est le mécanisme physiopathologique responsable de la plupart des maladies d'aujourd'hui telles que la bronchite chronique, sclérose en plaques, la polyarthrite rhumatoïde et l'obésité. L'inflammation chronique est caractérisée par la présence à la fois des témoins de l'inflammation cellulaire (macrophages, lymphocytes, plasmocytes) et des témoins de la réparation (neoangiogenèse et la fibrose).

Les symptômes systémiques de cette inflammation sont très marqués, y compris, des troubles du sommeil, dénutrition et perte de poids (Lawrence *et al.*, 2007).

I.4.4.4 Les anti-inflammatoires

Diverses approches thérapeutiques sont disponibles pour réduire les réponses inflammatoires de longue durée et donc les complications qui leur sont associées. Les anti-inflammatoires sont divisés selon leur mode d'action :

- **Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**

La prise orale, voie d'administration la plus fréquente des AINS implique un passage digestif, sanguin, puis un métabolisme hépatique ou rénal, leur action est puissante se manifeste rapidement mais reste réduite par rapport à celle des AIS.

Le mécanisme d'action principal des AINS est une inhibition de la synthèse des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique, par un blocage des deux iso-enzymes de la cyclo-oxygénase (Cox-1, Cox-2), ainsi qu'une diminution de la migration, de l'agrégation et de la fonction des neutrophiles .

Selon la structure chimique de ces composés, on distingue les anti-inflammatoires (indoliques, arylcarboxyliques, oxicams, anthraniliques, pyrazolés, salicylés.), Toutefois leur utilisation provoque des effets indésirables, sur le système gastro-intestinal (dyspepsie, nausées, ulcères et saignements), cardiovasculaire, hépatique, rénal et neurologiques (vertiges, céphalées) (Ziltener *et al.*, 2010).

- **Les anti-inflammatoires stéroïdiens : les glucocorticoïdes**

Les glucocorticoïdes, aussi appelés anti-inflammatoires stéroïdiens ou corticostéroïdes ou corticoïdes, voire communément cortisone, sont des médicaments de la famille des hormones stéroïdiennes aux propriétés similaires au cortisol.

Ces corticoïdes ont une activité hormonale sur les différents métabolismes, entraînant la mise en repos des surrénales, par un mécanisme de freination de la réaction d'hypothalamus hypophysaire, et inhibant toutes les phases de la réaction inflammatoire, vasculaire et cellulaire.

Plus exactement par l'augmentation de la production de la lipocortine, qui inhibe ainsi la phospholipase A2, ce qui suit une diminution de la libération d'acide arachidonique, accompagné d'une forte réduction de la migration des polynucléaires, monocytes-macrophages vers le site de l'inflammation mais aussi la production d'autres médiateurs tel que les cytokines.

On cite parmi les AIS les plus fréquentes les cortisones, prednisolone, bétaméthasone et l'hydrocortisone, l'administration de ces derniers peuvent causer divers effets secondaires tels que des troubles métaboliques, troubles gastro-intestinaux (dyspepsie, ulcère), troubles rénaux, troubles hématologiques, déficit musculo-squelettique, troubles neuropsychiques : euphorie, troubles du sommeil, convulsion, troubles ophtalmiques (**Roumestan et al., 2004**)

- **Les anti-inflammatoires dits traditionnels**

Les composés bioactifs des plantes médicinales peuvent servir de matrice pour la synthèse de nouveaux médicaments anti-inflammatoires tout en ayant des effets secondaires minimes et des effets pharmacologiques très puissants (**Agyare et al., 2013**). Des composés tels que les flavonoïdes, les tanins et les huiles essentielles, sont présumés agir en bloquant les voies des enzymes pro-inflammatoires notamment, la cyclo-oxygénase et la lipoxigénase. mais également en supprimant l'activité de transcription de la Cox-2 par inhibition de la phosphorylation de signal des voies de transduction (**Larrosa., 2009**)

I.4.4.5 Les maladies inflammatoires de l'intestin

Ce sont des pathologies multifactorielles complexes d'étiologie inconnue qui correspondent à une inflammation chronique du système digestif évoluant par poussées inflammatoires de durées variable, entrecoupées par des phases de rémission, ces pathologies englobent deux entités principales, la maladie de Crohn (CD) et la rectocolite hémorragique (RCH).

CD est une inflammation transmurale qui peut affecter l'ensemble du tractus gastro-intestinal, tandis que la RCH est une inflammation non transmurale restreinte au côlon (Jmour *et al.*, 2018).

I.5 La Rectocolite hémorragique

C'est une maladie inflammatoire chronique intestinale (MICI) du colon et du rectum, la RCH est une atteinte superficielle de la muqueuse, qui débute au niveau de rectum pour remonter dans le colon, elle porte aussi le nom de colite ulcéreuse (Beaugerie., 2014). On distingue 4 formes, selon l'étendue de la maladie :

Tableau N°III : Les différentes formes de la RCH (Baumgart *et al.*, 2007).

La rectite ulcéreuse	La proctosigmoïdite	La colite distale	La pancolite
-Se limite au rectum	-Touche le rectum et le côlon sigmoïde	-Touche la partie du côlon située du côté gauche du corps	-Touche le côlon en entier

La RCH est due à une réaction auto-immune dirigée contre les bactéries « inoffensives » normalement présentes dans le tube digestif (la flore intestinale).

Le système immunitaire produit, dans ce cas, des molécules de défenses nocives, (auto-anticorps), qui entraînent la destruction des tissus (Baumgart *et al.*, 2007).

I.5.1 Anatomie du colon

Le colon est une partie du système digestif, situé après l'intestin grêle comprise entre le caecum et le rectum dont son rôle majeure est celui d'achever la transformation des déchets issus des intestins en matière fécale.

Il se divise en plusieurs segments : le colon ascendant ou droit, le colon transverse, le colon descendant ou gauche, le colon sigmoïde.

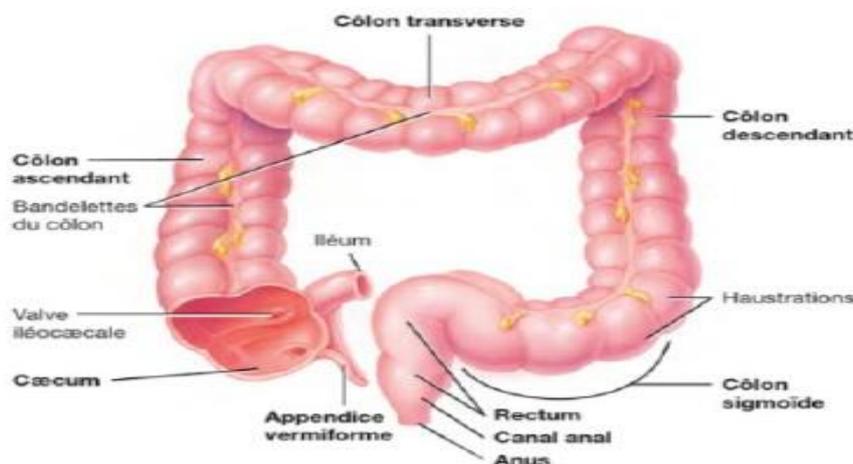


Figure N°10 : Anatomie du cœlon (Gérard et al., 2017)

Le colon peut-être le siège de plusieurs pathologies y compris, polypes coliques (croissance de tissu supplémentaire dans le cœlon), diverticulite (inflammation ou infection des poches dans le cœlon), Le syndrome du cœlon irritable, la maladie de crohn et la rectocolite hémorragie (Gérard et al., 2017).

I.5.2 Diagnostique et symptômes

La RCH se manifeste principalement par des selles abondantes et fréquentes (diarrhée), accompagnée de perte de sang et de glaires, ainsi que des douleurs abdominales, elle peut également entrainer une fièvre ou un amaigrissement. Les premiers examens effectués sont une prise de sang et une analyse des selles, toutes fois les seuls examens permettant de confirmer le diagnostic de RCH sont les examens endoscopiques tels que la coloscopie du rectum et du cœlon (Beaugerie., 2014 ; Moreau., 2011).

I.5.3 Traitement et entretien de la rectocolite hémorragique

Il n'existe pas de médicament qui permet la guérison de la RCUH, en revanche, plusieurs traitements permettent de réduire l'inflammation et ses symptômes et de diminuer leur récurrence en maintenant la rémission.

Les modalités du traitement diffèrent en fonction de la sévérité et l'étendue de la RCUH (Figure 11 et 12):

• **Rectocolite modérée**

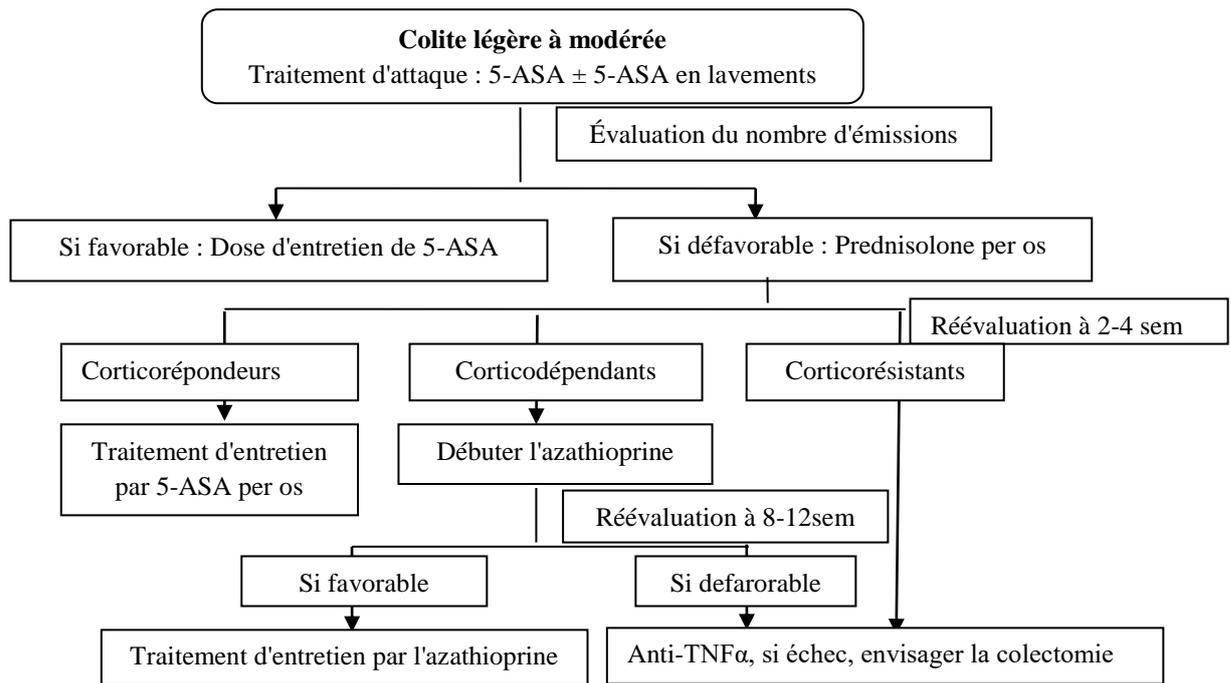


Figure N°11 : La prise en charge thérapeutique de la RCH légère à modérée (Moreau., 2011)

• **Rectocolite sévère :**

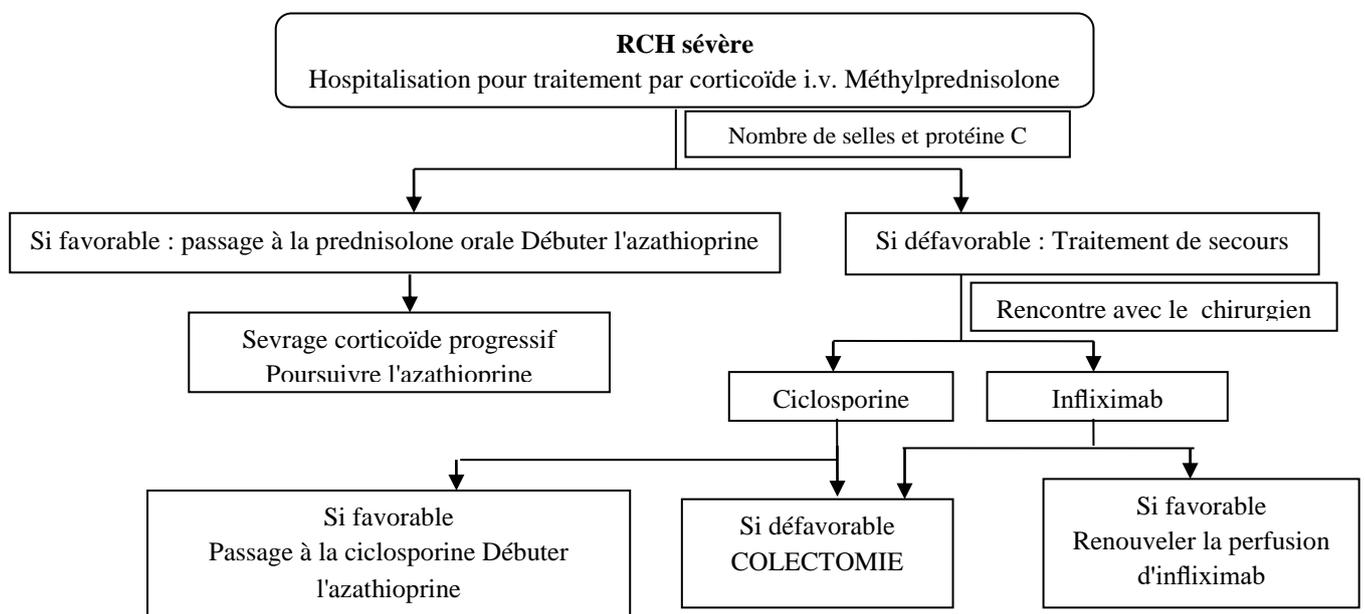


Figure N°12 : Algorithme de prise en charge d'une poussée sévère (Moreau., 2011)

I.6 Les différents modèles d'induction d'une inflammation intestinale

Dans le but d'améliorer nos connaissances sur l'immunité et les interactions entre la flore et l'hôte dans des conditions normales et inflammatoires, de nombreux modèles d'inflammation intestinale ont été développés :

I.6.1 Les modèles « toxiques »

L'administration d'un composé chimique toxique peut rapidement déclencher une colite qui conduit à des lésions souvent sévères par altération de la barrière intestinale. Plusieurs voies d'administration du toxique sont décrites, notamment le lavement (éthanol concentré, acide acétique ou formaline) et la prise orale (sulfate de dextrane sodique (DSS) dans l'eau) (Nancey *et al.*, 2008).

Dans cette présente étude, nous avons utilisé l'acide acétique comme modèle. Cette substance est utilisée à des concentrations et des temps d'exposition variables. Les atteintes initiales dans ce modèle sont une nécrose épithéliale relativement faible accompagnée d'œdème (Jurjus *et al.*, 2004).

I.6.2 Les modèles « immunologiques »

Ce sont des molécules chimiques de faible poids moléculaire non immunogènes par elles-mêmes, appelées haptènes comme l'acide 2, 4,6 trinitrobenzène sulfonique (TNBS) ou l'acide 2,4 dinitrobenzène sulfonique (DNBS). L'administration d'une faible dose non

toxique d'un haptène dans le côlon entraîne la formation d'un complexe entre ce dernier et certains acides aminés cela en interagissant avec les protéines du contenu et des parois coliques qui est à l'origine de déclenchement d'une réponse immunitaire. Le mécanisme impliqué dans ces modèles est une hypersensibilité retardée colique médiée par les LT CD4⁺ ou LT CD8⁺ spécifiques, cytotoxiques, en produisant des cytokines et qui s'accompagnent d'une inflammation récidivante de l'intestin (Nancey *et al.*, 2008).

I.6.3 Les modèles de transfert à des souris immunodéprimées

Il est représenté par le transfert d'une population particulière de LT CD4⁺ dits « naïfs », à des animaux immunodéprimés (souris dépourvues de LT et de lymphocytes B). Ces animaux reconstitués avec cette sous-population lymphocytaire T particulière développent progressivement un infiltrat inflammatoire puis des lésions coliques qui surviennent dans les 3-10 semaines suivant le transfert (Nancey *et al.*, 2008).

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- ❖ **Agyare, C., Koffur, G M. Boakye, Y D & Mensah, K B.** (2013). Antimicrobial and Anti-inflammatory Properties of *Funtumia elastic*. *Pharmaceutical Biology*, 51:4, 418-425.
- ❖ **Allgayer et stenson W F.** (1988). A comparison of effects of sulfasalazine and its metabolisme of endoenousvs exogenous aracidonique acid. *ImmunPharmacol*, 15 : 39-46.
- ❖ **Alwash, M. S., Ibrahim, N. and Ahmad, W. Y.** (2013). Identification and mode of action of antibacterial components from *Melastomamalabathricum* linn leaves. *American Journal of InfectiousDiseases*, 9(2): 46-58.
- ❖ **Andrééva-Gatéva P.** (2003). Récepteurs activables par les proliférateurs des peroxyosomes (PPAR) : leur implication dans le métabolisme des hydrates de carbone et des lipides. *Laboratoire central clinique et lipidologie clinique* . 61 : 295–6.
- ❖ **Areej, A.** (2007). Phytochemical and Biological Studies of Some Clematis Species Growing in Saudi Arabia. Submitted in partial fulfillment of the requirement for the Doctor of Philosophy degree in the Department of Pharmacognosy at the College of Pharmacy. *King Saud University*, 7-20.
- ❖ **Atmani, D., Ruiz-Larrea, B.M., Ruiz –Sanz, J.I., Lizcano, L.J., Bakkali, F. et Atmani, D.** (2011). Antioxidant potential, cytotoxic activity and phenolic content of clematis flammula leaf extract. *Journal of medicinal Plants Research*, 5 (4) : 589-598 .



- ❖ **Badami, S., Mahendran, S., Mahantesh, I. Bi., Raj, P., Srivastava, K., Thippeswamy, B.S., Veerapur, V.P.** (2011) . Protective effect of embelin against acetic acid induced ulcerative colitis in rats. *European Journal of Pharmacology*, 654, 100–105.
- ❖ **Baumgart, D. C., Sandborn, W.J.**(2007). Inflammatory Bowel Disease: Clinical Aspects and Established and Evolving Therapies. *Gastroenterology* 2, Vol 369.
- ❖ **Beaugerie, L., Seksik, P., Sokol, H., Cosnes, J.**(2014). Rectocolite hémorragique : du diagnostic au traitement. *Hepato Gastro*,(21): 190-2001.
- ❖ **Boubekri, C.**(2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. *Thèse de Doctorat en sciences Spécialité Chimie. Université Mohamed Khider- Biskra*, 29-41
- ❖ **Boumar, R., Rebbas, K., Gharzouli, R., Djellouli, Y. and Abbad, A.** (2013). Ecological and Medicinal Interest of Taza National Park Flora (Jijel-Algeria). *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine*, 2: 89-101.
- ❖ **Bruneton J.** (2009). Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition. Paris: Edition Tec & Doc. *Edition médicales internationales*, 1292 p.



- ❖ **Charbier, J. Y.**(2010) Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. *Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy I (France)*, 165p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ **Carillon, A.** (2009). Place de la Phytothérapie dans les Systemes de Santé au XXI^os. *In Conférence SIPAM-Djerba*, 1-7.

D

- ❖ **Daglia, M.**(2012). Polyphenols as Antimicrobial Agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23:174-181.

F

- ❖ **Faller, A L K., Fialho, E.** (2010). Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional Plant foods. *Journal of Food Composition and Analysis* 23: 561-568.

G

- ❖ **Gazengel, J-M., Orecchioni, A-M.**(2013). Le préparateur en pharmacie. 2^{ème} édition. *Guide Théorique et Pratique*, 1255-1257.
- ❖ **Gerard, J., Derrickson, B.**(2017). Manuel anatomie et de Physiologie Humaines. Canada. 2^{ème} édition. *Adaptation Francaise de Sofie Dubé et Louise Martin*. Vol824 :567-569 p

H

- ❖ **Hernández I., Alegre L., Van Breusegem F. and Munné-Bosch, S.**(2009). How Relevant are Flavonoids as Antioxidants in Plants, *Trends in Plant Science*, 14 (3) : 125–132.
- ❖ **Huet, M., Fleurentin, J.** (2013). Ethnopharmacologie Curcuma, thé vert et chardon-marie *Française d’Ethnopharmacologie*, Hegel Vol. 3 N° 4 : 268-269

M

- ❖ **Moreau, J.**(2012). Traitement de la rectocolite hémorragique. *La Lettre de l’Hépatogastroentérologue*, 15 :197-199.

F

- ❖ **Jmour O, et al.** (2018). Radiothérapie et maladies inflammatoires chroniques de l’intestin : revue de la littérature. *Bull Cancer*, 546-551.

K

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ **kumar, P., Kumar,V.,Singhal and kaur,J** .(2008).Ctomixis Induced Meitic Abnormalities In Pollen Mother Cells of Clematis flammula L.(Ranunculaceae). *Cytologia*, 73(4):381-385.
- ❖ **Kırmızıbekmez, H., İnan, Y., Reis, R., Sipahi, H., Ahmet, C.,Gören&ErdemYeşilada.**(2018).Phenolic compounds from the aerial parts of Clematis viticella L. and their in vitro anti-inflammatory activities, *Natural Product Research*, 1-4.

Q

- ❖ **Larrosa, M., Yanez-Gascon, J. M., Selma, V.Met al.**(2009). Effect of a low dose of dietary resveratrol on colon microbiota, inflammation and tissue damage in a DSS-induced colitis rat model.*J Agric Food Chem*,**57**: 2211-2220.
- ❖ **Lawrence, T. and Gilroy, D. W.** (2007). Chronic Inflammation: A Failure of Resolution. *International Journal of Experimental Pathology*, 88,85-94.

M

- ❖ **Maamria,L., Benkhaled,M.,Haba, H., Harakat, D.,Lavaud,C.** (2015). An isoflavane and saponins from Astragalusdepressus L. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 80 (2), 137–142.
- ❖ **Macheix, J. J., Fleuriet, A. et Billot, J.** (1990). Fruit phenolics, CRC press, Boca Roton. In : les polyphenols en agroalimentaire Sarni-Manchado P, Cheynier. *Tec et Doc Lavoisier-Paris*.
- ❖ **Mahmoudi, S.,Khalim, M.,Mahmoudi, N.** (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (Cynarascolymus L.). *Nature & Technologie B- Sciences Agronomiques et Biologiques*. n° 09 : 35- 40.
- ❖ **Moreau, J.** (2012). Traitement de Rectocolite Hémorragique. *La Lettre de l'Hépatogastroentérologue*, 15:196-199.

N

- ❖ **Nancey, S., Hacini, F., Durand, P., Milhau, N., Kaiserlian, D., Flourié, B.** (2008). Apport des modèles animaux d'inflammation intestinale dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *Hépatogastro*,15:34-35.
- ❖ **Naik, M. and Al-Khayri, M.**(2016).Abiotic and Biotic Elicitors–Role in Secondary Metabolites Production through In Vitro Culture of Medicinal Plants. *Recent Advances and Future Perspectives*, 248-265.

P

- ❖ **Prabhu, V.etGuruvayoorappan, C.** (2014). Protective effect of marine mangrove Rhizophoraapiculata on acetic acid induced experimental colitis by regulating antioxidant enzymes, inflammatory mediators and nuclear factor-kappa B subunits. *International -Immunopharmacology*, 18(1), 124-134.

R

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ **Rahul, K.L., Deeba N.S., Vaqar M. A., Imran Khan, H., Mukhtar, H.** (2015). Dietary Polyphenols in Prevention and Treatment of Prostate Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 16(2), 3350-3376 .
- ❖ **Roberts C. K. and Sindhu K. K.** (2009). Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sciences*. 84: 705–712.
- ❖ **Rodriguez-palacios, A., Aladyshkina, N., Cominelli, F.** (2015). Stereomicroscopy and 3D-target myeloperoxidase intestinal phenotyping following a fecal flora omogenization protocol. *Division of gastroenterology and liver disease, Case Western Reserve University School of Medicine*, 10-11.
- ❖ **Roumestan, C., Gougat, C., Jaffuel, D., Mathieu, M.** (2004). Les Glucocorticoïdes et Leur Récepteur : Mécanismes d'Action et Conséquences Cliniques. *La Revue de Médecine Interne*, 25 :636-647.



- ❖ **Sakthivel, K.M. et Guruvayoorappan, C.** (2013). Amentoflavone inhibits iNOS, COX-2 expression and modulates cytokine profile, NK-kB signal transduction pathways in rats with ulcerative colitis. *International Immunopharmacology*, 17 (3) : 907-916.
- ❖ **Scalbert, A. and Williamson, G.** (2000). Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. *American Society for Nutritional Sciences*, 2073-2083
- ❖ **Sereme, A., Millogo-Rasolodimby, J., Guinkos., Nacro, M.** (2008). Propriétés Thérapeutiques Des Plantes S A Tanins du Burkina Faso. *Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaines*. 15: 41– 49.
- ❖ **Serhan, C. N.** (2010). Novel Lipid Mediators and Resolution Mechanisms in Acute Inflammation. *The American Journal of Pathology*, (177): 1576-1588.



- ❖ **Thippeswamy, B. S., Mahendran, S., Biradar, M. I., Raj, P., Srivastava, K., Badami, S. & Veerapur, V. P.** (2011). Protective effect of embelin against acetic acid induced ulcerative colitis in rat. *European Journal of Pharmacology*, 654(1), 100-105.
- ❖ **Topcu-Tarlacalisir, Y., Akpolat, M., Hulya-Uz, Y., Kizilay, G., Sapmaz-Metin, M., Erkekçayabekir, A. et Kurt-Omurlu, I.** (2013). Effects of curcumin on Apoptosis and Oxidoinflammatory Regulation in a Rat Model of Acetic Acid-Induced Colitis : The Roles of c-Jun N-Terminal Kinase and p38 Mitogen-Activated Protein Kinase. *Journal of Medicinal Food*, 16 (4) : 296-305
- ❖ **Touboul, J.** (2007). Diarrhée de l'épisode aigu infectieux au trouble fonctionnel chronique. *Actualité thérapeutique*, 10 :164-167.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ **Villegas, I., Sanchez-Fidalgo, S. and Lastra.** (2011). Chemopreventive effect of dietary curcumin on inflammation-induced colorectal carcinogenesis in mice. *Mol Nutr Food Res*, 55: 259-267.
- ❖ **Vinod Prabhu, V. et Guruvayoorappan, C.** (2013). Protective effect of marine mangrove *Rhizophora apiculata* on acetic acid induced experimental colitis by regulating anti-oxidant enzymes, inflammatory mediators and nuclear factor-Kappa B subunits. *International Immunopharmacology*, 18 : 124- 134.

W

- ❖ **Wahl, C., Liptay, S., Adler, G. and Schmid, M. R.** (1988). Sulfasazine: a potent and specific inhibitor of nuclear Kappa B. *The American Society for Clinical Investigation, Inc*, Vol 101 n°5 : 1163-1174.

Y

- ❖ **Youngbaré-Ziébrou, M N., Ouédraogo, N., Lompo, M., Bationo, H., Yaro, B., Gnoula, C., Sawadogo, W R., Guissou, I P.** (2015). Activités anti-inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae). *Phytothérapie*, 14:213-219.

Z

- ❖ **Ziltener, L., Leal, S., Fournier, E.** (2010). Non steroidal Anti-Inflammatory Drugs for Athletes: An Update. *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine*, 53:278–288.

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES

En raison de multiples facteurs encore mal connus jusqu'à nos jours, plusieurs pathologies digestives ont pris de l'ampleur pendant ces dernières décennies.

L'usage des plantes médicinales constitue un vrai patrimoine pour les pays en voie de développement, ou les populations comptent beaucoup sur la médecine traditionnelle, pour la non disponibilité et les coûts des médicaments conventionnels d'un côté, mais aussi pour les effets secondaires qui résultent de leur consommation de l'autre côté. C'est pour cette raison que la phytothérapie a reçu par la suite un grand intérêt dans la recherche biomédicale.

Notre travail fait ressortir des informations sur l'efficacité de l'utilisation de *Clematis flammula*, une source naturelle de polyphénols dans le traitement préventif des maladies inflammatoires chroniques plus exactement la rectocolite ulcéreuse hémorragique.

Notre étude a été menée sur un modèle expérimental d'inflammation colique induite par l'acide acétique, ou l'administration régulière des différentes doses des extraits a montré un effet protecteur sur divers paramètres cliniques et marqueurs de l'inflammation.

Les différents extraits ont exhibé de puissants effets sur la survenue des diarrhées et les saignements rectaux. A une dose de 100mg/kg l'extrait d'acétate d'éthyle a présenté le résultat le plus marquant, par rapport aux autres extraits et le médicament de référence utilisé dans cette étude, et cela en diminuant l'altération de la muqueuse et l'activité du marqueur de la colonisation des cellules de l'immunité qui est la myéloperoxydase (MPO).

Nous avons ainsi démontré que *Clematis flammula*, utilisée traditionnellement pour ses propriétés analgésiques et antirhumatismales, peut être employée dans le traitement d'autres pathologies à caractère inflammatoire, en agissant sur les altérations colique causé par la rectocolite hémorragique ainsi que sur l'immunité intestinale et les différents facteurs de stress oxydatif.

Toutefois, cette présente étude doit être confirmée par d'autres essais, à savoir les études histopathologiques.

L'ensemble des résultats obtenus constitue une justification scientifique de l'usage traditionnel de *Clematis flammula* et confirme encore une fois la pertinence des remèdes traditionnels dans le traitement de nombreuses maladies.

En terme de perspectives, il serait intéressant de mener des études complémentaires, telle que la caractérisation et l'identification de l'ensemble des principes actifs responsables des effets observés, l'évaluation de l'effet anti-inflammatoire de ces extraits sur des modèles cellulaires afin d'élucider les différents mécanismes d'action.

Résumé

Clematis flammula, une plante riche en métabolites secondaires, connue depuis longtemps pour ses vertus thérapeutiques; plusieurs travaux de recherche ont été menés sur les activités biologiques de cette dernière. Dans notre étude, nous nous sommes intéressées spécifiquement à l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des différents extraits suivant un protocole d'extraction basé sur l'utilisation de trois solvants : N-butanol, éther de pétrole et l'acétate d'éthyle (100mg/kg, 50mg/kg, 25mg/kg), qui ont été par la suite administrés séparément à des souris albinos pour évaluer leurs effets sur la rectocolite hémorragique (RCH) induite par une injection intrarectale d'une solution d'acide acétique à 1%. Les résultats obtenus après observation des côlons des souris sacrifiées, calcul des scores et la détermination des taux des myéloperoxydases (MPO) ont montré que l'acétate d'éthyle à une dose de 100mg/kg a présenté la meilleure activité anti-inflammatoire en comparaison au médicament de référence «Sulfasalazine» et aux lots controls et témoins. Les résultats obtenus dans cette présente étude constituent une source d'information qui pourrait justifier l'utilisation de cette plante dans la médecine traditionnelle.

Mots clés

Clematis flammula, activité anti-inflammatoire, acide acétique, RCUH

Abstract

Clematis flammula, which is rich on secondary metabolites and has long been known for its therapeutic virtues, many researches carried out on its biological activities. This study aimed to evaluate the anti-inflammatory activity of the leaves of this plant. For that three extracts were used : N-butanol, petroleum ether and ethyl acetate extracts at different doses (100mg / kg, 50mg / kg, 25mg / kg), they were administered separately to albino mice in order to test their preventive effect, subsequently a rectocolitis hemorrhagic (RCH) was induced in the large intestine and rectum by the administration of the acetic acid to 1% rectally, Finally we evaluate the anti-inflammatory effect of the three extracts, obviously by comparing them to the reference drug "Sulfasalazine". However, after observations of sacrificed mouse colons, scores and their myeloperoxidase (MPO) activities, and comparing the results obtained from each extract with drug, control+ and control-. Ethyl acetate extract showed a significant anti-inflammatory activity, compared to the results obtained with "Sulfasalazine" and other extract. Phenolic compounds present in plant leaves would justify the anti-inflammatory activity exhibited in the anti-ulcer test.

Keywords

Clematis flammula, anti-inflammatory activity, acetic acid, (RCH).

ملخص

ياسمين البر نبتة غنية بالمركبات الثانوية ومعروفة منذ زمن طويل لخصائصها العلاجية حيث أجريت العديد من المشاريع البحثية على أنشطتها البيولوجية. في دراستنا، ركزنا على وجه التحديد لنشاطها المضاد للالتهابات، وذلك وفقاً لبروتوكول استخلاص مبني على استخدام ثلاثة مذيبات: N-بيوتانول، أثير النفط وخلات الإيثيل، بجرعات مختلفة (100 مغ/كغ، 50 مغ/كغ، 25 مغ/كغ). تم أحداث القرحة المعدية باستخدام حمض الاسيتيك 1% عند 12 مجموعة من الفأران 9 منها معالجة بالمستخلصات السابقة على التوالي، مجموعة معالجة بدواء مرجعي sulfasalazine، الشاهد ومجموعة معرضة للقرحة فقط. استناداً إلى حالة الفأران بعد تعريضها للقرحة وتقييم الأمعاء ونشاط المييلوبيروكسيداز (MPO) بعد التضحية بها، قمنا بمقارنة جميع المجموعات فيما بينها ووجدنا أن المستخلص الذي قدم أحسن نشاط مضاد للالتهاب كان خلات الإيثيل حيث أعطى نتيجة أفضل بكثير من الدواء بالإضافة إلى المستخلصات الأخرى، النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة تشكل مصدراً للمعلومات التي يمكن أن تبرر استخدام هذا النبات في الطب التقليدي.

الكلمات المفتاحية

ياسمين البر، حمض الاسيتيك، مضاد للالتهاب، القرحة المعدية،